

Farklı Antibiyotik Gruplarını İçeren Sentetik Atıksuların Anaerobik Arıtımı ve Mikrobiyal
Komünitenin Belirlenmesi

Dilek Malay

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak 2015

Anerobic Treatment of Synthetic Wastewater Containing Different Antibiotic Groups and
Determination of Microbial Community

Dilek Malay

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

January 2015

Farklı Antibiyotik Gruplarını İçeren Sentetik Atıksuların Anaerobik Arıtımı ve Mikrobiyal Komünitenin Belirlenmesi

Dilek Malay

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalında

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç.Dr. Cansu FİLİK İŞÇEN

Bu tez ESOGÜ BAP Komisyonu tarafından 2014385 no'lu proje çerçevesinde desteklenmiştir.

Ocak 2015

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Dilek Malay'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Farklı Antibiyotik Gruplarını İçeren Sentetik Atıksuların Anaerobik Arıtımı ve Mikrobiyal Komünitenin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : Doç.Dr. Cansu FİLİK İŞÇEN

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Doç.Dr. Cansu FİLİK İŞÇEN

Üye : Prof. Dr. Semra İLHAN

Üye : Prof. Dr. Ahmet ÇABUK

Üye : Doç. Dr. Ümran TEZCAN ÜN

Üye : Doç. Dr. Yeliz AŞÇI

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç.Dr.Cansu FİLİK İŞÇEN, danışmanlığında hazırlamış olduğum "Farklı Antibiyotik Gruplarını İçeren Sentetik Atıksuların Anaerobik Arıtımı ve Mikrobiyal Komünitenin Belirlenmesi" başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim.

23/01/2015

Dilek MALAY

imza

ÖZET

Antibiyotikler insan ve hayvan hastalıklarının iyileştirilmesinde kullanılan en başarılı ilaç grupları arasındadır. Ancak antibiyotiklerin büyük bir kısmı insanlarda tam metabolize olmamaları ya da kullanılmayan antibiyotiklerin alıcı ortama boşaltılması nedeniyle, antibiyotikler kentsel atıksularda bulunabilmektedir. Su ve atık sulardan antibiyotik gideriminde kullanılan yöntemler arasında anaerobik arıtım yöntemlerinin kullanımı artış göstermektedir.

Günümüzde anaerobik arıtma sistemleri orta ve yüksek derecede organik maddeler içeren atık sular için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada farklı antibiyotik gruplarını içeren sentetik atık suların kesikli ve laboratuvar ölçekli yukarı akışlı dolgulu yatak reaktörde arıtımı, KOİ giderimi ve reaktördeki mikrobiyal çeşitliliğin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada amfoterisin b, eritromisin, flukonazol, kanamisin, sefamezin tetrasikilin, vankomisin antibiyotikleri kullanılmıştır. Kesikli reaktör çalışmalarının istatistiksel optimizasyonu sonucu elde edilen veriler dikkate alınarak sürekli reaktörde arıtım süreci takip edilmiştir. Reaktör sürecinde antibiyotik konsantrasyonu, organik yükleme oranı, kimyasal oksijen ihtiyacı gibi işletim parametrelerinin organik madde giderim verimi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. En yüksek KOİ giderimi 30 mg/l antibiyotik içeren atık suyun uygulandığı, hidrolitik alıkonma süresinin 96 saat ve Organik yükleme oranının 0,618 g KOİ l⁻¹ gün⁻¹ olduğu koşullarda gerçekleşmiştir. Çalışmada denenen tüm antibiyotik konsantrasyonlarında (10-100 mg/L) çıkış suyunun deşarj standartlarını sağlayacak düzeyde arıtıldığı belirlenmiştir. Ayrıca, uygulanan toksisite test sonucunda toksik olan giriş atık suyunun arıtım sonrasında toksik etkisinin kalmadığı bulunmuştur. Arıtımda rol alan mikrobiyal konsorsiyumun belirlenmesinde yeni nesil dizileme tekniği kullanılmıştır. Yeni nesil dizileme sonuçlarına göre, anaerobik çamurda 347 bakteri ve 26 arke üyesi tespit edilmiştir. Bakterilerden %19,56' lik oranla *Syntrophobacter spp.* ve arkelerden %94,064 *Methanosaeta spp.* baskın türler olduğu ve arıtımda etkin oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Anaerobik arıtım, kesikli reaktör, yukarı akışlı anaerobik dolgulu yatak reaktör, antibiyotik, sentetik atık su, yeni nesil dizileme

SUMMARY

Antibiotics are among the most successful group of pharmaceuticals used for human and veterinary therapy. However, large amounts of antibiotics are released into municipal wastewater due to incomplete metabolism in humans or due to disposal of unused antibiotics. Anaerobic treatment systems increasingly used for removal of antibiotics from wastewater.

Today, anaerobic treatment systems commonly used for wastewater containing medium and high degree of organic matters. This study was carried out for the treatment of synthetic wastewater containing different antibiotic group in batch and laboratory scale up flow packed bed reactor; for removal of COD and for investigation of the microbial diversity in reactor. In this study, amphotericin b, erythromycin, fluconazole, kanamycin, cefamezin, tetracycline, vancomycin antibiotics were used. The treatment process was monitored based on the statistical optimisation data of the batch reactor studies. The effects of operating parameters such as wastewater concentration, organic loading rate: OLR, chemical oxygen demand: COD on organic matter removal efficiency was evaluated in the reactor process. The highest COD removal efficiencies were obtained for the use of waste water containing 30 mg/l antibiotic at 96 hour HRT and 0,618 g COD/day OLR. For all samples with different antibiotic concentrations (10-100 mg/l) the treated water was treated to provide the water discharge standards. According to the results of the toxicity test, it was found that the toxicity of the raw wastewater was eliminated after the treatment. Next generation sequencing was used for determining microbial diversity. According to next generation sequencing results, 347 bacteria and 26 archaea members have been detected in the anaerobic sludge. Also, of the bacterial strain *Syntrophobacter spp.* (19.56%) and of the archae strain *Methanosaeta spp.* (94,064 %) was found to be effective in treatment.

Key words: Anaerobic treatment, batch reactor, up flow packed bed reactor, antibiotic, synthetic wastewater, next generation sequencing

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın başlangıcından sonuna kadar her türlü yardım, ilgi ve desteğini esirgemeyen güvenini her zaman yanımda hissettiğim değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Cansu FİLİK İŞÇEN'e,

Çalışmalarım boyunca her aşamada büyük fedakarlıkla, destek, ilgi ve yardım gördüğüm hocam sayın Prof. Dr. Semra İLHAN'a,

Tez çalışmamın başlangıcından bitimine kadar, tecrübesi ve bilgileriyle her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen Dr. Burcu AKÇAL ÇOMOĞLU'na

Çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen değerli hocam Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden Yrd. Doç. Dr. Zerrin KAHRAMAN CANTÜRK'e teşekkür ederim.

Dr. Bükay YENİCE GÜRSU , Dr. Y. Erçin KOCABIYIK, Orkun KAYIŞ, Özden ÖZGÖK, Emine İRDEM, Murat ZURNACI' ya

Çalışmalarımın maddi desteğini sağlayan ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na (Proje No: 2014385),

Her zaman yanımda olan ve bana destek olan yaşamımın her döneminde, sevgi, ilgi, sabır ve desteklerini hep hissettiğim aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	vi
SUMMARY	vii
ŞEKİLLER DİZİN.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 İlaç Sanayi ve Atık Suları.....	3
2.1.1 Farmasötik maddelerin üretim ve tüketim oranları	4
2.1.2 Çevre mevzuatında ilaç sanayi	8
2.2 Antibiyotikler	10
2.2.1. Antibiyotiklerin sınıflandırılması	10
2.2.2.Antibiyotiklerin kullanım alanları ve ekolojik etkileri	11
2.2.3.Antibiyotiklerin tespiti.....	14
2.3 Arıtım Mekanizmaları	15
2.3.1. Abiyotik süreçler	15
<u>2.3.1.1. Sorpsiyon.....</u>	<u>16</u>
<u>2.3.1.2. Sıyırma ve uçuculuk.....</u>	<u>17</u>
<u>2.3.1.3.Abiyotik hidroliz.....</u>	<u>17</u>
<u>2.3.1.4. Abiyotik oksidasyon.....</u>	<u>17</u>
2.3.2. Fiziko-Kimyasal arıtma	17
2.3.3.Pıhtılaştırma-Yumaklaştırma.....	17

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3.4. Biyolojik arıtım.....	18
<u>2.3.4.1. Aerobik arıtım</u>	18
<u>2.3.4.2. Anaerobik arıtım</u>	18
2.3.5. İleri arıtma yöntemleri	27
<u>2.3.5.1.Ozonlama</u>	27
<u>2.3.5.2. Membran biyoreaktörleri</u>	27
<u>2.3.5.3.Ultraviyole ışınları</u>	28
<u>2.3.5.4.Aktif karbon</u>	28
2.4 Deneysel Tasarım	28
2.4.1 Çok etmenli (Full faktöriyel) deney tasarımı	29
2.5 DNA Dizileme Yöntemleri	32
2.5.1.Maxam ve Gilbert yöntemi.....	32
2.5.2 Sanger yöntemi	33
2.5.3 Yeni Nesil DNA Dizileme (NGS).....	34
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1 Materyal	36
3.1.1 Antibiyotikler.....	36
<u>3.1.1.1. Antibiyotiklerin kimyasal yapıları</u>	36
3.1.2 Anaerobik çamur	36
3.1.3 Çözeltiler ve kimyasal maddeler.....	38
3.2 Yöntem.....	42
3.2.1 Sentetik atık suyun Hazırlanışı.....	42
3.2.2 Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ)	42
3.2.3 Katı maddeler	43
<u>3.2.3.1 Toplam katı madde(TKM)</u>	43
<u>3.2.3.2.Askıda katı madde(AKM)</u>	44
<u>3.2.3.3.Uçucu katı madde(UKM)</u>	44
3.2.4 pH	44

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2.5 Alkalinite	45
3.2.6 Uçucu yağ asitleri	46
3.2.7 Toksisite çalışmaları	46
3.2.8 Farklı antibiyotik içeren sentetik atıksuları için yapılan kesikli reaktör çalışmaları.....	47
3.2.9 Yukarı Akışlı Dolgulu Yatak Reaktör (YADYR) çalışmaları	48
<u>3.2.9.1. Çevresel Faktörlerin Kontrolü</u>	49
<u>3.2.9.2. Deneysel Çalışma Planı</u>	50
<u>3.2.9.3. Metan Gazının Belirlenmesi</u>	50
3.2.10 Yeni Nesil Dizileme (NGS) ile DNA Dizi Analizi	50
4.BULGULAR.....	53
4.1 İnokulum Özellikleri	53
4.2 Kesikli Reaktör Sonuçları.....	53
4.2.1 Eritromisin, Vankomisin, Amfoterisin B Antibiyotiklerini İçeren Sentetik Atıksuların Kesikli Reaktör Çalışmaları.....	53
4.2.2 Flukonazol, Tetrasiklin, Sefamezin Antibiyotiklerini İçeren Atıksuların Kesikli Reaktör Çalışmaları	61
4.2.3 Kanamisin İçeren Sentetik Atıksuyun Kesikli Reaktör Çalışması	69
4.2.4 Kanamisin, Sefamezin ve Amfoterisin B Antibiyotiklerinin karışımı halinde hazırlanmış Sentetik Atıksuyun Kesikli Reaktör Çalışması	72
4.3 Sürekli Reaktör Sonuçları.....	76
4.4 Ekotoksikolojik Çalışmalar	80
4.5 Mikrobiyal Kompozisyonun Belirlenmesi	81
4.5.1 NGS analizi sonuçları.....	81
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	92
6.KAYNAKLAR DİZİNİ	100

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Dünyada ilaç pazarı	5
2.2 Türkiye ilaç endüstrisinin toplam satış değeri ve hacmi	6
2.3 Tedavi gruplarına göre ilaç tüketimi	8
2.4 Sucul çevredeki ilaç bileşiklerinin kaynakları.....	13
2.5 Çamur üzerinde organik bileşiklerin absorpsiyonu ve adsorpsiyon mekanizması.....	16
2.6 Anaerobik arıtmıda reaksiyon basamakları	24
3.1 Kullanılan antibiyotiklerin açık formülleri.....	37
3.2 Kesikli reaktör (oktup c şişeler)	48
3.3 Yukarı akışlı anaerobik dolgu yataklı reaktör	49
4.1 Antibiyotik çeşidi kosubstrat çeşidi etkileşimi.....	57
4.2 Antibiyotik konsantrasyonu- kosubstrat çeşidi etkileşimi.....	58
4.3 Antibiyotik konsantrasyonu -antibiyotik çeşidi etkileşimi.....	59
4.4 Üçlü etkileşimi a) 25 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda,antibiyotik çeşidi kosubstrat çeşidi etkileşimi; b) 50 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda, antibiyotik konsantrasyonunda, antibiyotik çeşidi,kosubstrat çeşidi etkileşimi; c)75mg/L antibiyotik konsantrasyonunda antibiyotik çeşidi,kosubstrat çeşidi.....	60
4.5 Antibiyotik çeşidi kosubstrat çeşidi etkileşimi.....	65
4.6 Antibiyotik konsantrasyonu kosubstrat çeşidi etkileşimi	66
4.7 Antibiyotik konsantrasyonu- antibiyotik çeşidi etkileşimi.....	67
4.8 Üçlü etkileşim a) kosubstrat çeşidi, ABP iken antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi etkileşimi; b)kosubstrat propiyonik asit iken antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi etkileşimi; c) kosubstrat glukoz iken antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi etkileşimi.....	68
4.9 Antibiyotik konsantrasyonu -kosubstrat çeşidi etkileşimi.....	72

ŞEKİLLER DİZİN (devam)**Sayfa**

4.10 Antibiyotik konsantrasyonu- kosubstrat çeşidi etkileşimi.....	75
4.11 Yukarı akışlı anaerobik dolgulu yatak reaktörde arıtım sürecindeki değişimler A)OYO B) GİRİŞ VE ÇIKIŞ KOİ C) UYA	78
4.12 Yukarı akışlı anaerobik dolgulu yatak reaktörde arıtım sürecindeki değişimler D) Alkalinite (giriş ve çıkış) E) Atık su konsantrasyonu F) pH (giriş ve çıkış).....	79

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Antibiyotiklerin etki mekanizmasına göre sınıflandırılması	11
2.2 Başlıca anaerobik mikroorganizmalar grupları	20
2.3 3 ^k çok etmenli deney sayısı tablosu	30
2.4 3 ³ çok etmen deneme birleşimleri	30
3.1 Örneğin alkalinite miktarının hesaplanması	45
3.2 Dizi benzerliklerine göre OTU sınıflandırması	52
4.1 Kesikli ve sürekli çalışmalarda kullanılan anaerobik çamurun özellikleri.....	53
4.2 Eritromisin, vankomisin ve amfoterisin b içeren sentetik atıksuların tam faktöriyel (3 ³) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları	54
4.3 KOİ giderimi için varyans analizi tablosu	55
4.4 Antibiyotik çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki	56
4.5 Antibiyotik Konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki	56
4.6 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki	57
4.7 Flukonazol, tetrasiklin, sefamezin kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuların tam faktöriyel (3 ³) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları.....	62
4.8 KOİ giderimi için varyans analizi tablosu	63
4.9 Antibiyotik çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki	63
4.10 Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki	64
4.11 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki	64
4.12 Kanamisin içeren sentetik atıksuyun tam faktöriyel (3 ²) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları.....	69
4.13 KOİ giderimi için varyans analizi tablosu	70
4.14 Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki	70
4.15 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki	71
4. 16 Kanamisin, sefamezin, amfoterisin b içeren sentetik atıksuyun tam faktöriyel (3 ³) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları	73
4. 17 KOİ giderimi için varyans analizi tablosu.....	74
4. 18 Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki	74
4.19 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki	75

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.20 Sürekli reaktörün anaerobik arıtım sonuçları	77
4.21 Toksisite sonuçları	80
4.22 Bakteri NGS analizi sonuçları	81
4.23 Arke NGS analizi sonuçları	90

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kisaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
AKM	Askıda Katı Madde
BA	Bikarbonat Alkalinitesi
BO	Bazal Ortam
HAS	Hidrolik Alıkonma Süresi
KOİ	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
NGS	Yeni nesil Dizileme
OTU	Operasyonel Taksonomik Birim
OYO	Organik Yükleme Oranı
UYA	Uçucu Yağ Asitleri
YAADY	Yukarı Akışlı Anaerobik Dolgulu Yatak

1.GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusu ve gelişen teknoloji ile birlikte tıp, hayvancılık ve tarımda tedavi ve koruma amaçlı kullanılan farmasötikler, gerek endüstriyel gerekse de evsel kaynaklı atıksular ile ekosisteme girmekte ve doğada birikerek başta insan ve hayvan sağlığı olmak üzere tüm canlılar açısından büyük bir tehlike oluşturmaktadır (Kummerer, 2004). Özellikle veterinerlikte kullanılan ilaçlar ve antibiyotikler, hem ucuz hem de kolay temin edilebilmesi nedeniyle gereğinden fazla kullanılmaktadır. Bu durum çevresel açıdan sorun oluşturmaktadır (Topal vd., 2012).

Günümüzde geniş bir kullanım aralığına sahip olan antibiyotikler, insan ve hayvan sağlığı, gıda sektöründe besinlerin korunması, balık gibi sucul canlıların sağlığı ve gelişimi, hastanelerde, ilaç endüstrisinde ve bilimsel araştırma faaliyetleri için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak bilinçsiz ve gereksiz antibiyotik kullanımı sonucunda hem çevresel sorunlar, hem de besin zinciri yoluyla canlılarda özellikle insanlarda sağlık problemleri meydana gelmektedir. Antibiyotikler, ekolojik döngüde uzun zaman bozunmadan toprağa, su kaynaklarına ve dolayısıyla canlıya kadar ulaşabilmektedir. Yapılan çalışmalarda çok küçük derişim aralıklarında bile toprakta ve su kaynaklarında antibiyotik kalıntılarına rastlanmıştır. Bu yüzden son yıllarda antibiyotik kirliliği giderimi üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Koyuncu, 2012).

Canlılar tarafından alınan antibiyotikler canlı metabolizmasında ya hiç değişmeden ya da çok az dönüştürülmüş halde metabolizmadan atılır. Atılan antibiyotik kalıntıları klasik atıksu arıtma tesislerinde arıtilamayabilir ve doğrudan alıcı ortama girer. Kalıcı kimyasallarla sucul kirlenme nedeniyle, sucul çevredeki bakteri ve diğer mikroorganizmalar bu kimyasallara daha dayanıklı hale gelebilir. Bu, çevrede daha fazla antibiyotik dayanımının ve dayanıklı patojenlerinin gelişmesine yol açar. Yüksek organik yüke sahip olan antibiyotik atıksularının bu nedenle çevreye verilmeden önce kesinlikle arıtılması gerekmektedir.

Sucul ortamda antibiyotiklerin oluşu ve kaderi, bazı ülkelerde çalışılan pek çok araştırmanın konusunu oluşturmaktadır. 30'dan fazla antibiyotik maddesi, kanalizasyon giriş ve çıkış suyu örneklerinde, yüzeysel sularda ve hatta yeraltı ve içme sularında bulunmuştur. Antibiyotiklerin metabolitleri veya parçalanma ürünleri, tarımsal olarak kullanılan alanlara çamur veya gübrenin uygulanmasıyla veya arazi üzerine doğrudan hayvan dışkısıyla, yüzeysel yağmurlar vasıtasıyla veya yeraltının derin tabakalarında sızmayla sucul ortama ulaşırlar. Bu yolla topraklar, sucul ortamın antibiyotik kirliliğinin bir kaynağı olarak hareket edebilir (Alder et.al., 2001). Araziye yayılmış olan arıtma çamurlarındaki ve gübredeki hidrofilik maddeler yağmurlar sonucunda sızma ile sucul çevreye ulaşır. Yüksek lokal konsantrasyon toprak organizmalarını etkiler. Araziye yayılmış tıbbi maddelerin toprakta mineralize olmaları veya yeraltısularına ulaşmaları da olasıdır.

Günümüzde antibiyotik kirliliği giderimi için mevcut uygulamalarda; biyolojik arıtmaya dayanan klasik arıtım prosesleri ve ileri arıtım yöntemleri kullanılmaktadır. Günümüzde anaerobik/aerobik ardışık arıtma sistemleri orta ve yüksek derecede organik maddeler içeren atık sular için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, insanlarda ve hayvanlarda sıklıkla görülen enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan sefalosporin grubu (sefamezin), makrolid grubu (eritromisin), glikopeptid grubu (vankomisin), azol grubu (flukonazol), polien grubu (amfoterisin B) ve tetrasiklin grubu (tetrasiklin) antibiyotik etken maddelerini içeren laboratuvar ortamında hazırlanmış sentetik atıksuların tek tek ve karışım halinde kesikli ve sürekli reaktörlerde anaerobik arıtılabilirlikleri araştırılmıştır. Atık suya uygulanacak temel arıtım olan anaerobik proseslerin başarısı arıtılan atık su tipine ve proses parametrelerinin doğru seçimine bağlıdır. Bu bağlamda anaerobik reaktörlerin verimli olarak işletilmesi için pH, alkalinite, KOİ, uçucu yağ asitleri ve biyogaz bileşimi gibi parametrelerin arıtım sürecinde takibi yapılmış ve NGS (yeni nesil dizileme) ile çamur içindeki arke ve bakteri türleri belirlenmiştir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 İlaç Sanayi ve Atık Suları

Küresel ısınmanın da etkisiyle şehirlerimizin içme ve kullanma sularının temini ve dağıtılması, su kaynaklarının hızla kirlenmesi sebebiyle güvenilir kaynaklardan su temini, son yılların önemli sorunları arasına girmiştir. İnsan sağlığı için son derece önemli olan içme ve kullanma suları mevcut ekolojik denge içerisinde hızla kirlenmektedir. Bu yüzden bu kaynakları sürekli denetim ve kontrol altında tutma gereksinimi vardır. Suları kirleten maddeler çeşit ve bileşen olarak her geçen gün değiştiğinden günümüzde bunların kontrolü için kullanılan mevcut analiz teknolojileri sınırlı ve bazı alanlarda yetersiz kalmaktadır (Sönmez ve Işık, 2013).

Modern yaşamla birlikte temelde insan refahı için geliştirilen birçok kimyasalın çevre ve insan sağlığı üzerindeki etkileri ancak 1900'lü yılların ortalarında fark edilmiştir. Modern yaşamın getirdiklerinden ve vazgeçilmezlerinden olan genellikle tedavi maksatlı kullandığımız ilaçların yaşantımızda önemli bir yeri vardır (Sönmez ve Işık, 2013).

Farmosötik maddeler organik kimya biliminin gelişmesine paralel olarak 20. yüzyılda insan hayatına yaygın bir şekilde girmeye başlamış ve günümüze kadar kullanılan miktar ve çeşitleri de sürekli artış göstermiştir. Farmosötik maddeler, günümüzde modern toplumların gerek beşeri ve gerekse veteriner alanlarında artık vazgeçilmez bir yer almıştır. Öte yandan, daha hassas analitik yöntemlerin kullanılmaya başlanmasıyla beraber sucul ve diğer ortamlarda yapılan araştırmalar sonucunda, kullanılan beşeri ve veteriner ilaçlarının çeşitli ortamlarda bulunduğu ortaya konmuştur. Söz konusu bu kimyasal maddelerden kaynaklanan mikro kirleticilerin görülmesi ve bunların bu ortamlarda yaşayan canlılara olan olumsuz etkilerinin ortaya konması, endişeleri arttırmıştır (Heberer, 2002; Daughton and Ternes, 1999; Halling-Sorensen et al., 1998; Ternes, 1998 ; Richardson and Bowron, 1985).

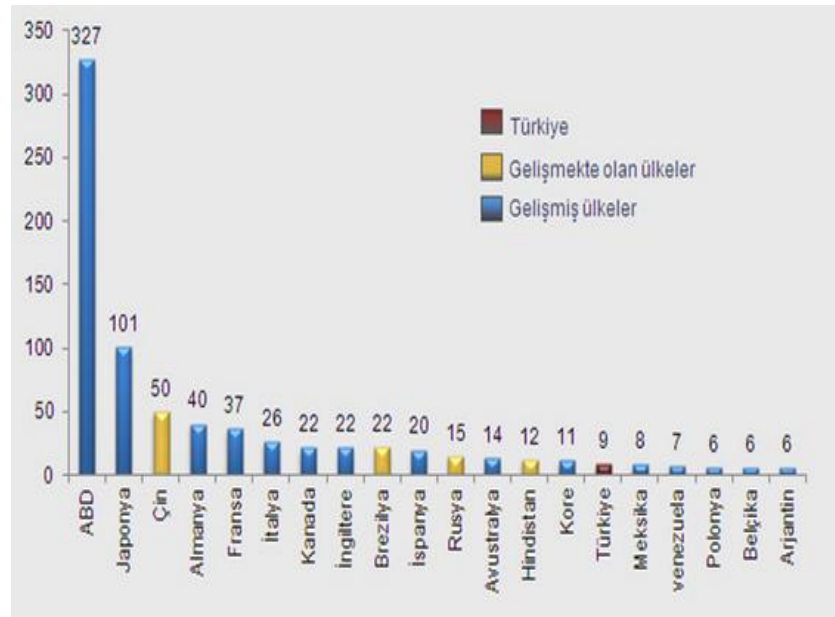
İlaçlar, kolay içilebilmeleri ve uzun süre depolanabilmeleri amacı ile mümkün olduğu kadar dayanıklı ve sıvı fazda hareketlilikleri yüksek olacak şekilde üretilirler. Bu özelliklerinden dolayı, ilaç içindeki aktif maddeler ve biyotransformasyon ürünleri, ekosistemde birikerek çeşitli etkilere sebep olabilirler. Antibiyotikler, ağrı kesiciler ve ateş düşürücü ilaçlar, betablokerler, kolesterol ilaçları, sitostatik ilaçlar, sentetik steroidler v.b. çeşitli araştırmalarla ekosistemde tespit edilen ilaçlardır (Duong et al., 2008; Ruhoy and Daughton, 2008).

2.1.1 Farmasötik maddelerin üretim ve tüketim oranları

İlaç sanayi; sanayi, beşeri ve veteriner hekimlikte tedavi edici, koruyucu ve besleyici olarak kullanılan sentetik, bitkisel, hayvansal ve biyolojik kaynaklı kimyasal maddeleri farmasötik teknolojiye uygun olarak, bilimsel standartlara göre belirli dozlarda basit veya bileşik farmasötik şekiller haline getiren ve seri olarak üreterek tedaviye sunan bir sanayii dalıdır (İlaç Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, 2001).

İlaç sanayi, en yüksek katma değer sağlayan sektörlerin arasında yer almaktadır. Dünya ilaç sektörü son yıllarda hızlı bir büyüme süreci içerisine girmiştir. Dünya ilaç sektörünün büyümesinde demografik değişim, ortalama yaşam süresinin artışı, hastalık paternlerindeki değişimler, sosyal küreselleşme, sağlık hizmetlerine erişimdeki anlamlı artış ve sosyal devlet olgusunun doğuşu önemli rol oynayan etmenler olmuştur. (İlaç ve Eczacılık Ürünleri Sektör Raporu, 2014).

Dünya ilaç pazarı, 2012 yılında, 961 milyar dolara ulaşmıştır. Pazarın %80'ini Kuzey Amerika, Avrupa ve Japonya pazarları oluşturmaktadır. Ancak artık bu pazarlar, büyümeyi tetikleyen ana oyuncu konumlarını kaybetmektedirler. Ülkemizin de aralarında bulunduğu pharmerging adı verilen gelişmekte olan ilaç pazarlarının önemi ve büyümeye etkisi artmaktadır. Bunun temel nedeni ise bu ülkelerde milli gelirin büyümesi, sağlık hizmetlerine erişimin artması ve kalitenin yükselmesidir. Şekil 2.1 de Dünya'da önemli ilaç pazarı durumundaki ülkeler sıralaması verilmiştir (İEİS, 2013).



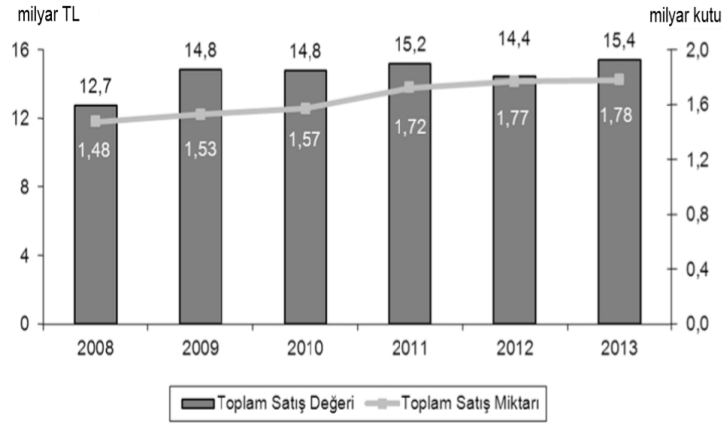
Şekil 2.1 Dünyada ilaç pazarı (Milyar \$,2012)

IMS Health 2012-2016 tahminlerine göre, ilaç pazarında büyümenin, gelişmiş pazarlarda %1-4 arasında, gelişmekte olan ve Türkiye'nin de aralarında olduğu gelişme yolundaki pazarlarda ise % 14-17 arasında olacağı öngörülmektedir (IMS, 2013).

Kimya sanayi üretimi içinde incelenen dönemde yaklaşık % 20'lik bir paya sahip olan ilaç sanayi, yıllık 100 milyon ABD doları civarında ilaç ve ilaç hammaddesi ihracatı, batı ülkeleri seviyesine ulaşmış ileri teknoloji düzeyi ile ülke ekonomisinde dikkat çeken sektörlerden birini oluşturmaktadır. Bugün biyoteknoloji ve bazı çok yeni ilaç üretim teknolojileri dışında Avrupa Birliği ülkelerindeki hemen her ilacı üretebilecek teknolojik düzeye ulaşmış olan Türk ilaç sanayinde, iç tüketimin yaklaşık % 81,5'i yerli üretimle, geriye kalan kısım ise ithalat ile karşılanmaktadır (İEİS, 2005).

Türkiye ilaç sektöründe önemli ve büyüyen bir pazar konumundadır. 2013 yılında, Türkiye ilaç pazarı, son iki yıldır dolar bazında küçülmekte olan ve 2012 yılında TL bazında %4,8'lik daralmayla 14,4 milyar TL'ye (8,03 milyar dolar) gerileyen Türkiye ilaç pazarı, yapılan iskonto düzenlemesi ve ithal ürünlerdeki artış nedeniyle, 2013 yılında % 6,5 büyüyerek 15,4 milyar TL'ye (8,06 milyar dolar) ulaşmıştır. Kutu ölçeğinde ise küçük bir genişleme yaşanmış ve 1.78 milyar kutuluk

satış gerçekleşmiştir. Şekil 2.2.' de ülkemizde yıllara göre ilaç satış değer ve hacmi görülmektedir.



Şekil 2.2 Türkiye ilaç endüstrisinin toplam satış değeri ve hacmi (İEİS,2013)

Türkiye ilaç sektöründe yaklaşık 300 firma faaliyet göstermektedir. Sektör, 2011 yılında 11,2 milyar ABD Doları düzeyindeki ilaç piyasası ile Avrupa'da 6. , dünyada 16. sırada yer almıştır. 15'i yabancı sermayeli olmak üzere 68 ilaç üretim tesisi bulunmakta, yaklaşık 30.000 kişi istihdam edilmektedir. Ülkemizdeki yabancı sermayeli firmaların 15'i üretimlerini kendi tesislerinde yapmaktadır. Sektörde, ileri teknolojiye uyum sağlayacak yüksek eğitim görmüş personel istihdamı ve buna bağlı olarak teknik bilgi düzeyi giderek artmaktadır (İlaç Sektörü Raporu, 2013).

Sağlık Bakanlığı verilerine göre, ülkemizde 68 ilaç üretim tesisi (15'i yabancı sermayeli) ve 64 üretici firma (13'ü yabancı) ile 12 hammadde üretim tesisi (6'sı yabancı) ve 10 hammadde üreten firma (4'ü yabancı) bulunmaktadır (İlaç Sektörü Raporu, 2013).

