

**ZARARLI ATIK VE ENDÜSTRİYEL ATIKSU
ARITIMINDA KULLANILAN BAKTERİ
POPULASYONLARININ YÜZEY ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF SURFACE PROPERTIES OF
BACTERIAL POPULATIONS USED IN HAZARDOUS
WASTE AND INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT**

GONCA YILMAZ

Hacettepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

ÇEVRE Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2005

ZARARLI ATIK VE ENDÜSTRİYEL ATIKSU ARITIMINDA KULLANILAN BAKTERİ POPULASYONLARININ YÜZEY ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gonca Yılmaz

ÖZ

Mikroorganizmaların kullandıkları karbon kaynaklarına bağlı olarak yüzey özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin gözenekli ortamda taşınım etkisi, kesikli ve kolon reaktörler kullanılarak incelenmiştir. Kesikli reaktörler, mikroorganizmaların üreme kinetiklerinin, kolon reaktörler ise taşınım özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Petrol türevleri ile kirletilmiş topraktan izole edilen mikroorganizma kültürleri, fenol ve glikoz olmak üzere iki farklı karbon kaynağının bulunduğu ortama aşılınmış, gelişim evrelerine bağlı olarak yüzey özelliklerinde meydana gelen değişiklikler izlenmiştir. Karbon kaynağı olarak fenol'ü kullanan mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesinin, glikoz kullanan kültürlerle oranla daha yüksek olduğu, gelişim evrelerine bağlı olarak da yüzey özelliklerin ve yumaklaşma miktarlarının değişebileceği tespit edilmiştir.

Kolon reaktörlerde, mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesindeki değişime bağlı olarak farklı akış hızlarında taşınım özellikleri incelenmiştir. Deneylerde 4,5 mL/d (düşük akış hızı) ve 10 mL/d (yüksek akış hızı) olmak üzere iki farklı akış hızı kullanılmıştır. Yüksek yüzey hidrofobisitesine sahip mikroorganizmaların kolonda taşınımlarının, düşük yüzey hidrofobisitesine sahip mikroorganizmalara oranla daha zor olduğu, hidrofobik yüzey özelliği gösteren mikroorganizmaların kolonda kum yüzeyine tutunma oranlarının daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Karbon kaynakları, yüzey özellikleri, hidrofobisite, bakteri taşınımı, akış hızları, fenol, glikoz.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Selim SANİN, Hacettepe Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

INVESTIGATION OF SURFACE PROPERTIES OF BACTERIAL POPULATIONS USED IN HAZARDOUS WASTE AND INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT

Gonca Yılmaz

ABSTRACT

Changes in the surface properties of microorganisms, depending on the carbon source differences were investigated by batch and continuous systems. The effect of surface properties on bacterial transport in porous media is studied using column reactors.

Microorganism cultures isolated from soil portions polluted by oil derivatives were inoculated to media with two different carbon sources, namely phenol and glucose. Following isolation growth kinetics of microorganisms were determined by using batch reactors.

Hydrophobicity of microorganisms which utilized phenol as the carbon source were observed to be higher than the group of microorganisms with glucose as the carbon source. Surface properties and flocculation amounts may change depending on growth phases.

Different flow velocities, 4,5 mL/min (low flow velocity) and 10 mL/min (high flow velocity), were used in column reactors in order to observe transport behavior related to bacterial surface properties. Advection through the columns were observed to be more difficult for microorganisms with higher surface hydrophobicity compared to microorganisms with lower surface hydrophobicity. Moreover, the percentage of the microorganisms absorbed on the sand surface were higher for the microorganisms with hydrophobic surface properties.

Keywords: Carbon source, surface properties, hydrophobicity, bacteria transport, flow velocities, phenol, glucose.

Advisor: Assist. Prof. Dr. Selim SANIN, Hacettepe University, Department of Environmental Engineering, Environmental Engineering Section

TEŞEKKÜR

İş disiplinini her zaman için kendime örnek alacağım, deneyimlerinden yararlandığım, desteğini her zaman yanımda hissettiğim, tez çalışması sırasında bilgi ve anlayışını benden esirgemeyen danışmanım Sayın Yrd. Doç Dr. Selim Sanin'e,

Çalışmaların gerçekleşmesinde gerekli maddi desteği sağlayan TÜBİTAK İÇTAG-Ç 083 nolu proje'ye,

Çalışmaya zaman ayırdıkları için Sn. Prof. Dr. Cemal Saydam, Sn. Doç. Dr. Münevver Arısoy, Sn. Doç. Dr. Gülen Güllü ve Sn. Yrd. Doç. Dr. Ayşegül Latifoğlu'na,

Laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan, her türlü kolaylığı gösteren Maden Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Sn. Yrd. Doç. Dr. Hakan Benzer ve Arş. Gör. Serkan Dikmen'e,

Desteği ve güveni için Sn. Prof. Dr. Yılmaz Kaptan'a,

Her zaman yanımda olduğunu hissettiğim Bilim Uzmanı Gülseren Şen'e,

Çalışma süresi boyunca dostluğu, sabrı ve yardımları için Yüksek lisans öğrencisi Sibel Eren'e,

Çalışmalarım sırasında sabır ve ilgileriyle beni yalnız bırakmayan Araştırma görevlisi arkadaşlarım Sibel Menteşe, Berna Öztürk, Beyhan Oktar, Cihangir Çelik, Cumhur Öztürk, Devrim Bağla ve İbrahim Yiğit, Çevre Yük. Müh. arkadaşlarım Çağdaş Öneren, Evrim Akkoyunlu, Ebru Olgun ve Selcan Batuk, Çevre Mühendisi Eda Coşkun, Uzman Zühal Turan ve Cemile Yiğitoğlu'na,

Varlıklarından her zaman için güç aldığım aileme, sevgi ve saygılarımla teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
EKLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. BİLGİ BİRİKİMİ	4
2.1. Temel Bilgiler.....	4
2.1.1. Fenol.....	4
2.1.1.1. Fenol'ün tanımı	4
2.1.1.2. Fenolün fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	4
2.1.1.3. Çevresel fenol kaynakları	6
2.1.1.4. Fenol'ün kullanım alanları	6
2.1.1.5. Fenol'ün canlılar üzerine etkileri	6
2.1.1.6. Fenol kirliliği içeren atıksular.....	8
2.1.1.7. Fenol'ün arıtımı.....	10
2.1.1.8. Fenol ile ilgili yasal düzenlemeler	10
2.1.2. Mikroorganizmaların Gelişim Evreleri	11
2.1.3. Organik Kirleticileri Parçalayabilen Mikroorganizma Türleri.....	12
2.1.4. Aerobik Mikroorganizmaların Organik Kirleticileri Parçalama Prensibi	14
2.1.5. Fenol'ün Biyolojik Olarak Parçalanması	17
2.1.6. Mikroorganizmaların Yüzey Özellikleri.....	19
2.1.6.1. Hidrofobisite.....	19
2.1.6.2. Hücre dışı polimerler.....	20
2.1.7. Gözenekli Ortamda Taşınım.....	21
2.2. Literatür Çalışmaları	22
3. HİPOTEZ	30
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	31

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
4.1. Kültür ve Besi Ortamı.....	31
4.2. Kullanılan Karbon Kaynakları	32
4.3. Çalışmada Kullanılan Reaktörler	33
4.3.1. Kolon Reaktörün İşletim Şartları	34
4.3.2. Kolon Reaktörün Doldurulması.....	35
4.3.3. Kolon Reaktörün Deney Düzeneği.....	35
4.3.4. Kolonda Taşınım Deneyleri	36
4.4. Analiz Yöntemleri.....	37
4.4.1. Reaktörlerdeki Bakteri Gelişiminin İzlenmesi	37
4.4.2. Fenol ve Glikoz Analizleri İçin Örneklerin Alınması.....	37
4.4.3. Fenol Analizi	38
4.4.3.1. Analitik prosedür	38
4.4.3.2. Deney prosedürü	38
4.4.3.3. Kalibrasyon	39
4.4.3.3.1. Fenol stok çözeltisinin hazırlanışı	39
4.4.3.3.2. Kalibrasyon setinin hazırlanışı	39
4.4.4. Mikroorganizmaların Yüzey Hidrofobisitelerinin Ölçümü.....	40
4.4.5. Polimer Ekstraksiyonu	42
4.4.5.1. Kullanılan ekstraksiyon tampon çözeltisi	42
4.4.5.2. Katyon değiştirici reçine'nin hazırlanması	43
4.4.6. Protein Analizi.....	43
4.4.6.1. Analiz yöntemi	44
4.4.6.1.1. Kullanılan çözeltiler	44
4.4.6.1.2. Deney prosedürü	44
4.4.7. Glikoz Analizi	45
4.4.8. Mikroorganizma Miktarlarının Belirlenmesi	46
4.4.9. Kolonda Tutulan Mikroorganizma Miktarının Belirlenmesi	47
4.4.10. Özgül Filtrasyon Direnci.....	47
4.4.11. Amonyak Tayini	47
5. SONUÇLAR.....	49
5.1. Kesikli Reaktör Deneyleri.....	49

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
5.1.1. Biyolojik Fenol Parçalanması.....	49
5.1.2. Nitrojen'in Biyolojik Fenol Parçalanımı Üzerindeki Etkisi	50
5.1.3. Mikroorganizmaların Fenol'e Adaptasyonu.....	51
5.1.4. Mikroorganizmaların Gelişim Süreçleri	52
5.1.5. Mikroorganizma Gelişim Evrelerine Bağlı Olarak Hidrofobisite Değişimi	54
5.1.6. Mikroorganizmaların Partikül Boyutlarındaki Değişim.....	56
5.1.7. Hücre Dışı Polimer Üretimi	61
5.1.7.1. Polimer üretiminin prosesler üzerindeki etkileri.....	62
5.2. Kolon Reaktör Deneyleri.....	64
5.2.1. İz Element Deneyleri.....	65
5.2.1.1. Düşük akış hızında (4,5 mL/d) iz element taşınımı	65
5.2.1.2. Yüksek akış hızında (10 mL/d) iz element taşınımı	66
5.2.2. Bakteri Taşınım Deneyleri	68
5.2.2.1. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait taşınım profilleri.....	68
5.2.2.1.1. Düşük akış hızında (4,5 mL/d) mikroorganizma taşınımı	68
5.2.2.1.2. Yüksek akış hızında (10 mL/d) mikroorganizma taşınımı	70
5.2.2.2. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait taşınım profilleri.....	72
5.2.2.2.1. Düşük akış hızında (4,5 mL/d) mikroorganizma taşınımı.....	72
5.2.2.2.2. Yüksek akış hızında (10 mL/d) bakteri taşınımı	74
5.2.2.2.3. Yüksek akış hızında hidrofilik bakteri taşınımı	76
5.2.2.3. Kolon reaktör deneylerinde kullanılan mikroorganizmaların özgül üreme hızları.....	78
5.2.2.4. Farklı karbon kaynaklarında geliştirilen mikroorganizma kültürlerinin, akış hızlarına bağlı olarak kolon reaktörde taşınımalarının karşılaştırılması	78
5.2.2.4.1. Düşük akış hızında kolonda taşınım sonuçlarının karşılaştırılması.....	78
5.2.2.4.2. Yüksek akış hızında kolonda taşınım sonuçlarının karşılaştırılması	80
5.2.2.4.3. Fenol ile beslenen mikroorganizmaların farklı debilerde taşınım sonuçlarının karşılaştırılması	81

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
5.2.2.4.4. Glikoz kullanan mikroorganizmaların farklı debilerde taşınım sonuçlarının karşılaştırılması	82
5.2.2.5. Mikroorganizmaların kolonda kum yüzeyine tutunum sonuçlarının karşılaştırılması.....	83
6. GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	85
6.1. Genel Sonuçlar	85
6.2. Öneriler	87
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	89
ÖZGEÇMİŞ	101

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Mikroorganizmaların zamana bağlı olarak gelişimi	11
Şekil 2.2. Aerobik mikroorganizmaların tarafından hidrokarbonların parçalanması	14
Şekil 2.3. Doğal ve yapay aromatik bileşiklerin dönüştürüldükleri doğal bileşikler	16
Şekil 2.4. Fenol'ün orto ve meta oksidasyonu ile parçalanması	18
Şekil 4.1. Kolon reaktörün genel yapısı	34
Şekil 4.2. Kolon reaktörün çıkış yapısı.....	36
Şekil 4.3. Fenol ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon grafiği.....	40
Şekil 4.4. Protein ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon grafiği	45
Şekil 4.5. 0-25 mg/L arasındaki glikoz ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon eğrisi	46
Şekil 4.6. 0-120 mg/L arasındaki glikoz ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon eğrisi	46
Şekil 5.1. Karışık mikroorganizma kültürünün fenolü parçalaması	50
Şekil 5.2. Amonyak ilavesiyle fenol'ün biyolojik parçalanma süreci.....	51
Şekil 5.3. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi.....	53
Şekil 5.4. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi.....	53
Şekil 5.5. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmaların gelişim evrelerine bağlı hidrofobisite değişimi.....	55
Şekil 5.6. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmaların gelişim evrelerine bağlı olarak hidrofobisite değişimi.....	55
Şekil 5.7. Karbon kaynağına bağlı olarak mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesinin zamana bağlı değişimi	56
Şekil 5.8. Karbon kaynağı olarak fenol kullanılan reaktöre ait yumakların partikül boyutları.....	58
Şekil 5.9. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan reaktöre ait yumakların partikül boyutları.....	59
Şekil 5.10. Yüksek hidrofobisite'ye sahip karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizma yumağının görünümü	60

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 5.11. Düşük hidrofobisite'ye sahip karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmaların genel görünümü	60
Şekil 5.12. Biyolojik çamurlarda fenol konsantrasyonuna bağlı olarak ÖFD değişimi.	64
Şekil 5.13. Düşük akış hızında iz element taşınım profili	66
Şekil 5.14. Yüksek akış hızında iz madde taşınım profili	67
Şekil 5.15. Düşük ve yüksek akış hızlarındaki taşınım profillerinin karşılaştırılması	68
Şekil 5.16. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi	69
Şekil 5.17. Düşük akış hızında karbon kaynağı olarak glikoz kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili	69
Şekil 5.18. Düşük akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofilik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı	70
Şekil 5.19. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi	71
Şekil 5.20 Yüksek akış hızında karbon kaynağı olarak glikoz kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili	71
Şekil 5.21. Yüksek akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofilik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı	72
Şekil 5.22. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi	73
Şekil 5.23. Düşük akış hızında karbon kaynağı olarak fenol kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili	73
Şekil 5.24. Düşük akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofobik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı	74
Şekil 5.25. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi	75
Şekil 5.26. Yüksek akış hızında karbon kaynağı olarak fenol kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili	75