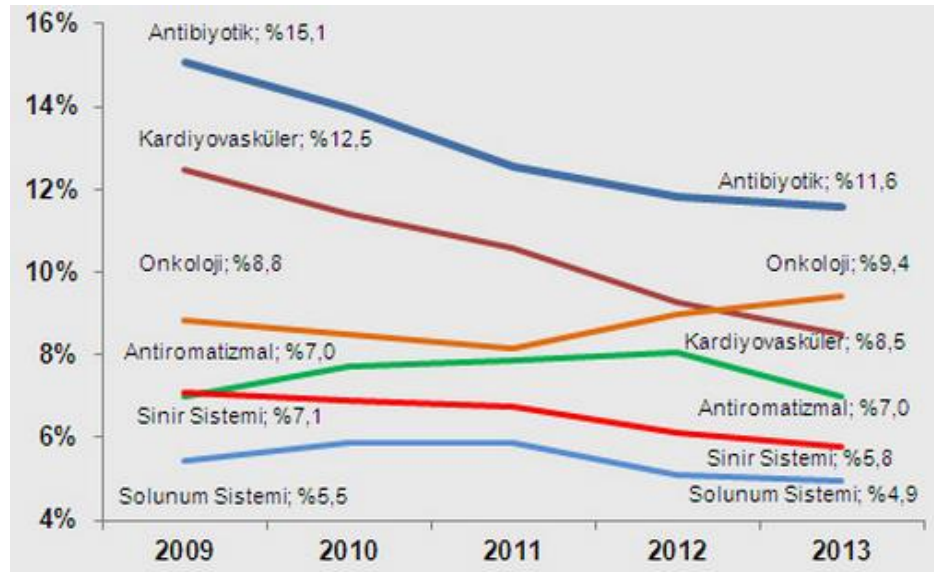
2011 yılında 1 milyar 556 milyon kutu olan Türkiye reçeteli ilaç pazarı 2012 yılında %2,8 artış göstererek 1 milyar 600 milyon kutuya ulaşmıştır. 2012 yılında üretilen 1 milyar 600 milyon kutunun %78,1'lik oranı yani yaklaşık 1 milyar 249 milyon kutusu Türkiye'de üretilmiştir. 2011 yılında Türkiye reçeteli ilaç pazarı değer

bazında 13,98 milyar TL iken 2012 yılında bu oran %5,9 azalarak 13,15 milyar TL olmuştur (İlaç Sektörü Raporu, 2013).

Türkiye’de 3.100 çeşit ilaç üretimi yapıldığı bilinmektedir. Diğer taraftan farklı dozajlar ve değişik farmasötik yapılar ile bu rakam yaklaşık 8.000 civarına çıkmaktadır (İlaç Sektörü Raporu, 2013).

Sektörde genellikle antibiyotikler, analjezikler olmak üzere birçok ilaç etken maddeleri üretilmekte olup ilaç üretiminde kullanılan hammaddelerin yaklaşık %80’i ithalat ile sağlanmaktadır. 2012 yılı itibariyle Türkiye’de kullanılan ilaçların kutu bazında yaklaşık %75,1’i ülkemizde üretilmektedir. Ancak, ithal edilen ilaçların maliyeti, yurt içinde üretilen ilaçların maliyetinden daha yüksektir. Bazı ilaçlar, ileri teknoloji gerektirdiği için yalnızca dünyadaki belirli merkezlerde üretilmektedir. Ayrıca, ülkemizde tüketimi az olan ve üretimi ekonomik olmayan bazı ilaçların üretimi de yapılmamaktadır. Ülkemizde genellikle çok yeni, koruma altında ve/veya ileri teknoloji gerektiren preparatlar, bazı aşılar, kan ürünleri, bazı kontrollü salım sistemine sahip olan ilaçlar, insülin ve kanser ilaçları, bazı hormonlar, radyonüklidler, bazı oftalmolojik preparatlar ve antidotlar gibi farklı tedavi grubundaki ilaçlar ithal edilmektedir. Türkiye İlaç Sektörü’nde genellikle lisans altında üretim, fason üretim, jenerik/eşdeğer ilaç üretimi ve ilaç etkin madde üretimi yapılmaktadır (İlaç Sektörü Raporu, 2013).

Pazarda, tutar ölçeğinde, en çok tüketilen tedavi grupları arasında antibiyotikler ilk sırayı korurken, son 5 yılda pazar payları %15,1’den %11,6’ya düşmüştür. Kardiyovasküler, sinir ve solunum sistemi ilaçlarında da pazar payı kayıpları yaşanırken, onkoloji ilaçlarının ise pazar paylarını artırdıkları görülmektedir (Şekil 2.3.) (İEİS, 2013).



Şekil 2.3 Tedavi gruplarına göre ilaç tüketimi (IMS; İEİS, 2013)

Tedavi alanında, 2014 yılı itibarı ile onkoloji, diyabet, multipl skleroz ve HIV ilaçlarında %10 artış beklenmektedir. Bununla birlikte; yine aynı süreçte jenerik ilaç pazarının önemli ölçüde büyüyeceği öngörülmektedir (IMS Health, 2013).

2.1.2 Çevre mevzuatında ilaç sanayi

İnsanın sağlıklı bir çevrede yaşaması Anayasa'nın 56. Maddesi ile garanti altına alınmıştır. Bu maddede “Herkes dengeli bir çevrede yaşama hakkına sahiptir. Çevreyi geliştirmek, çevre sağlığını korumak ve çevre kirlenmesini önlemek devletin ve vatandaşların ödevidir.” Denmektedir (Türk Çevre Mevzuatı,1999).

Bütün vatandaşların ortak varlığı olan çevrenin korunması, iyileştirilmesi; kırsal ve kentsel alanda arazinin ve doğal kaynakların en uygun şekilde kullanılması ve korunması; su, toprak ve hava kirlenmesinin önlenmesi, ülkenin bitki ve hayvan varlığı ile doğal ve tarihsel zenginliklerin korunarak, bugünkü ve gelecek kuşakların sağlık, uygarlık ve yaşam düzeyinin geliştirilmesi ve güvence altına alınması için yapılacak düzenlemeleri ve alınacak önlemleri, ekonomik ve sosyal kalkınma hedefleriyle uyumlu olarak belirli hukuki ve teknik esaslara göre düzenlemek 2872 Sayılı, 11.08.1983 tarihli

Çevre kanunu ile amaçlanmaktadır. Bu kanuna göre; her türlü atık ve artığı çevreye zarar verecek şekilde, ilgili yönetmeliklerde belirlenen standartlara ve yöntemlere aykırı olarak doğrudan veya dolaylı biçimde alıcı ortama vermek, depolamak, taşımak, uzaklaştırmak ve benzeri faaliyetlerde bulunmak yasaktır. Kirlenme ihtimalinin bulunduğu durumlarda ilgililer kirlenmeyi önlemekle; kirlenmenin meydana geldiği hallerde kirleten, kirlenmeyi durdurmak, kirlenmenin etkilerini gidermek veya azaltmak için gerekli tedbirleri almakla yükümlüdürler (11 Ağustos 1983,ve 18132 Sayılı Resmi Gazete).

Tehlikeli atıkların kontrolü yönetmeliğinde belirtilen, tehlikeli atıkların üretiminden nihai bertarafına kadar geçen aşamalardan insan sağlığına ve çevreye zarar verecek şekilde doğrudan veya dolaylı biçimde alıcı ortama verilmesinin önlenmesini, üretiminin ve taşınmasının kontrolünün sağlanmasını, yeterli bertaraf tesisi kurulması ve bu tesislerin çevresel bakımdan sağlıklı bir şekilde kontrolünü, çevreyle uyumlu yönetiminin sağlanması ilaç sanayi açısından önemlidir. Tehlikeli atıkların kontrolü yönetmeliğinde EK 3’de belirtilen farmasötik ürünlerin üretiminden ve hazırlanmasından kaynaklanan atıklar, farmasötik ilaç artıkları tehlikeli atık kategorisine girmektedir (Tehlikeli Atıkların Kontrolü Yönetmeliği, 2005).

Tıbbi atıkların kontrolü yönetmeliğinin amacı sağlık kuruluşlarından kaynaklanan tıbbi atıkların halk sağlığına ve çevreye zarar vermeden ayrı olarak toplanması, geçici depolanması geri kazanılması, taşınması ve nihai bertaraflarının sağlanmasına yönelik idari, teknik ve hukuki prensip, politika ve programların belirlenerek uygulanmasını sağlamaktır. Tıbbi atıkların kontrolü yönetmeliğinde tıbbi atık ünitelerinden kaynaklanan patolojik ve patolojik olmayan, enfekte, kimyasal ve farmasötik atıklar ile kesici-delici malzemeler ve sıkıştırılmış kapları olarak tanımlanmaktadır. Yönetmelikte deney hayvanlarının kullanıldığı laboratuvar, eczane ve ilaç depolarından kaynaklanan atıklar ilaç sanayi bünyesinde oluşan atıklar kapsamında değerlendirilebilir (Tıbbi atıkların kontrolü yönetmeliği, 1993).

2.2 Antibiyotikler

Antibiyotikler, mantar veya benzeri mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, mikroorganizmaların ve başka canlıların gelişmesini durdurma (biyostatik) ve hatta bunları öldürme (biyosidal) gücü bulunan doğal ya da kimyevi maddeler olarak adlandırılmaktadır (Öner, 1992).

Antibiyotikler tıpta kullanılan tüm ilaçlar içinde “mucize ilaç” olarak isimlendirilmektedirler. Kullanıma girmelerinden günümüze kadar uzun bir süreç geçmemesine rağmen bu ilaçlar ile ilgili gelişmeler hızla artmış aynı zamanda kullanımları sırasında ve sonrasında ortaya çıkan önemli sorunlar da gündeme gelmiştir (Akalin, 1994).

2.2.1 Antibiyotiklerin sınıflandırılması

Antibiyotikleri çeşitli kriterlere göre sınıflandırmak mümkündür. Mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine, etki mekanizmalarına, kimyasal yapılarına ve farmakokinetik özelliklerine göre sınıflandırılabilirler. Vücut sıvılarında oluşturdukları konsantrasyonlarda mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre bakteriyostatikler ve bakterisidler olmak üzere iki şekilde sınıflandırılırlar. En sık kullanılan sınıflama olan antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması Çizelge 2.1’deki gibidir (Ulusoy, 1999; Aktuğlu, 1997; Chambers, 2001; Akkan, 1997).

Çizelge 2.1 Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması (Ulusoy, 1999; Aktuğlu, 1997; Chambers, 2001; Akkan, 1997)

Bakteri hücre duvar sentezini bozan ve litik enzimleri aktive edenler	Beta-Laktamlar	Sefalosporinler
		Penisilinler
	Glikopeptitler	Teikoplanin
		Vankomisin
	Sikloserin	
	Basitramisin	
Sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar (Deterjan etkisi yapanlar)		Polimiksinler
		Amfoterisin B
		Azoller
		Ketokonazol
		İtrakonazol
30S yada 50S Ribozomlarına bağlanarak protein sentezini geri dönüşümlü olarak bozanlar (bakteriostatik)		Flukonazol
		Tetrasiklin
		Eritromisin
		Klindomisin
		Pristinomisin
30S ribozomuna bağlanarak protein sentezi değiştiren ve hücre ölümüne neden olanlar		Aminoglikozitler
		Streptomisin
		Neomisin
		Kanamisin
		Gentomisin
Bakteriyel nükleik asit metabolizmasını değiştirenler (DNA ve RNA sentezini bozan)		Rifampisinler (RNAPolimeraz inhibisyonu)
		Kinolonlar (topoizomeraz inhibisyonu)
Bakteriyel antimetabolitler		Trimetoprim Sülfonamidler
Antiviraller		

2.2.2 Antibiyotiklerin kullanım alanları ve ekolojik etkileri

Antibiyotikler tüm dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Gelişmekte olan ülkelerin sağlık bütçelerinin %35'i antibiyotiklere harcanmaktadır. Antibiyotikler birçok gelişmekte olan ülkelerde yanlış ve aşırı kullanılmaktadır. Bazı ülkelerde ise antibiyotikler reçetesiz olarak eczanelerde, hatta marketlerde dahi satılabilmektedir (Isturiz, 2000). Dünyada antibiyotiklerin kullanım

oranlarına bakıldığında; çoğunlukla kullanılan antibiyotikler Türkiye için; penisilin (%45), sefalosporinler (%20), makrolidler (%17,5), kinolonlar (%17) ve tetrasiklinlerdir (%4) (Karabay ve Hosoglu, 2008). ABD’de; iyonoforlar/arsenikaller (%47,5), tetrasiklinler (%15,8), penisilinler (%4,3) ve sülfonamidlerdir (%2,3). İngiltere’de ise tetrasiklinler en çok kullanılan antibakteriyel bileşiklerdir. Bundan sonra sırasıyla sülfonamidler, β -laktamlar, makrolidler, aminoglikosidler, flurokinolonlar ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır (Ungemach et al., 2006). Finlandiya’da en yaygın tüketilen ilaç tetrasiklinler (%28) iken; Avusturya’da makrolidler (%26); Danimarka ve İsveç’de ise dar spektrumlu penisilinlerdir (%40) (Cars et al.,2001).

Türkiye’de hayvan yetiştiriciliğinde özellikle tetrasiklin grubu antibiyotikler kullanılmaktadır (Karcı vd., 2010). Ancak bu amaçla kullanılan antibiyotiklerin %90’ına kadar olan kısmının dışkı ile atıldığı yapılan bir çalışma ile belirlenmiş olup, toprak ve gübre örneklerinde tetrasiklin ve sülfonamidlerin sırasıyla 46 mg/kg ve 91 mg/kg’a varan miktarlarda tespit edildikleri bildirilmiştir (Martinez- Carballo, 2007).

Antibiyotiklerin ana kaynakları; evler, hastaneler, sağlık ocakları (tıbbi tedavi, kullanılmayan ilaç uzaklaştırılması), kümes hayvanları ve çiftlik hayvanları besleme işlemleri (büyüme artırıcıları) ve ilaç üreticileridir (Kulis et al.,2003; Türkdogan ve Yetilmezsoy,2009). Kanalizasyon, tıbbi atıklar, endüstrideki aktiviteler, antibiyotik ve ilaç üreten endüstriler, gıda üretimi, ev gereçleri, ürünler üzerine spreyleme, çiftlik hayvanlarının üretimi, balık çiftlikleri gibi faaliyetler antibiyotiklerin temel kaynaklarını oluşturmaktadır (Daughton and Ternes, 1999; Halling-Sorensen et al., 1998; Ternes, 1998).

Veterinerlik hizmetlerinde kullanılan antibiyotikler, maliyetlerinin ucuz olması ve tüketiciler tarafından kolay temin edilebilmesi yüzünden tercih edilmektedir. Bu durum çevresel açıdan sorun oluşturmaktadır (Karcı vd., 2010). Böylece ekosistemdeki organizmalara ve biyolojik arıtma sistemlerindeki mikroorganizmalarda toksisite meydana getirerek ekolojik dengeyi bozmaktadır (Topal vd.,2012).

Antibiyotikler veteriner amaçları için veya hayvan çiftliklerinde büyüme artırıcıları olarak kullanılırsa gübrelerden toprağa doğru sızabilir ve yeraltısuyuna

biyolojik ayrışabilirlikleri düşük olduğundan toprakta, sedimentlerde ve süzülme sonucu yeraltı sularında birikirler (Çelebi ve Sponza, 2007). Ayrıca atıksu arıtma tesislerinin çıkış sularında da bulunabilen antibiyotikler yüzey suları için bir kirlilik unsuru olabilmektedir (Halling-Sorensen, 1998; Kümmerer et al., 2000). Arıtma tesisinden alınarak araziye yayılmış olan arıtma çamurlarında da antibiyotik kalıntıları bulunabileceğinden yağmurlar sonucunda sızma ile sucul çevreye ulaşabilir. Ayrıca yüksek lokal konsantrasyon toprak organizmalarını etkileyebilir (Halling-Sorensen et.al.,1998).

Penisilinler ve amfisilin gibi bazı antibiyotikler sucul çevrede kolaylıkla biyolojik olarak bozunabilir. Bununla beraber tetrasiklinler, eritromisin, metrodinazol ve sülfametokzol gibi birçok antibiyotik, klasik atıksu arıtma teknikleriyle kolaylıkla giderilmeyebilir (Kulis et al., 2003; Türkdoğan ve Yetilmezsoy, 2009; Halling-Sorensen et al.,1998). Ayrıca, sülfonamidler gibi çeşitli antibiyotikler çamur, toprak, sediment ve gübreye güçlü bir şekilde bağlanır ve biyolojik parçalanmaları zorlaşır (Türkdoğan ve Yetilmezsoy, 2009). Bu durum, suda ve toprakta yaşayan organizmalar için $\mu\text{g/L}$ – mg/L derişim aralığında toksik etki yapar ve ekolojik dengeyi negatif yönde etkiler (Halling-Sorensen, 1998).

2.2.3 Antibiyotiklerin tespiti

Son yıllarda, yüzey sularda ve kentsel atıksulardaki antibiyotiklerin tespiti için kullanılan bazı analitik yöntemler araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Elektrosprey sıralı kütle spektrometresi ile birleştirilmiş sıvı kromatografisi (LC), LC kütle spektrometresi (MS) ile online katı faz ekstraksiyonu (SPE) (CDC, 1990; Vanderbroucke-Grauls, 1993), SPE ve HPLC (Cohen, 1992), Diod-array UV detektörü ve bir florasan dedektörü ile birlikte offline SPE ve HPLC (Goldmann vd., 1996), SPE ve Silika kartuş temizleme ile birleştirilmiş LC-Elektrosprey sıralı MS (Shlaes vd., 1993), UV-Diod-Sıralı tespit ile kapiler bölge elektroforez (Schentag, 1995) gibi farklı analizleme metotları ve teknikleri ile ilgili çeşitli makaleler bulunmaktadır (Topal vd., 2013).

2.3 Arıtım Mekanizmaları

Günümüzde atıksu arıtımında fiziksel, kimyasal, biyolojik ve ileri arıtım yöntemleri uygulanmaktadır. Birincil arıtımda, atıksu arıtma tesislerinde atıksuyun katı içeriğinin giderildiği bilinmektedir. İkincil arıtım biyolojik sistemlerle ilgilidir ve atıksudan organik maddeler giderilmektedir (Roberts and Thomas, 2006; Gomez et al 2006; Bendz et al., 2005; Kolpin et al.,2004).

Geleneksel evsel atıksu arıtma tesisleri büyük oranda tesise düzenli gelen organik maddeler ile azot ve fosfor gibi nütrientlerin giderimi üzerine projelendirilmiştir. Kullanılan birçok tıbbi ilaç ise atıksu arıtma tesislerinde metabolitleri (ara ürün) ve farklı kimyasal yapılarından dolayı farklı oranlarda arıtmakta veya hiç arıtilamamaktadır. Arıtma tesislerindeki ilaçların giderim oranları üzerindeki çalışmalar çoğunlukla giriş ve çıkış suyu konsantrasyonlarının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Giderim oranları, kullanılan arıtma teknolojisine, hidrolik bekletme süresine, mevsimsel koşullara ve arıtma tesisinin performansına bağlı olarak büyük değişiklikler gösterebilmektedir (Heberer 2002, Clara et al., 2004, Carballa et al., 2004).

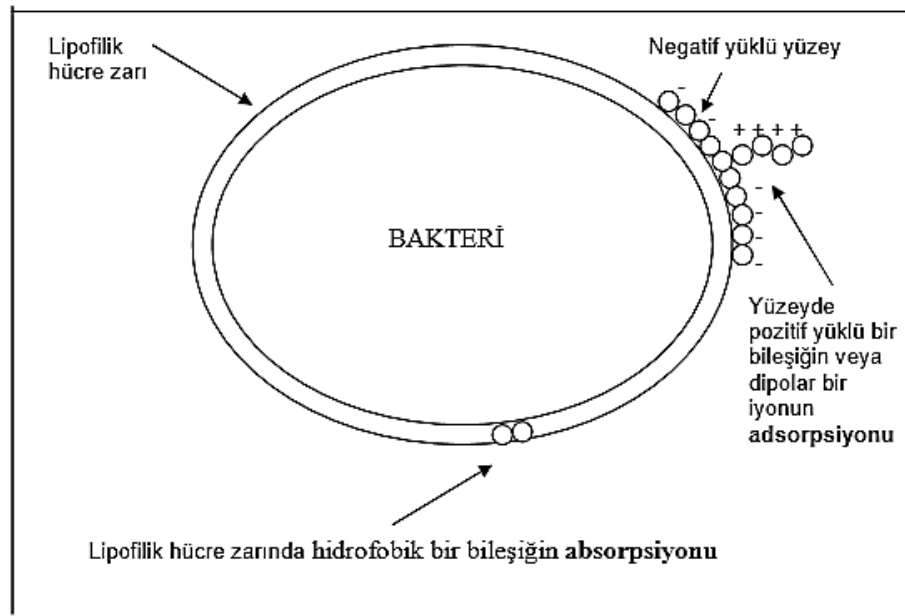
2.3.1 Abiyotik süreçler

Düşük adsorpsiyon katsayılı bileşikler sıvı fazda kalma eğilimindedir ve atıksu arıtma tesislerinden alıcı ortama ulaşırlar. Bu yolla ağrıkesiciler, antibiyotikler gibi sıvı fazda kalan bazı farmasötik kimyasallar çamura adsorplanırlar. Özellikle adsorplanabilme özelliği biyolojik parçalanmanın temel basamağını da oluşturması bakımından son derece önem taşır. Eğer bir organik madde aktif çamur biyokütlesi bakımından adsorplanabiliyorsa biyolojik olarak da parçalanabilme şansı vardır. Çünkü herhangi bir maddenin hücre içine taşınabilmesi için, öncelikle hücre tarafından tutunabilmesi gerekmektedir. Aksi durumda parçalanma oranı son derece düşük olabilir. Bu nedenle atıksulardaki renkli ve renksiz organik kirleticilerin gideriminde adsorpsiyon işlemi önemli bir yer tutmaktadır (Ohlenbusch et al., 2000; Godfrey et al., 2007; Quntana et al., 2005).

Abiyotik giderim mekanizmalarına sorpsiyon, sıyırma ve uçuculuk, abiyotik hidroliz, abiyotik oksidasyon örnek olarak verilebilir.

2.3.1.1 Sorpsiyon

Atıksu arıtma tesislerinde organik mikrokirleticilerin aktif çamura sorpsiyonu iki ana mekanizmaya bağlıdır: adsorpsiyon ve absorpsiyon. Absorpsiyon bir bileşiğin düz ve halkalı grupları ile mikroorganizmaların lipofilik hücre membranı ve çamurların lipit kısmının hidrofofik etkileşimidir. Adsorpsiyon bir kimyasalın pozitif yüklü grupları ile biyokütlenin negatif yüklü yüzeyi arasındaki elektrostatik etkileşimlerdir (Schwarzenbach et al., 2003). Şekil 2.5’de bahsedilen mekanizma görülmektedir.



Şekil 2.5 Çamur üzerinde organik bileşiklerin absorpsiyonu ve adsorpsiyon mekanizması (Golet et.al.,2002)

2.3.1.2 Sıyırma ve uçuculuk

Uçucu parçalanmaya karşı dayanıklı maddeler, sıyırma ve uçuculuk yoluyla su fazından havaya taşınabilir. Sıyırma mekanik havalandırmadan dolayı aktif bir proses, uçuculuk ise difüzyondan dolayı pasif bir işlemdir (Poseidon., 2005).

2.3.1.3 Abiyotik hidroliz

Abiyotik hidroliz, su ve ksenobiotik organik bileşikler arasındaki reaksiyondur. Ksenobiotik organik bileşiklerin metabolitlerine parçalanması sonucu oluşmaktadır. Ksenobiotik organik bileşiklerden hidrolize karşı hassas olanlar alkil halidler, amidler, karbamik asitler ve esterlerdir (Connell, 1997).

2.3.1.4 Abiyotik oksidasyon

Atıksulardaki abiyotik oksidasyon, oksidanlar (O_2 , NO^{-3} vb.) ve tipik olarak ilave oksijen içeren ksenobiotik organik bileşikler arasındaki reaksiyonlardır. Proses çözünmüş oksijenin konsantrasyonuna, nitrat ve ksenobiotik organik bileşiğin özelliklerine bağlıdır (Connell, 1997).

2.3.2 Fiziko-Kimyasal arıtma

Biyolojik sistemler gerekli Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) ve Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ₅) giderme verimlerini her zaman sağlayamaz. Bu durumda fazla KOİ, BOİ₅ ve Askıda Katı Madde (AKM)'yi gidermek için fizikokimyasal arıtma uygulanır. En çok kullanılan koagülantlar alüminyum sülfat ve polimerlerdir. (Kanat, 2011).

2.3.3 Pıhtılaştırma-Yumaklaştırma

Kendiliğinden çökelmeyen ve stabil halde olan bu taneciklerin fiziksel ve kimyasal etkilerle stabilliğinin bozulması işlemi pıhtılaştırma (koagülasyon) olarak tanımlanır. Yumaklaştırma (flokülasyon) işlemi ise, pıhtılaşmış taneciklerin yumaklar teşkil ederek çökebilir büyüklüğe ulaşmasıdır (Şengül ve Küçükgül, 1995).

2.3.4 Biyolojik arıtım

2.3.4.1 Aerobik arıtım

Aerobik arıtımda en sık kullanılan yöntem aktif çamur yöntemidir. Aktif çamur sistemi dengeleme, havalandırma, çöktürme ve dezenfeksiyon süreçlerinden oluşur. Aktif çamur kolloidal çözünmüş maddelerin mikroorganizmalar ile çökebilir biyolojik floklara dönüştürüldüğü süreçtir ve bu süreçte havalandırma havuzu içindeki mikroorganizmaların askıda tutulması esastır. Biyolojik arıtma ünitesi, havalandırma sonucu organik maddelerin askıda büyüyen mikroorganizmalar tarafından parçalanması prensibiyle çalışır. Mikroorganizmaların organik maddeleri oksitlemesi sonucu organik maddeler ya okside olur ya da biyokütleyle dönüşür. Gereken arıtma veriminin sağlanması için oluşan biyokütlenin bir kısmı çöktürme kademesinde fazla çamur olarak sistemden atılırken, bir kısmı havalandırma ünitesine geri verilir. Aktif çamur sürecinde bakteriler en önemli mikroorganizmalardır, çünkü organik maddelerin parçalanmasından sorumludurlar. Bu sistemde genellikle filamentli bakteriler kullanılır (Burkinshaw and Willmott, 1994).

2.3.4.2 Anaerobik arıtım

Anaerobik arıtma, kısaca, organik ve inorganik maddelerin, oksijenin yokluğunda mikroorganizmaların yardımıyla parçalanarak CO_2 , CH_4 , H_2S ve NH_3 gibi nihai ürünlere dönüşmesi olarak açıklanabilir. Anaerobik arıtma ilk olarak sadece çamurların çürütülmesi amacıyla kullanılmaya başlanmış, ancak atıksularda aerobik arıtmaya kıyasla avantajlarının keşfedilmesinden sonra bu alanda da yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle enerji maliyetlerinin önemli bir problem olduğu günümüzde, aerobik arıtmaya nazaran daha az enerji gerektirmesi ve hatta proses sonucu ortaya çıkan metanın enerjiye dönüştürülebilmesi anaerobik arıtmanın daha da yaygın bir şekilde kullanılmasına neden olmuştur (Debik ve ark. 2008).

Anaerobik arıtma prosesi oldukça karmaşık bir prosestir. Birçok unsur anaerobik arıtma mekanizmasına etki eder. Bunlardan belli başlıcalar; pH, alkalinite, sıcaklık,

amonyak inhibisyonu, sülfür, toksik maddeler, katı madde türü (kolay ayrışabilir, orta derecede ayrışabilir ve zor ayrışabilir organik katı maddelerin dağılımı) nütrientler, uçucu asitler, gaz üretimi, metan oluşumu vb. olarak sayılabilir (Debik ve ark 2008).

Dengeye ulaşan bir tesiste pH, olağan olarak 7-8,5 arasındadır. Bu değer 6,2'nin altına inmesi, metan bakterileri üzerinde toksik etki yaratır. Metan oluşturuca bakteriler için en uygun pH değerleri nötr veya hafif alkali değerlerdir. Anaerobik şartlarda fermentasyon işlemi devam ederken 7- 7,5 arasında değişir (Debik ve ark 2008). Substrat içinde ne kadar çok organik madde bulunursa, asit üreten bakteriler de o kadar çabuk gelişirler. Bu da 1. fazda ara ürünlerin yığılmasına ve böylece de arıtma tesisinde asit konsantrasyonunun artmasına; pH değerinin düşmesine neden olur. Üretilen asitlerin fazla oluşu, ortamın metan bakterilerinin yaşaması için elverişli olmayan bir hale gelmesine neden olur. Bu gibi durumlarda reaktöre organik madde yüklenmesi kesilerek asit oranının düşmesi sağlanır (Öztürk 2007).

Anaerobik arıtım genelde mezofilik sıcaklıklarda gerçekleştirilir. Bunun ana nedeni, termofilik sistemlerin kararlılığının daha düşük olması ve daha kolay proses arızaları oluşturma riskidir. Buna rağmen son 15 senede birçok tam ölçekli termofilik tesis devreye alınmıştır. Ayrıca Danimarka'daki tüm merkezi biyogaz tesisleri de termofilik şartlarda çalışmaktadır. Tüm bunlar termofilik proseslerin etkin izleme ve kontrol yoluyla oldukça kararlı bir şekilde çalıştırılabildiğinin bir göstergesidir (Hartmann et al.. 1999).

Ortamda işletme esnasında TUA/Alkalinite oranı 0,1 değerini aşmamalıdır. Ortamın pH'sının düşmesi ve bunun sonucu olarak, alkalinitenin azalması durumunda sistemin alkalinitesinin ilave kimyasallar ile arttırılması gereklidir. Yaygın olarak kullanılan kimyasallara örnek olarak Ca(OH)_2 , NaHCO_3 , Na_2CO_3 , NaOH , NH_3 veya NH_4HCO_3 verilebilir (Rittmann and McCarty 2001).

Anaerobik mikroorganizmaların moleküler oksijene duyarlılığı farklı mikrobiyal gruplar arasında oldukça farklılık gösterir. Metanojenler gibi, bazıları aşırı derecede duyarlıdır ve belirlenebilir oksijen sınırının altındaki seviyelerde inhibe edilirler.

Birçok *Clostridium* gibi diğerleri, oksijene nispeten hoş görülüdür ve kısa süreli maruz kalmaya dayanabilir. Zorunlu anaeroblar, herhangi bir enerji üreten basamakta ya da anabolik veya katabolik reaksiyonlarda da oksijeni kullanmaz (Johnson, 1999).

Anaeroblar, farklı oksidasyon reduksiyon potansiyellerinde (redoks potansiyeli, E_h) büyüyebilme yeteneklerine göre sınıflandırılırlar. E_h , bir çözeltideki maddelerin elektronları verme ya da alma (yani oksitlenmiş ya da indirgenmiş hale gelmesi) eğiliminin bir ölçümüdür. Pozitif E_h değerleri anaerobların büyümesini inhibe edecektir, ama sınırlayıcı E_h , E_h yı ayarlama iş gören oksidant (lar)a bağlıdır. Bazı anaeroblar O_2 'den başka bir maddenin E_h yı artırması halinde pozitif redoks potansiyelinde büyüyebilme yeteneğindedir. Mikrobiyal türe bağlı olarak fakültatif anaeroblar +300 ve -420 mV arasında büyüyebilirken obligat anaeroblar -150 ila -420 mV arasında yaşayabilirler. E_h çözünmüş oksijen varlığıyla yükseldiğinde, çoğu obligat anaerob -100 mV dan daha yüksek bir E_h da inhibe edilir. Bazı metanojenler gibi zorunlu anaeroblar -330 mV dan daha yüksek bir E_h da büyümeye başlamayacaktır (İşçen, 2006; Johnson, 1999).

Arıtılacak madde ile onun arıtımını yapacak olan mikroorganizma sık sık bir araya gelmeleri sağlamak gerekir. Bu da hidrolik bekleme süresinin uygun seçilmesi ile sağlanabilir. Hidrolik bekleme süresi prosesin yürümesi ve gerçekleşmesi açısından çok önemlidir. Hidrolik bekleme süresinin en doğru seçilmesi halinde, çok daha fazla gaz elde etmek mümkündür (Anacak, 2012).

Anaerobik arıtma biyolojik bir proses olduğundan arıtmada en önemli pay mikroorganizmalara aittir. Dolayısıyla anaerobik arıtmada birçok farklı mikroorganizma türü rol oynar. Ancak temel işlevi iki grup mikroorganizma gerçekleştirir. Bunlar; asit bakterileri ve arkelerin büyük çoğunluğunu oluşturan metanojenlerdir. Çizelge 2.2’de anaerobik sistemlerde etkin olan başlıca mikroorganizma grupları verilmiştir (Öztürk, 2007).

Çizelge 2.2 Başlıca anaerobik mikroorganizmalar grupları (Öztürk,2007)

Asit Bakterileri	Bütirik ve propiyonik asit üretenler
	Asetik asit üretenler
Metan Bakterileri	Asetik asit kullananlar
	Hidrojen kullananlar

Anaerobik arıtmanın avantajları

Geleneksel aktif çamur yöntemiyle kıyaslandığında anaerobik arıtma şu temel avantajları sağlar (Lettinga, 1995; Speece, 1996):

- * Teknik olarak basit ve yatırımı düşük reaktörlerde gerçekleştirilir.
- * Enerji kullanmaz, hatta biyogaz şeklinde faydalı enerji üretir.
- * Yeni reaktör teknolojisi ile yüksek hidrolik yükleme ve bunun sonucu olarak daha düşük reaktör hacmi mümkün olmaktadır.
- * Besin gereksinimi geleneksel aktif çamur yöntemine göre daha düşüktür;
KOİ:N:P oranı 750:5:1 oranlarında tutulabilir.
- * Substratın büyük bölümü biyogaza dönüştüğünden, çamur üretimi oldukça düşüktür.
- * Anaerobik reaktörlerdeki mikroorganizmalar, uzun süre karbon kaynağı beslemeden spor formuna geçiş ile aktivitelerini koruyabilmektedirler. Bu özellik, mevsimsel çalışan şeker, gıda, konserve gibi endüstriler için anaerobik teknolojiyi cazip kılmaktadır.

Anaerobik sistemler çok yüksek organik yüklemelerde çalıştırılabilmektedir. Buna karşın, aerobik sistemlerde oksijen transferi sınırlı olduğundan yüksek organik yükler uygulanamamaktadır. Bu durumda, KOİ değeri 5000 mg/l'den büyük olan atıksuların arıtılmasında anaerobik sistemlerin kullanılması daha verimli arıtma sağlamaktadır (Rittmann and McCarty, 2001).

Aktif çamur prosesinde temel eleman havalandırma havuzudur. Havalandırma havuzunda oluşan hava kabarcıkları, askıda bakterilerin büyümesine ve atıksu içindeki organik maddelerin okside olmasını sağlar. Ancak havalandırma teçhizatları, atıksu arıtma tesisinde kullanılan toplam enerjinin % 50'sinden fazlasını tüketir (Tuluk, 2007).

Bu yüzden anaerobik arıtma prosesi gibi havalandırma ihtiyacı olmayan dolayısıyla daha az enerji tüketen prosesler, aerobik arıtma prosesine göre tercih edilmektedir (Demirel ve Yenigün, 2002). Anaerobik arıtmanın aerobik arıtmaya nazaran daha az enerji ihtiyacının olmasının yanı sıra üretilen metanın da enerji olarak bir değeri vardır (Metcalf and Eddy, 2003).

Anaerobik arıtmanın dezavantajları

Yukarıda sayılan avantajlarının yanında anaerobik arıtmanın bazı dezavantajlarının olduğu iddia edilmiştir. Tarihsel olarak anaerobik arıtmanın yavaş ve sınırlı sayıda organik atığın arıtımı için uygun olduğu ve anaerobik arıtmanın yüksek KOİ'li atıklar için (>5 g/L) yüksek sıcaklıkta (yak. 35 °C) ve yüksek hidrolik bekleme sürelerinde işletilmesi gerektiği kabul edilmiştir. Oysa son yıllarda yapılan araştırmalar bu varsayımların geçersiz olduğunu göstermiştir (Stuckey, 1998).

Atıksuyun alkalinitesinin düşük olması da anaerobik arıtma için bir dezavantajdır. Bu sorun kalsiyum karbonat gibi bazı kimyasallar kullanılarak önlenabilir. Atıksuyun sülfat içeriği yüksek ise sülfat indirgeyici bakteriler sülfatı hidrojen sülfüre dönüştürürler. Bu da koku problemine neden olur. Klorlu organikler anaerobik arıtmada aerobik arıtmaya göre daha zararlıdır. Düşük sıcaklıklarda arıtma hızı düşüktür. Anaerobik arıtmanın gerçekleştirilmesi için atıksuyun C/N/P oranı 300/5/1 veya 500/5/1 olacak şekilde ayarlanmalıdır (Çoban, 2009).

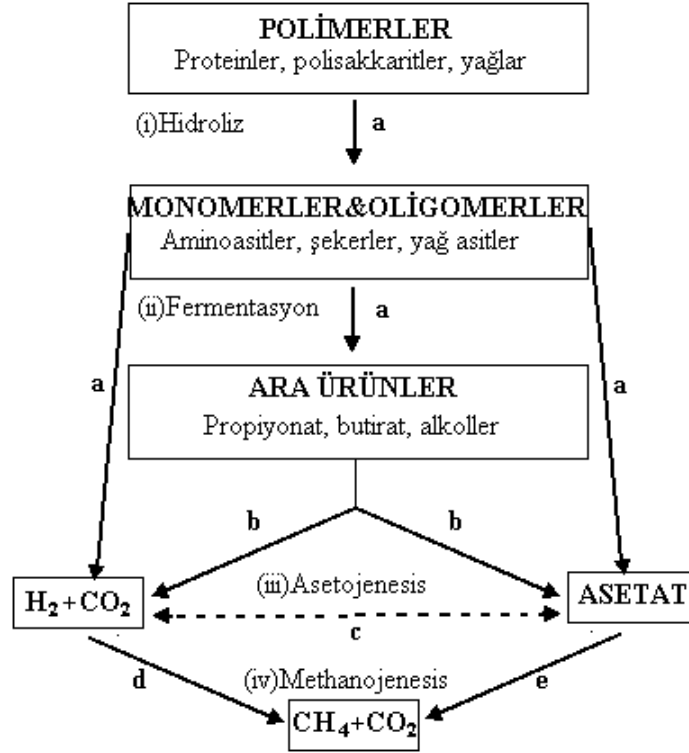
Bütün bu avantajlar ve dezavantajlar göz önünde bulundurularak anaerobik arıtma yapılıp yapılmayacağına karar verilmelidir. Bunun için de atıksuyun karakterizasyonu iyi yapılmalıdır.

Anaerobik arıtım ve aşamaları

Anaerobik arıtma temel olarak üç safhada gerçekleşir (Debik vd., 2008).

1. Yüksek yoğunluklu organik maddelerin hidroliz sonucu düşük yoğunluğa sahip organik maddelere dönüştürülmesi,
2. Düşük yoğunluklu organik maddelerin asit bakterilerince asetata dönüştürülmesi,
3. Metan bakterileri tarafından asetat, H_2 ve CO_2 'den metan üretimi.

Atıkların içinde bulunan büyük moleküllü organik bileşikler (yağ, protein, karbonhidrat, selüloz, hemiselüloz v.d.) metan bakterilerinin membranlarından geçemeyecekleri için önce diğer bakteri kültürlerinin ortak etkisi altında ve anaerobik koşullarda; bu yüksek moleküllü maddeler alçak moleküllü yağ asidi, alkoller gibi maddelere parçalanmaktadırlar. Bu maddeler de metan bakterileri tarafından substrat olarak alınmakta ve kullanılmaktadır. Metan bakterileri de bu asit oluşturuıcı bakteriler sayesinde yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Asitleşme fazını da metanlaştırma fazı atıklarını zararsız hale getirir. Büyük moleküllü bileşiklerden her iki ana fazın bakterileri doğrudan doğruya yararlanamadıkları için, arka arakaya sıralanmış glikoz moleküllerini monomer haline gelinceye kadar parçalamaları gerekmektedir. Bu işi gerçekleştirebilmeleri için de hücre dışı metabolik faaliyet göstererek, hücre dışına, 1. Oksidoredüktazlar, 2. Transferazlar, 3. Hidrolazlar, 4. Lüazlar, 5. İzomerazlar, 6. Ligazlar gibi enzimler salgılamaktadırlar. Bu enzimler de anılan maddelerin parçalanmasını sağlamaktadırlar. Bu anılan enzimlerin önemli katkıları ile uzun halkalı yağ asitleri, gliserol, aminoasitleri, kısa halkalı peptidler, monosakkaridler, disakkaridler daha sonra asit oluşturuıcı özel bakteriler tarafından asetik asit' e kadar parçalanırlar. Fakültatif yaşayan bu bakteriler yaşamları için gerekli olan enerjiyi üretirken oksijene ve karbona ihtiyaçları vardır. Ortamda kalan son oksijeni de kullanarak metan bakterileri için mutlak gerekli olan oksijensiz ortamı hazırlamış olurlar. Çözünmüş oksijen ortamda kalmayınca da, moleküler bağımlı oksijeni kullanmaya başlarlar. Bu arada da hidroliz sırasında oluşmuş molekülleri, daha basit moleküllere dönüştürürler. Molekül ağırlıklarını azaltırlar. Nihai ayrışma ürünü de asit ve benzeri ürünlerden oluştuğu için de ortamın pH'sı 7' nin altına oldukça düşmektedir (Anacak, 2012). Şekil 2.6'da bu safhalar detaylı olarak gösterilmektedir.



Şekil 2.6 Anaerobik arıtımda reaksiyon basamakları (Angenent et al., 2004a)

Hidroliz safhası

Hidroliz safhası kimi zaman asidojen safhasıyla tek bir safha olarak düşünülüp hidroliz ve asidojen safhası adı altında toplanır. Bu safha asıl olarak hücrelerin dış enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Hücre dışı enzimler büyük moleküllü organik maddelerin daha küçük moleküllü organik maddelere dönüşümünü sağlarlar. Hidroliz safhası hücre dışı enzimlerin gerçekleştirdiği bir proses olduğundan enzimlerin çalışma şartlarını etkileyen faktörler bu safhanın hızını da etkiler. Hidroliz safhasının hızını etkileyen faktörler ortam pH'ı, sıcaklığı ve en önemlisi hidrolik bekletme süresidir. Hidrolik bekletme süresi yeterli olmadığında organik maddeler tam olarak hidroliz olamaz. Dolayısıyla bir sonraki safhada asit bakterilerinin uçucu asitlere dönüştürmek üzere ihtiyaç duyduğu basit yapıları organik maddelerin miktarı yetersiz olmuş olur. Bu da zincirleme olarak daha az organik madde giderimine ve daha az metan üretimine

sebebiyet verir. Genel olarak hidroliz safhası anaerobik arıtma için sınırlayıcı faktör değildir, ancak çok yavaş hidroliz olan organik maddelerin arıtıldığı anaerobik arıtma proseslerinde sınırlayıcı safha olabilir (Fachagentur et al., 2008).

Asidojenik ve Asetojenik faz

Asit üretimi safhasında hidroliz ürünleri öncelikle ara ürün olan uçucu yağ asitlerine sonra da asetik asite dönüştürülür. Reaktördeki işletme şartlarının kararlı olmaması halinde, hidroliz ürünleri asetik asit yanında propiyonik, butirik, izobutirik, valerik ve izovalerik asit gibi iki karbonludan yüksek yağ asitlerine dönüştürülür. Kararlı anaerobik süreçlerdeki yağ asitleri konsantrasyonu 100-300 mg HAc/L seviyelerindedir. Anaerobik reaktörlerin işletmeye alma safhasında uçucu asit konsantrasyonu < 1000-1500 mg HAc/L olmalıdır. Asit üretimi safhasında rol alan iki farklı bakteri grubundan birinci grup bakteriler (fermantasyon veya asidojenik bakteriler) organik polimerlerin hidrolizinde ve sonrasında da açığa çıkan hidroliz ürünlerinin organik asit ve solventlere dönüştürülmesinde rol alırlar. Asidojenik bakteri türlerinden bazıları (asetojenler) karbonhidratları kullanarak asetik asit üretirler. Asetik asit bakterileri çoğalmaları için gerekli olan enerjiyi, organik asit ve solventlerin asetik asit, H_2 ve CO_2 'e parçalanması sonucu açığa çıkan enerjiden sağlarlar. Asetik asit üreten bakteriler sadece H_2 kullanan mikroorganizma alt grupları ile birlikte yaşarlar. Asetik asit bakterileri aynı zamanda H_2 üreten asetojenik bakteriler olarak da anılmaktadır (Öztürk, 2007).

Metan üretimi safhası

Metan üretimi safhasında metanojenler vasıtasıyla asetatin parçalanmasından ve/veya hidrojen ve karbondioksitin sentezinden metan oluşur. Metan iki şekilde oluşmasına karşın % 70 oranında asetik asitin parçalanmasından oluşur (Öztürk, 2007).

Metanajen fazda, metan bakterileri asit ve benzeri nihai ürünleri CO_2 ve CH_4 'e kadar parçalarlar. Fermentasyon sırasında asit oluşturucularla metan oluşturucular karşılıklı yardımlaşma halinde yaşamaktadırlar (Metcalf and Eddy 2003).

Asit oluşturucuların salgıladıkları enzimler, protein ve aminoasitlerinin amonyum tuzları haline dönüşmesini sağlar. Metan oluşturucular da azot gereksinimlerini bu tuzlardan temin ederler. Diğerk taraftan da metan oluşturucu bakteriler de asit oluşturucuların metabolizma ürünlerini gazlaştırarak ortamın toksikleşmesini durdururlar (Metcalf and Eddy 2003).

Metan üretimi, yavaş bir süreç olması nedeniyle, anaerobik arıtmada hız kısıtlayıcı basamak olmaktadır. Hidrojen ve karbondioksitten metan üreten bakteriler, asetik asitten metan üretenlere göre çok daha hızlı gelişirler (İşçen, 2006).

Anaerobik arıtmada en önemli mikroorganizmalar metan arkeleridir. Metan arkeleri asetik asit kullanarak çoğalırlar. Günümüze kadar yapılan araştırmalarda asetatin metana dönüşümünden *Methanosaeta* ve *Methanosarcina* cinslerinin sorumlu olduğu bilinmektedir. *Methanosaeta* cinsleri çubuksu mikroorganizmalar olup sadece asetik asiti karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilirler. *Methanosarcina* cinsleri ise yuvarlak şekilli olup asetat, metanol, metilaminler ve bazen hidrojeni kullanarak kümeler halinde çoğalırlar. Bu cinslerden hangisinin anaerobik arıtma sürecinde etkin rol oynadığını genellikle ortamdaki asetat konsantrasyonu belirler. 60 mg/L'nin üzerinde asetat konsantrasyonunda *Methanosarcina* cinslerinin daha aktif rol aldığı bilinmektedir. Bu değerin altında ise *Methanosaeta* cinsleri asetat kullanımında faaliyet göstermektedirler. Düşük asetat konsantrasyonlarında *Methanosaeta*'nın etkinliğı, düşük asetat eşik değeriine sahip olmasına da bağlıdır. Bu sebeple yapılan araştırmalarda sürekli fazda çalıştırılan anaerobik reaktörlerde işletme şartlarının kararlı olması halinde *Methanosaeta* cinslerinin aktif organizma topluluğu içerisinde baskın olduğu bulunmuştur (Öztürk, 2007).

Anaerobik arıtmada metan üretiminde hidrojen kullanarak çoğalan arkelerin faaliyeti oldukça önemlidir. Metan arkeleri arıtma sürecinde H₂ konsantrasyonunu sürekli düşük seviyelerde tutarak sistemdeki diğerk organizmaların yaşamalarını sağlamaktadırlar. Biyolojik elektronalıcıları olarak da adlandırılan bu arkeler asetat kullananlara göre daha dağınık bir yapı sergilemektedir. *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanosprillum* ve *Methanococcus* cinsleri anaerobik arıtma

sürecinde görülen en yaygın arkelerdir. Spesifik çoğalma hızları $0,8-4,1 \text{ gün}^{-1}$ arasında değişmektedir (Öztürk, 2007).

2.3.5 İleri arıtma yöntemleri

İleri arıtım yöntemlerinden önemli giderim mekanizmaları, ozonlama, membran biyoreaktörleri, UV ve aktif karbonu içermektedir.

2.3.5.1 Ozonlama

Ozon arıtımında organik kimyasalların oksidatif parçalanması, ya moleküler ozonla doğrudan reaksiyonla ya da hidroksil radikalleriyle meydana gelebilir (Staehelin and Hoigne, 1985). Yarı ömrünün kısa oluşu ozonlamanın en büyük dezavantajıdır. Alkali şartlarda ozonun bozunması hız kazandığı için atık suyun pH'ı dikkatle izlenmelidir. Kısa yarı ömrüne bağlı olarak ozonlamanın sürekli olması gerekliliği ve yüksek maliyeti diğer bir dezavantajıdır (Robinson et al., 2001).

2.3.5.2 Membran biyoreaktörleri

Genellikle membran biyoreaktörleri (MBR) yüksek enerji (1 Wkm^3) ve maliyete sahiptirler. MBR'ler hassas ve ileri yüzey suyu arıtımı gerektiren ve alan miktarı az olan yerlerde ekonomik olarak kullanılmaktadır (Walter, 2001). MBR'ler ileri atıksu arıtım teknolojisi olarak son yıllarda büyük önem kazanmıştır ve organik mikrokirleticilerin gideriminde etkili bir yöntemdir. Farmasetiklerin bazı çeşitlerinin gideriminde ters ozmos ve nanofiltrasyon membranlarının etkili olduğu belirtilmiştir (Kolpin, 2004 ; Ternes, 1998 ; Heberer, 2002). MBR'nin önemli bir özelliği; çamurun bekletme süresinin ikincil arıtım yöntemiyle elde edilenin çok daha üzerinde seviyelere çıkarılmasıdır. Birçok kaynakta membran biyoreaktörlerinin yüksek çamur yaşı ile spesifik bileşiklerin büyük çoğunluğunun gideriminin gerçekleştiği gösterilmektedir (Wettstein, 2004; Göbel, 2007). Sucul çevre için membranların önemi kanalizasyondan tehlikeli olmasıdır. Bunun en önemli nedeni katıların tamamen bekletilmesidir. Hidrofobik organik maddeler çamur üzerine birikme eğilimindedir. Bu nedenle bütün

bakteriler sistemde tutulur. İstenilen bileşiklerin giderimi bakterilerin adaptasyonu ile mümkündür (Ivashkin, 2004).

2.3.5.3 Ultraviyole ışınları

Ultraviyole Işınları (UV) suda bazı organik kimyasalları parçalamak için kullanılabilir. Parçalanma, UV enerji absorpsiyonuyla ve bu bileşenin kuantum verimiyle yönetilir (Kim et al., 2005). Çözünmüş organik karbon konsantrasyonu, UV miktarı ve temas süresi giderim verimini etkileyen önemli faktörlerdir (Le-Minh et al., 2010).

2.3.5.4 Aktif karbon

Aktif karbonla adsorptif arıtma, sudan pek çok hidrofobik ilacın giderilmesi için kullanılabilir (Snyder et al., 2003). Aktif karbona antibiyotiklerin sorpsiyon verimi, kullanılan aktif karbonun tipi, hedef bileşiklerinin giriş konsantrasyonu, pH, sıcaklık ve çözeltinin çözünmüş organik karbon konsantrasyonu gibi bazı faktörlerle değişebilir (Rivera-Utrilla et al., 2009). Adsorpsiyon mekanizması, bir adsorbentin yüzeyinde ki moleküllerin fiziksel ve kimyasal bağlarından oluşur (Le-Minh et al., 2010).

2.4 Deneysel Tasarım

Deneysel yöntemler bir araştırma konusuna ilişkin veri elde etmek amacı ile araştırıcının kontrolünde, neden- sonuç ilişkilerini belirlemeye dönük, toplanmak istenen verilerin üretilmesi çalışmalarıdır (Yazıcıoğlu ve Erdoğan, 2004).

Diğer veri toplama yöntemlerinde varolan durum çeşitli yöntemlerle gözlenmekte, belirlenmektedir. Deneysel yöntem ise etkisi ölçülecek etkenin, belirli kurallar ve koşullar altında uygulanması, etkenin etkene yaptığı etkini ölçümü ve elde edilen sonuçların karşılaştırılarak sonuca ulaşması çalışmalarıdır. Deneysel yöntemlerde araştırmacı varolan ortamda belli konularda belli kurallarla çalışabileceği gibi, çoğu zaman belli koşullar yaratarak yapay bir ortam oluşturmaktadır. Heriki durumda da veri

elde etme işlevi araştırmacının kontrolü altında gerçekleşmektedir (Yazıcıoğlu ve Erdoğan, 2004).

Deneyssel yöntemlerle yapılan bir araştırmada, her durumda bir karşılaştırma söz konusudur. Bu belli bir ögenin kendi içindeki değişimleri yada ögeler arası ayırımların karşılaştırılması anlamında olabilmektedir (Yazıcıoğlu ve Erdoğan, 2004).

Deney tasarımı, bir sürecin performansını iyileştirmek amacıyla, süreci etkileyen faktörler üzerinde değişiklikler yaparak, sürecin çıktısı üzerindeki değişkenliklerin gözlemlenmesi ve yorumlanmasıdır.

Deney tasarımında amaç; önemli faktörlerin etkisinden önemsiz olan diğerlerinin ayrılması ve önemli parametreler için optimum değerleri elde etmektir. Aynı anda birçok faktörün etkisinin görülmesinde, faktörler arasındaki etkileşimin araştırılmasında, deneylerden elde edilen bilgilerin artırılmasında rahatlıkla kullanılabilir. Deneyssel tasarımın en önemli amacı, zamanı ve maliyeti en aza indirmektir.

Bunlar göz önüne alındığında fermentasyon maliyetini düşürmek amacıyla deney tasarımından endüstriyel uygulamalarda yarar sağlayacaktır. Gelişen biyoteknolojide bu tip deneyssel tasarım kullanımı artmıştır. Optimizasyon problemlerinin çözümüne yönelik kaynaklarının AR-GE çalışmalarında deneyssel tasarım yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.4.1 Çok etmenli (Full faktöriyel) deney tasarımı

Çok sayıda faktörü ve faktörlerin farklı düzeylerini bir arada inceleyen tasarım çok etmenli deney tasarımıdır. Performansa etki eden faktör sayısının 1-5 olduğu durumlarda kullanılan bir deney stratejisidir. Çok etmenli bir deneyde faktörlerin tek başına ve birlikte ürün performansına olan etkilerini belirlemek için gerekli deney sayısı a^k dır (Çizelge 2.3).

a: Faktörün düzey sayısı (a=2, 3, 4)

k: İlgilenilen faktör sayısı

Çizelge 2.3 3^k çok etmenli deney sayısı tablosu

Faktör Sayısı	Deney Sayısı
2	9
3	27
4	81
5	243

3^3 çok etmen deney tasarımının doğrusal modeli aşağıdaki gibidir:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3$$

Bu üç değerden yalnız başına X'ler ana etkilerin değerleridir. Deneysel veriler analiz edildiğinde tüm bilinmeyen " " parametreleri değerlendirilir (Çömlekçi, 2003).

Çizelge 2.4 3^3 Çok etmen deneme birleşimleri

Etmen B	Etmen C	Etmen A		
		0	1	2
0	0	000	100	200
	1	001	101	201
	2	002	102	202
1	0	010	110	210
	1	011	111	211
	2	012	112	212
2	0	020	120	220
	1	021	121	221
	2	022	122	222

3 faktörün 3 farklı düzeylerinin eşleştirilmesi ile 27 farklı (Çizelge 2.3) deneme birleşimi oluşmaktadır (Muluk vd., 2009). Birçok araştırmacı deneylerinde full faktöriyel deney tasarımını kullanmıştır (Chávez, 2005; Li and Wrenn, 2004).

A, B ve C ana etkiler;

AB, AC ve BC birinci derece etkileşimler;

ABC ikinci derece etkileşim

Fisher ayrıca tasarlanmış deneyler için varyans analizi yöntemini geliştirmiştir. Varyans analizi toplam değişkenliği bu değişkenliğe neden olan bileşenlere ayırabilmektedir. İstatistikte kullanılan varyans analizi ve regresyon analizi süreçlerdeki faktörler ve seviyeler arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için kullanılan önemli araçlardır. Varyans analizi tablosundaki p değerleri faktörler ve etkileşimlerin etkisinin istatistiksel açıdan anlamlı olup olmadığını test edilmesi için hesaplanır. Eğer bir süreçte güvenilirlik düzeyi %95 olarak belirlenmişse anlamlılık düzeyi 0,05 ($1-0,95=0,05$)' tir. Analiz sonucunda çıkan her bir p değeri anlamlılık düzeyi olan 0,05 değeri ile karşılaştırılır. Eğer;

p değeri $\leq 0,05$ ise etki anlamlı,

p değeri $> 0,05$ ise etki anlamlı değildir denir.

Deneyssel tasarımdan elde edilen sonuçlar SPSS gibi bazı hazır yazılım programları ile hesaplanabilmektedir. Hesaplamalar sonucunda elde edilen sonuçlar doğrultusunda ana etkiler, birinci ve ikinci derece etkileşimler incelenir. İşleyim toplamalarına veya ortalamalarına dayanılarak ana etkilerin anlamsız olarak değerlendirilmesine karşın, bu durum etmenlerin etkisiz olduğunu açıklamaz. Bu bakımdan etkileşimler anlamlı ise, bir etmenin farklı düzeylerindeki etkiler ayrı ayrı incelenmelidir (Çömlekçi, 2003).

2.5 DNA Dizileme Yöntemleri

Mikroorganizmaların sınıflandırılmasında ve tanımlanmasında kullanılan klasik tekniklerin sınırlı olması nedeniyle, mikrobiyal çeşitlilik ve mikroorganizmaların ekosistemdeki rolü ile ilgili bilgilerimiz oldukça azdır. Mikroorganizmalar birbirine benzerliklerinden dolayı, morfolojik yapılarına göre sınıflandırma yapmak zordur. Metabolik ve biyokimyasal özelliklere dayanan sınıflandırmada karşılaşılan en büyük problem ise; mikroorganizmaların birebir kendi doğal ortamlarını yansıtan kültür ortamlarında yetiştirilememesidir. Bu nedenle mikrobiyal çeşitliliği ve mikroorganizmaların ekosistemdeki rolünü daha iyi anlayabilmek için, tamamlayıcı mikrobiyolojik yaklaşımlara ihtiyaç vardır (Muyzer et.al.,1999).

DNA dizilemesi, bir DNA molekülündeki nükleotid bazlarının (adenin, guanin, sitozin ve timin) sırasının belirlenmesidir. DNA dizilerinin bilinmesi temel biyoloji, biyoteknoloji, adli bilim, tıbbi tanı koyma gibi pek çok sahada vazgeçilmez hâle gelmiştir. DNA dizilemesi biyolojik araştırma ve keşifleri çok hızlandırmıştır. Modern DNA dizileme teknolojilerin mümkün kıldığı hızlı DNA dizileme sayesinde İnsan Genom Projesi'nde insan genomu dizilenmiştir. Benzer projelerle pekçok hayvan, bitki ve mikrop genomunun tam dizisi ortaya çıkarılmıştır. İlk DNA dizileri 1970'lerin başlarında üniversite araştırmacıları tarafından iki-boyutlu kromatografiye dayanan zahmetli yöntemlerle elde edilmiştir. Otomatik analizle çalışan boya-tabanlı dizileme yöntemlerinin gelişimiyle DNA dizilemesi çok daha kolaylaşmıştır (Olsvik et.al.,1993; Pettersson et.al.,2009).

2.5.1 Maxam ve Gilbert yöntemi

Allan MAXAM ve Walter GILBERT'in geliştirdikleri yöntemin prensibi hidrazin, dimetil sülfat ya da formik asitin, DNA'da bulunan bazıları özgül olarak değiştirmesine ve daha sonra eklenen piperidinin değişikliğe uğramış nükleotitlerin bulunduğu noktalardan zinciri kırmasına dayanır (Sambrook et.al.,1989). Bu yöntemde, nükleotit dizisi saptanacak olan DNA önce 5'- ucundan ³²P ile ya da floresan bir boya ile işaretlenir. DNA'nın iki iplikçığı birbirinden ayrılarak ya da DNA uygun bir

restriksiyon enzimi ile kesilerek DNA'nın yalnızca bir ucundan işaretlenmesi sağlanır. İkinci adımda ise DNA molekülleri dört tüpe ayrılarak A, C, G ya da T nükleotitlerini değiştirmek ve kırmak için gerekli tepkimeler gerçekleştirilir. Reaksiyon için kısıtlı bir süre verilerek her tüp de farklı pozisyonlardaki hedef nükleotidlerden kırılmış DNA parçaları elde edilir. Sonuçta kırılmanın olduğu pozisyona göre hepsi 5'-pozisyonlarından işaretli ancak boyları birbirinden farklı bir dizi DNA fragmenti elde edilmiş olur. Elde edilen boyları gittikçe kısalan DNA dizileri, jel elektroforezi ile birbirlerinden büyüklüklerine göre ayrılır ve otoradyografi uygulanarak bantlar görüntülenir (Klug et al., 2000).

Pürinlerin kırılmasında dimetil sülfat kullanılır. Dimetil sülfat ile N7 no' lu pozisyonundan metillenen DNA' ya bazik ortamda piperidin uygulanırsa DNA guanin bazından kırılır. Bazik ortam yerine asidik ortam tercih edilirse bu sefer DNA guanin yerine adenin bazından kırılır. Pirimidin bazlarının kırılması ise hidrazin ile yapılır. Hidrazin DNA' yı hem sitozin hem de timin bazından kırar. Bu iki reaksiyonu ayırmak için ise yüksek tuz derişimi (2M NaCl) ve bazik ortam kullanılır. Yüksek tuz derişimi ile bazik ortamda DNA sitozin bazından kırılır (Klug et al., 2000).

2.5.2 Sanger yöntemi

DNA dizi analizinde kullanılan diğer bir yöntem de Fred SANGER ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem olan zincir sonlanma yöntemidir (Sanger et al., 1977). Bu yöntem enzimatik DNA sentezine dayanır ve günümüzün en yaygın kullanılan DNA dizi analizi tekniğidir. Bu yöntemde dizisi saptanacak olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır. DNA sentezini sağlamak için Klenov, Taq DNA polimeraz, ters transkriptaz ya da sekuenaz enzimlerinden birisi kullanılabilir. Yöntemin temeli DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanı sıra deoksiribozun 3 pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanır. Sentezlenen DNA'ya bir ddNTP'nin katılması 3' pozisyonunda OH grubu olmadığı için sentezi durdurur. Dizi analizi yapılırken dört ayrı reaksiyon karışımı hazırlanır. Her bir karışım kalıp DNA zinciri, bir primer, dNTP'lerin dördü ve az miktarda ddNTP'lerden

birini içerir. Özgül zincir sonlanması için her bir reaksiyonda farklı bir ddNTP bulunur. Reaksiyonların her birinde çok az miktarda modifiye nükleotit kullanıldığı için yeni zincir sentezi rastgele sonlanarak bir dizi DNA fragmenti meydana gelir. Reaksiyonlar sonucu elde edilen DNA parçalarına elektroforez uygulanarak jel üzerinde yan yana yürütülür. Uygulanan elektrikselsel alanın etkisi ile DNA parçacıkları en kısıfı en önde olmak üzere jel üzerinde bir merdiven görüntüsü oluşturur. İşaretleme yöntemine göre jel üzerinde, tespit edilen parçacıklar reaksiyon karışımına konulan ddNTP'nin tipine göre okunur (Klug et al., 2000).

2.5.3 Yeni Nesil DNA Dizileme (NGS)

Son yıllarda geliştirilen yeni nesil DNA dizileme teknolojisi, genetik/epigenetik düzenleyici ağların, kromatin yapısı, nükleer yapılanma ve genom varyasyonları (çeşitliliği) hakkında bilgi üretimini sağlayan önemli bir araç olmuştur. Yeni nesil DNA dizileme sistemleriyle yüksek doğrulukla, ultra hızlı olarak, dizileme yapılabilmektedir. Bu yöntemle elde edilen bir mikrobiyal genom dizisi araştırmacılara başka hiçbir deneysel yöntem ile elde edilemeyecek kadar zengin ve özgün bilgi sağlamaktadır. Örneğin 4.6 Mb'lık *E. coli* genomu tek bir okuma ile tamamlanabilmektedir (Margulies et al., 2005; Üstek, 2011).

Yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılarak insan, bakteri, bitki, virüs gibi pek çok farklı organizmanın genomu hızlı ve doğru bir şekilde dizilenebilmektedir. “Shotgun” dizileme metodu uzun DNA parçalarının dizilenebilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Bu yöntemde büyük boyutlardaki DNA fragmanları yaklaşık 300-800 baz çifti arasında olacak şekilde fiziksel yöntemlerle (sonikasyon, nebulizasyon vb.) parçalanır, oluşan küçük parçaların uçlarına adaptörler takılarak DNA yakalama boncuklarına tutturulurlar. Oluşturulan DNA Kütüphanesi her bir boncuğun üzerindeki dizinin çoğaltılıp dizilenmesi ile okunur ve biyoinformatik yöntemlerle analiz edilerek birleştirilir. Bu yöntem kullanılarak *Drosophila melanogaster* (Adams et.al,2000), *Haemophilus influenzae* (Fleischmann et.al,1995) ve *Homo sapiens* (Venter et.al,1998) genomları dizilenmiştir.