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 5.27. Yüksek akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofobik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı.....	76
Şekil 5.28. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi.....	77
Şekil 5.29.Yüksek akış hızında karbon kaynağı olarak fenol kullanılarak üretilen hidrofilik mikroorganizmalara ait taşınım profili.....	77
Şekil 5.30. Farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizmaların düşük akış hızında gösterdiği taşınım profilleri.....	80
Şekil 5.31. Farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizmaların yüksek akış hızında gösterdiği taşınım profilleri.....	81
Şekil 5.32. Düşük akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizma populasyonlarının derinliğe göre dağılımı	83
Şekil 5.33. Yüksek akış hızında kolon reaktörde, kum yüzeyine takılan farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizma populasyonlarının derinliğe göre dağılımı.	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Fenol'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri	5
Çizelge 2.2. Atıksulardaki fenol ve ilgili aromatik bileşiklerin kaynakları	9
Çizelge 2.3. Alifatik ve aromatik hidrokarbonlar tarafından kirletilmiş topraklarda baskın olarak bulunan mikroorganizma türleri	13
Çizelge 4.1. Besi ortamı kompozisyonu	31
Çizelge 4.2 Wolfe's mineral solüsyon kompozisyonu	32
Çizelge 4.3. Reaktörlerdeki karbon konsantrasyonları	33
Çizelge 4.4. Kolon reaktörün özellikleri	34
Çizelge 4.5. Kolon reaktörün işletim şartları	35
Çizelge 4.6. Ekstraksiyon tampon çözeltisi	43
Çizelge 5.1. Fenol konsantrasyonu artışına bağlı olarak mikroorganizmaların üreme hızları	51
Çizelge 5.2. Farklı gelişim ortamlarında mikroorganizma kültürlerinin ölüm evresindeki yüzey hidrofobisite değerleri	56
Çizelge 5.3. Karbon kaynaklarına bağlı olarak, mikroorganizmaların hücre dışı polimer miktarları	62
Çizelge 5.4. Kesikli reaktörlerde kullanılan glikoz ve fenol konsantrasyonları	63
Çizelge 5.5. Farklı glikoz/fenol oranları için Özgül Filtrasyon Direnci	63
Çizelge 5.6. Kolon reaktör deneylerinde kullanılan mikroorganizmaların özgül üreme hızları	78
Çizelge 5.7. Düşük akış hızında kolon reaktörde mikroorganizmaların gösterdiği taşınım karakteristikleri	79
Çizelge 5.8. Yüksek akış hızında kolon reaktörde mikroorganizmaların gösterdiği taşınım karakteristikleri	80
Çizelge 5.9. Karbon kaynağı olarak fenol'ü kullanan mikroorganizmaların taşınım karakteristikleri	82
Çizelge 5.10. Karbon kaynağı olarak glikoz'u kullanan mikroorganizmaların taşınım karakteristikleri	83

EKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Ek Şekil 1. Kolon reaktörde dolgu maddesi olarak kullanılan kumun, tane boyu analiz sonuçları.....	98
Ek Şekil 2. Düşük akış hızında iz madde taşınım profili.....	98
Ek Şekil 3. Yüksek akış hızında iz madde taşınım profili.....	99
Ek Şekil 4. Yüksek akış hızında iz madde taşınım profili.....	99
Ek Şekil 5. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan hidrofobik mikroorganizmaların, akış hızlarına bağlı olarak kolon reaktörde kum yüzeyine takılma oranlarının derinliğe dağılımı	100
Ek Şekil 6. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan hidrofilik mikroorganizmaların, akış hızlarına bağlı olarak kolon reaktörde kum yüzeyine takılma oranlarının derinliğe dağılımı	100

SİMGELER VE KISALTMALAR

CER Cation Exchange Resin (Katyon değiştirici reçine)

HDP H¼cre Dışı Polimer

MATH Microbial Adsorption To Hydrocarbon

MLSS Mixed Liquor Suspended Solids (Askıdaki katı maddeler)

MLVSS Mixed Liquor Volatile Suspended Solids (Askıdaki uçucu katı maddeler)

ÖFD Özg¼l Filrasyon Direnci

1. GİRİŞ

Fenol, klorofenol, benzen, toluen, etilbenzen ve ksilen gibi aromatik hidrokarbonlar petrokimyasal ürünlerde, çoğunlukla benzin ve endüstriyel çözücülerin bünyesinde bulunmaktadır. Fenol ve klorofenoller, özellikle endüstriyel atıkların ortama bırakılmasından dolayı çevrede serbest olarak yer almaktadır (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf).

Organik ve aromatik bir bileşik olan fenol, çevrede doğal ve petrol tesisleri, plastik imalathaneleri, reçine üretim prosesleri gibi endüstriyel tesislerin aktivitelerine bağlı olarak bulunur. Suda çözünebilir fenol, endüstriyel tesislerinin atıksularının deşarjı sonucunda genellikle akarsu, nehir ve gölleri kirletir (Prpich and Daugulis, 2004).

Toksik bir bileşik olan fenol'ün ağız yoluyla alınımı sonucunda insanlarda kan basıncında düşme, nabız zayıflığı, kalp hastalıkları, karaciğer ve böbrek tahribatlarının gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Araştırmalar da 1 g fenol'ün insanlarda öldürücü bir etkiye sahip olduğu, yüksek fenolik maddeler içeren suların tüketilmesinin kansere yol açabileceği belirtilmiştir. Bu gibi olumsuz etkileri nedeniyle Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından fenol konsantrasyonu içme sularında 1mg/L olarak sınırlandırılmıştır (Nuhoglu and Yalcin, 2005).

Fenolik maddeler içeren atıksuların arıtılmasında fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar kullanılmaktadır. Fiziksel ve kimyasal arıtımda genellikle, adsorpsiyon ve membran prosesler, biyolojik arıtımda ise mikroorganizmalar tercih edilmektedir. Biyolojik arıtma proseslerinde kullanılan mikroorganizmalar, çeşitli aromatik bileşikler karbon ve enerji kaynağı olarak kullanarak bir dizi katabolik reaksiyonlar sonucunda parçalayabilmektedir (Diaz and Prieto, 2000).

Toprak kirliliğinin önlenmesinde mikroorganizmalar son yıllarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik iyileştirme uygulamalarında, yerel ekolojiye ait mikroorganizmaların yanı sıra zararlı kimyasalları parçalayabilen özel kültürlerde kullanılmaktadır. Bu kültürler toprağa özel aşılama yöntemleriyle enjekte edilmektedir (Harvey and Garabedian, 1991; Marlow et al, 1991; Bolster et al.,

2001). Arıtım potansiyelinin başarısı mikroorganizmaların taşınımına bağlıdır (Canter and Knox, 1986).

Toprakta ve yeraltı suyunda var olan mikroorganizmalar, yeraltı suları ile birlikte taşınırlar. Bu taşınım, yeraltı suyunda kirlenme problemi yaratmasına karşın biyolojik iyileştirme uygulamaları açısından önemlidir. Mikroorganizmaların yeraltı suyu ile taşınımında, suyun kimyası, akış hızı, gözenekli ortamın fiziksel ve kimyasal özellikleri, mikroorganizmaların boyutu, yüzey özellikleri etkilidir (Travos et al., 1990). Mikroorganizmaların gözenekli yapı ile etkileşimi, taşınım sırasında yer altı suyu içerisinde bulunan çözünmüş kimyasallardan farklı davranmasına sebep olur. Bu farklılıklar takılma, dispersiyon, kemotaksis, sorpsiyon gibi temel proseslerin bir sonucudur ve şartlara bağlı olarak bir veya daha fazla proses baskın hale gelir (Harvey and Garabedian, 1991).

Mikroorganizma taşınımına etkisi olan parametreler incelendiğinde su ve toprak yapısını değiştirmek mümkün olmadığından, bunun yerine tür çeşitliliği, morfoloji seçilebilirliği ve yüzey özelliklerinin kontrol edilebilmesi mikroorganizmaları mühendislik uygulamaları açısından cazip hale getirmektedir (Sanin et al., 2003). Pompalamanın kullanılmadığı uygulamalarda, bakteri yüzey özellikleri ön plana çıkmakta ve taşınım mesafesi üzerinde etkin olmaktadır (Dong, 2002). Mikroorganizmaların fizyolojik özelliklerinin de taşınım üzerinde etkili olduğu, değişik üreme fazlarından etkilendiği yapılan çalışmalar sonucunda gözlenmiştir (Sandrin et al., 2001).

Bu çalışmada, bakterilerin taşınımı üzerinde etkili parametreler ele alınmış, en önemli iki parametre, yeraltı suyunun hızı ve bakteri yüzey özellikleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Deneysel çalışmanın ilk aşamasında kesikli reaktörlerde, mikroorganizmaların farklı karbon kaynaklarında üreme kinetikleri, gelişim evrelerine bağlı olarak yüzey özelliklerindeki değişim, yumaklaşma oranları, hücre dışı polimer miktarları belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise, kullanılan karbon kaynağına bağlı olarak farklı yüzey özellikleri gösteren mikroorganizmaların gözenekli ortamda taşınım deneyleri kolon reaktörler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Akış hızının taşınımına etkisini belirleyebilmek için kolon reaktör, yavaş (4,5 mL/d) ve yüksek (10 mL/d) akış hızında çalıştırılmıştır.

Reaktörün belli noktalarından alınan örneklerin MLVSS analizleri sonucunda mikroorganizmaların yoğunlaştığı bölgeler tespit edilmiştir.

2. BİLGİ BİRİKİMİ

Konu ile ilgili bilgi birikimi, temel kavramlar ve yapılmış çalışmalar adı altında gruplandırılmıştır. Temel kavramlar, kullanılan model kimyasalların teknik özelliklerini, çevresel önemini, mikroorganizmaların yaşamsal döngüsünü, kirleticilerin bu döngüdeki yerini, taşıma kavramını ve ilgili denklemleri ile bakteriyel yüzey özelliklerini, ölçüm metotlarını ve kullanım alanlarını yapılan çalışma hedefli özetlemektedir.

2.1. Temel Bilgiler

2.1.1. Fenol

2.1.1.1. Fenol'ün tanımı

İlk olarak 1834 yılında F. Runge tarafından kömür katranından izole edilen fenol, karbolik asit olarak isimlendirilmiştir (Jordan et al., 1986; <http://www.nsc.org/library/chemical/Phenol.htm>). Fenol ve onun yüksek homologları, benzenoid yapı zincirine eklenen hidroksil, metil, amid veya sülfonik gruplar içeren aromatik moleküllerdir (Kumaran and Paruchuri, 1997). Fenoller içerdikleri hidroksi grubu sayısına bağlı olarak monohidrik, dihidrik, trihidrik, polihidrik fenoller olarak sınıflandırılır (<http://en.wikipedia.org/wiki/Phenol>).

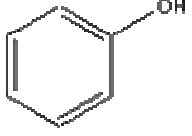
2.1.1.2. Fenolün fiziksel ve kimyasal özellikleri

Fenol; saf halde renksiz veya donuk beyaz renkli bir katı, satılan ticari ürünü ise sıvıdır. Hava ve ışıkla temas halinde pembemsi bir renk alır. Mide bulandıran, keskin bir kokusu vardır. İnsanlar havada 40 ppb, suda 1-8 ppm oranında fenol kokusunu alabilirler (ATSDR, 1998). Suyu göre buharlaşma derecesi daha düşüktür, su içerisinde kısmen çözünür ve yanıcıdır (IRIS, 2002).

Fenoller düşük çözünürlüğe, yüksek uçuculuğa, zayıf iyonlaşma kapasitesine ve düşük buharlaşma basıncına sahiptir. Zayıf organik asitlerdir ve kuvvetli bazlar içerisinde çözünürler (Livingston and Chase, 1989; <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc161.htm#SectionNumber:1.1>).

Fenol'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Fenol'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri (ATSDR, 1989; HSDB, 1995; 1999)

ÖZELLİK	AÇIKLAMA
Kimyasal İsmi	Fenol
Kimyasal Formülü	C ₆ H ₅ OH
Kimyasal Yapısı	
Kimlik Numarası (CAS)	108-95-2
Molekül Ağırlığı	94,11
Renk	Renksiz,
Fiziksel Hali	Katı, Sıvı
Yoğunluğu (20 °C'de)	1,0576 g/cm ³
Kaynama noktası	181,75 °C
Erime noktası	40,9 °C
Kokusu	Keskin kokulu
Koku eşik değeri	40 ppb (150 µg/m ³)
Çözünürlüğü	<ul style="list-style-type: none"> • Su'da 86,000 ppm • Organik çözücüler'de Alkol, karbon tetraklorid, asetik asit ve likit sülfür dioksit çözücülerde çok iyi, Kloroform, etil eter, karbon disülfid gibi çözücülerde iyi, Benzen içerisinde ise çok az çözünür.
Buhar Basıncı (25 °C'de)	0,3513 torr
Henry Kanunu Sabiti 25 °C'de	3,97 x 10 ⁻⁷ ATM.m ³ /mol
Dönüşüm Faktörü	1 ppm = 3,85 mg/m ³

2.1.1.3. Çevresel fenol kaynakları

Fenol'ün, doğal ve antropojenik olmak üzere iki farklı kaynağı bulunmaktadır. Doğal kaynaklı fenol, yiyeceklerin, insan ve hayvan atıklarının, bazı organik maddelerin çürümesi ve orman yangınları sonucunda ortama bırakılır. Benzen'in güneş ışığı vasıtasıyla atmosferik olarak parçalanması, bir diğer doğal fenol kaynağıdır (<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc161.htm>).

Fenolün antropojenik kaynakları ise, otomobillerin motorundan çıkan egzoz gazları, sigara dumanı, ısınma amaçlı yakılan odunlar, kimyasal üretim prosesleri; örneğin fenol üretim tesisleri, ilaç endüstrisi ve pestisit üretim tesislerinden kaynaklanan atıklardır (Kumaran et al., 1997).

2.1.1.4. Fenol'ün kullanım alanları

Kömür katranından elde edilen fenol'ün başlıca kullanım alanları; fenolik reçinelerin ve bisfenol A'nın üretimidir. Fenolik reçineler kontrplak, yapı, otomotiv ve cihaz endüstrisinde kullanılırken bisfenol A, epoksi reçineler ve plastik imalatında ara madde olarak kullanılmaktadır (ATSDR, 1998).

Fenolün diğer kullanım alanları ise; içerdiği slimicide (bakteri ve funguslar üzerinde toksik etki gösteren bir kimyasal)'den dolayı dezenfektan olarak sağlık sektöründe, kulak ve burun damlaları, uçuk losyonları, gargaralar, ağrı kesici ilaçlar, boğaz pastilleri antiseptik losyonlar dahil tıbbi hazır ilaçların üretiminde yaygın olarak kullanım alanına sahiptir. Ayrıca boya ve pestisitlerde de ham madde olarak kullanılmaktadır (ATSDR,1998).

2.1.1.5. Fenol'ün canlılar üzerine etkileri

Fenoller, düşük konsantrasyonlarda bile organizmalara zararlı oldukları için öncelikli kirleticiler, insan sağlığına olası zararlarından dolayı ise tehlikeli kirleticiler sınıflarında yer almaktadır (Banat et al., 2000).

Fenoller'in insanlar üzerindeki kısa dönemli etkileri (akut); solunum yollarında tahriş, baş ağrısı ve gözlerde yanma olarak tespit edilmiştir. Fenole düşük düzeyde maruz kalmış insanlarda görülen uzun dönemli etkileri (kronik); halsizlik,

kas ağrısı, sinirlilik, kilo kaybı ve yorgunluktur. Yüksek düzeyde maruz kalmış insanlarda görülen kronik etkiler ise; akciğer kanserinde artış, kalp hastalığı ve bağışıklık sistemine olan olumsuz etkileridir. Haftalarca yüksek konsantrasyonlu fenole maruz kalmak; felç, kalp, böbrek ve karaciğer gibi organlarda bazen ölümlerle sonuçlanabilecek zararlara yol açabilmektedir (IRIS, 2002).

Deri yoluyla fenole maruz kalan insanlarda; karaciğer hasarı, ishal, kara idrar ve akyuvarların yok olması gibi etkilerde bulunduğu belirlenmiştir. Derişik miktarlardaki fenolün deriyle teması sonucunda ise insanlarda öümlerle sonuçlanan vakalara rastlanmıştır (IRIS, 2002).

Fenol içeren suların içilmesi şiddetli ağrılara, böbrek bozukluklarına, ağır sarsıntılara hatta ölümlere neden olduğu belirlenmiştir (IRIS, 2002).

Fenolün insanlarda kansere neden olup olmadığı kesin olarak bilinmemektedir. Fareler üzerinde yapılan deneyler sonucunda ise, kanser oluşumu tespit edilmiştir (<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/phenol.html>).

Fenolün tıbbi kullanımları sonucunda, olumlu etkileri de gözlemlenmiştir. Deriye az miktarlarda uygulandığında, antiseptik özellik gösterir. Anesteziktir (ağrı dindirir) ve boğaz ağrılarında kullanılan boğaz pastilleri, boğaz spreyleri ve gargaraların içinde bulunur. Sudaki fenolün az miktarda sinir dokusuna enjekte edilmesi acıyı azaltır. Fenol, deriyle temas ederse derinin dış tabakalarını yok eder ve az miktarda konsantre fenol çözeltisi bazen siğil ve diğer deri lekelerini gidermek amacıyla kullanılır (ATSDR, 1989).

Hayvanların, yüksek konsantrasyonlu fenol içeren havayı birkaç dakikalığına solumaları sonucunda akciğerlerinde tahriş meydana geldiği, bu sürenin uzaması halinde kas titremeleri ve koordinasyon kaybına neden olduğu bildirilmiştir (ATSDR, 1989).

Genellikle petrol rafineleri, kömür işleme tesisleri gibi endüstri kuruluşlarından su ortama bırakılan fenol ve bileşiklerinin ekolojik dengeyi bozarak , akuatik yaşamı olumsuz yönde etkiledikleri belirlenmiştir. 5-25 mg/L gibi düşük

konsantrasyonlarda dahi balıklar üzerinde öldürücü etkileri bulunduğu tespit edilmiştir (Saha et al., 1999).

Fenol ve bileşikleri, sucul yaşam ve insana karşı potansiyel olarak zehirlidirler. Alıcı suda, oksijen ihtiyacı yaratırlar ve içme suyunun klorlanması sonucu oluşan klorlu türevlerinin çok az konsantrasyonda dahi tat ve koku oluşturdukları tespit edilmiştir. Ayrıca fenol içeren suların klorlanması sonucu oluşan poliklorlu fenol bileşiklerinin, canlılar üzerinde doğrudan zehirli etki yaptığı belirlenmiştir (Nakhia and Al-Harazin, 1993; Saha et al.,1999).

Fenolik bileşiklerin toksisitesi, sucul ortamda , tatlı su organizmaları üzerinde yapılan akut toksisite testleri ile araştırılmıştır. Araştırma sonucunda fenolik bileşiklerin, sucul organizmalar için ppm konsantrasyonunda aşırı derecede toksik olduğu belirlenmiştir (Guerra, 2001).

Fenol'ün mikroorganizmalar için zehirli etkiye sahip olmasına karşın fenole dirençli sınırlı sayıda bakteri türleri tarafından biyolojik olarak parçalanması mümkündür (Saha et al., 1999).

2.1.1.6. Fenol kirliliği içeren atıksular

Yüzey sularında fenol'ün başlıca kaynakları; benzin ve yağ rafineri tesislerinden, kimyasal işletmelerden ve plastikleri işleyen tesislerden gelen atıksulardır (Kumaran et al.,1997) .

Atıksularda, 2000'den fazla kimyasal kirletici bulunmaktadır. Bunların 600'den fazlası organik kökenlidir. Fenoller ve türevleri ise bilinen en toksik ve tehlikeli organik kirleticiler arasında yer almaktadır ve endüstriyel atıksularda sıkça fenol ve türevlerine rastlanılmaktadır. Özellikle kömür işletmelerinin, kömür destilasyon tesislerine ait atıksular yüksek miktarlarda fenol kirliliği içerirler. Fenolik bileşikler; kağıt hamuru ve kağıt ağartma tesisleri, reçine, pestisit endüstrisi atık sularında yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Ayrıca soğutucu, yangın söndürücü, boya çözücü endüstrileri atık suların yüksek konsantrasyonlarda haloaromatik kirleticiler içermektedir. Zehirli ve bozunmayan yapılarından dolayı bu

haloaromatik kirleticiler, önemli çevresel problemler oluşturmaktadırlar. Endüstri tesislerinin türüne göre atıksulardaki fenol konsantrasyonu değişiklik göstermektedir (Yener ve Aksu, 1997). Üretim tesislerinin atıksularında bulunan başlıca fenolik bileşikler Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Atıksulardaki fenol ve ilgili aromatik bileşiklerin kaynakları (Kumaran et al., 1997)

Kaynak	Önemli Fenolik Bileşikler
Petrol rafineri	Hidrokarbonlar (alkanlar, sikloalkanlar, poliaromatik hidrokarbonlar), benzenler, toluenler, substituted benzenler, n-oktanlar, n-dekanlar, naftalinler, bifeniller, fenol, siyanür, sülfat ve amonyak
Petrokimyasallar	Naftalin, heptanlar, benzenler, bütadiyen, C-4 alkoller, fenol ve resorkinol
Temel Organik Kimyasal Üretimi	m-amino fenol, resorkinol, dinitrofenol, p-nitrofenol, trinitrofenol, benzen sülfonik asit, anilin, klorobenzenler, toluenler, benzoik asit
Kömür Arıtım Tesisi	Fenol, katekol, o-, m-, p-krezoller, resorkinol, hidrokuinon, pirogallol, poliaromatik hidrokarbonlar, piridinler, pikolinler, lutidinler, ksilenler, toluenler, benzoik asit
İlaç Endüstrisi	Toluenler, benzil alkoller, fenil asetik asit, benzenin klorlu ürünü, kloroform, eter, etil alkol
Tabakhane	Tanen, katekhin, fenol, klorofenol, nitrofenoller
Selüloz ve Kağıt Fabrikaları	Lignin, vanilin, vanillik asit, dehidrodivanillin, ferulik asit, kinnamik asit, protokatekhik asit, gentisik asit, benzoik asit, katekol, koniferyl alkol, fenil propiyonik asit, fenoller ve klorofenoller

2.1.1.7. Fenol'ün arıtımı

Fenolik maddeler içeren atıkların arıtılmasında; fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar kullanılmaktadır. Halkaya bağlı grupların sayısı, pozisyonu, türü, grupların boyutu ve karmaşıklığı, bileşenlerin sayısı bunların uzaklaştırılmasını etkileyen faktörler arasındadır (Bülbül ve Aksu, 1997). Kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemler; adsorpsiyon, iyon değişimi ve membran prosesleri içerir (Sarkar et al., 2002). En yaygın fenol arıtım metodu, aktif karbonda adsorpsiyon veya iyon değişim reçineleri uygulamalarıdır (Gupta et al., 2003). Biyolojik arıtmada ise, aromatik substratların biyolojik parçalanması için özellikle heterojen mikroorganizma populasyonları kullanılır (Dluhy et al., 1993).

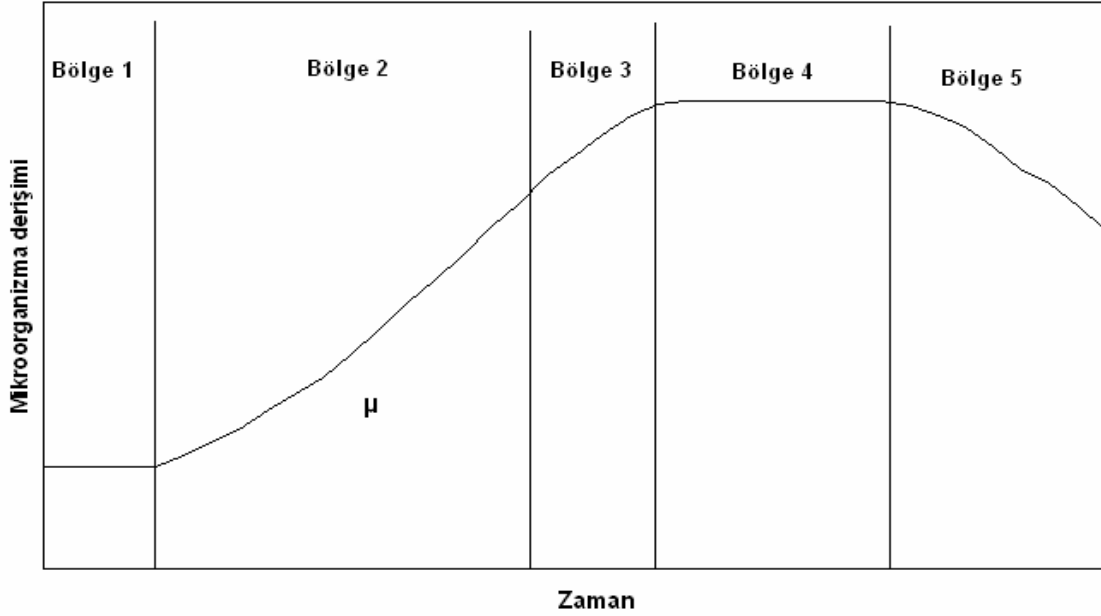
2.1.1.8. Fenol ile ilgili yasal düzenlemeler

Ülkemizde, TS-266 ile kabul edilen içme suyu standartlarına göre tavsiye edilen fenol değeri bulunmamaktadır. Maksimum değer ise 2 µg/L olarak sınırlandırılmıştır. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın standartlarına göre evrensel olarak standart 2 µg/L, hedef 1 µg/L olarak belirlenmiştir. ABD'de ise hedef 1 µg/L'dir (<http://www.aquasu.com/sustandartlari.htm>).

Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği'nde; kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterlerinde fenolün mg/L olarak değerleri; I. Sınıf sular için 0.002, II. Sınıf sular için 0.001, III. sınıf sular için 0.1 ve IV. Sınıf sular için 0.1'den büyük olması gerektiği belirtilmiştir (SKKY, 2004). Rekreasyon amaçlı kullanılan kıyı ve deniz sularında sağlanması gerekli standart değer ise, fenol kokusunun duyulmayacak kadar az, 5 µg/L'nin altında olması gerektiğidir. Deniz suyunun genel kalite kriterinde, 1 µg/L fenol konsantrasyonu kriter değeri olarak belirlenmiştir. Kentsel kanalizasyon sistemlerine bağlantı için öngörülen standartlar içerisinde fenol, kanalizasyon tesisleri tam arıtma ile sonuçlanan toplama sistemlerinde 20 mg/L, kanalizasyon tesisleri derin deniz deşarjı ile sonuçlanan toplama sistemlerinde ise 10 mg/L sınır değeri olarak verilmiştir (SKKY, 2004).

2.1.2. Mikroorganizmaların Gelişim Evreleri

Mikroorganizmaların gelişim eğrisi incelendiğinde birbirinden farklı bölgeler olduğu gözlemlenir. Mikroorganizmaların gelişim evreleri Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Mikroorganizmaların zamana bağlı olarak gelişimi

Mikroorganizmalar, besi maddeleri içeren bir ortama aşılandıkları zaman öncelikle ortam bileşiklerine bağlı olarak yeni enzimler sentezlerler ve metabolizmalarında gerekli düzenlemelere giderler. Bekleme dönemi (1 nolu bölge, lag faz) olarak adlandırılan bu dönemde biyokütlede çok az bir artış meydana gelir (<http://textbookofbacteriology.net/growth.html>).

Bekleme döneminin ardından ortama alışmış olan mikroorganizmalar, logaritmik olarak büyümeye başlarlar. Üstel üreme dönemi (2 nolu bölge) olarak adlandırılan bu evrede dengeli bir büyüme vardır. Hem biyokütle hem de hücre sayısı hızla artmaya başlar. Yeterli besi maddesinin bulunduğu bu dönemde büyüme hızı substrat konsantrasyonundan bağımsızdır. Mikroorganizma derişiminin zamanla değişimi klasik Monod eşitliği ile ifade edilebilir (Monod, 1949).

$$d x / dt = \mu X \quad (2.1.)$$

Bu eşitlikte; X mikroorganizma konsantrasyonunu, μ ise özgül üreme hızını gösterir. Eşitlik 2.1. aşağıdaki sınır şartları kullanılarak çözümlerse, Eşitlik 2.2. elde edilir.

$t= 0$ anında; $X=X_0$

$t= t$ anında; $X= X$

$$\ln X/X_0 = \mu t \quad (2.2.)$$

Dengeli büyüme evresinin sonuna doğru ortamda temel besi maddelerinin azalması ya da zehirli kimyasalların birikimi gibi nedenlerle büyüme hızı azalır. (3 nolu bölge) ve plato bölgesine (4 nolu bölge) ulaşılır. Plato bölgesinde net üreme hızı sıfırdır ve büyüme ile ölüm hızları birbirine eşit hale gelir. Bu bölgede hücreler metabolik olarak aktiftir ve genelde ikincil metabolitleri üretirler. Hücrelerin iç solunum ile ağırlık kaybı söz konusu olup ölen hücrelerden hücre içi maddeler dışarı salınır ve bu maddeler canlı mikroorganizmalar tarafından kullanılır (<http://textbookofbacteriology.net/growth.html>).

Plato bölgesinin ardından ortamda besi maddelerinin tamamen tüketilmesi ve toksik ürünlerin miktarındaki artışa bağlı olarak mikroorganizmalar ölmeye başlarlar. Ölüm bölgesi (5 nolu bölge) olarak adlandırılan bu bölgede mikroorganizma konsantrasyonu azalmaya başlar (<http://textbookofbacteriology.net/growth.html>).

2.1.3. Organik Kirleticileri Parçalayabilen Mikroorganizma Türleri

Toprak altında, kirletilmenin gerçekleştiği oksijenli bölgelerde bulunan ve organik kirleticileri parçalayan mikroorganizma türleri gelişimleri için gerekli olan enerjiyi, doğal ve zenobiyotik bileşikleri karbon kaynağı ve elektron vericisi olarak kullanarak sağlarlar. Bakteri popülasyonları, organik kirleticileri metabolize edebilmelerine rağmen tek bir bakteri, topraktaki kirletici olarak bulunan organik bileşiklerin hepsini veya bir kısmını parçalayabilecek enzimatik kapasiteye sahip değildir. Karışık mikroorganizma kültürlerinde, organik bileşikleri parçalayabilmek için gerekli olan genetik bilgi, tek bir mikroorganizmaya göre daha fazladır. Bu nedenle mikroorganizma popülasyonları, çok güçlü biyolojik parçalayabilme potansiyeline sahiptirler. Aynı zamanda sıcaklık, pH, ortamda var olan nitrojen ve fosfat kaynakları gibi çevresel faktörlerde organik kirleticilerin parçalanma oranları

üzerinde etkide bulunmaktadır (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf).

Aerobic, gram- negatif çubuk şeklinde olan Pseudomonaslar organik kirleticileri yüksek parçalayabilme potansiyeline sahiptirler. Bu türe örnek olarak, *Pseudomonas putida* ve *P. fluorescens* gösterilebilir (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf).