Günümüzde kullanılan yeni nesil dizileme sistemleri, Roche 454 genome analyzer, Illumina Genome Analyzer, Applied BioSystem SOLiD, Complete Genomics, Helios, Pacific Biosciences ve IonTorrent'dir (Üstek, 2011).

Yeni nesil DNA dizileme teknolojisi yeni yaklaşımlar sağlar. Fakat bu kadar çok bilginin depolanması, analizi ve değerlendirmesinde büyük güçlükler vardır. Yeni nesil DNA dizileme teknolojisinin başarılı bir şekilde kullanılması için gelişmiş biyoinformatik analiz araçlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca çok sayıda kısa okuma elde edilmeside önemli bir problemdir. Okuma uzunluğu ve hata oranı konuları üzerinde hala çalışılmaktadır (Üstek, 2011).

3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Antibiyotikler

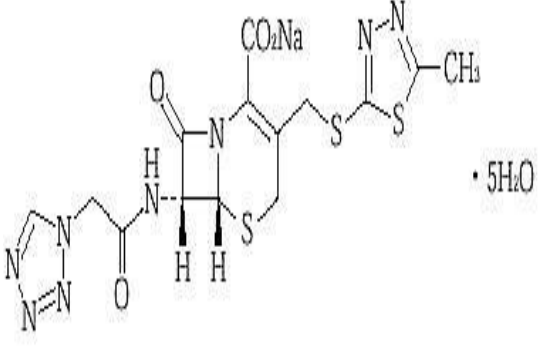
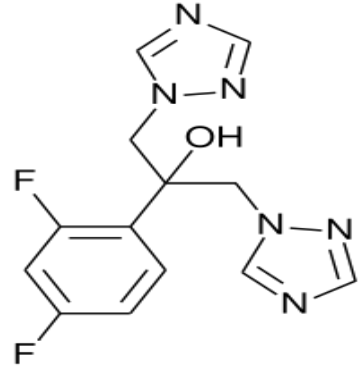
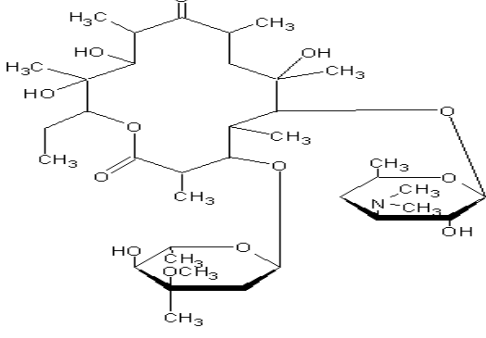
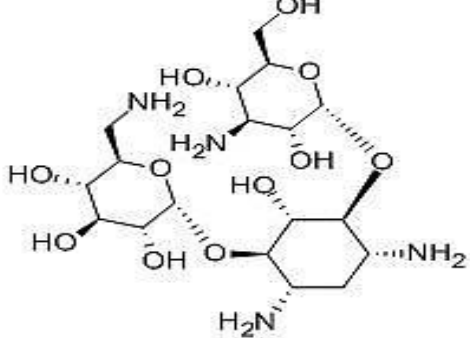
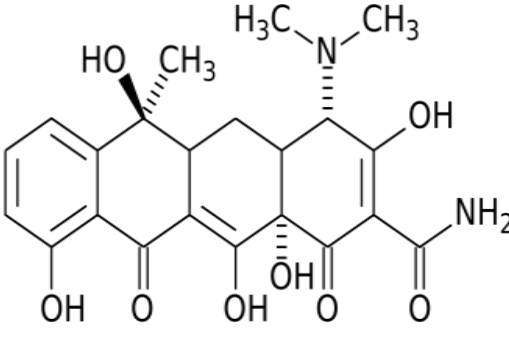
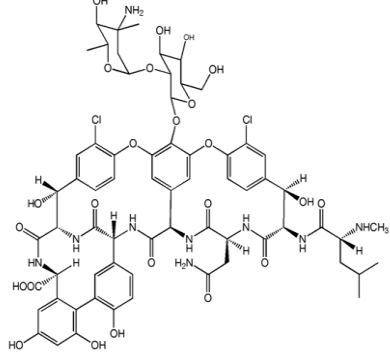
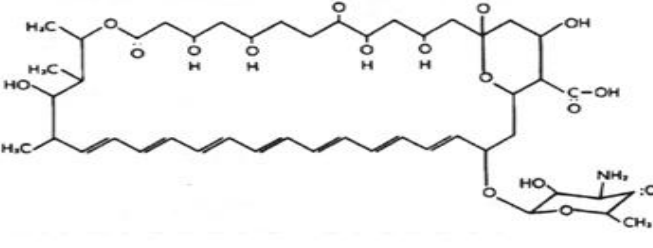
Bu çalışmada kullanılan antibiyotikler; sefamezin sodyum (Zentiva), eritromisin (Sigma-Aldrich), vankomisin HCL (Koçak), flukonazol (MP Biomedicals), amfoterisin b (Sigma), tetrasiklin (Sigma) ve kanamisinsulfat (Roth)'dır.

3.1.1.1 Antibiyotiklerin kimyasal yapıları

Kullanılan antibiyotiklerin açık formülleri Şekil 3.1'de verilmiştir.

3.1.2 Anaerobik çamur

Kesikli ve sürekli reaktör çalışmalarda kullanılan anaerobik çamur Eskişehir Merkezi Atık Su Arıtma Tesis anaerobik arıtım biriminden sağlanmıştır. Kullanımdan önce çamur iyice karıştırılıp, 1 mm por çaplı membran filtreden süzölmüştür. pH, askıda katı madde ve toplam katı madde gibi arıtım açısından önemli özellikleri belirlenmiştir. Çalışma öncesinde anaerobik çamur nişasta içeren besleme solüsyonuyla beslenerek, mikroorganizmaların çoğalması ve aktifleşmesi sağlanmıştır.

 Sefamezin	 Flukonazol
 Eritromisin	 Kanamisin
 Tetrasiklin	 Vankomisin
 Amfoterisin b	

Şekil 3.1 Kullanılan antibiyotiklerin açık formülleri

3.1.3 Çözeltiler ve kimyasal maddeler

Çözeltiler Merck ve Sigma Aldrich, moleküler çalışmalarda kullanılan malzemeler ise Invitrogen markalarından kullanılmıştır.

Çözelti 1: 1N NaOH çözeltisi

NaOH	4 g
Saf su	100 ml'e tamamlanmıştır.

Deneylerde pH ayarlamak için kullanılmıştır.

Çözelti 2: 1N HCl çözeltisi

HCl (%37'lik)	8,4 ml
Saf su	91,6 ml

Reaktör denemelerinde atık suların pH'larının ayarlanmasında kullanılmıştır.

Çözelti 3: 3,56 N KOH çözeltisi

KOH	20 g
Saf su	100 ml'e tamamlanmıştır.

Reaktör çalışmalarında oluşan biyogazdaki metan içeriğinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Azot gazı

Oxitop C şişeleriyle yapılan kesikli reaktör denemelerinde anaerobik koşulların oluşturulmasında kullanılmıştır.

Çözelti 4: Ferroin İndikatör Çözeltisi (Merck 1.09161)

KOİ deneyinde kullanılmıştır.

Çözelti 5: Bazal Ortam (BO)

NH_4Cl	1200 mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	400 mg
KCl	400 mg
$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	300 mg
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50 mg
$(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{HPO}_4$	80 mg
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	40 mg
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
KI	0,5 mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
ZnCl_2	0,5 mg
$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
H_3BO_3	0,5 mg
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
$\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
Na_2SeO_3	0,5 mg
Sistein	10 mg
NaHCO_3	6000 mg
Saf su	1000 ml

Bazal ortam bileşenleri hassas terazide tartılarak saf suda çözündürüldükten sonra atık suya %5, 10 ve 15 oranlarında ilave edilmiştir. Bazal ortam, gaz üretimi üzerine besin ve iz metallerin etkisini belirlemek üzere kullanılmıştır (Demirer and Speece, 1998).

Çözelti 6: Sülfürik Asit Reaktifi

Derişik sülfürik asit	4 kg
Ag_2SO_4	22 g

Asit şişesinde karıştırılır ve 1-2 gün Ag_2SO_4 'ün çözünmesi için beklenir. KOİ deneyinde kullanılmıştır (APHA, 1992).

Çözelti 7: Uçucu yağ asitleri (UYA) stok çözeltisi

Asetik asit	2 g
Propiyonik asit	0,5 g
Butirik asit	0,5 g
$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	0,1 g
Na_2CO_3	1,5 g
Saf su	1000 ml'e tamamlanmıştır.

Yukarı akışlı dolgulu yatak reaktör denemeleri sırasında aşı çamurunun alıştırılması aşamasında kullanılmıştır (Soto et al., 1993).

Çözelti 8: Standart Potasyum Dikromat Çözeltisi (0,25 N)

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	12,259 g
Saf su	1000 ml'e tamamlanmıştır.

103°C'de 2 saat kurutulmuş $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ saf suda çözülür. KOİ deneyinde kullanılmıştır (APHA, 1992).

Çözelti 9: Standart Demir Amonyum Sülfat Titrasyon Maddesi (0,25 N)

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	98 g
H_2SO_4	20 ml
Saf su	980 ml

Bu çözelti günlük olarak standart $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ çözeltisine karşı standardize edilir. KOİ deneyinde kullanılmıştır.

Cıva sülfat (HgSO_4) KOİ deneyinde kullanılmıştır. (Merck 1.04481)

Çözelti 10: Fenolftalein İndikatör Çözeltisi

Fenolftalein	5 g
Etil alkol (%95'lik)	500 ml
Saf su	500 ml

Alkalinite ve uçucu yağ asitleri deneylerinde kullanılmıştır (APHA, 1992).

Çözelti 11: Metil Oranj İndikatör Çözeltisi

Metil Oranj	0,5 g
Saf su	1000 ml

Alkalinite deneyinde kullanılmıştır (APHA, 1992).

Osmatik ayarlama sıvısı (OAS) (SDI)

Toksisite deneyinde kullanılmıştır.

Sulandırma sıvısı (SDI)

Toksisite deneyinde kullanılmıştır.

Diluent (SDI)

Toksisite deneyinde kullanılmıştır.

Çözelti 12: 0,1M HCl asit çözeltisi

HCl (%37'lik)	0,829 ml
Distile su	99,171ml

Toplam aromatik amin deneyinde kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Sentetik atık suyun hazırlanışı

Kesikli reaktör çalışmaları için hazırlanan sentetik atıksuların 1000 ml'de 100 ml bazal ortam ve 100 ml inokulum ortak olarak kullanılmıştır. Kosubstrat çeşidi (propiyonik asit, propiyonik asit-butirik asit-asetik asit karışımı, glukoz) ile antibiyotik çeşitleri ve konsantrasyonları ise değiştirilmiştir.

Sürekli reaktör çalışmalarında ise kesikli çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda en iyi giderim sağlanan antibiyotik grupları belirlenerek sentetik atıksu hazırlanmıştır.

3.2.2 Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ)

Evsel ve endüstriyel atık suların kirlilik derecesini belirlemede kullanılan en önemli parametrelerden biridir. Biyokimyasal oksijen ihtiyacından farklı olarak organik maddenin biyokimyasal reaksiyonlarla değil redoks reaksiyonlarıyla oksitlenmesi esasına dayanır. Atık suların bünyesindeki organik maddeler, kimyasal oksidasyonları için gerekli oksijen miktarı cinsinden belirlenir. Yöntem birkaç istisna dışında tüm organik maddelerin, kuvvetli oksitleyicilerle asit ortamlarda oksitlenebilecekleri esasına dayanmaktadır (APHA, 1992; Özdemir and Eltem, 2001).

- a) 50 ml atık su örneği KOİ balonuna konur (aynı miktarda saf su şahit örnek olarak işleme alınır).
- b) Üzerine 1 g HgSO_4 katılıp karıştırıldıktan sonra 5 ml H_2SO_4 reaktifi katılarak HgSO_4 çözünene kadar karıştırılıp soğutulur.
- c) 25 ml 0.25 N $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ çözeltisi ilave edilir ve karıştırılır.
- d) Kalan 70 ml H_2SO_4 KOİ balonunun ağzından ilave edilir.
- e) KOİ balonuna geri soğutucu bağlanır ve 148°C 'de 2 saat kaynatılır.
- f) Süre bitiminde KOİ balonu soğutulur, çözelti hacmi distile su ile iki katına kadar seyreltilip oda sıcaklığına kadar soğutulur. Daha sonra 2-3 damla ferroin indikatörü ilave edilir.

- g) Demir amonyum sülfat titrasyon çözeltisiyle titre edilir.
- h) Titrasyon dönüm noktası, mavi-yeşilden kırmızı-kahverengiye doğru ilk renk değişiminin olduğu an esas alınır ve titrasyona son verilir.

KOI aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$\text{mg KOI/l} = (A-B) \times N \times 8000 / \text{ml örnek}$$

A: Şahit örnek için kullanılan demir amonyum sülfat çözeltisi miktarı, ml

B: Örnek için kullanılan demir amonyum sülfat çözeltisi miktarı, ml

N: Demir amonyum sülfat çözeltisinin normalitesi

3.2.3 Katı maddeler

Atık su içinde bulunan organik ve inorganik bileşenler hem çözünebilen hem de çözünemeyen halde bulunurlar. Atık su içindeki bu maddeler askıda katı madde (AKM), toplam çözünmüş katı madde (TÇKM) ve uçucu askıda katı madde (UAKM) olarak üç tipte tanımlanırlar. Toplam katı madde (TKM), AKM ile TÇKM'nin toplamı olarak bilinir. AKM ile TÇKM'nin birbirinden ayrılmasında, kullanılan filtre kağıdının gözenek çapı önemli bir faktördür. Süzme sonunda filtre kağıdı üzerinde hem organik hem de inorganik maddeleri içeren bir katı kalır. Ancak filtre kağıdı 550 °C'de yakıldığında organik maddeler yanar ve uzaklaşır, geriye kül olarak inorganik kısım kalır (APHA, 1992).

3.2.3.1 Toplam katı madde (TKM)

Belirli hacimde alınan örnek, sabit tartıma getirilmiş kroze içinde 105°C'de etüvde kurutulmuş ve desikatörde soğutulmuştur. Sabit tartıma gelince hassas terazide tartılmıştır. Aşağıdaki şekilde hesaplama yapılmıştır (APHA, 1992).

$$\text{TKM, mg/l} = (A-B) \times 1000 / \text{ml, örnek hacmi}$$

A: Kroze + örnek ağırlığı, (mg)

B: Krozenin darası, (mg)

3.2.3.2 Askıda katı madde (AKM)

Filtreden geçmeyen katı maddeler olarak ifade edilen askıda katı maddeler su örneğinin filtre kağıdından geçmeyen kısmının 103 °C de etüvde 1 saat kurutulduktan sonra, desikatörde soğutulup tartılmasıyla belirlenmektedir (APHA, 1992).

- a) Önceden standart filtre kağıdı (0,2µm por çaplı) sabit tartıma getirilir.
- b) Belli hacimde su örneği filtre edilir.
- c) Filtre kağıdı 103°C de etüvde en az 1 saat kurutulur.

Hesaplama aşağıdaki şekilde yapılır.

AKM, mg/l= (A-B)x1000/ml, örnek hacmi

A: Filtre Kağıdı + örnek ağırlığı, (mg)

B: Filtre kağıdının darası, (mg)

3.2.3.3 Uçucu katı madde (UKM)

Toplam katı madde deneyi yapıldıktan sonra kap ve içinde kalan maddeler 15-20 dakika 550±50 °C’de fırında tutulur, kap ve içinde kalan maddeler tekrar tartılır (APHA, 1992).

Hesaplama aşağıdaki şekilde yapılır.

UKM mg/l= (A-B)x1000/ml, örnek hacmi

A: Kap+ içindeki madde ağırlığı (fırında yakmadan önce) , (mg)

B: Kap+ içindeki madde ağırlığı (fırında yakıldıktan sonra) , (mg)

3.2.4 pH

pH su içinde bulunan hidrojen iyonları derişiminin eksi logaritması olarak tanımlanır.

$$pH = -\log[H^+]$$

Bu bağıntıya göre hidrojen iyonu derişimi arttıkça pH değeri düşer. Suların pH’ları pH metre (WTW-Inolab) ile ölçülmüştür.

3.2.5 Alkalinite

Alkalinite suyun proton alma kapasitesidir. Sulardaki alkalinite kalsiyum, magnezyum, sodyum ve potasyum hidroksit, karbonat ve bikarbonatları ile amonyağın varlığından ileri gelir. Hidroksit, karbonat ve bikarbonat olmak üzere üç çeşit alkalinite vardır. Alkalinite iki indikatör kullanılarak asit titrasyonu ile tayin edilir. Kullanılan indikatörler fenolftalein ve metil oranjdır. Fenolftalein hidroksit veya karbonat iyonu bulunduğunda pembe renk verir. Pembeden renksiz hale geçtiği pH değeri 10,2-8,3'dür. Metil oranj hidroksit ve karbonatlarla sarı, asitle kırmızı renk verir. Renk değişim pH'ı 4,4'dür.

Alkalinite sonuçları verilirken pH değerine dikkat edilmelidir. $pH > 8,3$ ise karbonat alkalinitesi mevcuttur. $pH > 9$ ise karbonat alkalinitesi ile birlikte hidroksit alkalinitesi de bulunabilir. $pH < 8,3$ ise sadece bikarbonat alkalinitesi mevcuttur (APHA, 1992).

- 10 ml örnek porselen kapsüle konur.
- 2 damla fenolftalein damlatılarak standart H_2SO_4 çözeltisi ile renk pembeden renksiz oluncaya kadar titre edilmiştir (Kullanılan asit çözeltisi P ml olsun).
- Aynı örneğe bu kez 2 damla metil oranj damlatılarak renk sarıdan turuncuya dönünceye kadar titrasyona devam edilmiştir (Toplam kullanılan asit çözeltisi T ml olsun).

Örnekteki alkalinite miktarı Çizelge 3.1'e göre hesaplanır. Buradaki değerler meq/l cinsindendir.

Çizelge 3. 1 Örneğin alkalinite miktarının hesaplanması

Titrasyon Sonucu	Hidroksit Alkalinitesi CaCO ₃ olarak	Karbonat Alkalinitesi CaCO ₃ olarak	Bikarbonat Alkalinitesi CaCO ₃ olarak
P= 0	0	0	0
P<1/2T	0	2P	T-2P
P=1/2T	0	2P	0
P>1/2T	2P-T	2(T-P)	0
P=T	T	0	0

P: Fenolftalein alkalinitesi T: Toplam Alkalinite

3.2.6 Uçucu yağ asitleri

Uçucu yağ asitleri atmosfer basıncında distile edilebilen, suda çözünen yağ asitleri olarak bilinirler. Yüksek kaynama noktasına sahip olmalarına rağmen su ile karışımları damıtmayla ayrılabilir. Damıtma yönteminde uçucu yağ asitleri asetik asit cinsinden hesaplanır. Anaerobik ayrıştırma işleminde kademeler arasındaki uyumu kontrol etmek amacıyla kullanılır.

Uçucu yağ asitlerinin belirlenmesi için, sistemden alınan 5 ml örnek 4500 dev/dak hızla 10 dakika santrifüj edilmiştir. 100 ml saf su ve 5 ml H₂SO₄ çözeltisi eklenmiş ve karışım damıtılmıştır. H₂S ve CO₂ den gelen hataları engellemek için ilk 15 ml’lik distilat atılır. Sonra gelen 150 ml distilat toplanır ve fenolfitalein indikatörü ile 0,1 N NaOH’e karşı titre edilmiştir. Kalıcı pembe renk elde edildiğinde büretten NaOH sarfiyatı okunmuştur. Asetik asit cinsinden uçucu yağ asitleri mg l⁻¹ olarak aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır (APHA, 1992).

$$\text{UYA (mg l}^{-1}\text{)} = \text{NaOH sarfiyatı (ml)} \times \text{N} \times 60000 / \text{numune hacmi (ml)} \times f$$

N: NaOH’in normalitesi

f: Düzeltme faktörü

Derişimi belli olan standart bir asetik asit çözeltisi ile aynı işlem yapılarak düzeltme faktörü (f) aşağıdaki şekilde hesaplanır.

$$f = \text{Distilattan geri kazanılan asit miktarı (mg l}^{-1}\text{)} / \text{Standart çözeltideki asit miktarı (mg l}^{-1}\text{)}$$

3.2.7 Toksisite çalışmaları

Anaerobik arıtım sonunda elde edilen arıtılmış suyun deşarj edildiğinde alıcı ortamda toksik etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Ekotoksikolojik denemeler Microtox toksisite ölçüm cihazı kullanılarak yapılmıştır. Microtox testi üretici firma tarafından belirtilen standart yöntemlere göre yapılmıştır. Denemeler %2 NaCl canlandırma çözeltisi içinde cihazın çalışma prensibine göre 15°C’de, luminesans 490 nm’de gerçekleşmektedir. Deniz bakterisi *Vibrio fischeri* kültürü kullanılarak toksik maddelerin varlığında ışık yayma özelliğinin azalmasıyla belirlenmiştir. Sonuçlar 5 ve

15 dakikada ışık yayılımının %50 sinin kaybolduğu (EC_{50}) konsantrasyon olarak ifade edilmektedir (Gottlieb et al., 2003).

3.2.8 Farklı antibiyotik gruplarını içeren sentetik atıksular için yapılan kesikli reaktör çalışmaları

Bu çalışmada, kesikli koşullarda, istatistiksel temelli deneysel tasarım uygulanarak farklı antibiyotik gruplarının anaerobik arıtımının optimizasyonu çalışılmıştır. Full Faktoriyel denemelerinde (i) farklı antibiyotik grupları, (ii) farklı başlangıç antibiyotik konsantrasyonları (25,50,75 mg/l) ve (iii) kosubstrat çeşidi (propiyonik asit, glukoz, propiyonik- asetik- butirik asit karışımı) değişkenleri esas alınarak 27 farklı deney kurulmuştur. Ardından giderimin en iyi çıktığı üç antibiyotik grubu karıştırılarak farklı antibiyotik konsantrasyonlarında (25,50,75 mg/l) ve farklı kosubstrat çeşidi değişkenleri esas alınarak 9 farklı deney kurulmuştur.

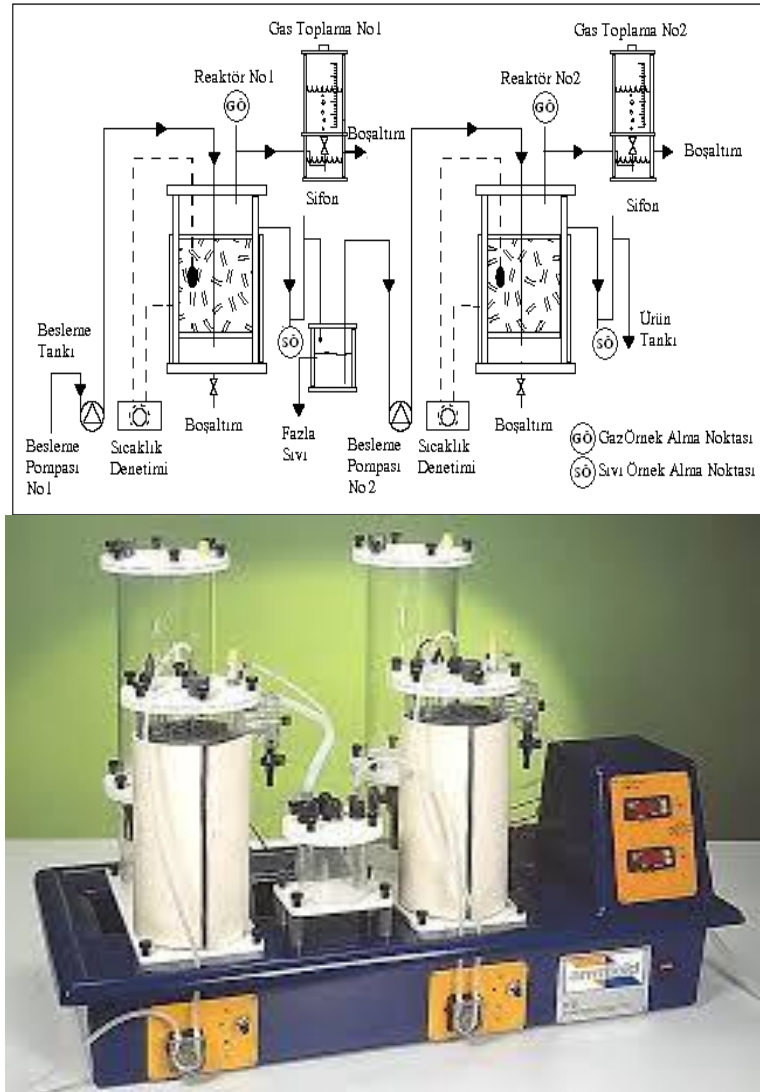
Yukarıda planı verilen deneyler Oxitop C şişelerinde 150 ml çalışma hacminde karıştırmalı şekilde gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.2’de Oxitop C şişelerinin şekli verilmiştir. Anaerobik mikroorganizmaların gelişimleri için gerekli bazal ortam ilavesi yapılmış ve pH 7 ± 0.2 ’ ye ayarlanmıştır. pH stabilitesi $NaHCO_3$ ilavesi ile, çözülmüş oksijenin giderimi ise $Na_2S.9H_2O$ ile sağlanmıştır. Oxitop şişeler (OxiTop® Control AN12, WTW, Weilheim, Almanya) kapatıldıktan sonra 3-4 dakika azot gazı geçirilerek ortamdaki oksijen uzaklaştırılmıştır. Denemeler $35^\circ C$ ’de gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda KOİ giderim oranları belirlenmiştir.



Şekil 3.2 Kesikli reaktör (Oxipop C şişeler)

3.2.9 Yukarı akışlı dolgulu yatak reaktör (YADYR) çalışmaları

Kullanılan dolgulu yatak reaktör şekil 3.3’de görülmektedir. Bu tip reaktörler sabit yataklı filtreler şeklinde de isimlendirilmektedir. Sistem 5 litre sıvı hacmine sahip iki reaktörden oluşmaktadır. Reaktörlerin çalışma hacimleri ise 4,3 litredir. Besleme peristaltik pompa ile değişik hızlarda sağlanmaktadır. Reaktörde kullanılan dolgu materyali plastiktir. İlk reaktörden çıkan sıvı toplama kabına gider. İkinci reaktörün beslenmesi de peristaltik pompa ile değişik hızlarda olmaktadır. 1 ve 2. reaktörlerde üretilen gaz 5 litre kapasiteli kaplarda toplanmaktadır. Gaz toplama, su yer değişimi esasına göre olmaktadır. Her reaktör elektrikli ısıtma battaniyesi ile ısıtılmaktadır.



Şekil 3.3 Yukarı akışlı anaerobik dolgulu yatak reaktör

3.2.9.1 Çevresel faktörlerin kontrolü

Anaerobik reaktörler çevresel faktör değişimlerine çok duyarlı olmaları nedeniyle işletilme sırasında bu faktörlerin düzenli şekilde kontrolü gerekmektedir.

Sıcaklık: Bu tip reaktörlerde optimum sıcaklık 30-37 °C’de arasındadır. Bu nedenle çalışma boyunca sıcaklık 35 °C’de yapılmıştır.

pH Kontrolü: Anaerobik mikroorganizmalar için önemli bir parametre olan pH 6,5-7,8 aralığında korunmuştur. Reaktörde pH, alkalinite ve UYA derişimi uygun günlerde kontrol edilmiştir. Alkaliniteyi 3000 mg l⁻¹ civarında tutmak üzere besleme çözeltisindeki NaHCO₃ miktarı ayarlanmıştır.

Uçucu Yağ Asitlerinin Kontrolü: Uçucu yağ asitleri genellikle 3 g l⁻¹'nin üzerinde anaerobik parçalanma sürecinde iş gören organizmalara toksik etki yaptığı bilinmektedir. Bu nedenle UYA kontrolü önem taşımaktadır.

3.2.9.2 Deneysel çalışma planı

Anaerobik reaktör denemelerinde sürecin kademelendirilmesinde, hidrolik alıkonma süresi, giriş KOİ derişimi ve yükleme hızı gibi parametreler incelenmiştir. Reaktörlerin kontrolüne yönelik olarak pH, alkalinite, uçucu yağ asitleri ve sistemlerin verimlilik özelliklerini değerlendirmek amacıyla KOİ, AKM, biyogaz ölçümleri yapılmıştır.

3.2.9.3 Metan gazının belirlenmesi

Reaktör çalışmalarında gaz üretimleri sıvı yer değıştirme yöntemi ile ölçülmüştür. 20 g l⁻¹ KOH içeren sıvı kullanılmıştır. Kalan gaz atık suyun anaerobik parçalanmasının sonucu olarak yaklaşık üretilen metan gazına denk gelmektedir.

3.2.10 Yeni Nesil Dizileme (NGS) ile DNA dizi analizi

NGS analizi için Bioeksen firmasından hizmet alımı yapılmıştır. Genomik DNA ekstraksiyonu ve 16S rRNA genlerinin PCR ile çoğaltılması DNA ekstraksiyonu için reaktörün aşı çamurundan üç paralel numune alınmış ve -20°C'de saklanmıştır. Genomik DNA izolasyonu için Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Life Technologies, A.B.D.) kullanılmış ve ekstraksiyon kitin önerdiği protokole uygun olarak 0.2 mL çamur örneğinden yapılmıştır. Kullanılan kit hücre parçalaması için

deterjan, protienaz K, lizozim ve elde edilen DNA'nın saflaştırılması için silika kolonları içermektedir.

İzole edilen DNA'ların bakteriyel 16S rRNA bölgeleri Bact8f ve Bact1541r primerleriyle (Lane, 1991), arkeyal 16S rRNA bölgeleri ise Arc46f (Ovreas et al., 1997) ve Arc1384r (Lueders and Manefield, 2004) primerleriyle çoğaltılmıştır. PCR 30 s 95°C (ilk döngüde 10 dk), 30s 53°C, 45 s 72°C koşullarında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP mix, 1x Reaksiyon Tamponu, 0,1U Taq DNA Polimeraz, 5 ng/μl kalıp DNA ve her bir primerden 0,5 μM içeren 20 μl'lik hacimlerde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerinin boyut analizi, %1 (w/v) agaroz jel, 1× Tris–asetat– EDTA tampon çözeltisi (40 mM Tris, 20 mM asetik asit, 1 mM EDTA; pH 8,0) ve 7 V cm⁻¹ koşullarında agaroz jel elektroforez ile yapılmıştır. PCR ürünleri SybrGreen (Bioeksen, Türkiye) ile boyanmış ve UV altında manuel olarak fotoğrafı çekilmiştir.

PCR ürünleri Biospeedy PCR Ürün Saflaştırma Kiti (Bioeksen Ar-Ge Teknolojileri Ltd. Şti.) kullanılarak diğer PCR bileşenlerinden, NGS öncesi temizlenmiştir. Saflaştırılan 16S rRNA'ların V3-V5 bölgeleri NGS ile dizilenmiştir. Illumina-Miseq platformunun gerektirdiği adaptör ve her örneğin işaretleneceği indeks dizileri bakteriler için Bact339-F (5'-CTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') ve Bact815-R (5'-CTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') ve arkeler için Arch349-F (5'-GYGCASCAGKCGMGA AW-3') ve Arch806-R (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3') primerlerine entegre edilmiş ve yeni nesil dizileme için gerekli olan DNA kütüphanesi hazırlanmıştır. Elde edilen DNA kütüphaneleri saflaştırılmış, kalite miktarları floresan temelli yöntemler ile ölçülmüş, ardından dizileme işlemi Illumina-Miseq cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Dizileme işlemi sonrasında, her örnek için hazırlanan kütüphanelerden ortalama 10.000 fragmanın dizi bilgisi elde edilmiştir.

Dizileme sonucu elde edilen okumalar ilk olarak her fragmana eklenmiş olan adaptör dizilerinden temizlenmiştir. Daha sonra indeks diziler kullanılarak her okumanın ait olduğu örnek belirlenmiş, okumalar örneklere göre gruplandırılmıştır. Adaptör ve indeks dizilerinin kırılarak çıkarılmasından sonra, okumalar dizi uzunluğu

ve kalite bilgisine göre gerekli filtreleme aşamalarından geçmiştir. Ayrıca kimerik okumaların analizi etkilememesi için gürültü azaltma yapılmıştır (Edgar et al. 2011; Haas et al.,2011). Böylece yüksek kalitede okumaların elde edilmiş olması sağlanmıştır. Her taksonomik seviye, OTU (Operational Taxonomic Unit) sınıflandırması BLAST ve GreenGenes veritabanı (DeSantis et al., 2006) kullanılarak analiz edilmiş ve taksonomik seviyelere atanan okuma sayıları tespit edilmiştir. Çizelge 3.2’de Dizi benzerliklerine göre OTU sınıflandırması verilmiştir. OTU sınıflandırması dizilerin %97 benzerliklerine göre kümelenmeleri incelenerek yapılmıştır (Sun et al., 2011). Sonuç olarak her örneğin içerdiği mikroorganizmaların oranları her taksonomik seviye için elde edilmiş, mikrobiyal profil ortaya çıkarılmıştır.

Çizelge 3. 2 Dizi benzerliklerine göre OTU sınıflandırması

Referans diziye benzerlik oranı (%)	Atanan seviye
> 97	Tür
97 – 95	Sınıflandırılmamış cins
95 – 90	Sınıflandırılmamış familya
90 – 85	Sınıflandırılmamış takım
85 – 80	Sınıflandırılmamış sınıf
80 – 77	Sınıflandırılmamış şube
< 77	Sınıflandırılmamış

4 BULGULAR

4.1 İnokulum Özellikleri

Kesikli ve sürekli reaktör çalışmalarında kullanılan anaerobik çamura ait bazı özellikler Çizelge 4.1’de verilmektedir.

Çizelge 4. 1 Kesikli ve sürekli çalışmalarda kullanılan anaerobik çamurun özellikleri

Parametre	Alıştırılmış Çamur
pH	7,6
TKM (g l ⁻¹)	14
AKM (g l ⁻¹)	12,4
UAKM (g l ⁻¹)	3,8

4.2 Kesikli Reaktör Sonuçları

4.2.1 Eritromisin, vankomisin, amfoterisin b antibiyotiklerini içeren sentetik atıksuların kesikli reaktör çalışmaları

Eritromisin, vancomisin ve amfoterisin b antibiyotiklerinin farklı konsantrasyonları ve farklı kosubstrat çeşitleri kullanılarak ayrı ayrı hazırlanmış sentetik atıksularla yapılan kesikli çalışma deney düzenekleri ve her bir deney sonucunda elde edilen ortalama KOİ giderim oranları Çizelge 4.2’de verilmektedir

Çizelge 4.2 Eritromisin, vankomisin ve amfoterisin B içeren sentetik atıksuların tam faktöriyel (3³) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları

DENEYLER	FARKLI ANTİBİYOTİK KONSANTRASYONLARI		ANTİBİYOTİK ÇEŞİDİ		KOSUBSTRAT ÇEŞİDİ		KOİ GİDERİMİ ORTALAMA %
	GERÇEK	KOD	GERÇEK	KOD	GERÇEK	KOD	
1	75 mg/l	+1	Eritromisin	1	ABP	1	86.71
2	75 mg/l	+1	Eritromisin	1	GLUKOZ	0	60.14
3	75 mg/l	+1	Eritromisin	1	PROPIYONİK ASİT	-1	45.99
4	75 mg/l	+1	Vancomisin	0	ABP	1	84.61
5	75 mg/l	+1	Vancomisin	0	GLUKOZ	0	81.81
6	75 mg/l	+1	Vancomisin	0	PROPIYONİK ASİT	-1	57.88
7	75 mg/l	+1	Amfoterisin B	-1	ABP	1	96.66
8	75 mg/l	+1	Amfoterisin B	-1	GLUKOZ	0	49.17
9	75 mg/l	+1	Amfoterisin B	-1	PROPIYONİK ASİT	-1	98.66
10	50 mg/l	0	Eritromisin	1	ABP	1	88.81
11	50 mg/l	0	Eritromisin	1	GLUKOZ	0	69.64
12	50 mg/l	0	Eritromisin	1	PROPIYONİK ASİT	-1	28.77
13	50 mg/l	0	Vancomisin	0	ABP	1	85.02
14	50 mg/l	0	Vancomisin	0	GLUKOZ	0	49.35
15	50 mg/l	0	Vancomisin	0	PROPIYONİK ASİT	-1	20.49
16	50 mg/l	0	Amfoterisin B	-1	ABP	1	97.32
17	50 mg/l	0	Amfoterisin B	-1	GLUKOZ	0	10.00
18	50 mg/l	0	Amfoterisin B	-1	PROPIYONİK ASİT	-1	93.35
19	25 mg/l	-1	Eritromisin	1	ABP	1	86.61
20	25 mg/l	-1	Eritromisin	1	GLUKOZ	0	64.47
21	25 mg/l	-1	Eritromisin	1	PROPIYONİK ASİT	-1	30.97
22	25 mg/l	-1	Vancomisin	0	ABP	1	85.88
23	25 mg/l	-1	Vancomisin	0	GLUKOZ	0	81.55
24	25 mg/l	-1	Vancomisin	0	PROPIYONİK ASİT	-1	59.79
25	25 mg/l	-1	Amfoterisin B	-1	ABP	1	99.30
26	25 mg/l	-1	Amfoterisin B	-1	GLUKOZ	0	50.98
27	25 mg/l	-1	Amfoterisin B	-1	PROPIYONİK ASİT	-1	97.77

Bu sonuçlar doğrultusunda varyans analizleri, faktörlerin tek başına, ikili ve üçlü etkileşimi analizleri yapılmıştır. Deneysel tasarım sonuçları SPSS yazılımı ile hesaplanmıştır. İstatistiksel temelli çalışma sonucunda KOİ giderimi açısından elde edilen varyans analizi Çizelge 4.3’de verilmiştir. Sonuçlara göre antibiyotik çeşidi, antibiyotik konsantrasyonu, kosubstrat çeşidinin KOİ gideriminde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmektedir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.3 KOİ giderimi için varyans analizi tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Kareler ortalaması	F	p
Kosubstrat	12111,447	2	6055,724	31125,639	,000
Antibiyotik Çeşidi	1997,378	2	998,689	5133,133	,000
Antibiyotik Konsantrasyonu	1987,894	2	993,947	5108,761	,000
Kosubstrat * Antibiyotik Çeşidi	15417,100	4	3854,275	19810,477	,000
Kosubstrat * Antibiyotik Konsantrasyonu	1191,783	4	297,946	1531,403	,000
Antibiyotik Çeşidi * Antibiyotik Konsantrasyonu	1152,509	4	288,127	1480,937	,000
Kosubstrat * Antibiyotik Çeşidi * Antibiyotik konsantrasyonu	1599,166	8	199,896	1027,438	,000
Hata	5,253	7	,195		
Total	290121,106	54			

$R^2 = 1,000$ (düzeltilmiş $R^2 = ,1,000$) sd:Serbestlik derecesi p=anlamlılık $p < 0,05$

Antibiyotik çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki çizelge 4.4’ de verilmektedir.

Çizelge 4.4 Antibiyotik çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki

Antibiyotik çeşidi		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	Eritromisin	18	62,1506		
	Vankomisin	18		67,0772	
	Amfoterisin B	18			76,7894

Kesikli reaktörde, antibiyotik çeşidi olarak eritromisin yerine vankomisin kullanımı KOİ giderimini % 4,93 artırırken, amfoterisin b kullanımı ise %14,64 artırmıştır. Vankomisine göre amfoterisin b kullanmak ise KOİ giderimini % 9,71 yükseltmiştir.

Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki çizelge 4.5’ de verilmektedir.

Çizelge 4.5 Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki

Atıksu Konsantrasyonu		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	50 mg/L	18	60,0978		
	25 mg/L	18		72,6839	
	75 mg/L	18			73,2356

İstatistiksel değerlendirme, 75 mg/L antibiyotik içeren atık suyun kesikli reaktörde KOİ gideriminin 50 mg/L ve 25 mg/L antibiyotik içeren atık suya göre sırasıyla %13,14 ve % 0,55 daha yüksek olduğu sonucunu vermektedir. Kısaca en iyi KOİ giderimi 75 mg/L konsantrasyonda hazırlanan atık suda gözlenmiştir.

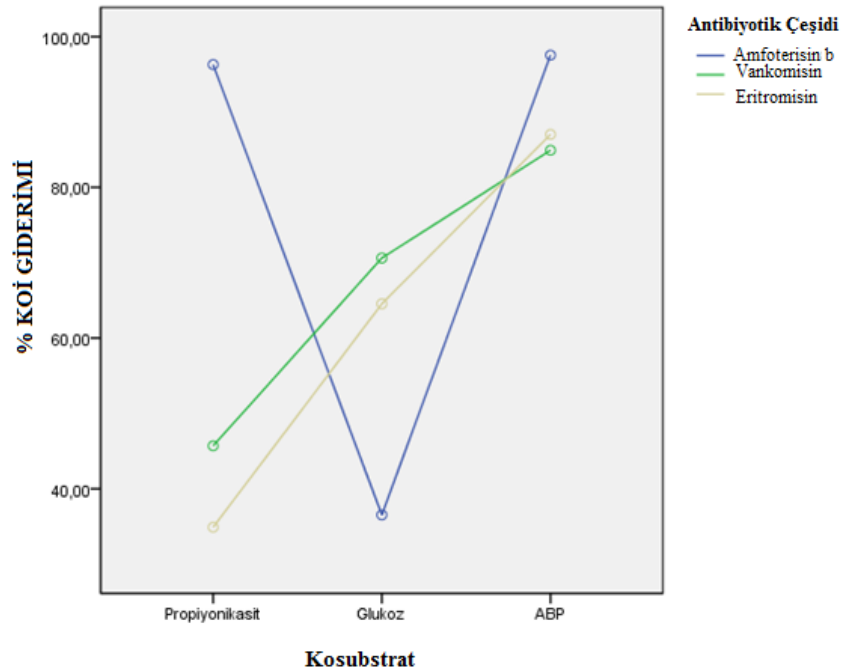
Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki Çizelge 4.6’da verilmektedir.

Çizelge 4.6 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki

Kosubstrat çeşidi		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	Glukoz	18	57,2289		
	Propiyonikasit	18		58,9600	
	ABP	18			89,8283

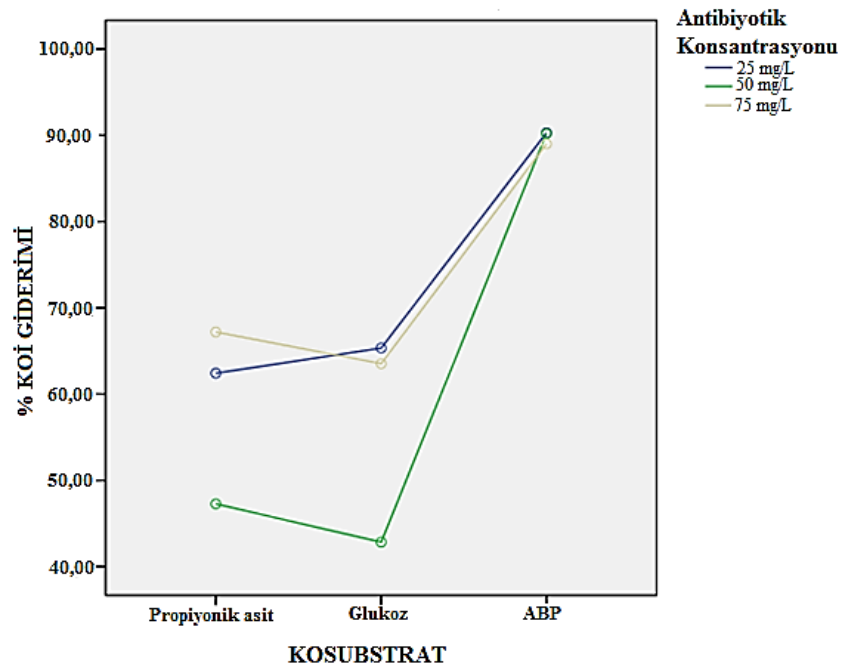
Kesikli reaktörde, kosubstrat çeşidi olarak, ABP (asetikasit, propiyonikasit, butirik asit) kullanmak KOİ gideriminde propiyonik asit ve glukoz kullanımına göre sırayla % 30,87 ve % 32,60 artırmıştır. Bu durumda en iyi KOİ giderimi asit karışımı kullanıldığında elde edilmiştir.

İstatistiksel çalışmalar antibiyotik çeşidi-kosubstrat çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.1).

**Şekil 4.1** Antibiyotik çeşidi kosubstrat çeşidi etkileşimi

Sentetik atıksuyun arıtımı için anlamlı olan antibiyotik çeşidi ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşiminden görüldüğü üzere, antibiyotik çeşidi olarak amfoterisin b kullanıldığında kosubstrat olarak hem propiyonik asit hem de ABP kullanıldığında en fazla KOİ giderimi elde edilmiştir (Şekil 4.1). Antibiyotik olarak vankomisin ya da eritromisin kullanıldığında, en iyi giderim ABP 'de olduğu görülmüştür.

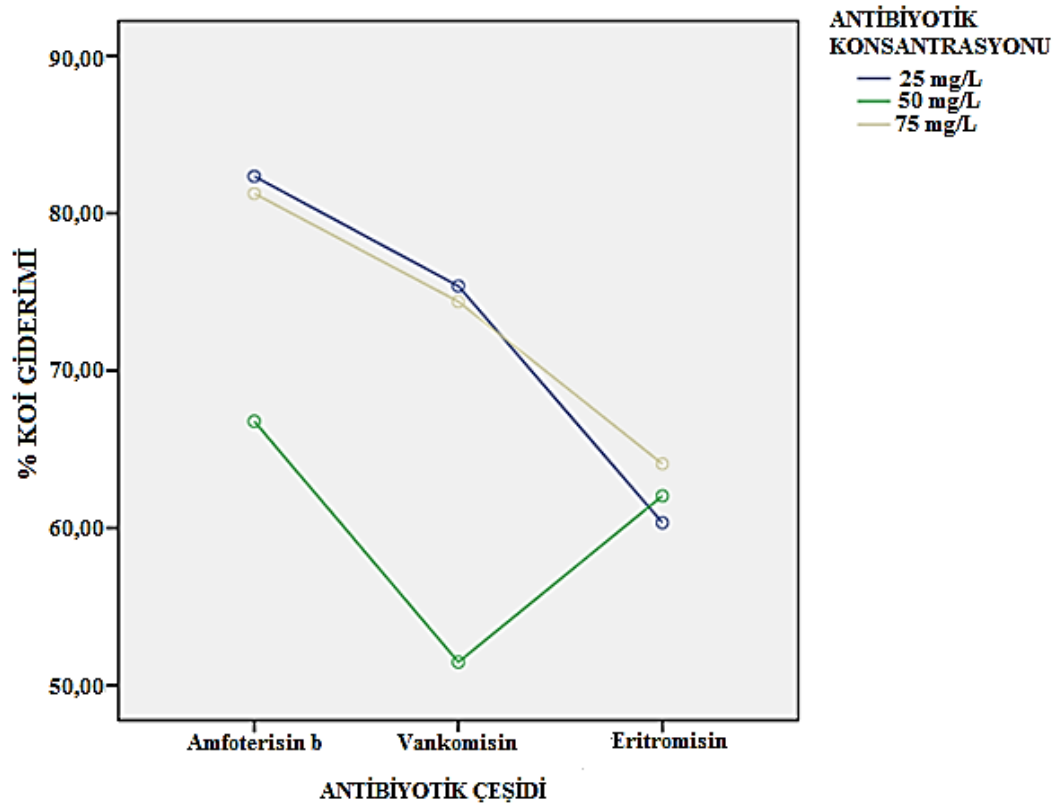
İstatistiksel çalışmalar antibiyotik konsantrasyonu-kosubstrat çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Antibiyotik konsantrasyonu- kosubstrat çeşidi etkileşimi

Sentetik atıksu için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi için çizilen profil grafiği tüm antibiyotik konsantrasyonlarında ve ABP'nin varlığında en yüksek KOİ gideriminin gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 4.2).

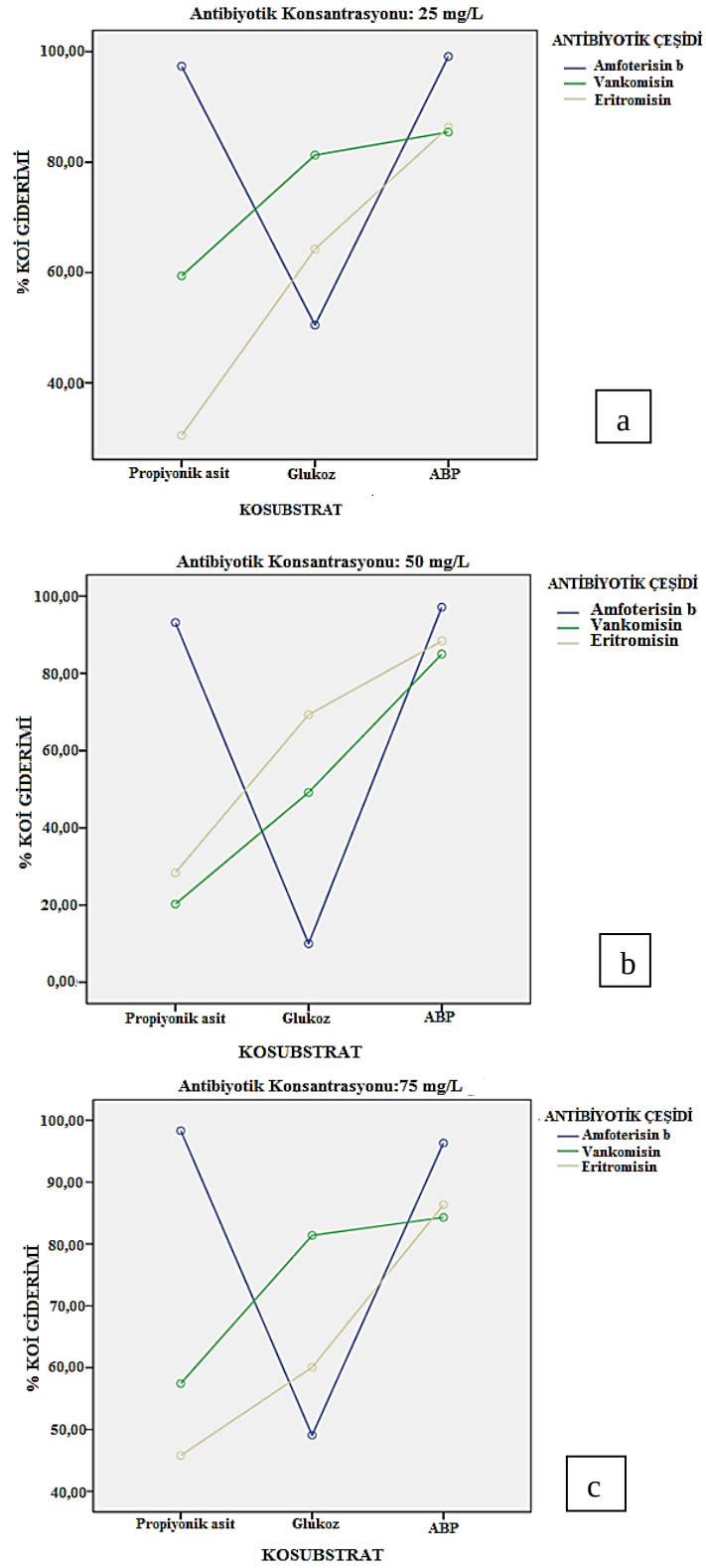
Antibiyotik konsantrasyonu – antibiyotik çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde etkisi Şekil 4.3 de verilmiştir.



Şekil 4.3 Antibiyotik konsantrasyonu -antibiyotik çeşidi etkileşimi

Sentetik atıksuyun arıtımı için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi için çizilen profil grafiğinde 25 mg/L’de ve 75 mg/L’de amfoterisin b’de iyi giderim gerçekleştiğini göstermektedir. En iyi KOİ giderimi ise 25 mg/L’lik amfoterisin b konsantrasyonunda elde edilmiştir.

Deney sonuçları, üçlü etkileşimin de (antibiyotik konsantrasyonu-antibiyotik çeşidi-kosubstrat çeşidi) KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Üçlü etkileşim grafikleri Şekil 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.4 Üçlü etkileşimi a) 25 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda, antibiyotik çeşidi, kosubstrat çeşidi etkileşimi ; b) 50 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda, antibiyotik çeşidi, kosubstrat çeşidi etkileşimi ; c) 75 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda, antibiyotik çeşidi, kosubstrat çeşidi

Sentetik atıksuyun arıtımı için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi ve kosubstrat çeşidi üçlü etkileşimi profil grafiklerinden de anlaşılacağı gibi en yüksek KOİ giderimi, kosubstrat olarak ABP, antibiyotik çeşidi olarak amfoterisin b kullanıldığında elde edilirken antibiyotik konsantrasyonun değişiminin büyük bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca kosubstrat olarak propiyonik asitin de iyi bir giderim sağladığı görülmüştür. Bunların dışında glukoz kosubstrat olarak kullanıldığında KOİ giderimin en düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4).

4.2.2 Flukonazol, tetrasiklin, sefamezin antibiyotiklerini içeren atıksuların kesikli reaktör çalışmaları

Flukonazol, tetrasiklin, sefamezin antibiyotikleri ile ayrı ayrı hazırlanmış sentetik atıksuların kesikli çalışmalarda kurulan tam faktöriyel deney düzeneği ve her bir deney sonucunda elde edilen ortalama KOİ giderim oranları Çizelge 4.7’de verilmektedir.

Bu analiz sonuçları doğrultusunda varyans analizleri, faktörlerin tek başına, ikili ve üçlü etkileşimi analizleri yapılmıştır. İstatistiksel temelli çalışma sonucunda KOİ giderimi açısından elde edilen varyans analizi Çizelge 4.8’de verilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre yapılan deneysel çalışmanın anlamlı olduğu; antibiyotik çeşidi, antibiyotik konsantrasyonu, kosubstrat çeşidinin KOİ gideriminde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmektedir ($p < 0,05$).

Çizelge 4. 7 Flukonazol, tetrasiklin, sefamezin kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuların tam faktöriyel (3^3) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları

DENEYLER	FARKLI ANTİBİYOTİK KONSANTRASYONLARI		ANTİBİYOTİK ÇEŞİDİ		KOSUBSTRAT ÇEŞİDİ		KOİ GİDERİMİ ORTALAMA %
	GERÇEK	KOD	GERÇEK	KOD	GERÇEK	KOD	
1	75 mg/l	+1	Flukonazol	1	ABP	1	93.56
2	75 mg/l	+1	Flukonazol	1	GLUKOZ	0	84.41
3	75 mg/l	+1	Flukonazol	1	PROPIYONİK ASİT	-1	92.47
4	75 mg/l	+1	Sefamezin	0	ABP	1	96.84
5	75 mg/l	+1	Sefamezin	0	GLUKOZ	0	83.84
6	75 mg/l	+1	Sefamezin	0	PROPIYONİK ASİT	-1	82.48
7	75 mg/l	+1	Tetrasiklin	-1	ABP	1	47.92
8	75 mg/l	+1	Tetrasiklin	-1	GLUKOZ	0	44.48
9	75 mg/l	+1	Tetrasiklin	-1	PROPIYONİK ASİT	-1	10,00
10	50 mg/l	0	Flukonazol	1	ABP	1	94.66
11	50 mg/l	0	Flukonazol	1	GLUKOZ	0	92.19
12	50 mg/l	0	Flukonazol	1	PROPIYONİK ASİT	-1	92.68
13	50 mg/l	0	Sefamezin	0	ABP	1	94.59
14	50 mg/l	0	Sefamezin	0	GLUKOZ	0	86.30
15	50 mg/l	0	Sefamezin	0	PROPIYONİK ASİT	-1	94.52
16	50 mg/l	0	Tetrasiklin	-1	ABP	1	53.27
17	50 mg/l	0	Tetrasiklin	-1	GLUKOZ	0	34.32
18	50 mg/l	0	Tetrasiklin	-1	PROPIYONİK ASİT	-1	35.30
19	25 mg/l	-1	Flukonazol	1	ABP	1	98.87
20	25 mg/l	-1	Flukonazol	1	GLUKOZ	0	50.85
21	25 mg/l	-1	Flukonazol	1	PROPIYONİK ASİT	-1	94.91
22	25 mg/l	-1	Sefamezin	0	ABP	1	92.02
23	25 mg/l	-1	Sefamezin	0	GLUKOZ	0	92.41
24	25 mg/l	-1	Sefamezin	0	PROPIYONİK ASİT	-1	95.29
25	25 mg/l	-1	Tetrasiklin	-1	ABP	1	78.97
26	25 mg/l	-1	Tetrasiklin	-1	GLUKOZ	0	58.14
27	25 mg/l	-1	Tetrasiklin	-1	PROPIYONİK ASİT	-1	93.73

Çizelge 4. 8 KOİ Giderimi için varyans analizi tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Kareler ortalaması	F	p
Kosubstrat	1678,972	2	839,486	4889,209	,000
Antibiyotik Çeşidi	18202,267	2	9101,133	53005,447	,000
Antibiyotik Konsantrasyonu	1619,501	2	809,750	4716,026	,000
Kosubstrat*Antibiyotik Çeşidi	637,688	4	159,422	928,482	,000
Kosubstrat * Antibiyotik Konsantrasyonu	2129,341	4	532,335	3100,346	,000
AntibiyotikÇesidi * Antibiyotik Konsantrasyonu	5254,548	4	1313,637	7650,686	,000
Kosubstrat * AntibiyotikÇeşidi* Antibiyotik konsantrasyonu	2282,703	8	285,338	1661,822	,000
Hata	4,636	27	,172		
Total	346750,372	54			

$R^2 = 1,000$ (düzeltilmiş $R^2 = ,1,000$) sd:Serbestlik derecesi p=anlamlılık $p<0,05$

Antibiyotik çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki çizelge 4.9' de verilmektedir.

Çizelge 4.9 Antibiyotik çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki

Antibiyotik çeşidi		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	Tetrasiklin	18	50,4517		
	Flukonazol	18		87,9733	
	Sefamezin	18			90,6822

Kesikli reaktörde, antibiyotik çeşidi olarak tetrasiklin yerine flukonazol kullanımı KOİ giderimini %37,52 artırırken, sefamezin kullanımı ise %40,23 artırmıştır. Flukonazol yerine sefomezin kullanmak ise KOİ giderimini %2,71 yükseltmiştir.

Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki Çizelge 4.10'da verilmektedir.

Çizelge 4.10 Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki

Antibiyotik Konsantrasyonu		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	75 mg/L	18	70,3889		
	50 mg/L	18		75,0972	
	25 mg/L	18			83,6211

İstatistiksel değerlendirme, 25 mg/L antibiyotik içeren atık suyun kesikli reaktörde KOİ gideriminin 50 mg/L ve 75 mg/L antibiyotik içeren atık suya göre sırasıyla %8,52 ve %13,23 daha yüksek olduğu sonucunu vermektedir. En iyi KOİ giderimi 25 mg/L antibiyotik konsantrasyonda hazırlanan atık suda gözlenmiştir.

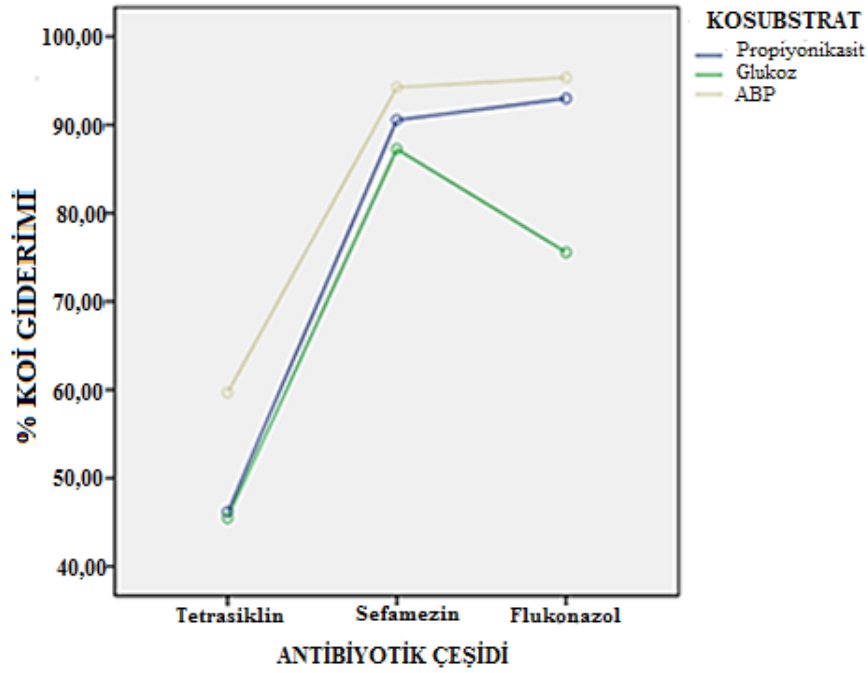
Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki Çizelge 4.11'de verilmektedir.

Çizelge 4.11 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki

Kosubstrat çeşidi		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	Glukoz	18	69,4406		
	Propiyonik asit	18		76,5722	
	ABP	18			83,0944

Kesikli reaktörde, kosubstrat çeşidi olarak, asit karışımı kullanmak propiyonik asit ve glukoz kullanımına göre KOİ giderimini sırasıyla % 6,52 ve % 13,65 artırmıştır. En iyi KOİ giderimi asit karışımında olmuştur.

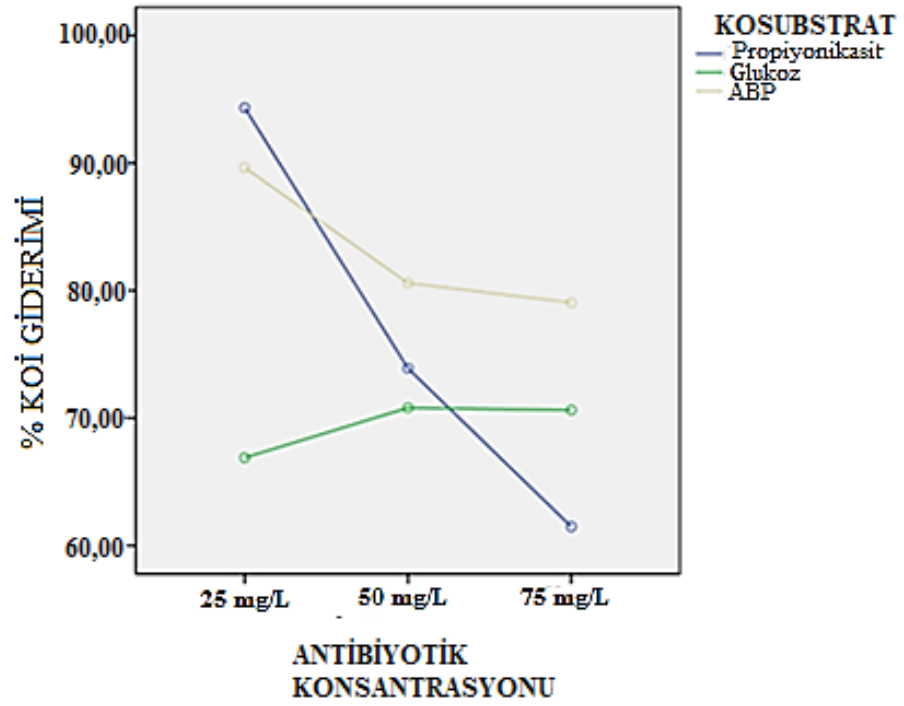
Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi yapıldı ve antibiyotik çeşidi-kosubstrat çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Antibiyotik çeşidi kosubstrat çeşidi etkileşimi

Sentetik atıksuyun arıtımı için anlamlı olan antibiyotik çeşidi ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi görüldüğü üzere, antibiyotik çeşidi olarak flukonazol kullanıldığında kosubstrat olarak ABP kullanıldığında en fazla KOİ giderimi elde edilmiştir. Antibiyotik olarak tetrasiklin ve sefamezin kullanıldığında, en iyi giderim yine ABP’de olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).