Aromatik hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanmasını en iyi karakterize eden mikroorganizma kültürlerinden biri *Pseudomonas putida F1* türüdür. Bu kültür, toluen, benzen, etil benzen, fenol ve diğer organikleri yegane karbon ve enerji kaynağı olarak kullanır (Gibson et al., 1990). Alifatik ve aromatik hidrokarbonlar tarafından kirletilmiş topraklarda baskın olarak bulunan mikroorganizma türleri Çizelge 2.3.'de belirtilmiştir.

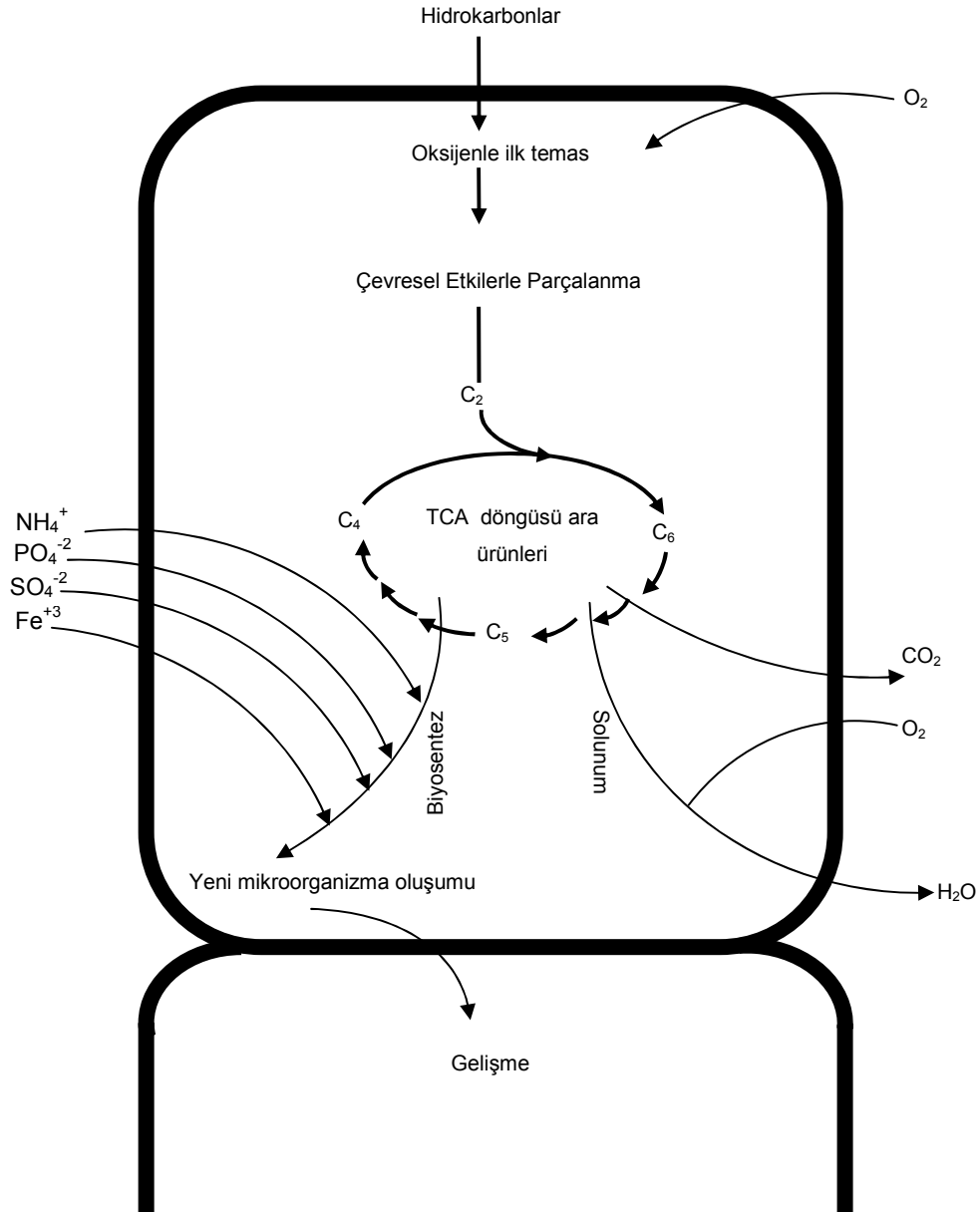
Çizelge 2.3. Alifatik ve aromatik hidrokarbonlar tarafından kirletilmiş topraklarda baskın olarak bulunan mikroorganizma türleri (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf)

Gram-Negatif Bakteri	Gram-Pozitif Bakteri
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Nocardia</i> spp.
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Mycobacterium</i> spp.
<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Corynebacterium</i> spp.
<i>Flavobacterium/Cytophaga</i> grup	<i>Arthrobacter</i> spp.
<i>Xanthomonas</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.

Bazı *Pseudomonas* türleri 100 farklı organik bileşiği karbon kaynağı olarak kullanabilirler. Bu durum, çok fazla mikroorganizma grubu içeren *Pseudomonas*'ların yalnızca katabolik enzimlerine bağlı değildir. Bunun yanında onları metabolik düzenleme kapasitelerine de bağlıdır (Houghton and Shanley, 1994). *Pseudomonas* türünün dışında organik kirleticileri parçalama işleminde ikinci önemli bir grup da; gram-pozitif *Rhodococci* ve *Coryneform* bakteri türleridir (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf).

2.1.4. Aerobik Mikroorganizmaların Organik Kirleticileri Parçalama Prensipleri

Organik kirleticilerin çoğu aerobik şartlar altında hızlı bir şekilde mikroorganizmalar tarafından parçalanabilmektedir (Riser-Roberts, 1998). Biyolojik parçalanma, kompleks kimyasal bileşiklerin biyolojik olarak katalizlenerek azaltılması olarak tanımlanabilir (Alexander, 1994). Mikroorganizmalar gelişimlerini sürdürebilmek için karbon ve enerji kaynağı olarak organik kirleticileri kullanabilmektedir. Organik kirleticilerin aerobik mikroorganizmalar tarafından parçalanmasının temel prensipleri Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



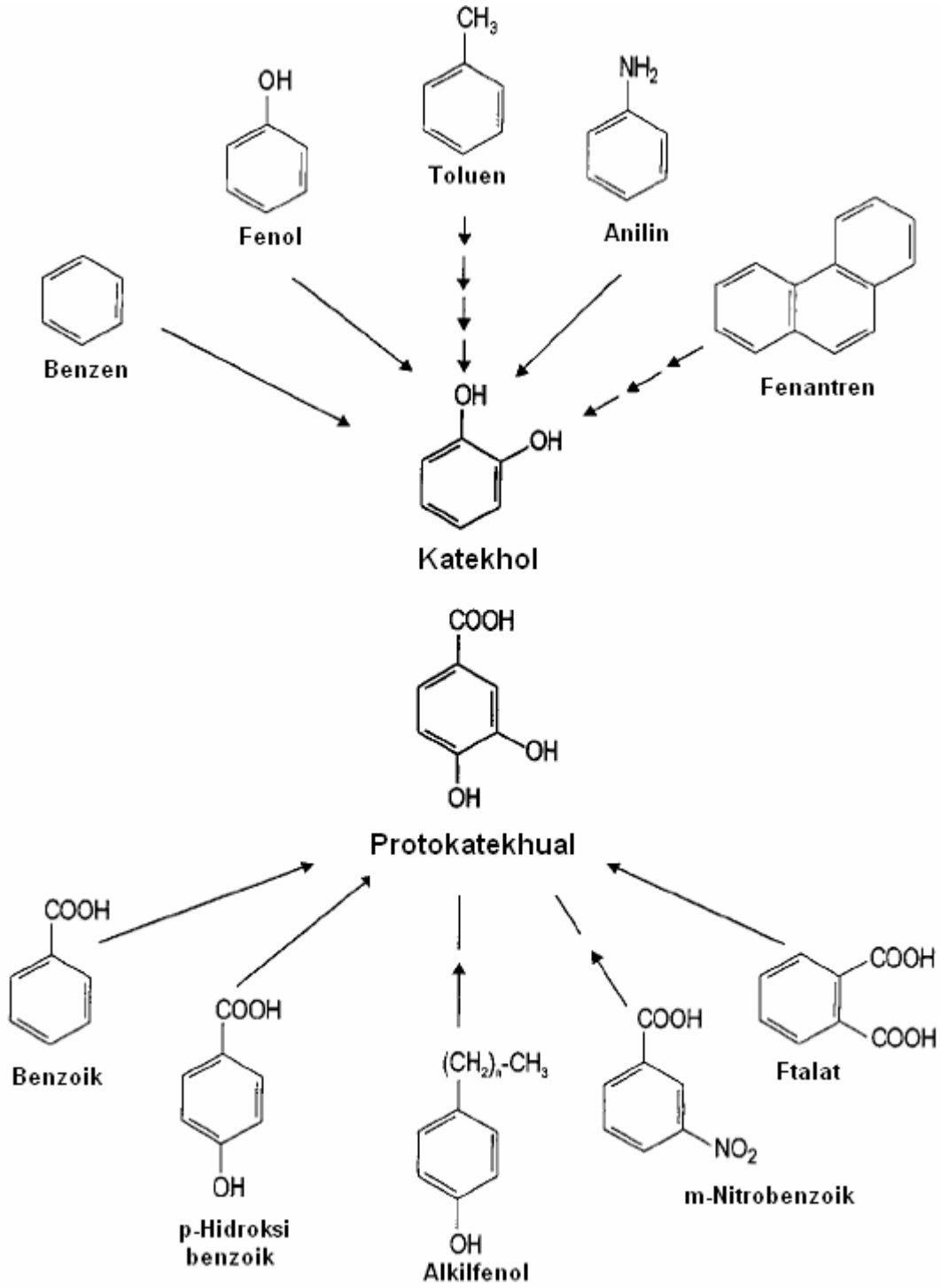
Şekil 2.2. Aerobik mikroorganizmaların tarafından hidrokarbonların parçalanması

Organik kirleticilerin, aerobik mikroorganizmalar tarafından parçalanmasının temel prensipleri aşağıda belirtilmiştir:

- Öncelikle mikroorganizmalar ve organik kirleticiler arasındaki metabolik proseslerin gerçekleşebilmesi için kimyasalların organizmalar tarafından erişilebilir olması gerekmektedir.
- Biyolojik parçalanma için ilk hücre içi atak, oksidasyondur. Oksijenin oksidasyonu, oksijenaz ve peroksidaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir.
- Parçalanma yolları, organik kirleticiyi aşama aşama merkezi parçalanma yollarına hazırlar.
- Mikrobiyal kütlelerin oluşması metabolitlerin biyosentezi ile sağlanır. Çeşitli biyosentezleme ve üreme için gerekli olan şeker glikoneogenez ile sağlanır. (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf)

Aerobik biyolojik parçalanma işleminin enzimatik anahtar reaksiyonları, oksijenaz ve peroksidazlar tarafından katalizlenmesidir. Organizmalar organik maddeleri parçalarken oksijene, besin maddesi ile temas ettikleri ilk an ve solunum zinciri esnasında olmak üzere iki metabolik yerde ihtiyaç duyarlar (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf).

Yapay organik aromatik bileşiklerin (zenobiyotik) mikroorganizmalar tarafından parçalanabilmesi için öncelikle doğada bulunan doğal bileşiklere dönüştürülmesi gereklidir. Bu amaçla zeubiyotik bileşikler öncelikle katekol ve protokatekhual'e dönüştürülürler. Doğal ve zeubiyotik aromatik bileşiklerin dönüştürüldükleri doğal bileşikler Şekil 2.3'de gösterilmiştir.

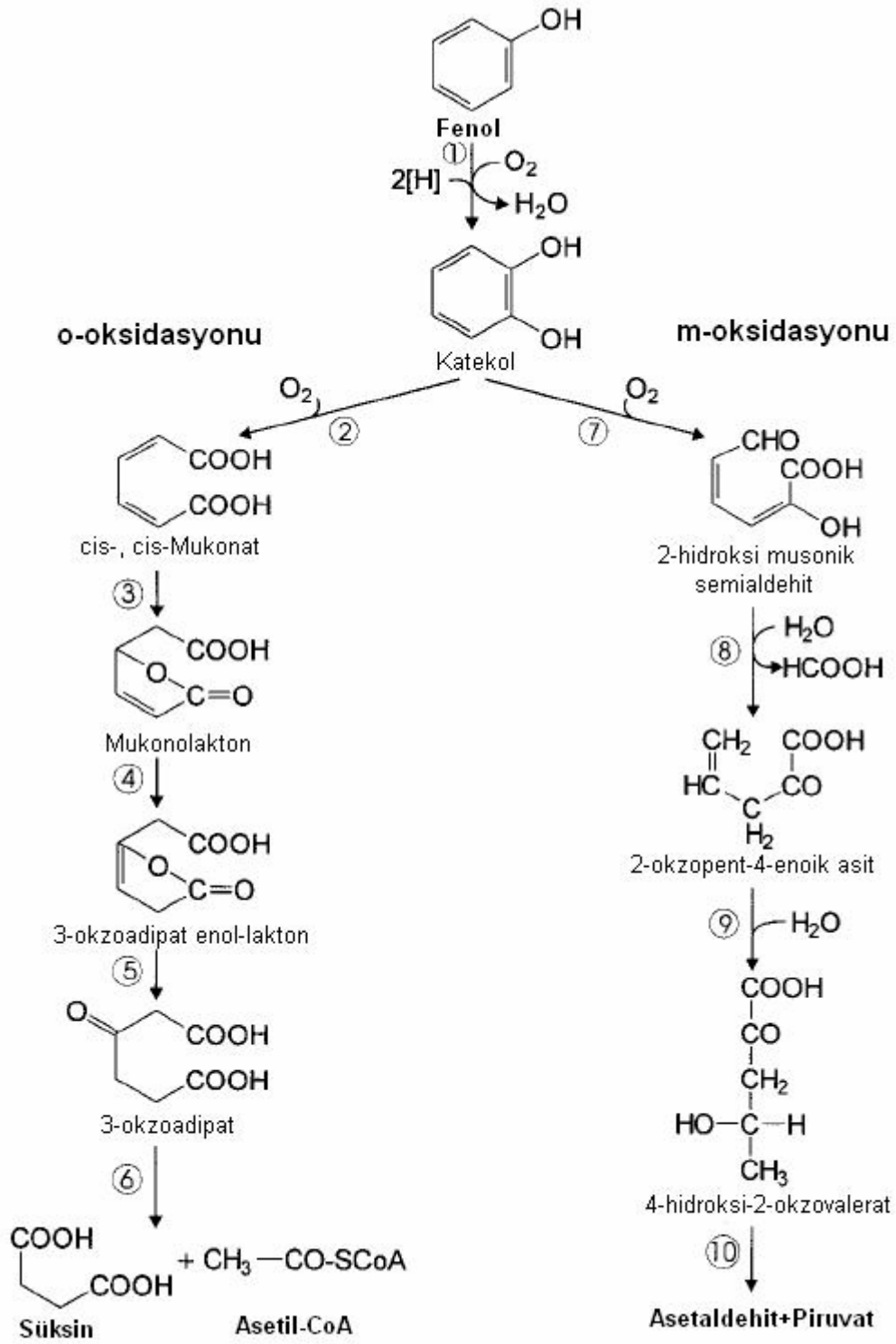


Şekil 2.3. Doğal ve yapay aromatik bileşiklerin dönüştürüldükleri doğal bileşikler

2.1.5. Fenol'ün Biyolojik Olarak Parçalanması

Fenollü ortama maruz kalan mikroorganizmalar öncelikle kendini bu ortama adapte etmeye çalışırlar (Wiggins and Alexander, 1988; Tibbles and Baecker, 1989). Fenol, bakteriler tarafından aerobik şartlar altında karbondioksit'e, aneorobik şartlar altında ise karbondioksit ve metana dönüşür (Fedorak and Hruvey, 1986; Fedorak et al., 1986; Dobbins et al., 1987; Aquino et al., 1988). Benzoat, katekol, cis-cis mukonat, β - ketoadipat, suksinat ve asetat fenolün biyolojik parçalanmasında ara ürünlerdir (Fedorak et al., 1986; Knoll and Winter, 1987).

Aromatik halkaların oksijen kullanılarak açılması orto veya meta oksidasyonu ile gerçekleşir. Her iki parçalanma mekanizması arasında önemli farklılıklar vardır. Bir bakteri türünde her iki mekanizmada görülebilir. Kararlı yapıda olan fenol, oksijen ilavesiyle katekol denilen kararsız bir yapıya dönüştürülür. Katekol'ün parçalanması fenol'e göre oldukça kolaydır. Katekol fenol biyooksidasyonundaki bir ara metabolittir ve sonra halka orto veya meta oksidasyonu ile açılır. Enzimatik reaksiyonlarla parçalanan katekol oksidasyon çeşidine göre asetaldehit, piruvat veya süksin, asetil Co-A'ya dönüştürülür. Bu aşamadan sonra TCA (Target Channel Adapter, Hedef kanal adaptörü) döngüsüne katılan bu maddeler, mikroorganizmalar tarafın kullanılabilir formlara dönüştürülür (http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf). Fenol'ün orto ve meta oksidasyonu ile parçalanma mekanizması Şekil 2.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Fenol'ün orto ve meta oksidasyonu ile parçalanması

2.1.6. Mikroorganizmaların Yüzey Özellikleri

Hücre yüzey özellikleri, mikroorganizmaların yüzeye yapışması üzerinde etkili olan anahtar faktörlerdir. Kritik yüzey özellikleri arasında yüzey hidrofobisitesi, hücre dışı polimerler (HDP) ve yüzey elektrostatik yükleri önemli yer kaplamaktadır (Ahn and Lee, 2003).

2.1.6.1. Hidrofobisite

Hidrofobisite, kelime anlamı “suyu sevmeyen” olarak tanımlanır. Su içinde çözünmeyen maddeler elektriksel olarak yüksüz ve non-polardır. Bu nedenle su ile elektrostatik etkileşimlere eğilim göstermezler. Yağ ya da oktan gibi hidrofobik maddeler su içine karıştırıldığında, suyun dışına doğru ayrılmaya başlarlar. Su molekülleri çözünmeyen maddenin fiziksel olarak içeri sokulmasıyla, kırılmış olan hidrojen bağlarını yeniden kurma eğilimindedirler; bu nedenle materyali dışarı iterler. Sonuç olarak polar olmayan, çözünmeyen moleküller suyun dışında ayrı bir tabaka oluşturmak üzere damlacıklar şeklinde birleşmeye başlarlar ve sudan ayrı bir tabaka oluştururlar (Keeton and Gould, 1999).

Hidrofobik etkileşimler, moleküllerin kendi kendine toplanmasında, biyolojik membran yapılarında ve proteinlerin yapılarının tespit edilmesinde, merkezi bir rol oynamaktadır (Israelachili, 1992).

Yüzey hidrofobisitesi genellikle mikrobiyal yüzeylerin suyu sevmemesi olarak tanımlanır (Sanin, 2003). Biyolojik sistemlerde hidrofobik etkileşimler güçlü uzun non-kovalent etkileşimlerdir ve mikroorganizmaların yüzeye yapışmasını belirleyebilmek için dikkate alınması gereken bir parametredir (Gannon et al., 1991; Sanin et al., 2003).

Gelişim ortamı, sıcaklık, ortam pH'sı, besi maddelerinin eksikliği mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesini etkileyen parametrelerdir. Yapılan çalışmalarda gelişim şartlarının hücre yüzey hidrofobisitesini etkilediği tespit edilmiştir (Van Loosdrecht et al., 1987).

Yüzey hidrofobisitesi aerobik ve anaerobik mikroorganizmaların biyofilm oluşturmada önemli bir rol oynamaktadır (Tay et al., 2002; Bossier and Verstraete, 1996). Aerobik ve anaerobik mikroorganizmalar farklı kültür şartlarında hücre yüzey hidrofobisite artışına bağlı olarak yumaklaşırlar (Tay et al., 2001).

Yüzey hidrofobisitesi ölçümlerinde yaygın olarak kullanılan metotlar:

- İki fazlı sıvı sistemlerinde ayrışma,
- Tuz yumaklanması sistemi,
- Polistiren mikro küreciklere tutunum yöntemi,
- Temes açısı ölçümü,
- Mikroorganizmaların hidrokarbona tutunma miktarlarının ölçülmesi'dir (Sanin et al., 2003).

Hidrokarbon testi, su fazında bulunan mikroorganizmaların yüzey özelliklerine bağlı olarak hidrokarbona tutunma miktarının ölçülmesi ile belirlenir. Bu metot, iki fazlı sıvı sistemlerinde yüzey özelliklerinin belirlenmesinde oldukça duyarlıdır (Loosdrecht et al.,1987).

2.1.6.2. Hücre dışı polimerler

Mikroorganizmaların hücre duvarında tutunan hücre dışı polisakkaritler (HDP), mikroorganizmaların çeşitli çevre şartlarına ve patojenik mikroorganizmalara karşı korunmasında görev alırlar (Sutherland, 2001; Durmaz and Sanin, 2001). Yüzey hidrofobisite'nin yanı sıra HDP'ler ve onların formasyonları, mikroorganizmaların yüzeye yapışması ve ayrılmasında önemli rol oynayan bir diğer parametredir (Vandevivere and Beveye, 1992).

HDP'ler proteinler, karbonhidratlar, lipitler ve nükleik asitlerden meydana gelmektedir (Durmaz and Sanin, 2001). HDP'lerin miktar ve kompozisyonu mikroorganizmaları yüzey özelliklerinin değişmesinde önemli rol oynamaktadır (Vandevivere and Beveye, 1992).

Yapılan çalışmalarda, hücre dışı polimerlerin biyofilm oluşmasına yardımcı olduğunu göstermektedir (Schmidt and Ahring, 1996; Tay et al., 2001).

2.1.7. Gözenekli Ortamda Taşınım

Toprak yüzeyi altında biyolojik iyileştirme arıtım proseslerinde bakteri kültürleri son yıllarda oldukça sık kullanılmaktadır. Toprak yüzeyine yapışan mikroorganizmalar, kirleticileri parçalayarak ortamdan uzaklaştırmaktadır. Bu amaçla kullanılan mikroorganizma türleri toprağa özel aşılama yöntemleriyle gönderilmektedir (Harvey and Garabedian, 1991; Marlow et al., 1991).

Suya doymun gözenekli ortamlarda mikroorganizmalar katı faza yapışmış veya sıvı fazda asılı olarak bulunabilirler. Mikroorganizmalar su fazı ile konvektif ve dispersif güçlerle taşınırlar. Ayrıca kemotaksisle de hareket ederler. Mikroorganizmalar yüzeye HDP'leriyle yapışırlar ve grift lif yapıları oluştururlar (Characklis et al.,1982). Hücre gelişimi ve üremesi su ve katı fazın ara yüzeyinde biyokütle ve hücre dışı ara materyallerin çoğalmasıyla gerçekleşir.

Genel olarak gözenekli ortamda mikroorganizmaların tutunması;

- Fiziksel gerilme güçlerine,
- Gözeneklerin filtre sınırlamasına,
- Gözeneklerdeki hücrelerin difüzyonuna,
- Hücrelerin yapışma karakteristiklerine bağlıdır.

Yapılan çalışmalarda hücrelerin ortama yapışma miktarına suyun akışının, gözenekli ortamın ve mikroorganizmaların yüzey yüklerinin ve mikroorganizmaların yüzey hidrofobitesinin etkili olduğu bildirilmiştir (Hagedorn et al., 1981; Gannon et al., 1991). Mikroorganizma hücrelerinin gözenekli ortama yapışabilme yetenekleri biyolojik arıtım uygulamalarında anahtar faktörlerden biridir (Hua et al., 2003).

Mikroorganizmaların yeraltı suyu ile taşınımında suyun kimyası, akış hızı, gözenekli ortamın fiziksel ve kimyasal özellikleri, bakterilerin boyutu, biçimi, yüzey özellikleri etkilidir. Mikroorganizmaların yer altı suyundaki davranışları su içinde bulunan çözünmüş kimyasallara göre farklılık gösterir (Travos et al., 1990).

Toprakta biyolojik arıtım proseslerinde kullanılan mikroorganizmaların arıtım potansiyeli mikroorganizmaların toprak yüzeyine yapışımının azaltılması ile gerçekleştirilebilir (Flathman et al., 1989). Toprak yüzeyine yapışan mikroorganizmalar biyofilm oluşturarak toprakta tıkanma problemleri ortaya çıkarırlar. Gözenekli ortamda katı yüzeyde biyofilm gelişimine bağlı olarak permeabilite'de azalma meydana gelmektedir (Jenneman et al., 1984; Raiders et al., 1986; Lappan and Fogler, 1996).

2.2. Literatür Çalışmaları

Reardon et al. (2000) tarafından aromatik hidrokarbonların mikroorganizmalar ile biyolojik parçalanma kinetikleri araştırılmıştır. Çalışmada, karbon kaynağı olarak benzen, toluen ve fenol kullanılmış, tek ve karışık konsantrasyonlarda hazırlanan kesikli, havalandırılmalı reaktörler içerisinde *Pseudomonas putida F1* kültürü aşılansarak mikroorganizmaların gelişimleri izlenmiştir. Substratların katalizlenmesi benzer enzimatik yollarla gerçekleşmiştir. Tek karbon kaynağı içeren reaktörlerde, mikroorganizmaların ortama adaptasyon süreleri; toluen için 7 saat, benzen için 6,5 saat ve fenol için ise 18 saat olarak gözlenmiştir. Toluene'in biyolojik parçalanmasının (13 saat), benzen (14 saat) ve fenole (85 saat) göre daha erken gerçekleştiği tespit edilmiştir. Toluene ve fenol'ün karışık karbon kaynağı olarak kullanıldığı reaktörlerde, öncelikle toluene'in mikroorganizmalar tarafından kullanıldığı, ortamda toluene'in tüketilmesinden sonra fenolün parçalanmaya başladığı belirlenmiştir. Benzen fenol karışımında da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Toluene ve benzen'in karbon kaynağı olarak kullanıldığı reaktörler de ise, iki aromatik bileşiminde eş zamanlı olarak kullanıldığı belirlenmiştir. Bu veriler sonucunda aromatik hidrokarbonlardan fenol'ün mikroorganizmalar tarafından benzen ve toluene'e göre zor parçalandığı bildirilmiştir.

Abuhamed et al. (2003) aerobik reaktörler de benzen, toluene ve fenol'ün *Pseudomonas putida F1 ATCC 700007* kültürü tarafından biyolojik parçalanması incelenmiştir. Kesikli reaktörlerde gerçekleştirilen deneylerde bu karbon kaynaklarına adapte olmuş kültürlerin adapte olmamış kültürlerle oranla daha kısa sürede karbon kaynaklarını parçaladıkları belirlenmiştir. Benzen ve toluene'i (90 mg/L) 24 saatte parçalayan kültürün bu ortamlara adapte olduktan sonra

parçalama süresinin 6 saate düştüğü gözlenmiştir. Fenol (50 mg/L) kullanan mikroorganizmalar için başlangıçta 90 saat olan adaptasyon süresi, kültürün ortama alışmasıyla beraber 18 saate düşmüştür. Deneyler sonucunda, mikroorganizmaların benzen ve toluen'e adaptasyonlarının daha kolay olduğu, bu aromatik bileşikler fenol'e göre daha kısa bir sürede parçalayabildikleri bildirilmiştir.

Lob and Tar (2000) *Pseudomonas putida* ATCC 49451 kültürünü kullanarak fenol'ün biyolojik olarak parçalanımı üzerinde araştırmalarda bulunmuşlardır. Karbon kaynağı olarak 1000 mg/L fenolün bulunduğu ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda ölçülebilir boyutta fenol parçalanması ve mikroorganizma gelişimi gözlenmemiştir. Bu noktadan sonra yüksek konsantrasyonlardaki fenol'ün farklı karbon kaynakları ilavesiyle parçalanabilme özelliklerini araştırmak için ortama farklı konsantrasyonlarda glikoz ve maya kültürü ilave edilmiştir. Öncelikle 750 mg/L fenol içeren reaktörlere 0,2 g/L 'den 4 g/L'ye kadar artan konsantrasyonlarda maya kültürü ilave edilmiştir. Reaktörlere 2 g/L'den daha az konsantrasyonlarda maya kültürü eklendiğinde mikroorganizma gelişimine ve fenol'ün parçalanmasına yardımcı olduğu, yüksek konsantrasyonlarda ilave edilen maya kültürünün ise fenol'ün parçalanması için gerekli olan enzimlerin aktivitelerini engellediği tespit edilmiştir. Reaktörlere, fenol'ün yanı sıra 1 g/L'den daha az glikoz ilave edildiğinde ise fenol'ün parçalanmasına yardımcı olduğu, bu konsantrasyonu aştığında mikroorganizma miktarındaki artışa rağmen fenol parçalanımının azaldığı belirlenmiştir. Yapılan benzer çalışmalarda da, ortamda glikoz varlığının parçalanması hedeflenen karbon kaynağının kullanımını engellediği belirlenmiştir (Papanastasiou, 1982). Gerçekleştirilen deneyler sonucunda belli konsantrasyonlarda ortama ilave edilen karbon kaynaklarının fenol'ün parçalanmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir.

Tarighian et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada, hazırlanan kesikli reaktörlere saf kültür olarak *Pseudomonas putida* kültürü aşılanmış ve karbon kaynağı olarak, glikoz ile fenol ilave edilmiştir. Fenol içeren reaktörde, Monod modeline göre uzun bir adaptasyon süresi gözlemlenmesine rağmen, glikoz içeren reaktörde dikkate değer bir lag faz gözlemlenememiş, mikroorganizmalar kısa bir sürede üstel üreme göstermiştir.

Kumar et al. (2005) hazırladıkları kesikli reaktörlere *P.Putida* (MTCC 1194) kültürü enjekte etmişlerdir. Karbon kaynağı olarak, fenol kullanılan bu çalışmada; 10 mg/L'den başlayarak, artan konsantrasyonlarda 1000 mg/L fenol'ü biyolojik olarak parçalayabilecek kültüre ulaşabilmeleri, üç aylık bir periyot süresinde gerçekleştirmiştir. Mikroorganizmalar, fenol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak uzun bir adaptasyon süresi göstermiştir. Yapılan ölçümler sonucunda; kültürün 162 saat sonunda fenolü tamamen parçaladığı tespit edilmiştir. Monod eşitliği yardımıyla, özgül üreme hızını $\mu = 0,037 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplamışlardır.