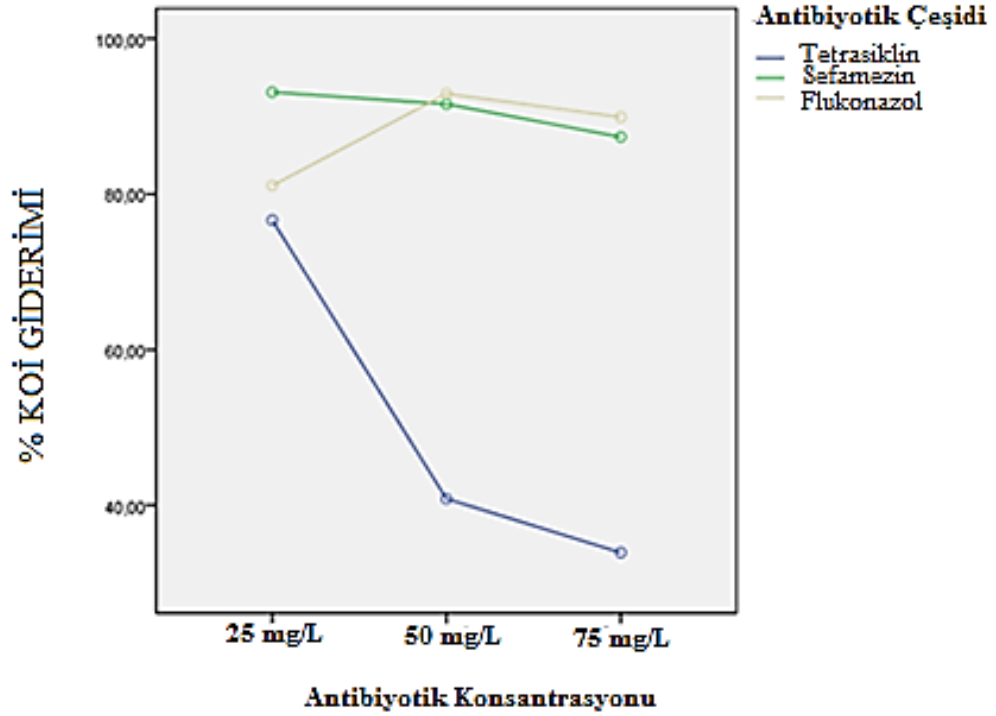
İstatistiksel çalışmalar antibiyotik konsantrasyonu-kosubstrat çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Antibiyotik Konsantrasyonu kosubstrat çeşidi etkileşimi

Sentetik atıksu için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi için çizilen profil grafiği en yüksek KOİ gideriminin 25 mg/L antibiyotik içeren sentetik atık su konsantrasyonunda ve propiyonik asidin varlığında gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 4.6).

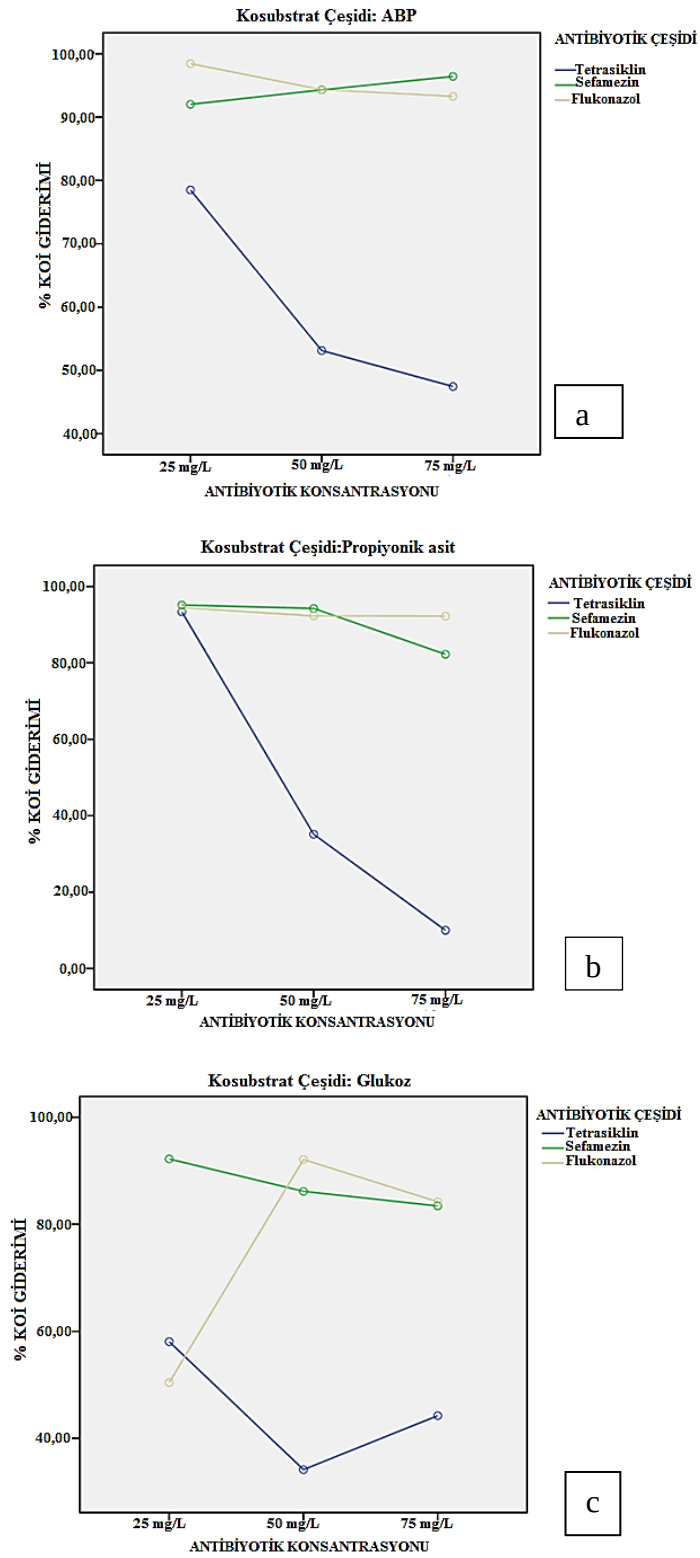
Antibiyotik konsantrasyonu – antibiyotik çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 Antibiyotik konsantrasyonu- antibiyotik çeşidi etkileşimi

Antibiyotik içeren sentetik atıksuyun arıtımı için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi için çizilen profil grafiğinde, en iyi KOİ giderimi 25 mg/L sefamezin konsantrasyonunda olduğu görülmüştür. 50 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda sefamezin ve flukonozolde de iyi giderim oldumuştur.

Deney sonuçları, üçlü etkileşimin de (antibiyotik konsantrasyonu-antibiyotik çeşidi-kosubstrat çeşidi) KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Üçlü etkileşim a) Kosubstrat çeşidi, ABP iken antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi etkileşimi; b) Kosubstrat propiyonik asit iken antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi Etkileşimi; c) kosubstrat glukoz iken antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi etkileşimi

Sentetik atıksuyun arıtımı için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotik çeşidi ve kosubstrat çeşidi üçlü etkileşimi profil grafiklerinden de anlaşılacağı gibi en yüksek KOİ giderimi, kosubstrat olarak ABP, antibiyotik çeşidi olarak flukonozol ve 25 mg/L antibiyotik konsantrasyonu kullanıldığında elde edilmiştir. Ancak kosubstrat olarak ABP kullanıldığında, 75 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda sefamezin antibiyotiğinin de yüksek KOİ giderimi gösterdiği belirlenmiştir. Kosubstrat olarak propiyonik asit kullanıldığında; tetrasiklin, flukonozol ve sefamezin antibiyotiklerinin 25 mg/L antibiyotik konsantrasyonda en iyi giderimi sağladığı, Kosubstrat olarak glukoz kullanıldığında 25 mg/L sefamezinde, 50 mg/L flukonozolde en iyi giderim sağladığı görülmüştür.

4.2.3 Kanamisin içeren sentetik atıksuyun kesikli reaktör çalışması

Kanamisin antibiyotiği kullanılarak hazırlanmış sentetik atıksuyun kesikli çalışmalarda kurulan tam faktöriyel deney düzeneği ve her bir deney sonucunda elde edilen ortalama KOİ giderim oranları Çizelge 4.12’de verilmektedir.

Çizelge 4.12 Kanamisin içeren sentetik atıksuyun tam faktöriyel (3^2) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları

DENEYLER	FARKLI ANTİBİYOTİK KONSANTRASYONLARI		KOSUBSTRAT ÇEŞİDİ		KOİ GİDERİMİ ORTALAMA %
	GERÇEK	KOD	GERÇEK	KOD	
1	25 mg/l	-1	ABP	+1	88.59
2	25 mg/l	-1	GLUKOZ	0	72.43
3	25 mg/l	-1	-	-1	9,5
4	50 mg/l	0	ABP	+1	88.57
5	50 mg/l	0	GLUKOZ	0	92.66
6	50 mg/l	0	-	-1	9,5
7	75 mg/l	+1	ABP	+1	76.77
8	75 mg/l	+1	GLUKOZ	0	70.65
9	75 mg/l	+1	-	-1	9,5

Bu sonuçlar doğrultusunda varyans analizleri, faktörlerin ikili analizleri yapılmıştır. İstatistiksel temelli çalışma sonucunda KOİ giderimi açısından elde edilen

varyans analizi Çizelge 4.13’de verilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre yapılan deneysel çalışmanın anlamlı olduğu; antibiyotik konsantrasyonu, kosubstrat çeşidinin KOİ gideriminde ve istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Ayrıca antibiyotik konsantrasyonu ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi KOİ giderimine istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.13 KOİ Giderimi için varyans analizi tablosu

$R^2 = 1,000$ (düzeltilmiş $R^2 = ,1,000$) sd:Serbestlik derecesi p =anlamlılık $p<0,05$

Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki çizelge 4.14’ de

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Kareler ortalaması	F	p
Kosubstrat	20733,454	2	10366,727	35148,728	,000
Antibiyotik Konsantrasyonu	387,600	2	193,800	657,085	,000
Kosubstrat * Antibiyotik Konsantrasyonu	396,309	4	99,077	335,925	,000
Hata	2,654	9	,295		
Total	80764,869	18			

verilmektedir.

Çizelge 4.14 Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki

Antibiyotik Konsantrasyonu		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	75 mg/L	6	52,0700		
	50 mg/L	6		56,6700	
	25 mg/L	6			63,3717
	Sig.		1,000	1,000	1,000

İstatistiksel değerlendirme, 50 mg/L antibiyotik içeren atıksuyun kesikli reaktörde KOİ gideriminin 75mg/L ve 25 mg/L antibiyotik içeren atıksuya göre

sırasıyla %11,30 ve % 6,70 daha yüksek olduğu sonucunu vermektedir. Kısaca en iyi KOİ giderimi 50 mg/L antibiyotik konsantrasyonda hazırlanan sentetik atık suda gözlenmiştir.

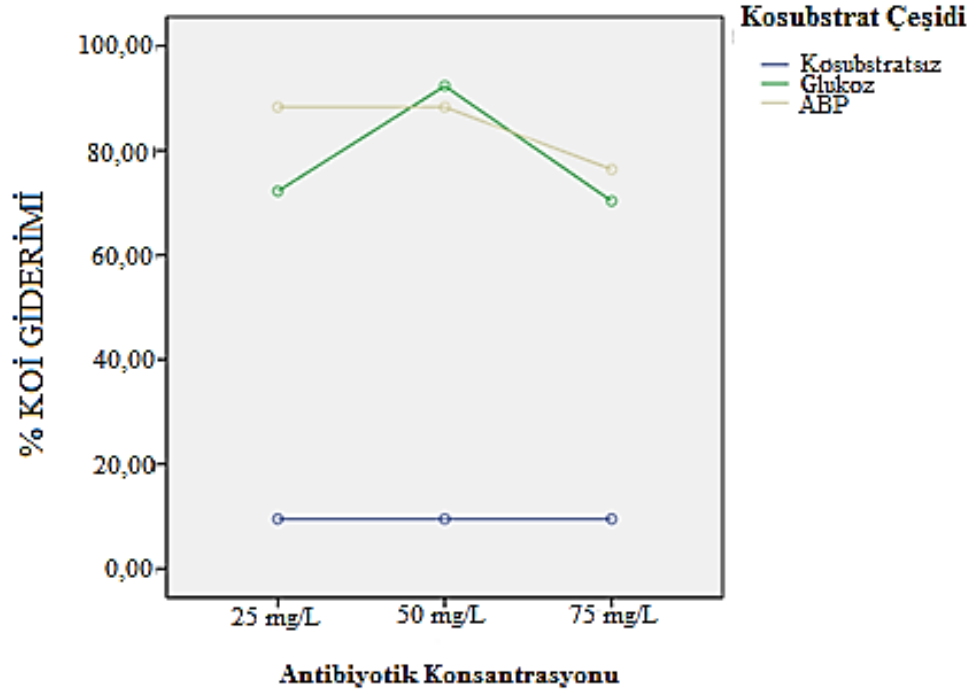
Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki Çizelge 4.15’da verilmektedir.

Çizelge 4.15 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki

KOSUBSTRAT ÇEŞİDİ		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Kosubstratsız	6	9,5000		
	Gukoz	6		78,2900	
	ABP	6			84,3217
	Sig.		1,000	1,000	1,000

Kesikli reaktörde, kosubstrat çeşidi olarak, asit karışımı kullanmak KOİ gideriminde kosubstratsız ve glukoz kullanımına göre sırayla %74,82 ve %6,03 artırmıştır. En iyi KOİ giderimi asit karışımında olmuştur.

Antibiyotik konsantrasyonu – kosubstrat çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Antibiyotik konsantrasyonu -kosubstrat çeşidi etkileşimi

Kanamisin içeren sentetik atıksu için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi için çizilen profil grafiği en yüksek KOİ gideriminin 50 mg/L'lik atık su konsantrasyonunda ve glikoz varlığında gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 4.9).

4.2.4 Kanamisin, sefamezin ve amfoterisin b antibiyotiklerinin karışımı halinde hazırlanmış sentetik atıksuyun kesikli reaktör çalışması

Yedi farklı antibiyotiğin tekli olarak yapılan kesikli reaktör çalışmaları sonucunda en iyi giderim sağlanan üç antibiyotiğin karıştırılması ile hazırlanan sentetik atıksuyun kesikli çalışmalarda kurulan tam faktöriyel deney düzeneği ve her bir deney sonucunda elde edilen ortalama KOİ giderim oranları Çizelge 4.16'da verilmektedir.

Çizelge 4. 16 Kanamisin,, sefamezin, amfoterisin B içeren sentetik atıksuyun tam faktöriyel (3^3) tasarım ile elde edilen kesikli reaktör sonuçları

DENEYLER	FARKLI ANTİBİYOTİK KONSANTRASYONLARI		ANTİBİYOTİK ÇEİŞDİ	KOSUBSTRAT ÇEŞİDİ		KOI GİDERİMİ ORTALAMA %
	GERÇEK	KOD	GERÇEK	GERÇEK	KOD	
1	75 mg/l	+1	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	ABP	1	82.02
2	75 mg/l	+1	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	GLUKOZ	0	43.43
3	75 mg/l	+1	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	PROPIYONİK ASİT	-1	30.11
4	50 mg/l	0	Kanamisin, Amfoterisin B Cefamezin karışımı	ABP	1	84.59
5	50 mg/l	0	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	GLUKOZ	0	64.25
6	50 mg/l	0	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	PROPIYONİK ASİT	-1	36.21
7	25 mg/l	-1	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	ABP	1	86.59
8	25 mg/l	-1	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	GLUKOZ	0	67.92
9	25 mg/l	-1	Kanamisin, Amfoterisin B Sefamezin karışımı	PROPIYONİK ASİT	-1	83.28

Bu analiz sonuçları doğrultusunda varyans analizleri, faktörlerin ikili etkileşim analizleri yapılmıştır. İstatistiksel temelli çalışma sonucunda KOİ giderimi açısından elde edilen varyans analizi Çizelge 4.17’de verilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre yapılan deneysel çalışmanın anlamlı olduğu; antibiyotik konsantrasyonu, kosubstrat çeşidinin KOİ gideriminde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Çizelge 4. 17 KOİ Giderimi için varyans analizi tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Kareler ortalaması	F	p
Kosubstrat	3865,732	2	1932,866	7,948	,010
Antibiyotik Konsantrasyonu	2315,273	2	1157,636	4,760	,039
Kosubstrat * Antibiyotik Konsantrasyonu	1790,048	4	447,512	1,840	,205
Hata	2188,597	9	243,177		2188,597
Total	84472,485	18			

$R^2 = ,974$ (düzeltilmiş $R^2 = ,948$) sd:Serbestlik derecesi p=anlamlılık $p<0,05$

Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki Çizelge 4.18’da verilmektedir.

Çizelge 4. 18 Antibiyotik konsantrasyonu ile KOİ arasındaki ilişki

Antibiyotik Konsantrasyonu		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	75mg/L	6	51,8500		
	50 mg/L	6		61,6483	
	25 mg/L	6			79,2617

İstatistiksel değerlendirme sonucunda, 25 mg/L antibiyotik içeren atıksuyun kesikli reaktörde KOİ gideriminin 50 mg/L ve 75 mg/L antibiyotik içeren atık suya göre sırasıyla % 17,61 ve % 27,41 daha yüksek olduğu sonucunu vermektedir. Kısaca en iyi KOİ giderimi 25 mg/L konsantrasyonda hazırlanan atık suda gözlenmiştir.

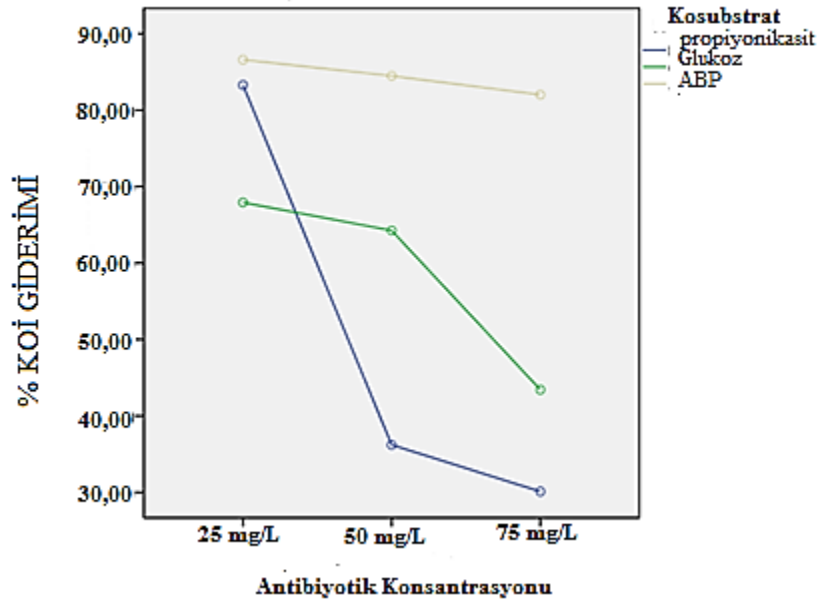
Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki Çizelge 4.19’da verilmektedir.

Çizelge 4.19 Kosubstrat çeşidi ile KOİ arasındaki ilişki

KOSUBSTRAT		N	Alt küme		
			1	2	3
Tukey HSD	Propiyonik Asit	6	49,8633		
	Glukoz	6		58,5317	
	ABP	6			84,3650

Kesikli reaktörde, kosubstrat çeşidi olarak, asit karışımı kullanmak KOİ giderimini propiyonik asit ve glukoz kullanımına göre sırayla %25,83 ve %34,50 artırmıştır. En iyi KOİ giderimi asit karışımında olmuştur.

İstatistiksel çalışmalar antibiyotik konsantrasyonu -kosubstrat çeşidi ikili etkileşimin KOİ giderimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.10).

**Şekil 4.10** Antibiyotik konsantrasyonu- kosubstrat çeşidi etkileşimi

Üç antibiyotiğin karışımı ile sağlanan sentetik atıksu için anlamlı olan antibiyotik konsantrasyonu ve kosubstrat çeşidi ikili etkileşimi için çizilen profil grafiği

en yüksek KOİ gideriminin 25mg/l antibiyotik içeren atık su konsantrasyonunda ve ABP'nin varlığında gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 4.10).

4.3 Sürekli Reaktör Sonuçları

Kesikli reaktör çalışmalarından elde edilen sonuçlar doğrultusunda sürekli reaktörde sefamezin, amfoterisin b ve kanamisin antibiyotiklerini içeren sentetik atıksuyun farklı konsantrasyonlarının giderimi çalışılmıştır.

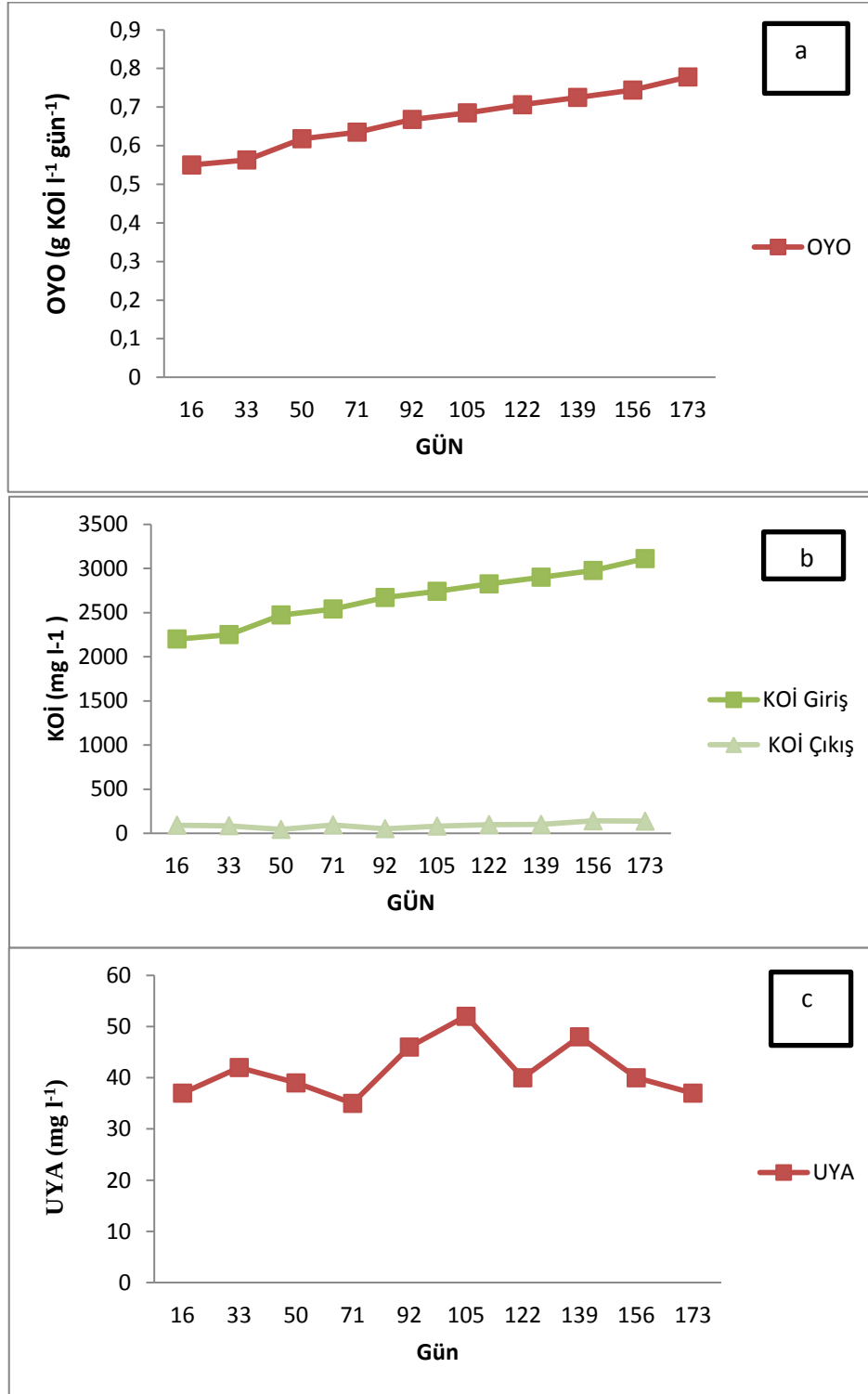
Yukarı Akışlı Dolgulu Yatak Reaktör (YADYR) çalışmaları 173 gün sürmüştür. Reaktörde daha önceden nişasta ile beslenerek aktiflenmiş anaerobik çamur kullanılmıştır. Sentetik atık su konsantrasyonu 10 mg/L olacak şekilde arıtıma başlanmış ve 100 mg/L'ye kadar miktar artırılarak arıtıma devam edilmiştir. Hidrolik alıkonma süresi 96 saat olarak belirlemiştir. Bununla birlikte reaktörlerde çalışma süresince redoks potansiyeli ölçümü yapılmış, -382 ile -411 mV arasında değişimler gözlenmiştir. Deneme süresince elde edilen veriler Çizelge 4.20'da verilmiştir.

Şekil 4.11 ve 4.12'de 173 gün boyunca uygulanan, giriş ve çıkış KOİ (Kimyasal oksijen ihtiyacı) değerleri, organik yükleme oranları (OYO), giriş ve çıkış UYA derişimleri, bikarbonat alkalinite değerleri (BA), pH ve atık su konsantrasyon değişimleri verilmektedir.

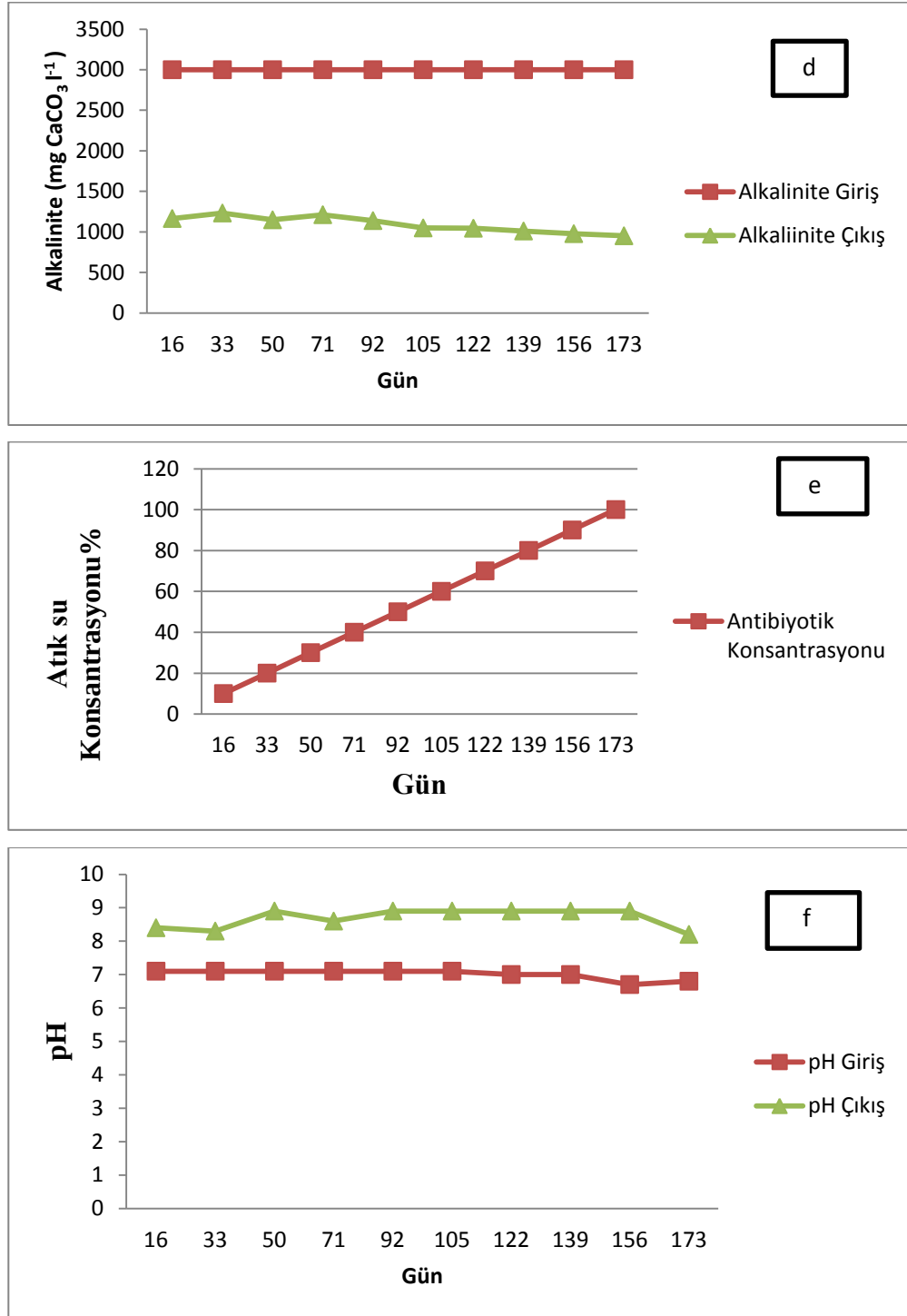
Çizelge 4.20 Sürekli Reaktörün Anaerobik Arıtım Sonuçları

Giriş parametreleri							Çıkış parametreleri						
Gün	Sentetik atık su kons.	HAS (saat)	KOİ	pH	OYO	Alkalinite	KOİ	pH	Biyogaz (CH ₄)	Alkalinite	UYA	KOİ Gid. (%)	U/A
1-16	10 mg/L	96	2200	7,1	0.55	3000	92	8,4	-	1165	37	95,82	0,031
17-33	20 mg/L	96	2250	7,1	0.563	3000	86	8,3	-	1233	42	96,18	0,034
34-50	30 mg/L	96	2472	7,1	0.618	3000	44	8.9	-	1149	39	98,22	0,033
51-71	40 mg/L	96	2540	7,1	0.635	3000	96	8.6	-	1212	35	96,22	0,029
72-92	50 mg/L	96	2670	7,1	0.668	3000	52	8.9	-	1139	46	98,05	0,040
93-105	60 mg/L	96	2740	7,1	0.685	3000	82	8,9	0,181	1049	52	97,00	0,049
106-122	70 mg/L	96	2824	7.0	0.706	3000	99	8.9	0.362	1045	40	96,50	0,048
123-139	80 mg/L	96	2900	7.0	0.725	3000	101	8.9	0.454	1011	48	96,52	0,047
140-156	90 mg/L	96	2976	6.7	0.744	3000	141	8.9	0.636	978	40	95,26	0,040
157-173	100 mg/L	96	3110	6.8	0.778	3000	137	8.2	0.727	952	37	95,59	0,039

KOİ (mg l⁻¹); AKM (mg l⁻¹); OYO (g KOİ l⁻¹ gün⁻¹); alk: bikarbonat alkalinitesi (mg CaCO₃ l⁻¹); UYA (mg l⁻¹); metan*:l CH₄ l⁻¹ atık su gün⁻¹



Şekil 4.11 Yukarı akışlı anaerobik dolgu yatak reaktörde arıtım sürecindeki değişimler a)OYO b) giriş ve çıkış KOİ c) UYA



Şekil 4.12 Yukarı akışlı anaerobik dolgu yatak reaktörde arıtım sürecindeki değişimler
d) Alkalinite (giriş ve çıkış) e) Atık su konsantrasyonu f) pH (giriş ve çıkış)

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek KOİ giderimi 30 mg/L antibiyotik konsantrasyonunda uygulandığında, HAS 96 saat ve OYO 0,618 g KOİ l⁻¹ gün⁻¹ olduğunda belirlenmiştir. Fakat tüm çalışma boyunca KOİ giderimi %95-98 arasında değişmiştir. Yani yüksek antibiyotik konsantrasyonunda da yüksek giderim verimi elde edilmiştir.

4.4 Ekotoksikolojik Çalışmalar

Sürekli reaktör çalışmalarında farklı antibiyotik konsantrasyonlarındaki sentetik atıksuların arıtım çalışması öncesi ve sonrasında toksisite belirlenmiştir. Çalışmada en yüksek antibiyotik konsantrasyon olarak denenen 100 mg/L'lik oran arıtım çalışması öncesinde oldukça toksik çıkmıştır. Arıtım sonrası ise atıksuyun toksik özellik göstermediği belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.21'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.21 Toksisite sonuçları

	5 dakikalık sonuçlar (% Konsantrasyon)	15 dakikalık sonuçlar (% Konsantrasyon)
100 mg/L antibiyotik içeren sentetik atıksu	10	11
Anaerobik Arıtım Sonrası	-	-

-Rakamsal bir değer saptanamamıştır

100 mg/L antibiyotik içeren sentetik atıksuyun %10'luk konsantrasyonu test organizması ile 5 dakika maruz bırakıldığında EC₅₀ değerine karşılık gelmektedir. 15 dakikada EC₅₀ değeri ise %11'lik atık su konsantrasyonunu ifade etmektedir. Arıtım sonrasında elde edilen suyun 5 ve 15 dakikada EC₅₀ değerine karşılık gelen bir konsantrasyon değeri saptanamamıştır. Bu durum toksik madde içermeyen kontrol

kuyucuğu ile eş değer ışımaya sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Buda arıtılmış suyun toksik madde içermediğinin göstergesidir.

4.5 Mikrobiyal Kompozisyonun Belirlenmesi

4.5.1 NGS analizi sonuçları

NGS analizi sonuçları bakteriler için Çizelge 4.22’de, arkeler için Çizelge 4.23’de tür ve cins düzeyinde dizi sayısı belirtilerek ve yüzdeleri hesaplanarak verilmiştir.

Çizelge 4.22 Bakteri NGS analizi sonuçları

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Syntrophobacter spp.</i>	8496	19,563
<i>op8 (candidate division)</i>	8414	19,374
<i>Delftia lacustris</i>	7186	16,546
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	2350	5,411
<i>Kosmotoga spp.</i>	1721	3,963
<i>Syntrophobacter</i>	860	1,980
<i>Syntrophobacteraceae</i>	841	1,936
<i>Desulfovibrio aminophilus</i>	571	1,315
<i>Azospirillum oryzae</i>	552	1,271
<i>Comamonadaceae</i>	473	1,089
<i>Ochrobactrum tritici</i>	438	1,009
<i>Rhodocyclaceae</i>	419	0,965
<i>Longilinea spp.</i>	392	0,903
<i>Syntrophaceae</i>	389	0,896
<i>Variovorax spp.</i>	383	0,882
<i>Ottowia spp.</i>	349	0,804
<i>Rhizobium giardinii</i>	349	0,804
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	214	0,493
<i>Beijerinckiaceae</i>	213	0,490
<i>Pleomorphomonas oryzae</i>	209	0,481
<i>Syntrophomonas syntrophospora cellicola</i>	208	0,479
<i>Pseudomonadales</i>	204	0,470
<i>Thermotogaceae</i>	204	0,470
<i>Rhodospirillaceae</i>	201	0,463

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Synergistaceae</i>	187	0,431
<i>Thermoanaerobacteraceae</i>	172	0,396
<i>Thermoanaerobacterales</i>	165	0,380
<i>Brevundimonas diminuta</i>	160	0,368
<i>Clostridiales</i>	156	0,359
<i>Anaerolineae</i>	153	0,352
<i>Derxia spp.</i>	152	0,350
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	151	0,348
<i>Porphyromonadaceae</i>	150	0,345
<i>Coprothermobacter spp.</i>	145	0,334
<i>Anaerolineales</i>	140	0,322
<i>Syntrophobacterales</i>	119	0,274
<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i>	116	0,267
<i>Geobacteraceae</i>	115	0,265
<i>Rhodobacteraceae</i>	112	0,258
<i>Delftia</i>	111	0,256
<i>Syntrophus sp.</i>	110	0,253
<i>Geobacter spp.</i>	107	0,246
<i>Hyphomicrobium spp.</i>	107	0,246
<i>Candidatus_solibacter</i>	107	0,246
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	103	0,237
<i>Geobacter</i>	95	0,219
<i>Syntrophus</i>	92	0,212
<i>Rhodobacter spp.</i>	90	0,207
<i>Tm6 (candidate division) tm6 (candidate division)</i>	87	0,200
<i>Bellilinea caldifistulae</i>	87	0,200
<i>Thauera selenatis</i>	84	0,193
<i>Burkholderiales</i>	82	0,189
<i>Anaerolinea spp.</i>	82	0,189
<i>Acidovorax spp.</i>	80	0,184
<i>Smithella</i>	78	0,180
<i>Anaerolineaceae</i>	78	0,180
<i>Pannonibacter spp.</i>	78	0,180
<i>Anaerofustis spp.</i>	77	0,177
<i>Phyllobacteriaceae</i>	77	0,177
<i>Syntrophus spp.</i>	77	0,177
<i>Pleomorphomonas spp.</i>	72	0,166
<i>nkb19 (candidate division)</i>	72	0,166
<i>Thermodesulfobiaceae</i>	69	0,159

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Thermotogales</i>	68	0,157
<i>Ruminococcaceae</i>	65	0,150
<i>Pseudomonadaceae</i>	64	0,147
<i>Proteiniphilum spp.</i>	63	0,145
<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i>	61	0,140
<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	59	0,136
<i>Betaproteobacteria</i>	59	0,136
<i>Syntrophomonadaceae</i>	58	0,134
<i>Christensenellaceae</i>	56	0,129
<i>Pseudomonas spp.</i>	55	0,127
<i>Clostridiaceae</i>	53	0,122
<i>Bradyrhizobiaceae</i>	53	0,122
<i>Spirochaetaceae</i>	52	0,120
<i>Methyloversatilis spp.</i>	51	0,117
<i>Simplicispira spp.</i>	50	0,115
<i>Bradyrhizobium spp.</i>	48	0,111
<i>Kosmotoga</i>	46	0,106
<i>Desulfovibrio</i>	45	0,104
<i>Thauera phenylacetica</i>	44	0,101
<i>Rhodocyclales</i>	42	0,097
<i>Azoarcus</i>	40	0,092
<i>Anaerolinea</i>	40	0,092
<i>Caulobacteraceae</i>	40	0,092
<i>Thauera spp.</i>	39	0,090
<i>Desulfovibrio alcoholovorans</i>	39	0,090
<i>Simplicispira</i>	38	0,087
<i>Methylothermobacter spp.</i>	38	0,087
<i>Desulfovibrio spp.</i>	37	0,085
<i>Synergistales</i>	36	0,083
<i>Alcanivoracaceae</i>	35	0,081
<i>Desulfobacterales</i>	33	0,076
<i>Syntrophobacter sulfatireducens</i>	33	0,076
<i>Fastidiosipila spp.</i>	32	0,074
<i>Dechloromonas spp.</i>	32	0,074
<i>Pedomicrobium spp.</i>	31	0,071
<i>Anaerostipes spp.</i>	31	0,071
<i>Colwellia spp.</i>	30	0,069
<i>Caldicoprobacter</i>	29	0,067
<i>Actinomycetales</i>	29	0,067

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Colwelliaceae</i>	29	0,067
<i>op9 (candidate division) op9 (candidate division)</i>	28	0,064
<i>Ruminococcus spp.</i>	27	0,062
<i>Longilinea</i>	27	0,062
<i>Paludibacter spp.</i>	26	0,060
<i>Xanthobacter spp.</i>	26	0,060
<i>Euzebyales</i>	26	0,060
<i>Bordetella hinzii</i>	26	0,060
<i>Syntrophomonas spp.</i>	25	0,058
<i>Sulfuricurvum kujiense</i>	25	0,058
<i>Candidatus_solibacter spp.</i>	24	0,055
<i>Desulfomicrobium escambiense</i>	23	0,053
<i>Variovorax paradoxus</i>	23	0,053
<i>Sphingomonadaceae</i>	23	0,053
<i>Syntrophomonas</i>	22	0,051
<i>Rhodopseudomonas</i>	21	0,048
<i>Alcaligenaceae</i>	20	0,046
<i>Candidatus_cloacamonas</i>	20	0,046
<i>Dysgonomonas spp.</i>	20	0,046
<i>Mycoplana peli</i>	19	0,044
<i>Leptolinea spp.</i>	19	0,044
<i>Pseudomonas</i>	18	0,041
<i>Clostridium spp.</i>	18	0,041
<i>nc10 (candidate division) nc10 (candidate division)</i>	18	0,041
<i>op8 (candidate division) op8 (candidate division)</i>	18	0,041
<i>Bacillus spp.</i>	16	0,037
<i>Bosea thiooxidans</i>	16	0,037
<i>Methylocystis spp.</i>	16	0,037
<i>Raoultella planticola</i>	16	0,037
<i>tm6 (candidate division)</i>	15	0,035
<i>Lachnospiraceae</i>	15	0,035
<i>Bartonellaceae</i>	14	0,032
<i>Metyhlovirgula spp.</i>	14	0,032
<i>Novispirillum</i>	14	0,032
<i>Holospiraceae</i>	14	0,032
<i>nc10 (candidate division)</i>	13	0,030
<i>Acidobacteriales</i>	13	0,030
<i>Klebsiella variicola</i>	13	0,030
<i>Coxiella spp.</i>	13	0,030

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Caldilineales</i>	12	0,028
<i>Clostridium disporicum</i>	12	0,028
<i>Erysipelotrichaceae</i>	12	0,028
<i>Azoarcus spp.</i>	12	0,028
<i>Rickettsiaceae</i>	12	0,028
<i>Aeromonas spp.</i>	12	0,028
<i>Desulfuromonadaceae</i>	12	0,028
<i>Cellulomonas denverensis</i>	12	0,028
<i>brc1 (candidate division)</i>	12	0,028
<i>Dermatophilaceae</i>	11	0,025
<i>Rhodoplanes spp.</i>	11	0,025
<i>Rhodovulum spp.</i>	11	0,025
<i>Nitriliruptorales</i>	11	0,025
<i>Achromobacter spp.</i>	11	0,025
<i>Lysobacter spp.</i>	11	0,025
<i>Pelobacteraceae</i>	11	0,025
<i>Dehalococcoidia</i>	10	0,023
<i>Phaeospirillum fulvum</i>	10	0,023
<i>Xanthomonadaceae</i>	10	0,023
<i>Colwellia</i>	10	0,023
<i>Alkaliphilus</i>	10	0,023
<i>Devosia spp.</i>	10	0,023
<i>Desulfomicrobium</i>	9	0,021
<i>Rhodobacterales</i>	9	0,021
<i>Variovorax</i>	9	0,021
<i>Rhodospirillales</i>	9	0,021
<i>Fibrobacteraceae</i>	9	0,021
<i>Mesorhizobium spp.</i>	9	0,021
<i>Eubacterium limosum</i>	9	0,021
<i>Spirochaetales</i>	9	0,021
<i>Alicyclophilus spp.</i>	8	0,018
<i>Rhodobacter maris</i>	8	0,018
<i>Alteromonadales</i>	8	0,018
<i>Phenylobacterium spp.</i>	8	0,018
<i>Acidovorax</i>	8	0,018
<i>Deltaproteobacteria</i>	8	0,018
<i>Myxococcales</i>	8	0,018
<i>Nitrobacter</i>	8	0,018
<i>Ochrobactrum</i>	8	0,018

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Nitrosococcus spp.</i>	8	0,018
<i>Candidatus_thiobios</i>	8	0,018
<i>Lactococcus spp.</i>	8	0,018
<i>Coprothermobacter</i>	8	0,018
<i>Parabacteroides spp.</i>	8	0,018
<i>Pomatiopsidae</i>	8	0,018
<i>Halothiobacillaceae</i>	8	0,018
<i>Phascolarctobacterium spp.</i>	7	0,016
<i>Nitrobacter spp.</i>	7	0,016
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	7	0,016
<i>Comamonas denitrificans</i>	7	0,016
<i>Actinobacteria</i>	7	0,016
<i>Pseudofulvimonas spp.</i>	7	0,016
<i>Sphingomonadales</i>	7	0,016
<i>Desulfuromonadales</i>	7	0,016
<i>Tepidimonas</i>	7	0,016
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	7	0,016
<i>İgnavibacterium</i>	7	0,016
<i>Dysgonomonas sp.</i>	7	0,016
<i>Desulfovibrionaceae</i>	7	0,016
<i>Proteiniclasticum spp.</i>	6	0,014
<i>op9 (candidate division)</i>	6	0,014
<i>Hyphomicrobium</i>	6	0,014
<i>Anaerofilum spp.</i>	6	0,014
<i>Zoogloea ramigera</i>	6	0,014
<i>Phycisphaerales</i>	6	0,014
<i>Comamonas odontotermitis</i>	6	0,014
<i>Aquamicrobium spp.</i>	6	0,014
<i>Flavobacteriaceae</i>	6	0,014
<i>Clostridia</i>	6	0,014
<i>Caldicoprobacteraceae</i>	6	0,014
<i>Leptothrix spp.</i>	6	0,014
<i>Dermatophilus</i>	6	0,014
<i>Desulfobulbaceae</i>	6	0,014
<i>Zoogloea</i>	5	0,012
<i>Thiobacillus</i>	5	0,012
<i>Clostridium</i>	5	0,012
<i>Agromyces mediolanus</i>	5	0,012
<i>Planctomycetaceae</i>	5	0,012

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Pedomicrobium</i>	5	0,012
<i>Clostridium crotonatovorans</i>	5	0,012
<i>Candidatus_desulforudis</i>	5	0,012
<i>Hyphomicrobium facile</i>	5	0,012
<i>Yersinia rohdei</i>	5	0,012
<i>Desulfurivibrio spp.</i>	5	0,012
<i>Propionivibrio spp.</i>	5	0,012
<i>İnsecta</i>	5	0,012
<i>Skermanella</i>	5	0,012
<i>Paludibacter</i>	5	0,012
<i>İamiaceae</i>	5	0,012
<i>Comamonas</i>	5	0,012
<i>Lactobacillales</i>	5	0,012
<i>Acidimicrobiales</i>	4	0,009
<i>Rhizobiales</i>	4	0,009
<i>Acidithiobacillus</i>	4	0,009
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i>	4	0,009
<i>Candidatus_captivus</i>	4	0,009
<i>Rubrobacterales</i>	4	0,009
<i>Flavonifractor</i>	4	0,009
<i>Thauera chlorobenzoica</i>	4	0,009
<i>Shinella</i>	4	0,009
<i>Bacteroidales</i>	4	0,009
<i>Elusimicrobiales</i>	4	0,009
<i>Shinella zoogloeoides</i>	4	0,009
<i>Sphingobacteriaceae</i>	4	0,009
<i>Rhodobacter</i>	4	0,009
<i>Azospira</i>	4	0,009
<i>Clostridium intestinale</i>	4	0,009
<i>Ralstonia solanacearum</i>	4	0,009
<i>Ottowia</i>	4	0,009
<i>Clostridiales family xiii. İncertae sedis</i>	3	0,007
<i>ksb1 (candidate division) ksb1 (candidate division)</i>	3	0,007
<i>Kofleriaceae</i>	3	0,007
<i>Ferritrophicaceae</i>	3	0,007
<i>Thermodesulfobacteriales</i>	3	0,007
<i>Buttiauxella noackiae</i>	3	0,007
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	3	0,007
<i>Rhizobiaceae</i>	3	0,007

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Alkalibacter spp.</i>	3	0,007
<i>Arcobacter spp.</i>	3	0,007
<i>Aquabacterium spp.</i>	3	0,007
<i>Clostridium tunisiense</i>	3	0,007
<i>Microbacterium aurum</i>	3	0,007
<i>Nitrospirales</i>	3	0,007
<i>Dietzia natronolimnaea</i>	3	0,007
<i>Anaerofustis</i>	3	0,007
<i>Bellilinea</i>	3	0,007
<i>Selenomonadales</i>	3	0,007
<i>Gammaproteobacteria</i>	3	0,007
<i>Sphingobium amiense</i>	3	0,007
<i>Mycobacterium spp.</i>	3	0,007
<i>Thiomonas intermedia</i>	3	0,007
<i>Methylomonas spp.</i>	3	0,007
<i>Desulfobulbus spp.</i>	3	0,007
<i>Brooklawia cerclae</i>	3	0,007
<i>Lachnoclostridium clostridium celerecrescens</i>	3	0,007
<i>Bacillidae</i>	3	0,007
<i>Clostridium saccharoperbutylacetonicum</i>	3	0,007
<i>Brocadiaceae</i>	3	0,007
<i>Flavobacteriales</i>	3	0,007
<i>Propionicimonas paludicola</i>	2	0,005
<i>Cytophagia</i>	2	0,005
<i>Fibrobacterales</i>	2	0,005
<i>Streptomyces scabrisporus</i>	2	0,005
<i>Prevotella spp.</i>	2	0,005
<i>Desulfovibrio mexicanus</i>	2	0,005
<i>Paracoccus spp.</i>	2	0,005
<i>Oceanospirillales</i>	2	0,005
<i>Christensenella</i>	2	0,005
<i>Nitrosococcus</i>	2	0,005
<i>Erysipelotrichales</i>	2	0,005
<i>Thermomonas spp.</i>	2	0,005
<i>Escherichia coli</i>	2	0,005
<i>Hydrogenoanaerobacterium spp.</i>	2	0,005
<i>Levilina saccharolytica</i>	2	0,005
<i>Bacteroidaceae</i>	2	0,005
<i>Brachymonas denitrificans</i>	2	0,005

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Thermovirga</i> spp.	2	0,005
<i>Pseudomonas veronii</i>	2	0,005
<i>Coriobacteriaceae</i>	2	0,005
<i>Aquicella</i> spp.	2	0,005
<i>Sporobacter</i> spp.	2	0,005
<i>Desulfomicrobiaceae</i>	2	0,005
<i>Spirochaeta</i> spp.	2	0,005
<i>Bacillales</i>	2	0,005
<i>Acidovorax caeni</i>	2	0,005
<i>Rhizobium</i>	2	0,005
<i>Papillibacter</i>	2	0,005
<i>Uruburuella</i> spp.	2	0,005
<i>Gelria</i>	2	0,005
<i>Chromatiaceae</i>	2	0,005
<i>Eubacteriaceae</i>	2	0,005
<i>Fastidiosipila</i>	1	0,002
<i>Propionibacterium acnes</i>	1	0,002
<i>Rhodocyclus tenuis</i>	1	0,002
<i>Bdellovibrionales</i>	1	0,002
<i>Comamonas</i> spp.	1	0,002
<i>Blautia</i>	1	0,002
<i>Erysipelatoclostridium clostridium ramosum</i>	1	0,002
<i>Proteiniphilum</i>	1	0,002
<i>Thiobacillus</i> spp.	1	0,002
<i>Acinetobacter townneri</i>	1	0,002
<i>Yersinia</i>	1	0,002
<i>Ancalomicrobium</i>	1	0,002
<i>Geobacter lovleyi</i>	1	0,002
<i>Cytophagaceae</i>	1	0,002
<i>Methylobacterium</i>	1	0,002
<i>Saccharospirillaceae</i>	1	0,002
<i>Azospira</i> spp.	1	0,002
<i>Cytophagales</i>	1	0,002
<i>nkb19 (candidate division) nkb19 (candidate division)</i>	1	0,002
<i>Christensenella</i> spp.	1	0,002
<i>Puniceicoccales</i>	1	0,002
<i>Chromobacteriaceae</i>	1	0,002
<i>Prevotella</i>	1	0,002
<i>Cystobacterineae</i>	1	0,002

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Janthinobacterium lividum</i>	1	0,002
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1	0,002
<i>Acidobacteriaceae</i>	1	0,002
<i>Aeromonas veronii</i>	1	0,002
<i>Oxalobacteraceae</i>	1	0,002
<i>Bacteroidia</i>	1	0,002
<i>Sphingobacteriales</i>	1	0,002
<i>Propionibacteriaceae</i>	1	0,002
<i>Spirochaeta</i>	1	0,002
<i>Kaistobacter spp.</i>	1	0,002
<i>Sphingopyxis spp.</i>	1	0,002
<i>Cetobacterium</i>	1	0,002

Çizelge 4.23 Arke NGS analizi sonuçları

Tür	Dizi Sayısı	Yüzde
<i>Methanosaeta concilii</i>	140389	87,211
<i>Methanosaeta spp.</i>	7295	4,532
<i>Methanosaeta</i>	3736	2,321
<i>Methanospirillum hungatei</i>	3540	2,199
<i>Methanosphaerula palustris</i>	2925	1,817
<i>Methanosarcina barkeri</i>	957	0,594
<i>Methanospirillum spp.</i>	377	0,234
<i>Family unspecified</i>	364	0,226
<i>Methanosaetaceae</i>	346	0,215
<i>Methanomicrobiales</i>	270	0,168
<i>Methanosphaerula</i>	214	0,133
<i>Methanomicrobia</i>	179	0,111
<i>Methanosarcinaceae</i>	138	0,086
<i>Methanoculleus spp.</i>	100	0,062
Tür	Dizi Sayısı	Yüzde

<i>Methanospirillum</i>	30	0,019
<i>Methanospirillaceae</i>	28	0,017
<i>Methanomicrobiaceae</i>	20	0,012
<i>Thermoproteales</i>	19	0,012
<i>Methanoculleus</i>	13	0,008
<i>Methanosarcinaceae spp.</i>	8	0,005
<i>Methanosarcina</i>	8	0,005
<i>Methanomethylovorans spp.</i>	8	0,005
<i>Methanosarcinales</i>	5	0,003
<i>Methanosarcina spp.</i>	4	0,002
<i>Candidatus methanoregula</i>	2	0,001
<i>Thermoprotei</i>	1	0,001

NGS sonuçları incelendiğinde çalışmada kullanılan anaerobik çamurda bakteri domaininden 347 farklı türün varlığı tespit edilmiştir. Bulunma yüzdelere bakıldığında ise %19,5 ile *Syntrophobacter spp.*, %19,3 *op8 (candidate division)* ve %16,5 ile *Delftia lacustris* en fazla bulunan tür olarak ortaya çıkmıştır. Arke domaini açısından incelendiğinde ise 26 farklı tür tespit edilmiştir. %87'lik bulunma oranıyla metanojenlerden *Methanosaeta concilii* ilk sıradadır.

5 TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Günümüzde nüfus artışına bağlı olarak yerleşim alanlarından, konutlardan ve sanayi tesislerinden kaynaklanan katı, sıvı ve gaz formlardaki atıklar, doğal dengeyi bozan ve insan yaşamını tehdit eden boyutlara ulaşmıştır. Gün geçtikçe büyüyen ve doğal yaşam için risk taşıyan çevre kirliliğinin önlenmesi için bu atıkların kontrol altına alınması gerekmektedir.

Her geçen gün ilaç tüketiminin artması ile ilaç endüstrisi büyük bir ekonomik potansiyel olarak karşımıza çıkmaktadır. İlaçların, ilaç üretim aşamasında kullanılan veya sentezlerde yan ürün olarak elde edilen birtakım kimyasalların atık olarak alıcı ortamlara verilmesi çevrede zararlı etkilere yol açmaktadır (Larsson et al., 2007).

Antibiyotikler tüm dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Günümüzde insan ve hayvan sağlığı, gıda sektöründe, besinlerin korunması, balık gibi sucul canlıların sağlığı ve gelişimi, hastanelerde, ilaç endüstrisinde ve bilimsel araştırma faaliyetleri için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak bilinçsiz ve gereksiz antibiyotik kullanımı sonucunda hem çevresel sorunlar, hem de besin zinciri yoluyla canlılarda özellikle insanlarda sağlık problemleri meydana gelmektedir. Antibiyotikler, ekolojik döngüde uzun zaman bozunmadan toprağa, su kaynaklarına ve dolayısıyla canlıya kadar ulaşabilmektedir. Yapılan çalışmalarda çok küçük derişim aralıklarında bile toprakta ve su kaynaklarında antibiyotik kalıntılarına rastlanmıştır. Bu yüzden son yıllarda antibiyotik kirliliği giderimi üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

Yüksek organik yüke sahip olan antibiyotik atıksularının alıcı ortama verilmeden önce kesinlikle arıtılmaları gerekmektedir. Endüstriyel ve çeşitli faaliyetlerden kaynaklanan kirleticilerin giderilmesinde aerobik, anaerobik ve ileri arıtım yöntemleri kullanılmaktadır. Tıbbi kimyasalların arıtılması amacıyla kullanılan ileri arıtma teknolojileri ozonlama, ultrafiltrasyon, ters osmoz gibi yüksek basınçlı membran sistemleri gibi fiziksel ve kimyasal süreçlerdir.

Anaerobik arıtma sistemleri, biyolojik çamurların arıtımında yaygın olarak kullanıldığı gibi, günümüzde çeşitli endüstriyel atıksuların arıtımında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Aerobik proseslerle karşılaştırıldığında sistemin işletilmesinde özellikle daha az enerjiye ihtiyaç duyulması, üretilen metan gazının ekonomik değere sahip olması, daha az çamur üretmesi ve nütrient ihtiyacı duymalarından dolayı bu sistemlerin kullanılması cazip hale gelmektedir.

Bu çalışmada, ilaç sektöründe en çok kullanılan grup olan antibiyotiklerin çevreye yayılması ile oluşabilecek atık suların anaerobik sistemlerde arıtılabilirliklerini ortaya koyarak bu tip atık suları oluşturan işletmelere alternatif arıtım yöntemleri sunmak ve arıtımda aktif rol alan mikroorganizmaların tespiti ile atık suya spesifik inokulum oluşturmak hedeflenmiştir. Çalışma kapsamında laboratuvar ortamında farklı antibiyotik grupları ile hazırlanan sentetik atık suların ilk olarak kesikli anaerobik reaktörde arıtım potansiyelleri belirlenmiştir. Kesikli çalışmalardan elde edilen optimum veriler ve en iyi giderim sağlanan antibiyotik grupları sürekli anaerobik sisteme geçilmesinde ön basamak olmuştur. Sürekli reaktör ile yapılan çalışmalarda anaerobik YADYR reaktörde biyolojik yolla KOİ giderimi verimi öncelikli olarak dikkate alınmıştır. Bununla birlikte arıtım sonunda arıtım veriminin en yüksek olduğu koşullarda alınan çamur örneklerindeki mikrobiyal çeşitlilik NGS ile belirlenmiştir. Böylece en iyi koşullarda aktif olan mikroorganizmaları çeşitleri tespit edilebilmiştir.

Anaerobik kesikli ve sürekli reaktör süreci

Anaerobik kesikli reaktör çalışmaları deneysel tasarım sonuçlarına göre; eritromisin antibiyotiği ile hazırlanan deney setinde başlangıç KOİ oranı 50 mg/L olduğunda en iyi KOİ giderimi (%88,81) bulunmuştur. Vankomisin ve amfoterisin b içeren atıksularda ise 25 mg/L KOİ konsantrasyonunda ve kosubstrat olarak ABP kullanıldığında sırasıyla %85,88 ve %99,30 KOİ giderimi elde edilmiştir. Üçlü etkileşim açısından karşılaştırma yapıldığında ise antibiyotik konsantrasyonu ve antibiyotik çeşidi ve kosubstrat çeşidinin KOİ giderimi üzerine etkili olduğu belirlenmiştir.

Flukonazol, tetrasiklin, sefomezin antibiyotikleri ile ayrı ayrı hazırlanmış sentetik atıksuların kesikli çalışmalarında; flukonazol antibiyotiği ile yapılan çalışmada başlangıç KOİ oranı 25 mg/L olduğunda ve kosubstrat olarak ABP kullanıldığında en iyi KOİ giderimi (%98,87) bunulurken, sefomezin ile hazırlanmış ve başlangıç KOİ oranı 75 mg/L sentetik atık suda ve kosubstrat olarak ABP kullanıldığında %96,84 KOİ giderimi elde edilmiştir. Tetrasiklin antibiyotiği ile yapılan çalışmada ise 25 mg/L'lik başlangıç konsantrasyonunda ve propiyonik asitli ortamda %93,73'lük KOİ giderimi görülmüştür. Amfoterisin b ve flukonazol antibiyotikleri sitoplazma membran permeabilitesini bozan antibiyotikler oldukları için kesikli süreçte en iyi giderim amfoterisin b'de sağlandığından sürekli reaktör çalışmalarında amfoterisin b tercih edilmiştir. Sefamezin antibiyotiğinde de yüksek konsantrasyonda iyi giderim elde edildiği için sürekli reaktör sürecinde kullanılmıştır.

Kanamisin antibiyotiği ile hazırlanmış sentetik atıksuda 50 mg/L'lik antibiyotik konsantrasyonda, glukoz kullanıldığında %92,66 KOİ giderimi elde edilmiştir.

Kesikli reaktör istatistik sonuçlarına göre en iyi giderim sağlanan amfoterisin b, sefamezin ve kanamisin antibiyotikleri kullanılarak kurulan deney setinde 25 mg/L'lik konsantrasyonda, ABP kullanıldığında %86,59'luk KOİ giderimi elde edilmiş ve sürekli reaktör çalışmalarında bu 3 antibiyotik ve kosubstrat olarak ABP kullanılmıştır.

Anaerobik arıtımın verimli ve ekonomik olabilmesi için yapılan kesikli reaktör denemelerinde belirlenen en uygun koşullar esas alınarak sürekli reaktör işletilmeye başlanmıştır. Reaktörde 173 gün boyunca KOİ giderimi başta olmak üzere Çizelge 4.16'de belirtilen parametreler takip edilmiştir.

Bu süreç sırasında giriş parametreleri olan KOİ ve OYO değiştirilerek arıtım veriminin en yüksek olduğu koşullara ulaşılmaya çalışılmıştır. Sürekli anaerobik reaktördeki anaerobik çamur nişasta içeren besleme solüsyonuyla beslenerek, anaerobik konsorsiyumun aktif hale gelmesi sağlanmıştır. Aktivasyondan sonra 10 mg/L antibiyotik konsantrasyonundan başlayarak, her aşamada %10 arttırılarak 100 mg/L atık su konsantrasyonuna kadar çıkılmıştır. Çalışma süresince HAS 96 saatte sabit

tutulmuştur. 173 günlük çalışmada organik yükleme günde 0,55-0,77 g KOİ l⁻¹ arasında olup KOİ giderimi %95,26-98,22 arasında değişmiştir. Literatür incelendiğinde de farklı antibiyotik gruplarının anaerobik arıtımı ile ilgili çalışmalar görülmektedir. Çelebi ve ark (2008) yaptıkları çalışmada 50 mg/L amoksisilin, oksitetrasiklin, tilosin ve eritromisin ayrı olarak Anaerobik Çok Kademeli Yatak reaktör (AÇKYR) sistemde anaerobik arıtılabilirliklerini incelemişler. Oksitetrasiklin, tilosin, eritromisin ve amoksisilin içeren reaktörlerde amoksisilin için giderim verimi %76 bulmuşlardır. 30. günün sonunda maksimum KOİ giderim verimleri sırasıyla %87, %83, %86 ve %83 olarak saptamışlar. Farklı bir araştırmada tilosin ve eritromisin antibiyotiklerinin Anaerobik Çok Kademeli Yatak Reaktör (AÇKYR) ve takiben Aerobik Sürekli Karıştırmalı Tank Reaktör (SKTR) sisteminde arıtılabilirliklerini araştırmışlar. Çalışma sonucunda artan konsantrasyonlarda (50,100,150,200,250 mg/L) reaktöre verilen tilosin ve eritromisin KOİ giderim verimleri, AÇKYR'de eritromisin için %70–100 ve tilosin için ise %80-95 olarak bulmuşlar. Ardışık anaerobik/aerobik reaktör sisteminde tüm tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarında yaklaşık %95 KOİ ve %100 antibiyotik giderim verimleri elde etmişlerdir (Çelebi ve Sponza, 2009).

Zhiqiang Chen ve ark (2010) tarafından yapılan çalışmada, 6 - APA ve amoksisilin gibi sentetik ilaç atıksularının 12,57-21,02 kg m⁻³ aralığındaki yüksek yükleme hızında ve 5,57-8,26 aralığındaki pH koşullarında anaerobik arıtımı incelemişler. Yukarı akışlı çamur yatak reaktörde 6 – APA için % 52,2 amoksisilinde ise % 26,3 KOİ giderimi sağlamışlardır.

Anaerobik arıtımın kararlılığı hakkında bilgi edinmemizi sağlayan pH, alkalinite ve uçucu yağ asit değişimi çalışma süresince takip edilmiştir. pH değerleri incelendiğinde reaktörde uygulanan tüm OYO değişimlerinde pH 8,2 ile 8,9 arasında değişmiştir. Çıkış pH'ındaki bu yükselme kullandığımız amfoterisin b ve sefamezin antibiyotiklerinin yapısında OH gruplarının bulunmasına bağlanabilir. Parçalanma sonucu bu gruplar serbest kalmakta pH'ı bir miktar yükseltebilmektedir. Bu artış bikarbonat tamponlanmasıyla sabitlenmeye çalışılmıştır. Bu yüzden, düşük alkaliniteye sahip sentetik atıksuya 3 g l⁻¹ NaHCO₃ ilave edilmiştir. Tamponlama işlemi, reaktörde

metanojenlerin en iyi geliştiği pH aralığını korumaktadır. Yüksek pH değerleri ve tamponlama kapasitesi reaktörün asitlenmesine karşı bir garantidir.

Süreç kararlılığının takibinde kullanılan UYA/Alkalinite oranlarının 0,4'den küçük olması reaktörün kararlı, 0,4-0,8 arasında olması kısmen kararlı, 0,8'den büyük olması ise kararsız olduğunu göstermektedir (Behling et al., 1997). Çıkış suyunun UYA/Alkalinite oranının artması reaktörde asit üreten bakterilerin daha aktif hale geldiğini işaret eder. Çalışmamızda anaerobik reaktörde toplam uçucu yağ asit derişimi asetik asit cinsinden 37-52 mg L⁻¹ arasında değişmiştir (Çizelge 4.20). Tüm anaerobik arıtım sürecinde UYA/Alkalinite değeri 0,029-0,049 arasında değişmiştir. Bu değerler tüm deney süresinde reaktörün kararlı olduğunun göstergesidir.