Thiebault and Coulon (2005) tarafından galaktoz özel lektin KbcWL1'in bulunduğu ortamda *Kluyveromyces bulgaricus* maya kültürü geliştirilmiş, gelişim süreci boynunca yüzey özellikleri incelenmiştir. Kültürün yüzey hidrofobisitesi özel floresan prob (ANS) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler sonucunda *K. bulgaricus* kültürünün yüzey hidrofobisitesi'nin gelişim evrelerine göre değiştiği, gelişime bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Hidrofobisite artışına bağlı olarak da gelişimin ilerleyen dönemlerinde iyi bir yumaklaşma gözlemlendiği bildirilmiştir.

Farrell and Quilty (2002) tarafından yapılan çalışmada, yüksek konsantrasyonlardaki mono-klorofenol içeren ortamda üreyen mikroorganizmaların, düşük konsantrasyonlu mono-klorofenollü ortamda gelişen mikroorganizmalara nazaran daha hidrofobik olduğu belirlenmiştir. Tsubata et al. (1997) tarafından yapılan çalışmada toksik alkole maruz bırakılmış *P.putida* ve bakterilerin yüzey hidrofobisitesinde değişiklik meydana gelmediği gözlenmiştir. Bu iki çalışmada, bakterilerin toksik substralarda, yüksek hidrofobisite ve buna bağlı olarak iyi bir yumaklaşma gösterebileceği sonucuna varılmıştır. Powell ve arkadaşları (2003) mikroorganizma hücrelerinin floklaşma potansiyelinin, yüzey hidrofobisitesi ve gelişim evrelerine bağlı olarak değişebileceğini belirtmiştir.

Sanin et al. (2003) tarafından ortamda farklı besi maddelerinin yokluğunda mikroorganizmaların yüzey özelliklerinde meydana gelen değişiklikler ve bu değişikliklere bağlı olarak yüzeye yapışabilme özellikleri incelenmiştir. Çalışmada, zeuobiyotik kirleticileri parçalayabilen *Pseudomonas sp. A*, *Pseudomonas sp. D* ve *Rhodococcus corallinus* saf kültürleri kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalar, siyanürik asit ve onun türevleri olan s-trazin'i biyolojik olarak parçalayabilme

yeteneğine sahiptirler. Ortamda karbon (glikoz) ve nitrojen (siyanürik asit) yokluğunun mikroorganizma kültürleri üzerinde meydana getirdikleri fizyolojik etkileri ölçülmüştür. Besi maddesi yokluğunda bu üç mikroorganizma türünün yüzey özelliklerinde de önemli değişiklikler gözlenmiştir. Karbon kaynağının bulunduğu, nitrojenin bulunmadığı ortamlarda üç kültürün yüzey hidrofobisite değerleri önemli ölçüde azalmıştır. Bunun aksine karbon kaynağı yokluğunda mikroorganizmaların yüzey hidrofobisite değerlerinde önemli değişiklikler gözlenmemiştir. Karbon kaynağına aç bırakılan mikroorganizma yüzeyinin, aç bırakılmamış orijinal kültüre göre daha hidrofobik oluşu gözlemlenmiştir. Nitrojene aç bırakılan kültürleri de ise orijinal kültüre nazaran daha düşük bir hidrofobisite değeri gözlenmiştir. Bu değişimlere bağlı olarak, kültürlerin hidrofobisite değerleri azaldıkça mikroorganizmaların yüzeye yapışabilme özelliklerinin de azaldığı belirlenmiştir. Bunun aksine, hidrofobisite değerlerinin artışıyla beraber bakterilerin yüzeye yapışma özelliğinin arttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, mikroorganizmaları aç bırakılmasının toprakta taşınım üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Walker et al. (2004) *Escherichia coli* K-12 mutant kültürünü kullanarak mikroorganizmaların gelişim evrelerine bağlı olarak hücrelerin yüzeye yapışabilme özelliklerini incelemişlerdir. Radyal durgun nokta akışlı reaktörlerde gerçekleştirilen deneylerde mikroorganizmaların üstel üreme evresinin ortasında ve plato evresinde yüzey hidrofobisitesi, elektroforetik hareketliliği ve hücrelerin yüzey yükleri araştırılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda, üstel üreme evresinin ortasında mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesi %16, plato evresinde ise %34 olarak belirlenmiştir. Sonuçta, hidrofobisite artışına bağlı olarak mikroorganizmaların plato evresinde yüzeye daha fazla yapıştığı belirlenmiştir.

Luo et al. (2005), fenol kirliliği bulunan toprak içerisinde elektrik akımının fenolü parçalayan mikroorganizmaların hücre yüzey özellikleri üzerindeki etkilerini belirlemeye çalışmışlardır. Mikroorganizma türlerinin elektriksel akıma maruz kaldıkları ortamlar, genellikle çevresel stres ortamlarıdır. Çevresel stresler bakterilerin fizyolojik, yüzey özellikleri ve hatta hücre biçimlerini değiştirebilmektedir (Sanin, 2003; Sanin et al., 2003). Çalışmada, farklı elektrik akımlarında logaritmik büyüme evresinin sonuna ulaşmış olan karışık mikroorganizma kültürlerinin yüzey hidrofobisite değerleri ölçülmüştür. Sonuç olarak,

düşük elektrik akımlarının (20 mA'dan daha az) fenol'ü biyolojik olarak parçalayan mikroorganizmaların yüzey özelliklerinde önemli değişiklikler meydana getirmediği belirlenmiştir. Elektrik akımı 20 mA'nın üzerine çıktığında ise yüzey hidrofobitesinin artarak mikroorganizma hücrelerinin yassılaştığı belirlenmiştir. Bu değişimler de mikroorganizmaların katı yüzeye yapışma oranını artırarak kolon reaktörde taşınımını zorlaştırmıştır. Daha yüksek elektrik akımlarında ise (40 mA) yüzey hücre dışı materyallerde artış meydana geldiği gözlenmiştir. Sonuç olarak, elektrik akımıyla beraber mikroorganizmaların yüzey hidrofobitesinin değiştiği, 20 mA'dan büyük elektrik akımlarında fenol'ü parçalayan mikroorganizmaların toprak yüzeyi boyunca hareket yeteneklerini zorlaştırdığı belirlenmiştir.

Yang et al. (2004) , ardışık kesikli reaktörlerde serbest amonyak'ın, organik karbon giderimi ve nitrifikasyon işlemi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Hazırlanan ardışık 5 adet kesikli reaktörlere farklı konsantrasyonlarda (50, 100,150, 200, 300 mg/L) amonyak ilave edilmiştir. Yapılan yüzey hidrofobitesi ölçümlerinde sonucunda, 50 mg/L amonyak içeren reaktörlerde mikroorganizmaların yüzey hidrofobitesinin %70 olduğu belirlenmiştir. Amonyak konsantrasyonu arttıkça yüzey hidrofobitesinin azaldığı, 300 mg/L amonyak içeren reaktörde %40'a düştüğü belirlenmiştir. Partikül boyutu ölçümleri sonucunda amonyak ilavesinden önce 0,045 mm olan yumak boyutları 4 haftalık bir üreme sürecinden sonra yüzey hidrofobitesindeki değişime bağlı olarak 1 numaralı reaktörde (50 mg/L) 0,51 mm, 2 numaralı reaktörde 0,32 mm, 3 numaralı reaktörde ise 0,25 mm olarak ölçülmüştür. 4 ve 5 numaralı reaktörlerde ise partikül boyutlarında önemli bir artış gözlenmemiştir. Yüzey hidrofobitesindeki artışın hücre yumaklaşmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir. Deneyler sonucunda , serbest amonyak miktarındaki artışa bağlı olarak hücre hidrofobitesinin ve hücre dışı polimer üretiminin azaldığı, buna bağlı olarak, yüksek amonyak miktarlarında polimer üretiminin azalmasından dolayı düzgün bir biyofilm oluşumunun gözlenmediği bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, gerçekleştirilen diğer çalışmalarla farklılıklar göstermektedir.

Mehmannavaz et al. (2001) tarafından *Rhizobium meliloti*'in 10 suşu ve *Comamonas tertosteroni* B-356 kültürlerini kullanarak toprak ve su ortamında yüzey hidrofobitesindeki değişim ve bu değişime bağlı olarak kum yüzeyine yapışabilme özellikleri incelenmiştir. *Rhizobial* suşları düşük yüzey hidrofobitesi

gösterirken (%15), *Pseudomonas* grubundan olan *C. tertosteroni* kültüründe daha yüksek düzeyde yüzey hidrofobisitesi (%33) ölçülmüştür. *C. tertosteroni* kültüründe %78 oranında toprak yüzeyine tutunma gösterirken *Rhizobium* suşlarında bu değer %55 olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, yüzey hidrofobisindeki artışın mikroorganizmaların yüzeye tutunma oranlarını arttırdığı bildirilmiştir.

Marchesi et al. (1994) tarafından *Pseudomonas* C12B kültürü kullanılarak anyotik yüzey aktif maddelerin biyolojik olarak parçalanması sırasında, yüzey özelliklerinde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Deneyler sırasında yüzey hidrofobisitesi, MATH ve hidrofobik etkileşim kromatografi yöntemleri kullanarak ölçülmüştür. Ortama karbon kaynağı olarak dodokan-1-ol (çok hidrofobik) ve sodyum dodeysil sülfat ilave edilmiştir. Sodyum dodeysil sülfat ilavesi sonucunda, mikroorganizmanın yüzey hidrofobisitesinde ilk bir saatte herhangi bir değişim meydana gelmemiştir. Daha sonra karbon kaynağının tüketimine bağlı olarak öncelikle yüzey hidrofobite artmaya başlamış, sodyum dodeysil sülfat'ın tamamen tüketilmesi sonucunda da yüzey hidrofobisinde düşüş meydana gelmiştir. Dodokan-1-ol'un reaktöre ilavesiyle ise mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesi ilk andan itibaren artmaya başlamıştır. Ortamda bu maddenin tüketilmesiyle beraber yüzey hidrofobisitesinde öncelikle bir azalma gözlemlenmiş, sonra tekrar bir artış meydana geldikten sonra karbon kaynağının tükenmesiyle hidrofobite düşmeye başlamıştır. Sonuçta ortama ilave edilen hidrofobik maddelerin mikroorganizmaların hücre membranlarına girerek mikroorganizmalara hidrofobik yüzey özelliği kazandırabileceği belirtilmiştir.

Wilén et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada, aktif çamur yumaklarının yüzey özellikleri, hidrofobisiteyi, HDP bileşenleri ve yumaklaşma yetenekleri araştırılmıştır. Bu amaçla 7 farklı reaktörde atıksu arıtımı gerçekleştirilmiş ve bu reaktörlerden alınan örnekler üzerinde incelemeler yapılmıştır. Hücre dışı polimerlerde başlıca içeriklerin, protein, hümik asit ve karbonhidratlardan oluştuğunu, çok az miktarda ise üronik asit ve DNA bulunduğunu ifade etmişlerdir. Mikroorganizmalardan ekstrakte edilen HDP'lerde en büyük grubu proteinlerin oluşturduğunu, hümik maddelerin ise ikinci büyük grup olduğunu belirlemişlerdir. Protein konsantrasyonunun, çamurun yumaklaşması üzerinde en büyük etkiyi gösterdiğini, protein konsantrasyonundaki artışa paralel olarak mikroorganizma

yumaklaşmasının arttığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda yumaklaşma yeteneği ile yüzey hidrofobisitesi arasında önemli bir korelasyon olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada, çamur floklarındaki protein gideriminin, floklaşmayı bozduğu bildirilmiştir (Higgins and Novak, 1997).

Jin et al. (2004), aktif çamurların susuzlaştırılması üzerinde yumak karakteristiklerinin etkileri incelenmiştir. Farklı aktif çamur örnekleri kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde yüzey hidrofobisitesi, yüzey yükleri gibi yumakların fiziksel özelliklerinin susuzlaştırma işlemi üzerinde önemli parametreler olduğu belirtilmiştir.

Lee et al. (2003) membran biyoreaktörler içerisindeki çamurların, çamur yaşlarına bağlı olarak fizikokimyasal ve biyolojik karakteristiklerini araştırmışlar ve çamur yumaklarının hidrofobisitesi, yüzey yükleri ve HDP'lerin özellikleri ile kompozisyonları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bu parametrelerin yumak oluşumu için anahtar parametreler olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, çamur yaşı 20, 40 ve 60 gün olan kültürler kullanılmıştır. Yapılan HDP analizleri sonucunda, proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi çok farklı polimerik materyaller bulunmuştur. Çalışmada, toplam karbonhidrat ve protein miktarları baskın içerikler olduğu için göz önüne alınmıştır. Her üç çamur yaşı için farklı konsantrasyonlarda protein ve karbonhidrat miktarı tespit edilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda HDP'lerdeki protein miktarının hidrofobisiteyi etkilediği, buna bağlı olarak da yüksek hidrofobisiteelerde yumaklaşmanın daha çok olduğu gözlenmiştir. Karbonhidrat ve protein miktarlarının, fiziksel ve kimyasal olarak bu polimerlerin özelliklerini değiştirdiğini belirtilmiştir.

Taylor and Jaffé (1990) tarafından gözenekli ortamda biyokütle ve substrat taşınımını tanımlayan bir model tanımlanmıştır. Modelde kolon reaktör boyunca biyokütle gelişimi, taşınımı, katı yüzeye yapışma miktarları hesaplanmıştır. Gözenek boşluklarında gelişen biyofilm, gözenek boyutu ve geçirgenliği değiştireceğinden modelde bu değerler sabit kabul edilmiştir. Geliştirilen modelin deneysel verilerle doğruluğu araştırılmıştır. Deneysel çalışmada, hazırlanan kolon reaktörler içerisine besi maddesi ilavesini sonucunda mikroorganizmaların gelişimi, bu gelişime bağlı olarak akış özelliklerinde meydana gelen değişiklikler

incelenmiştir. Modelde kullanılan biyolojik parametreler kesikli reaktör deneyleri ile hesaplanmıştır. Kolon reaktöre farklı konsantrasyonlarda substrat yüklemelerinde, derinliğe bağlı olarak substrat giderimi, biyofilm gelişimine bağlı olarak kolon tıkanıklığı, akış hızının biyofilm tıkanıklığı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, yüksek besi maddesi ilavesinde kolon reaktörde biyofilm kalınlığının arttığı, buna bağlı olarak tıkanmaların meydana geldiği belirlenmiştir. Kolon reaktöre azalan besi maddesi yüklemeleri ve çoğalan pompalama oranlarında tıkanma problemlerinin azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışmada deneysel veriler ile elde edilen sonuçların modelleme ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

3. HİPOTEZ

Mikroorganizmalar atıkları biyolojik olarak parçalarken, fizyolojik ve morfolojik özelliklerinde de değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimlerin belirlenmesi, mühendislik uygulamalarında yeni metotlar geliştirilmesine veya var olan uygulamaların verimliliğinin artırılmasında kullanılabilir. Bu nedenle mikroorganizmaların üreme ortamı farklılıklarına verdikleri tepkileri bilmek, arıtım ve taşıyım proseslerinin kontrolü, optimizasyonu ve ekonomik olmasını sağlamak için gereklidir.

Bu çalışmada, farklı karbon kaynaklarının mikroorganizmaların yüzey özelliklerini değiştireceğini, bu değişikliğe bağlı olarak gözenekli yapılarda mikroorganizma-taşıyım yüzeyi etkileşiminin farklı olacağı iddia edilmektedir. Sonuç olarak gözenekli yapılardan mikroorganizmaların geçiş miktarı çok veya az olacaktır.

Karbon kaynaklarındaki farklılık biyolojik olarak zor veya kolay parçalanma olarak tanımlanmıştır. Zor parçalanmış organik maddeler bütün mikroorganizma türlerinde bulunmayan, özel enzimler gerektiren kimyasallardır. Çalışmada, mikroorganizmalar tarafından zor parçalanabilen fenol ve parçalanması fenol'e göre daha kolay olan glikoz model karbon kaynağı olarak seçilmiştir.

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu bölümde, tez çalışmasına konu olan mikroorganizmaların yüzey özelliklerine bağlı olarak taşınım karakteristiklerini belirleyebilmek amacıyla deneylerde kullanılan kültür ve besi ortamı, reaktörlerin özellikleri, işletim şartları ve ölçümlerde kullanılan analitik metotlar açıklanmıştır.

4.1. Kültür ve Besi Ortamı

Çalışmada; uzun süre petrokimyasal kirliliğe maruz kalmış toprak örneklerinden elde edilen mikroorganizmalar kullanılmıştır. Seçilmiş benzin istasyonundan alınan toprak örneği, laboratuvar şartlarında içinde fenol bulunan besi ortamına alınmış ve mikrobiyal zenginleştirme yapılmıştır. Başlangıçta 20 mg/L olan fenol konsantrasyonu, artırılarak 1000 mg/L fenol konsantrasyonunu biyolojik olarak parçalayabilen kültür elde edilmiştir. Deneyler sırasında, elde edilen karma kültür kullanılmıştır. Mikrobiyal kültürün zenginleştirilmesinde kullanılan besi ortamı, aşağıda Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. Besi ortamı kompozisyonu (Atlas, 1997)

Kimyasal Madde	Konsantrasyon (mg/L)
KH_2PO_4	25,50
K_2HPO_4	65,25
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100,00
NH_4Cl	195,10
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	67,50
CaCl_2	82,50
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,75
Wolfe's mineral solüsyonu	10 mL/L

Çizelge 4.2 Wolfe's mineral solüsyon kompozisyonu (Atlas,1997)

Kimyasal Madde	Konsantrasyon (g/L)
MgSO ₄ .7H ₂ O	3,0
NaCl	1,0
MnSO ₄ .H ₂ O	0,5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,1
CaCl ₂	0,1
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,1
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,01

Hazırlanan besi ortamı kompozisyonunun pH'sı, 7.0±0.2 olarak ölçülmüştür. Ca⁺² ve Mg⁺² iyonlarının besi ortamı içerisinde çökmesini önlemek için, CaCl₂ ve MgSO₄.7H₂O tuzları beraberce bir stok çözelti hazırlanarak, besi ortamına gereken miktarda ve en son olarak ilave edilmiştir (Sokol and Howell, 1981).

4.2. Kullanılan Karbon Kaynakları

Elde edilen kültür, içerisinde değişik konsantrasyonlarda glikoz ve fenol bulunan ayrı ayrı reaktörlerde üretilmiş ve çalışmalarda kullanılmıştır. Karbon kaynağı olarak glikoz ve fenolün seçilmesindeki ana etken; glikozun biyolojik olarak kolay parçalanabilen bir organik madde olmasına karşılık, fenolün biyolojik parçalanmasının daha zor olmasıdır. Reaktörlerde kullanılan karbon miktarları elementel karbon bazında eşitlenmiştir.

Bir mol glikoz (C₆H₁₂O₆; 180 g) ve fenolde (C₆H₅OH; 94 g), toplam 72,0672 g elemental karbon vardır. Ancak bu kimyasal maddelerin molekül ağırlıkları birbirinden farklıdır ve aynı miktarda elemental karbonu elde etmek için 1 mol glikoz (C₆H₁₂O₆) eşleneği olarak; 1,92 mol fenol (C₆H₅OH) kullanılmalıdır. Buna bağlı olarak; 1 g/L fenol konsantrasyonuna sahip reaktördeki karbon miktarına eşdeğer karbon içeren, glikoz miktarı tespit edilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda, hazırlanan reaktörlere ilave edilen karbon kaynaklarının miktarları Çizelge 4.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Reaktörlerdeki karbon konsantrasyonları

Fenol (g/L)	Glikoz (g/L)
1,00	1,915

4.3. Çalışmada Kullanılan Reaktörler

Deneysel çalışmalarda amaca bağlı olarak, yapılan deneylerin özellikleri nedeni ile kesikli ve kolon reaktör olmak üzere iki farklı reaktör hazırlanmıştır. Kesikli reaktörler, mikroorganizmaların üreme kinetiklerinin, kolon reaktörler ise mikroorganizmaların taşınım özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Kesikli reaktör: Mikroorganizmaların üreme kinetikleri, 2 litrelik kahverengi amber renkli cam kesikli reaktörler kullanılarak belirlenmiştir. Deney sırasında, mikroorganizma üremesinin gerçekleştirildiği reaktörlerde bidistile su kullanılmıştır. Laboratuvar ortamında, havalandırılmalı ve kesikli olarak hazırlanan bu reaktörlere; Çizelge 4.1.'de belirtilen kimyasal maddeler ve karbon kaynakları ilave edilerek mikroorganizma aşılması gerçekleştirilmiştir. Mikroorganizmalar reaktörlere aşılardan önce Çizelge 4.1.'de belirtilmiş besi ortamı çözeltisi ile, 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj (Sigma, D-37520) edilmiş ve aynı ortamda askıya alınarak, işlem iki kez tekrarlanmıştır. Kullanılan tüm reaktörlere fenolü arıtılabilen mikroorganizma kültürleri, 5 mL olarak ilave edilmiştir. Aşılama işleminden sonra, reaktörlerin ağızları pamuk ve gazlı bezle hazırlanan tamponlarla kapatılarak, çalkalayıcı (Labcon, 3100U) üzerine konulmuş ve mikroorganizmaların üremeleri spektrofotometre (Beckman DU® 530 Life Science UV/VIS Spectrophotometer) kullanılarak 600 nm dalga boyunda izlenmiştir. Mikroorganizma üremesi oda sıcaklığında gerçekleşmiştir. Kültürlerin sürekli olarak aktif kalması için, mikroorganizmalar ikişer haftalık periyotlarda yeni hazırlanan besi ortamına aktarılmıştır.

Kolon reaktör: Mikroorganizmaların yüzey özelliklerinde meydana gelen değişimin, taşınımına olan etkisini belirleyebilmek amacıyla kolon reaktör deneyleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu reaktörlerde, akış rejimi ile bu mikroorganizmaların taşınım ilişkileri de incelenmiştir.

Deneylerde kullanılan kolon reaktörler, şeffaf pleksiglas malzemeden yapılmıştır. Kolonların özellikleri Çizelge 4.4.'de, deney düzeneği Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. Kolon reaktörlerde dolgu maddesi olarak, inşaat kumu kullanılmıştır. Bu kum, gözenek çapı 2, 1.18, 1 ve 0.5 mm olan eleklerle elenmiş ve 1.18 mm ile 0.5 mm arasında kalan kumlar kolon reaktörde dolgu maddesi olarak kullanılmıştır. Dolgu maddesi olarak kullanılan inşaat kumunun, tane boyu analiz sonuçları Ek Şekil 1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Kolon reaktörün özellikleri

Kolon dış çapı (cm)	5
Kolon iç çapı (cm)	4,6
Kolon yüksekliği (cm)	30
Ortalama Tane Çapı (mm)	0,5-1,18



Şekil 4.1. Kolon reaktörün genel yapısı

4.3.1. Kolon Reaktörün İşletim Şartları

Taşınım deneyleri, kolon reaktörlerde iki farklı akış hızı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneyler sırasında, laminar akış şartları kullanılmış ve Darcy

kanunu geçerliliğine dikkat edilmiştir. Reaktörün işletim şartları ve Reynolds sayıları Çizelge 4.5.'de gösterilmiştir. Reynolds sayısı durgun ve viskos güçler arasındaki dengeyi ifade eder. Birimsiz olan bu sayı aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$Re = D \cdot V \cdot \rho / \mu \quad (4.1.)$$

Burada; D özgül boyutu (cm), V akış hızını (cm/s), ρ kumun yoğunluğunu (g/cm^3), μ dinamik viskozite ($g/cm \cdot s$)'yi göstermektedir. Kum yoğunluğu; ASTM D 854 'e göre $\rho = 2,64 g/cm^3$ olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.5. Kolon reaktörün işletim şartları

Kolon akış hızları	Yavaş	Q= 4,5 mL/d	Re=1,9*10 ⁻³
	Hızlı	Q=10 mL/d	Re=4,2*10 ⁻³

4.3.2. Kolon Reaktörün Doldurulması

Reaktörlerde homojen gözenek yapısı elde edebilmek için, yaş doldurma yöntemi kullanılmıştır. Deney kolonu kum ile doldurulurken, öncelikle boş olan kolona bir miktar Çizelge 4.1.'de belirtilen besi çözeltisi ilave edilmiş, çözelti üzerine bir miktar kum ilave edilerek, basınç uygulanmış ve iyice sıkışması sağlanmıştır. Bu şekilde kolon kademeli olarak besi çözeltisi ve kum ile doldurulmuştur.

4.3.3. Kolon Reaktörün Deney Düzenegi

Deneyler esnasında, taşınımı gözlenen iz element ve bakteri kültürü bir mezür içerisine konularak, su pompası yardımı ile reaktöre iletilmiştir. Kullanılan kolon reaktörün giriş yapısında, değişken su seviyesinden doğabilecek farklı hidrolik basıncın taşınım sonuçlarını etkilememesi açısından, sabit su yüksekliği sağlanmıştır. Kolona pompalanan çözelti deney süresince sirküle edilmiştir.

Kolon dolgu maddesi olarak kullanılan kumu kolonda tutmak ve akışa olanak verebilmek için giriş ve çıkış noktaları gözenek çapı, 0,14 mm olan pirinç levhalar ile kapatılmıştır. Giriş noktasındaki pirinç levha, gelen akımı homojen bir şekilde

Bakteri taşınım deneyi: Karbon kaynağı olarak fenol ve glikoz kullanan mikroorganizmalar, üstel üreme evresinin sonunda kolona enjekte edilmiştir. Kolon reaktörün çıkış noktasından belirli zaman aralıklarda örnekler alınarak spektrofotometre ile 600 nm dalga boyunda absorbands değerleri ölçülmüştür. Şahit numune olarak, besi çözeltisi kullanılmıştır. Kolon deneyleri sırasında, reaktöre gönderilen mikroorganizmaların hidrofobisite ölçümleri ve kolon içindeki bakteri dağılımını görmek için, kum yüzeyinden elde edilen örneklerde, MLSS ve MLVSS ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Mikroorganizmalar kolona enjekte edilmeden önce, kolonun akış özelliklerini belirlemek amacıyla kullanılan $K_2Cr_2O_7$ 'in olumsuz etkilerini gidermek için , iz element taşınım deneyleri sonunda reaktörden birkaç kez besi ortamı çözeltisi geçirilerek, reaktör temizlenmiştir. Enjeksiyon işleminden önce, kolonda tıkanmalar meydana gelmemesi açısından, oluşan yumakların dağıtılması için mikroorganizma reaktörleri, ultrasonik banyo (Bandelin, Sonorex RK 100) üzerinde 30 dk. çalkalanmıştır.

4.4. Analiz Yöntemleri

4.4.1. Reaktörlerdeki Bakteri Gelişiminin İzlenmesi

Reaktörlerdeki bakteri gelişimi, spektrofotometre kullanılarak, 600 nm dalga boyunda takip edilmiştir. Reaktörlerden alınan örnekler, 1 cm'lik küvete (Hellma) konularak optik yoğunlukları belirlenmiştir. Bu izleme esnasında, şahit numune olarak besi çözeltisi kullanılmıştır.

4.4.2. Fenol ve Glikoz Analizleri İçin Örneklerin Alınması

Reaktörlerden belirli zaman ve hacimlerde (5 mL) alınan örnekler; 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek, mikroorganizmalar solusyondan ayrılmış ve mikroorganizma içermeyen üst kısımdaki berrak çözelti kullanılarak, fenol ve glikoz analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.4.3. Fenol Analizi

4.4.3.1. Analitik prosedür

Fenol ölçümleri için standart metot kullanılmıştır (APHA,1989). Bu metot, kolorimetrik esaslara dayalıdır. Kullanılan bu yöntemde, fenolik maddeler ortamda potasyum ferrikyanid'in varlığında 4-aminoantipyrin ile tepkimeye girerler ve kırmızı-kahverengi bir renk oluştururlar. Oluşan rengin spektrofotometre ile ölçülmesi sonucunda fenolik maddelerin konsantrasyonları tespit edilir. Bu metot; su ve atık sularda en düşük 5 µg/L'ye kadar olan toplam fenolik maddelerin tespit edilmesinde kullanılır.

Kullanılan çözeltiler:

Tampon Çözeltisi: 16,9 mL NH₄Cl, 143 mL NH₄OH içerisinde çözünerek saf su ile 250 mL'ye tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltinin pH'ı 10±0.2 olarak ölçülmüştür.

Aminoantipyrin Çözeltisi: 2 g 4AAP bir miktar saf su içerisinde çözünerek saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Potasyum ferrikyanid Çözeltisi: 8 g K₃Fe(CN)₆ bir miktar saf su içerisinde çözünerek saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

4.4.3.2. Deney prosedürü

- Kalibrasyon için hazırlanan standartlar ve ölçülecek örnekler deney tüplerine konulur.
- Her 100 mL örnek için 2 mL tampon çözelti ilave edilir ve vorteks (Velp® Scientifica) ile karıştırılır. (Deney sırasında 4 mL'lik örnekler hazırlanmış, 80 µL. tampon çözelti ilave edilmiştir.)
- Her 100 mL örnek için 2 mL aminoantipyrin çözeltisi ilave edilerek vorteks ile karıştırılır.
- Her 100 mL örnek için 2 mL potasyum ferrikyanid çözeltisi ilave edilerek vorteks ile karıştırılır.
- Örnekler 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra, spektrofotometre'de 500 nm dalga boyunda ölçülür.

- Şahit numune olarak bidistile su kullanılmıştır.

Laboratuarda yapılan dalga boyu taraması sonucunda, metot da önerilen dalga boyu uyum gösterdiğinden dolayı, ölçümler 500 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Her set fenol ölçümünde, yeni kalibrasyon eğrisi hazırlanmış ve konsantrasyon değerleri bu eğriler yardımı ile hesaplanmıştır. Şekil 4.3.'de kullanılan kalibrasyon eğrilerinden bir örnek gösterilmiştir.

4.4.3.3. Kalibrasyon

4.4.3.3.1 Fenol stok çözeltisinin hazırlanışı

Kalibrasyonda kullanılan fenol stok çözeltisi için, 0,25 g fenol bir miktar saf su içerisinde çözünerek saf su ile 250 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltinin konsantrasyonu 1 g/L'dir.