Farklı sanayi kuruluşlarına ait atık suların biyolojik arıtımı sonrasında elde edilen çıkış suyunun alıcı ortamlara deşarjında organik madde giderimi yanı sıra toksisite de önemli bir parametredir. Bu çalışmada organik madde giderimi açısından arıtımı gerçekleştirilen üç farklı antibiyotik grubunu içeren sentetik atıksuyun giriş ve anaerobik arıtım sonrası çıkış toksisite değerleri de araştırılmıştır (Çizelge 4.21). Çalışmada en yüksek konsantrasyon (100 mg/L) olarak denenen sentetik atıksuyun başlangıç toksisite değeri ortalama olarak EC₅₀ = 10±0,2 ile 11±0,2 mg/L bulunmuştur. Alıcı ortama direkt olarak verildiğinde toksik etki gösterecek olan bu atıksuyun anaerobik arıtım sonrasında ise toksisitesinin kalmadığı belirlenmiştir. Yuanji ve ark (2013) anaerobik arıtmada etkili olan mikrobiyal topluluklar için antibiyotik içeren ilaç atıksularının toksisite değerlerini belirlemişlerdir. 15 dakikada EC₅₀ değerleri amoksisilin, kanamisin, lincomisin ve ciprofloksacin antibiyotikleri için sırasıyla 3,99 , 5,11 , 4,32 ve 5,63 g L⁻¹ olarak bulunmuşlar.

Anaerobik reaktördeki mikrobiyal konsorsiyumun belirlenmesi ve takibi

Endüstriyel atık suların anaerobik arıtım sürecindeki mikrobiyal konsorsiyumun belirlenmesine yönelik çalışmalarda mikroorganizmaların kültüre edilme zorlukları nedeniyle klonlama, HRM, FISH, Real Time PCR, T-RFLP, DGGE, NGS gibi moleküler tabanlı tekniklerin kullanımı tercih edilmekte ve başarılı sonuçlar elde

edilmektedir (Casserly, Casserly and Erijman, 2003; Sanz and Köchling, 2007; Talbot et al., 2008). Bu çalışmada da antibiyotik içeren sentetik atıksuyun anaerobik arıtım sürecinde rol oynayan mikrobiyal konsorsiyumun belirlenmesinde NGS analizi kullanılmıştır.

NGS sonuçları incelendiğinde çalışmada kullanılan anaerobik çamurda bakteri domaininden 347 farklı türün varlığı tespit edilmiştir. Bulunma yüzdelerine bakıldığında *Syntrophobacter spp.* (%19,5) en fazla bulunan türdür. *Syntrophobacter* propiyonatı okside eder ve asetat, CO₂, H₂ üretir (Madigan and Martinko, 2010). Sintrofik bir bakteri olan *Syntrophobacter*'in, yukarıda verilen son ürünleri metanojenlerin anaerobik mekanizmasında kullanılan önemli substratları oluşturur. Reaktörde belirlenen diğer bir bakteri *op8 (candidate division)* (%19.37)'dir. OP8 henüz kültüre edilmemiş, ilk kez Yellowstone Obsidian havuzunda tespit edilmiş bir bakteridir (Hugenholtz et al., 1998; López-García et al., 2002). Daha sonra bu bakteriye termofilik olmayan sucul çevrelerde ve Cariaco havzasının anoksik sularında rastlandığı bildirilmiştir (Dojka et al., 1998; Madrid et al., 2001). Fizyolojileri hakkında henüz bir kesinlik yoktur (Dhillon et al., 2003). Reaktörde bulunan bir diğer tür ise *Delftia lacustris* (% 16.5) olarak ortaya çıkmıştır. *Delftia lacustris* Danimarka'da mesotrofik göl suyundan izole edilmiştir. Çeşitli monosakkarit, disakkaritler, amino asitler ve organik asit kullanırlar (Niels et al., 2009). Bir başka bakteri ise Mor nonsulfur fotosentetik bakteri *Rhodopseudomanos palustris*'dir. *Rhodopseudomanos palustris* anaerobik koşullarda büyüme için çeşitli aromatik bileşikler (fenolik, aromatik asitler, aromatik aldehit ve hidro asitler) kullanır (Harwood and Gibson, 1988).

Arke domaini açısından incelendiğinde ise 26 farklı tür tespit edilmiştir. *Methanosaeta concilii* %87'lik bulunma oranıyla reaktördeki en baskın türdür. Anaerobik reaktörlerde *Methanosaeta*'nın diğer metanojenlere göre sayısal üstünlüğü daha önce de rapor edilmiştir (Angenent et al., 2004b). Bu sayısal üstünlüğün en büyük nedeni *Methanosaeta*'nın asetat üzerindeki yarı doygunluk sabiti (K_s)'in *Methanosarcina*'ya nazaran çok düşük olmasıdır (Stams et al., 2003). Karbon giderim verimi yüksek olan sürekli biyoreaktörlerde KOİ, dolayısıyla asetat konsantrasyonu çok

düşük olmaktadır. Düşük asetat konsantrasyonları nedeni ile *Methanosaeta* maksimum büyüme hızına diğer arke türlerinden çok daha kısa sürede ulaşmaktadır. *Methanosaeta*'nın granülasyonu arttırarak kararlı reaktör performansına neden olduğu bildirilmiştir (MacLeod et al., 1990). Günümüze kadar tanımlanan metan üreten arkelerden sadece *Methanosaeta* ve *Methanosarcina* cinslerinin asetatı substrat olarak kullanabildiği bilinmektedir (Zinder, 1993). Çalışmamızda *Methanosarcina barkeri* (0,594) reaktörde düşük oranda da olsa bulunmaktadır. Shreeshivadasan Chelliapan ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, ilaç sanayi atıksularının anaerobik arıtımında etkin olan mikrobiyal kommunité araştırmışlardır. Tüm organik yüklemelerde bakterilerden baskın olan cins *Desulfovibrio* (%8-36) olarak, arkelerden ise düşük organik yüklemede *Methanosaeta*, yüksek organik yüklemede *Methanosarcina*'nın baskın cins olduğunu belirlenmişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmada ilaç kullanımında ilk sıralarda yer alan antibiyotiklerin kesikli ve sürekli reaktörlerde anaerobik arıtım verimleri ve arıtımda etkin olan konsorsiyum ortaya çıkarılmıştır. Tabiki öncelikle çevrenin ilaç kalıntılarıyla kirlenmesinin önlenmesi için ilaç üretiminin ve tüketiminin kontrolü şarttır. İlaç üretiminde optimizasyon, madde çeşitliliğinde azalma, parçalanmayan maddelerin yasaklanması veya kısıtlanması, atık miktarlarının azaltılması ve optimum depolama, alınması gereken önlemler arasındadır. Ayrıca ilaç kullanımının azaltılması amacıyla insanlara bilinçlendirme eğitimleri de verilmelidir. Böylelikle çevreye bırakılan ilaç miktarı azaltılabilir. Kaynakta ve tüketicide alınabilecek bu önlemlerden sonra atıksu arıtımı da iyileştirilmeli ve mevcut sistemlerden daha ileri arıtma sistemleri ile çalışılmalıdır.

Çalışmada antibiyotik içeren sentetik atık suların arıtımının ardışık anaerobik/aerobik yöntemlere gerek duyulmaksızın sadece anaerobik yöntemlerle gerçekleştirilebileceği ve deşarj standartlarını sağlayabileceği belirlenmiştir. Tabiki bu sonuca ulaşmamızda sürekli reaktör çalışmaları öncesinde farklı antibiyotik gruplarıyla denenen kesikli reaktör sonuçları etkin olmuştur. Ayrıca atık suyun kimyasal bileşenlerine bağlı olarak arıtımda rol alan mikrobiyal konsorsiyum üyelerinde farklılık göstereceği de dikkat çekmiştir. Çomoğlu (2014) tarafından İlaç sanayi

atıksuyu ile yapılan çalışmada bakteri türlerinden *op8 (candidate division)* ve arkelerden *Methanobacterium formicicum* türleri baskın iken, antibiyotik grupları ile yaptığımız bu çalışmada ise farklı olarak bakteri türlerinden *Syntrophobacter spp*, arkelerden ise . *Methanosaeta spp* daha baskın olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak farklı sanayi atık sularının anaerobik arıtımında atık suya özgü inokulumların kullanımı, yüksek arıtım verimi ve zaman tasarrufu sağlayacağı söylenebilir. Atık suya özgü inokulum kullanılması reaktörün hidrolik alıkonma süresinin azaltılmasını mümkün kılacaktır. Bu da enerji ve zaman tasarrufu sağlayacaktır.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular doğrultusunda, atık su arıtım uygulamalarında; antibiyotik kalıntılarını içeren atıksuların arıtımında kullanılacak biyoreaktörleri başlatmak için bakterilerden *Syntrophobacter spp* ve arkelerden *Methanosaeta spp*.'nin baskın olduğu çamurlarla uygulamaya başlanabilir ve reaktör işletmeye alındıktan sonra reaktörün stabilitesi, bu mikroorganizmaların çamurdaki rölatif miktarı ölçülerek izlenebilir.

6 KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adams MD, Celniker SE, Holt RA, Evans CA, Gocayne JD, Amanatides PG, Scherer SE et al., 2000. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461):2185-95
- Akalın, H., 1994. Antibiyotiklere Direnç Gelişmesi ve Antibiyotik Kullanımı (HE AKALIN Editör). Klinik Uygulamalarda Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. Güneş Kitabevi Limitet Şirketi. Ankara, 38-39.
- Akkan AG. Antibiyotiklerin Sınıflandırılmaları. s; 53-62. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu 2 – 3 Mayıs 1997, İstanbul.
- Aktuğlu Y. Giriş ve Genel Bilgiler Ed: Aktuğlu Y. Pratikte Antibiyotik Kullanımı.s;11-53. Sempozyum Dizisi Yayın No: 1. 1997.
- Alder A. C., McArdell C. S., Golet E. M., Ibric S., Molnar E., Nipales N. S., Giger W., 2001. Occurrence and Fate of Flouroquinolone, Macrolide and Sulfanamide Antibiotics, During Wastewater Treatment and in Ambient Waters in Switzerland. Symposium Series 791, pp. 56–69, American Chemical Society, Washington, DC.
- Anacak S.,2012; Hayvan Çiftliklerinden Kaynaklanan Atıkların Anaerobik Arıtımı Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, 75 s.
- Angenent, L.T., Karim, K., Al-Dahhan, M.H., Wrenn, B.A., Domíquez-Espinosa, R., 2004a. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *TRENDS in Biotechnology* 22, 477-485.
- Angenent, L.T., Sung, S., Raskin, L., 2004b. Formation of granules and Methanosaeta fibres in an anaerobic migrating blanket reactor (AMBR). *Environmental microbiology* 6, 315-322.
- APHA, 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th Ed., Washington DC., American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, 10-137 p.

- Behling, E., Diaz, A., Colina, G., Herrera, M., Gutierrez, E., Chacin, E., Fernandez, N., Forster, C., 1997. Domestic wastewater treatment using a UASB reactor. *Bioresource Technology* 61, 239-245.
- Bendz, D., Paxeus, N.A., Ginn, T.R., Loge, F.J., 2005. Occurrence And Fate of Pharmaceutically Active Compounds in The Environment, A Case Study: Hölje River in Sweden”, *J. Hazard. Mater.* 122:195-204.
- Burkinshaw, M.S., Willmott N.J., 1994. The dyeing of tencel ,part 1, Reactive dyes. *Dyes and Pigments*, 2, 129- 138.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Llompart, M., Garcia-Jares, C.,Rodriguez, I., Gomez, M., Ternes, T., 2004. Behavior Of Pharmaceuticals, Cosmetics And Hormones In A Sewage Treatment Plant. *Water Res.* 38 (12), 2918–2926.
- Cars, O., Mölsted, S., Melander, A., 2001 Variation in Antibiotic Use in the European Union”, *The Lancet*, 357,1851-1853.
- Casserty, C., Erijman, L., 2003. Molecular monitoring of microbial diversity in an UASB reactor. *International biodeterioration & biodegradation* 52, 7-12.
- CDC, (Centers for Disease Control), 1990. Nosocomial transmission of multi- drug resistant tuberculosis to health-care workers and HIVinfected patients in an urban hospital-Florida. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep*, 39, 718-22.
- Chávez, P., 2005. Poultry slaughter wastewater treatment with an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Bioresource Technology* 96, 1730-1736.
- Chambers FH. *Antimicrobial Agents*. Ed: Goodman LS, Gilman A. Goodman & Chelliapan S., Wilby T., Yuzir A., Sallis P.J., 2011 Influence of Organic Loading On The Performance And Microbial Community Structure of an Anaerobic Stage Reactor Treating Pharmaceutical Wastewater, 2011, Science Direct, Desalination 271, 257-264, 8p
- Chen, Z., Wang, H., Chen, Z., Ren, N., Wang A., Shi Y. Li, X, 2010, Performance and model of a full-scale up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) to treat the pharmaceutical wastewater containing 6-APA and amoxicillin, *Journal of Hazardous Materials* 185 905-913

- Cohen, ML., 1992. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. Science, 257, 1050-5
- Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N., 2004. Carbamazepine As A Possible Anthropogenic Marker In The Aquatic Environment: Investigations On The Behaviour Of Carbamazepine In Wastewater Treatment And During Groundwater Infiltration. Water Res. 38 (4), 947– 954.
- Connell D.W., 1997. Basic Concepts Of Environmental Chemistry. Crc Press Llc, Isbn 0-87371-998-0, 506 pp.
- Çelebi H., Sponza D., 2007. Antibiyotiklerin çevresel etkileri, toksisiteleri ve anaerobik arıtılabilirlikleri, 7. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, pp367-373, 24-27 Ekim 2007 İzmir
- Çelebi H., Sponza D., 2008, Antibiyotiklerin Anaerobik Ayrışabilirlikleri, Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, ISSN:1308-3961, 8s
- Çelebi H., Sponza D., 2009, Tilosin ve eritromisinin anaerobik/aerobik ardışık sistemde arıtılabilirliği ve toksisite giderimi, itüdergisi/e su kirlenmesi kontrolü Cilt:19, Sayı:1-2, 39-49, 11s
- Çoban, A., 2009. Tekstil Atıksularının Anaerobik Arıtımı (Renk Ve Koi Giderimi) Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 56 s
- Çomoğlu A., B., 2014 İlaç Sanayi Atıksularının Anaerobik arıtımı ve Reaktördeki Mikrobiyal Çeşitliliğin Araştırılması, doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 112 s. (yayınlanmamış).
- Çömlekçi, N., 2003. Deney Tasarımı İlke ve Teknikleri. Alfa Basım Yayım Dağıtım Ltd. Şti., 465 s.
- Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? Environmental health perspectives 107, 907
- Debik E., Manav N., Çoşkun T. 2008. Biyolojik Temel İşlemler Ders Notları İstanbul.

- Demirel, B., Yenigün, O., 2002. Two-phase anaerobic digestion processes: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 77, 743-755.
- Demirer, G., Speece, R., 1998. Anaerobic biotransformation of four 3-carbon compounds (acrolein, acrylic acid, allyl alcohol and n-propanol) in UASB reactors. *Water Research* 32, 747-759.
- DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N, Rojas M, Brodie EL, Keller K, Huber T, Dalevi D, Hu P, Andersen GL. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol.* 2006 Jul;72(7):5069-72
- Dhillon, A., Teske, A., Dillon, J., Stahl, D.A., Sogin, M.L., 2003. Molecular characterization of sulfate-reducing bacteria in the Guaymas Basin. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 2765-2772.
- Dojka, M.A., Hugenholtz, P., Haack, S.K., Pace, N.R., 1998. Microbial diversity in a hydrocarbon-and chlorinated-solvent-contaminated aquifer undergoing intrinsic bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 3869-3877.
- Duong, H.A., Pham, N.H., Nguyen, H.T., Hoang, T.T., Pham, H.V., Pham, V.C., Berg, M., Giger, W., Alder, A.C., 2008. Occurrence, fate and antibiotic resistance of fluoroquinolone antibacterials in hospital wastewaters in Hanoi, Vietnam. *Chemosphere* 72, 968-973
- Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 2011 27:2194-2200.
- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe 2008. Biogas – an introduction, Federal Ministry of Food Agriculture and Consumer Protection, Germany.
- Fleischmann R.D. et al., (1995). "Whole genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae*." *Science*, 269:496-512
- Godfrey, E., Woessner, W. W., Benotti, M.J., 2007. Pharmaceuticals In On-Site Sewage Effluent and Ground Water, Western Montana, Ground Water, 45:3, 263-271.

- Golet, E.M., Strehler, A., Alder, A.C., Giger, W., 2002. Determination Of Fluoroquinolone Antibacterial Agents In Sewage Sludge And Sludge- Treated Soil Using Accelerated Solvent Extraction Followed By Solid-Phase Extraction. *Analytical Chemistry*, 74 (21):5455-5462.
- Gomez, J.M., Petrovic, M., Fernandez-Alba, A.R., Barcelo, D., 2006. Determination of Pharmaceuticals of Various Therapeutic Classes by Solid- Phase Extraction and Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry Analysis In Hospital Effluent Wastewaters. *Journal of Chromatography A.*, 1114:224-233.
- Gottlieb, A., Shaw, C., Smith, A., Wheatley, A., Forsythe, S., 2003. The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation. *Journal of biotechnology* 101, 49-56.
- Göbel, A., McArdell, C.S., Joss, A., Siegrist, H., Giger, W., 2007. Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Science of the Total Environment* 372, 361-371
- Haas BJ, Gevers D, Earl AM, Feldgarden M, Ward DV, Knight R, et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Res* 2001 21:494- 50
- Halling-Sorensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P., Ingerslev, F., Holten Lützhof, H., Jørgensen, S., 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. *Chemosphere* 36, 357-393.
- Hartmann, H., 1999. Angelidaki, I. and Ahring, K., Increase of Anaerobic Degradation of Particulate Organic Matter in Full-Scale Biogas Plants by Mechanical Maceration. II International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste, Barcelona, 15-17 June, 129-136
- Harwood C S , Gibson J; 1988 Anaerobic and aerobic metabolism of diverse aromatic compounds by the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris*.
- Heberer, T., 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology letters* 131, 5-17.

Hugenholtz, P., Pitulle, C., Hershberger, K.L., Pace, N.R., 1998. Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. *Journal of Bacteriology* 180, 366-376.

Ivashkin, V., 2004. On particle's trajectories of Moon-to-Earth space flights with the gravitational escape from the lunar attraction, *Doklady Physics*. Springer, pp. 539-542

Istúriz, RE., Carbon C. Antibiotic use in developing countries, 2000, *Infection control and hospital epidemiology*, 10.1086-501780

İlaç Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu, 2001. ANKARA, Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005), 11,308 s.

İlaç ve Eczacılık Ürünleri Sektör Raporu, 2014,Ekonomi Bakanlığı, , 1,11s

İlaç Sektörü Raporu, Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı,2013/1, 27s

İşçen, F C., 2006. Eskişehir’de yer alan tarıma dayalı sanayilere ait yüksek organik madde içerikli atık suların anaerobik arıtılabilirliklerinin ve metan üretim potansiyellerinin araştırılması,. doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 112 s.

Johnson, E., 1999. Anaerobic fermentations. *Manual of industrial microbiology and biotechnology*, 2nd edn. American society for Microbiology, Washington, DC, 139-150

Kanat , İ.H., 2011. Yaygın Kullanılan Bazı Ağrı Kesici Ve Veteriner İlaçlarının Koagülasyon İle Giderim Verimlerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 71s.

Karabay, O., Hosoglu, S., 2008. Increased Antimicrobial Consumption Following Reimbursement Reform in Turkey *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, 1169–1171

Karcı, A., Uslu, Ö., Balcıoğlu, I. ,2010 Gübrede Antibiyotik Kirliliği ve Giderimi, D.T.Ü. Endüstriyel Kirlenme Sempozyumu.

- Kemper, N., 2008 , Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment, Ecological Indicators, 8, 1-13.
- Kim, S., Eichhorn, P., Jensen, J.N., Weber, A.S., Aga, D.S., 2005. Removal of antibiotics in wastewater: effect of hydraulic and solid retention times on the fate of tetracycline in the activated sludge process. Environmental Science & Technology 39 p, 5816-5823
- Klug, S.W. ve Cummings, W.R. 2000. Concept of Genetics. Prentice Hall, New Jersey 745 p.
- Kolpin, D.W., Skopec, M., Meyer, M.T., Furlong, E.T., Zaugg, S.D., 2004. Urban contribution of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants to streams during differing flow conditions. Science of the Total Environment 328p, 119-130.
- Koyuncu, G., 2012. Sulu Çözeltilerde Amoksisilin ve Sefalotin Antibiyotiklerinin İleri Oksidasyon Teknikleri ile Arıtılabilirliğinin Araştırılması. Yüksek lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 89 s
- Kulis J., McQuillan D., Chapman T., Mawhinney D., Meyerhein R. 2003. Antibiotics in New Mexico wastewater and ground water, Reporting Status or Progress, New Mexico
- Kümmerer, K., Al-Ahmad, A., Mersch-Sundermann, V., 2000 Biodegradability of Some Antibiotics, Elimination of the Genotoxicity and Affection of Wastewater Bacteria in a Simple Test, Chemosphere, 40, 701–710.
- Kümmerer K. 2003. Significance of antibiotics in the environment, J. Antimicrob. Chemother. 52, pp. 5–7.
- Kümmerer, K. 2004. Pharmaceuticals in the environment-Sources, fate, effects and risks. Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Lane, D.J., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt, E., Goodfellow, M. (Eds.), Nucleic acid techniques in Bacterial systematics. Wiley, Chichester, England, pp. 205–248

- Larsson, D., de Pedro, C., Paxeus, N., 2007. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *Journal of hazardous materials* 148, 751-755.
- Le-Minh, N., Khan, S., Drewes, J., Stuetz, R., 2010. Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water research* 44, 4295-4323.
- Lettinga, G., 1995. *Anaerobic Digestion And Wastewater Treatment Systems*, Antonie von Leeuwenhoek, 67pp, 3-28.
- Li, Z., Wrenn, B., 2004. Effects of ferric hydroxide on the anaerobic biodegradation kinetics and toxicity of vegetable oil in freshwater sediments. *Water Research* 38, 3859-3868.
- López-García, P., Gaill, F., Moreira, D., 2002. Wide bacterial diversity associated with tubes of the vent worm *Riftia pachyptila*. *Environmental microbiology* 4, 204-215.
- Lueders, M., Manefield, M.W., Friedrich, 2004, Enhanced sensitivity of DNA- and rRNA-based stable isotope probing by fractionation and quantitative analysis of isopycnic centrifugation gradients, *Environ. Microbiol.* 6, 73–78p
- MacLeod, F., Guiot, S., Costerton, J., 1990. Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Applied and environmental microbiology* 56, 1598-1607.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., 2010. *Mikroorganizmaların Biyolojisi* (Çev. C. Çökmüş) Palme Yayıncılık, 992 s.
- Madrid, V.M., Taylor, G.T., Scranton, M.I., Chistoserdov, A.Y., 2001. Phylogenetic diversity of bacterial and archaeal communities in the anoxic zone of the Cariaco Basin. *Applied and environmental microbiology* 67, 1663-1674.
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W.E., Attiya, S., Bader, J.S., Bemben, L.A., Berka, J., Braverman, M.S., Chen, Y.-J., Chen, Z., 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 437, 376-380.

- Martinez- Carbello, E.,Gonzalez- Barrerio,C., Scharf,S.,Gans, O. 2007, Environmental Monitoring Study of Selected Veterinary Antibiotics in Animal Manure And Soils in Austria, Environmental Pollution, 148, 570-579
- Mersmann P. 2003. Transport und Sorptionsverhalten der Arzneimittelwirkstoffe Carbamazepin, Clofibrinsäure, Diclofenac, Ibuprofen und Propyphenazon in der wassergesättigten und – ungesättigten Zone, Dissertation am Institut für Angewandte Geowissenschaften der Technischen Universität Berlin
- Metcalf and Eddy, 2003. Wastewater Engineering: Treatment And Reuse. George Tchobanoglous, Franklin I. Burton (editor), H. David Stensel, New York , McGraw-Hill Pub., 1819s.
- Muluk, Z., Kurt, S., Karaağaoğlu, E., Toktamış, Ö.,2009. Deney düzenlemede istatistiksel yöntemler, Gazi kitabevi Ankara,. 363 s.
- Muyzer, G., 1999. DGGE/TGGE a Method for Identifying Genes From Natural ecosystems, Current Opinion in Microbiology, 2:317-322
- Niels O. G. Jorgensen, Kristian K. Brandt, Ole Nybroe and Michael Hansen,2009 *Delftia lacustris* sp. nov., a peptidoglycandegrading bacterium from fresh water, and emended description of *Delftia tsuruhatensis* as a peptidoglycan-degrading bacterium
- Ohlenbusch, G., Kumke, M.U., Frimmel, F.H., 2000. Sorpsion of Phenols To Dissolved Organic Matter Investigated By Solid Phase Microextraction. Science Total Environment 253: 63-73.
- Olsvik O, Wahlberg J, Petterson B., 1993. "Use of automated sequencing of polymerase chain reaction- generated amplicons to identify three types of cholera toxin subunit B in *Vibrio cholerae* O1 strains. J. Clin. Microbiol.
- Ovreas, L., Forney, L., Daae, F.L., Torsvik, V., 1997. Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelevanet, as determined by denaturant gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. Appl. Environ. Microbiol. 63, 3367–3373.
- Öner, M., 1992. Genel Mikrobiyoloji. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 231-245.

- Özdemir, G., Eltem, R., 2001. Su ve atık suların mikrobiyolojik incelenmesi ve arıtım uygulamaları. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:167, 214 s.
- Öztürk, İ., 2007, “Anaerobik Arıtma ve Uygulamaları”, Su Vakfı Yayınları, İstanbul.475s.
- Pettersson E, Lundeberg J, Ahmadian A.,2009, Generations of sequencing technologies. *Genomics* 93 (2): 105–11.
- Poseidon., 2005. Assessment Of Technologies For the Removal Of Pharmaceuticals And Personal Care Products In Sewage And Drinking Water Facilities To Improve The Indirect Potable Water Reuse. Final Report, EU’s Fifth Framework Programme, European Commission, 2005, 58 pp.
- Quntana, J.B., Weiss, S., Reemtsema, T., 2005. Pathways and Metabolites of Microbial Degradation of Selected Acidic Pharmaceutical and Their Occurrence In Muicipal Wastewater Treated By A Membrane Bioreactor, *Water Research*, 39:2654-2664.
- Richardson, M.L., Bowron, J.M., 1985. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 37, 1-12.
- Rittmann, B.E. and McCarty, P.L., 2001. *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*, pp. 570-596, McGraw-Hill, Inc., New York.
- Rivera-Utrilla, J., Prados-Joya, G., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M., Bautista-Toledo, I., 2009. Removal of nitroimidazole antibiotics from aqueous solution by adsorption/bioadsorption on activated carbon. *Journal of hazardous materials* 170, 298-305.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. and Nigam, P., 2001, Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative, *Bioresource Technology*, 77, 247-255.
- Roberts, P.H., Thomas, K.V., 2006. The Occurence of Selected Pharmaceuticals Wastewater Effluent and Surface Waters of Lower Tyne Catchment. *Science Total Environment*, 356:143-153.

- Ruhoy, I.S., Daughton, C.G., 2008. Beyond the medicine cabinet: an analysis of where and why medications accumulate. *Environment international* 34, 1157-1169.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. ve Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning, a laboratory manual*. Cold spring harbor laboratory. Press New York.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74, 5463-5467
- Sanz, J.L., Köchling, T., 2007. Molecular biology techniques used in wastewater treatment: an overview. *Process Biochemistry* 42, 119-133.
- Saygı, Ş., Battal, D., Şahin, N.Ö., 2012. Çevre ve insan sağlığı yönünden ilaç atıklarının önemi. *Marmara Pharmaceutical Journal* 16, 82-90.
- Schentag, J.J., 1995. Understanding and managing microbial resistance in institutional setting. *Am J Health Syst Pharm*, 52 (Suppl 2), 9-14.
- Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden, D.M., 2003. *Environmental Organic Chemistry*. Second Ed. Wiley-Interscience. ISBN 0-471- 35750-2 New Jersey.
- Shlaes, D.M, Binczewski B, Rice LB., 1993. Emerging antimicrobial resistance and the immunocompromised host. *Clin Infect Dis.*, 39, 718-22.
- Snyder, S.A., Westerhoff, P., Yoon, Y., Sedlak, D.L., 2003. Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for the water industry. *Environmental Engineering Science* 20, 449-469.
- Soto, M., Méndez, R., Lema, J., 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Water Research* 27, 1361-1376.
- Sönmez, G., Işık, M., 2013 Sulardaki İlaç Kalıntılarının İleri Oksidasyon Yöntemleri İle Giderimi (Derl.) *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 6 (1): 68-73, ISSN: 1308-0040.

- Speece, R.E., 1996. Anaerobic Biotechnology For Industrial Wastewaters, Vanderblit University
- Staelin, J., Hoigne, J., 1985. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. Environmental Science & Technology 19, 1206-1213.
- Stams, A., Elferink, S.O., Westermann, P., 2003. Metabolic interactions between methanogenic consortia and anaerobic respiring bacteria, Biomethanation I. Springer, pp. 31-56.
- Stuckey, DC., 1998. The Role Of Anaerobic Digestion In The Treatment Of Domestic And Industrial Wastewaters; Present Perceptions And Future Prospects, Technik Anaerober Prozesse, TUH, 7-9 Ekim, Almanya.
- Sun Y, Cai Y, Huse SM, Knight R, Farmerie WG, Mai V, et al. A large-scale benchmark study of existing algorithms for taxonomy-independent microbial community analysis. Brief Bioinform 2011 13:107-121.
- Şengül, F. ve Küçükgül, E.Y., 1995. Çevre Mühendisliğinde Fiziksel Kimyasal Temel İşlemler ve Süreçler. DEÜ Müh. Fak. Basım Ünitesi, İzmir, 165s.
- Talbot, G., Topp, E., Palin, M., Masse, D., 2008. Evaluation of molecular methods used for establishing the interactions and functions of microorganisms in anaerobic bioreactors. Water research 42, 513-537.
- Tehlikeli Atıkların Kontrolü Yönetmeliği, 2005, Türk Çevre Mevzuatı, Ankara, 1999, Cilt 21204s
- Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. Water research 32, 3245-3260.
- Tıbbi atıkların kontrolü yönetmeliği, 2005, Türk Çevre Mevzuatı, Ankara, 1999, Cilt 2 1051s.
- Topal, M., Uslu, G., Topal, E.I.A., Öbek, E., 2012. Antibiyotiklerin Kaynakları ve Çevresel Etkileri (Derl). BEÜ Fen Bilimleri Dergisi , 137-152.

- Topal, M., Uslu, G., Topal, E.I.A., Öbek, E., 2013, Antibiyotiklerin tespiti ve arıtılması, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Cilt29 Sayı,2, 1012-2354
- Tuluk, C.,2007, Çeşitli Substratların Anaerobik Şartlar Altında Metan Ve Hidrojene Dönüşüm Potansiyellerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Türkdoğan F. I., Yetilmezsoy K. 2009. Appraisal of potential environmental risks associated with human antibiotic consumption in Turkey, Journal of Hazardous Materials, 166, 297-308.
- Ulusoy S. Antibiyotikler. Solunum Sistemi Enfeksiyonları. s.125-163, Toraks Kitapları 1999 (Toraks Dergisi Yayınları)
- Ungemach, F. R., Müller-Bahrdt, D., Abraham, G., 2006 “Guidelines for Prudent Use of Antimicrobials and their Implications on Antibiotic Usage in Veterinary Medicine”, International Journal of Medical Microbiology, 296, 33-38.
- Üstek, D., 2011. Yeni Nesil DNA Dizileme (New Generation DNA Sequencing). Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi 1, 11-18.
- Vanderbroucke-Grauls CM., 1993. The threat of multiresistant microorganisms. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 12 (Suppl 1): 27-30
- Venter JC, Adams MD, Suttun GG, Kerlavage AR, Smith HO, Hunkapiller M., 1998. Shotgun sequencing of the human genome. Science, 280(5369):1540-2
- Wettstein, P., Haeberli, A., Stutz, M., Rohner, M., Corbetta, C., Gabi, K., Schnider, T., Korte, W., 2004. Decreased factor XIII availability for thrombin and early loss of clot firmness in patients with unexplained intraoperative bleeding. Anesthesia & Analgesia 99, 1564-1569.
- Yuan ji J. ,Xing Y.J., Ma Z.T., Zhang M., Zheng P. Acute Toxicity of Pharmaceutical Wastewater Containing Antibiotics To Anaerobic Digestion Treatment,2013, Science Direct, Chemosphere 91, 1094-1098,5 p

Yazıcıoğlu Y., Erdoğan S.,2004 SPSS Uygulamalı Bilimsel Araştırma Yöntemleri
Detay Yayıncılık, Ankara 323 s.

Zinder, S.H., 1993. Physiological ecology of methanogens, Methanogenesis. Springer,
pp. 128-206.

<http://www.ieis.org.tr>.

<http://www.imshealth.com>