4.4.3.3.2 Kalibrasyon setinin hazırlanışı

Kalibrasyon için hazırlanan 1 g/L'lik fenol stok çözeltisi kullanılmıştır. Aşağıda belirtilen konsantrasyonlarda standartlar hazırlanarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

Hazırlanan Standart Çözeltiler:

- 0,5 mg/L'lik standart çözelti

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$10^3 \text{ mg/L} \cdot V_1 = 0,5 \text{ mg/L} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ mL} = 50 \text{ } \mu\text{L}$$

1 g/L fenol stok çözeltisinden 50 μL alınarak saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

- 1,0 mg/L'lik standart çözelti

$$10^3 \text{ mg/L} \cdot V_2 = 1,0 \text{ mg/L} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_2 = 0,1 \text{ mL} = 100 \text{ } \mu\text{L}$$

1 g/L fenol stok çözeltisinden 50 μL alınarak saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

- 2,5 mg/L'lik standart çözelti

$$10^3 \text{ mg/L} * V_3 = 2,5 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$$

$$V_3 = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{L}$$

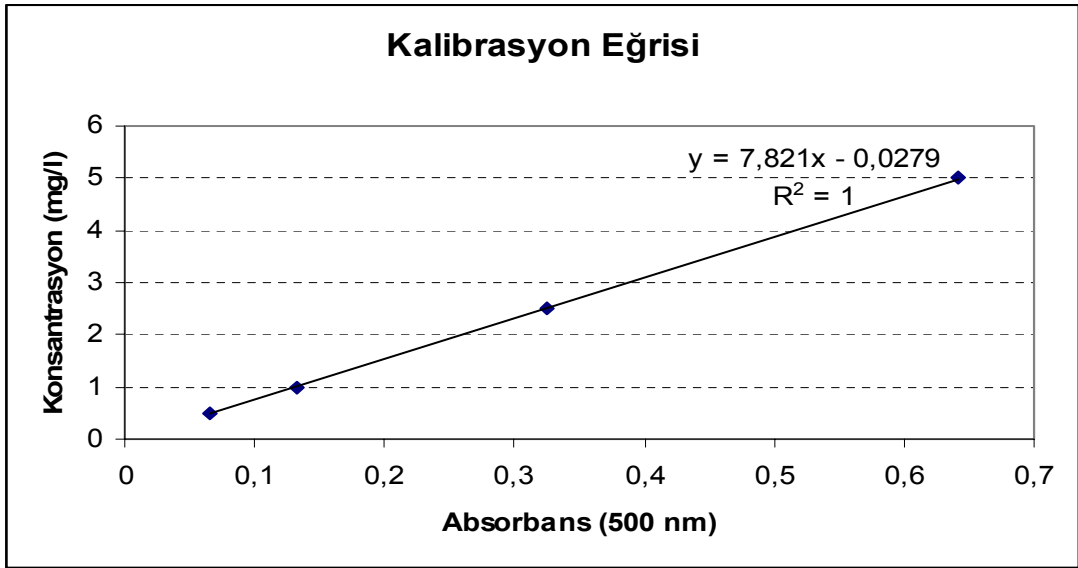
1 g/L fenol stok çözeltisinden 250 μL alınarak saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

- 5,0 mg/L'lik standart çözelti

$$10^3 \text{ mg/L} * V_4 = 5,0 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$$

$$V_4 = 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{L}$$

1 g/L fenol stok çözeltisinden 250 μL alınarak saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.



Şekil 4.3. Fenol ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon grafiği.

Gerekli hallerde fenol ölçümü yapılan örneklerde, 1/40 oranında seyreltme yapılmıştır.

4.4.4. Mikroorganizmaların Yüzey Hidrofobisitesinin Ölçümü

Karışık mikrobiyal kültürün hidrofobisitesi, Microbial Adsorption To Hydrocarbon (MATH) metodu kullanılarak ölçülmüştür (Rosenberg et al., 1980). Bu yöntem; mikroorganizmaların hidrokarbon üzerine yapışma miktarlarının tespit edilerek, hidrofobisitesinin ölçülmesi esasına dayalıdır. Deneyler esnasında iki farklı hidrofobisite ölçümü gerçekleştirilmiştir. İki yöntem arasındaki fark; mikroorganizmaların tampon çözelti ile yıkanıp yıkanmamasıdır.

Mikroorganizmalar genellikle, orjinalinde bulunan elektostatik etkileri en aza indirebilmek için içerisinde karbon kaynağı bulundurmeyen tampon çözelti ile yıkanır (Sanin et al., 2003). Yapılan deneyler sonucunda; her iki yöntem arasında paralel sonuçlar elde edilmiştir. Aşağıda belirtilen yöntem, mikroorganizmaların yıkanması sonucunda gerçekleştirilen hidrofobisite tayinini içermektedir.

- Bakteri kültüründen 5 mL alınarak deney tüplerine konulur.
- 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek üstte kalan sıvı dökülür. (supernatant)
- Deney tüpünün altında kalan bakteri kültürünün üzerine 5 mL tampon çözelti ilave edilerek vorteks ile karıştırılır.
- 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek üstte kalan sıvı atılır. Bu yıkama işlemi iki kez tekrarlanır.
- Kalan bakteri kültürü üzerine 5 mL tampon çözelti eklenerek vorteks ile karıştırıldıktan sonra spektrofotometre ile ilk absorbans değeri (OD_{600}) ölçülür.
- Kültürlerin üzerine 500 µl n-hexadekan ilave edilerek 30 saniye vorteks ile karıştırılır.
- Ortam sıcaklığında 30 dakika bekletilen bakteri kültürlerinin son absorbans değerleri spektrofotometre de ölçülür.

Hidrofobisite, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır.

$$\text{Hidrofobisite(\%)} = (OD_{\text{ilk}} - OD_{\text{son}}) * 100 / OD_{\text{ilk}} \quad (4.2.)$$

OD_{ilk} = 600 nm dalga boyunda ölçülen ilk absorbans değeri.

OD_{son} = 600 nm dalga boyunda ölçülen son absorbans değeri.

Deneyler sırasında, ortama ilave edilen n-hexadekan miktarındaki artışın hidrofobisite ölçümü üzerindeki etkileri araştırılmış, bu artışın deney sonuçlarını etkilemediği belirlenmiştir.

4.4.5. Polimer Ekstraksiyonu

Mikroorganizmaların hücre dışı polimerlerindeki, protein miktarının belirlenebilmesi için öncelikle ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, aşağıdaki prosedür izlenilmiştir (Frølund et al., 1996).

- Reaktörlerden alınan 200 mL mikroorganizma kültürleri, santrifüj tüplerine konularak 15 dakika 4000 rpm'de santrifüj edilir.
- Bu işlemden sonra santrifüj tüpü üzerinde kalan sıvı dökülerek, (supernatant) dipte kalan mikroorganizma kültürü ekstraksiyon tampon çözeltisi ile iyice yıkanarak bir behere boşaltılır.
- Yıkanmış mikroorganizma kültürü, ekstraksiyon tampon çözeltisi ile 200 mL'ye tamamlanır.
- Beherler içerisine önceden kurutulmuş olan katyon değiştirici reçineler ilave edilerek jar test cihazında (Velp® Scientifica, JLT6) 5 saat, 100 rpm'de karıştırılır.
- Süre bitiminde, beherler içerisindeki mikroorganizma kültürleri çökmeye bırakılır.
- Çöktükten sonra üst sıvıdan 10 mL, deney kontrolü açısından 3 set halinde örnekler alınarak santrifüj tüplerine konulur. 10 dakika, 4000 rpm'de santrifüj edilen örneklerin üstünde kalan sıvı alınarak, karbonhidrat ve protein analizi yapılır.

Deneyin kontrolü açısından her bir reaktörden 200 mL'lik 2 set halinde örnekler alınmış, deney sonucunda ise bu setlerin ortalamaları kullanılmıştır.

4.4.5.1. Kullanılan ekstraksiyon tampon çözeltisi

Mikroorganizmalardan polimerler ekstraksiyonunun gerçekleştirilmesi için hazırlanan çözelti, Çizelge 4.6.'da belirtilmiş olan kimyasalları içermektedir.

Çizelge 4.6. Ekstraksiyon tampon çözeltisi

Kimyasal Madde	Konsantrasyon(g/L)
NaCl	4
KCl	0,1
KH ₂ PO ₄	0,06
Na ₂ HPO ₄	0,455

4.4.5.2. Katyon değiştirici reçine'nin hazırlanması

Mikroorganizma kùltürlerinden hücre dışı polimerleri ekstrakte edebilmek için; sodyum formunda, kuvvetli asidik katyon değiştirici reçine (CER, Cation Exchange Resin) kullanılmıştır. Reęinenin hazırlanmasında aşağıdaki yöntem kullanılmıştır (Frølund et al., 1996).

- Reaktörlerdeki mikroorganizmaların MLVSS analizi yapılır.
- Her reaktör için 100 g CER/g MLVSS tartılır. (Kullanılan CER, DOWEX 50x8, 20-50 mesh sodyum formu şeklinde, Fluka 4445)
- Tartılan CER'ler bir behere konularak üzerini kapatacak şekilde Çizelge 4.6'da belirtilen ekstraksiyon tampon çözeltisi ilave edilir.
- 2 saat karıştırıcıda (Velp® Scientifica, ARE Heating Magtentic stirrer) karıştırılır.
- Karıştırıcıdan alınan CER, 0,45 µm (MFS, 429LGB) filtre kağıdı kullanılarak, vakum pompası (Sartorius marka) yardımı ile süzülür.
- Süzülen katyon değiştirici reçine alüminyum folyo üstüne dökülerek, kuruması için kapalı bir ortama konulur.

4.4.6. Protein Analizi

Protein analizi için Lowry metodu kullanılmıştır (Lowry et al.,1951). Metot kolorimetrik esaslara dayalıdır.

4.4.6.1. Analiz yöntemi

4.4.6.1.1 Kullanılan çözeltiler

Çözelti A : 0.1 N NaOH (0.4 g NaOH 100 mL'lik balon joje içerisine konulur ve saf su ile 100 ml. ye tamamlanır) içerisine 2 g Na₂CO₃ konularak çözünür.

Çözelti B : 0.5 g CuSO₄ ve 1 g sodyum-potasyum tartarat 100 mL'lik balon joje içerisine konulur ve 100 mL saf su ile çözünür.

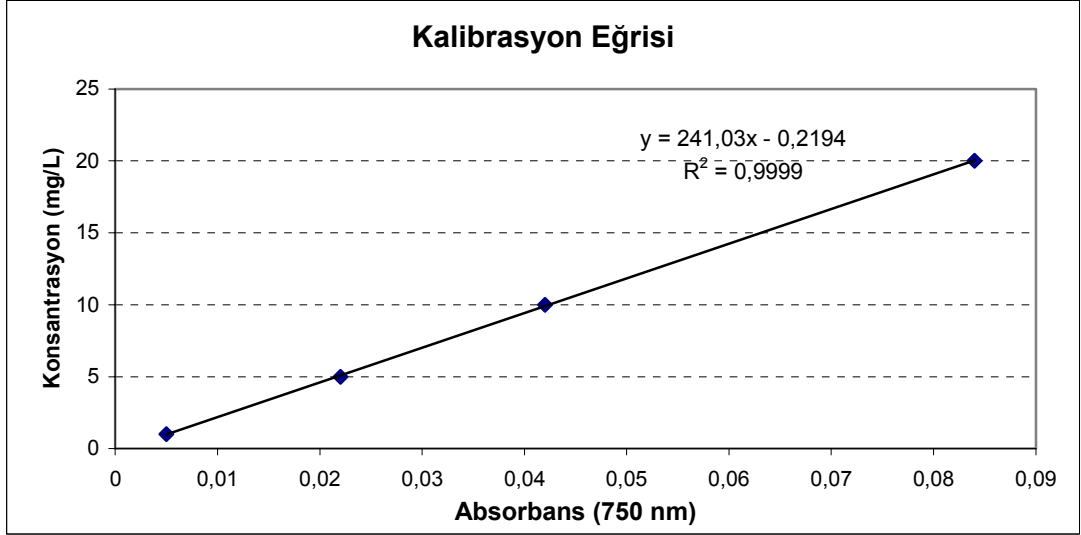
Çözelti C : Hazırlanan çözelti A'dan 49 mL, çözelti B'den 1 mL alınarak 50 mL'lik bir balon joje içerisinde karıştırılır (100 mL'lik balon joje içerisinde hazırlanan çözelti A'dan 2 mL alınarak, yerine 2 mL çözelti A'dan konulur).

Çözelti D : Folin – Ciocalteu's fenol çözeltisi hazırlanır. Bunun için, 10 mL Folin – Ciocalteu's fenol 9 mL saf su ile karıştırılır.

4.4.6.1.2 Deney prosedürü

- Deney tüplerine 0,6 mL (600 µL) örneklerden konulur.
- Her bir örneğin üzerine 3 mL çözelti C'den ilave edilir.
- Vorteks ile karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.
- Bu sürenin sonunda örneklerin her birine 0,3 mL (300 µL) çözelti D'den ilave edilir.
- Vorteks ile karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 750 nm'de absorbans değerleri okunur.

Hazırlanan standartlar ve örnekler, 1 cm'lik küvet ile spektrofotometre de 750 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Laboratuarda yapılan dalga boyu taraması sonuçları ve metotda önerilen dalga boyu 750 nm olarak verildiğinden, analizlerde bu dalga boyu kullanılmıştır. Her set protein ölçümü sırasında yeni kalibrasyon eğrisi hazırlanmış ve konsantrasyon değerleri bu eğriler yardımı ile hesaplanmıştır. Şekil 4.4.'de kullanılan kalibrasyon eğrilerinden bir örnek gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Protein ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon grafiği

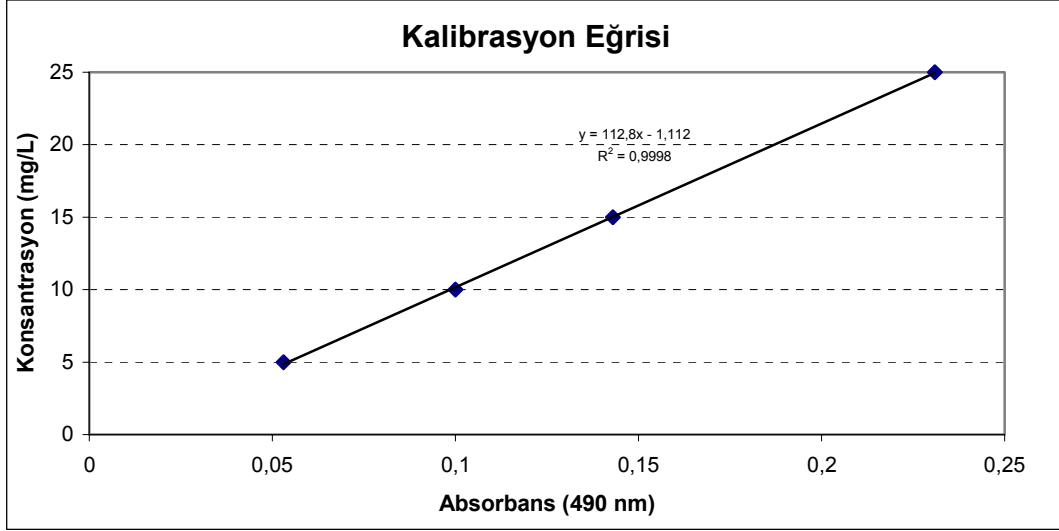
4.4.7. Glikoz Analizi

Glikoz analizi, Dubois yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Dubois et al.,1956). Yöntem kolorimetrik esaslara dayalıdır. Glikoz içerisinde bulunan metil eter gruplarının, fenol ve konsantre sülfirik asit'e reaksiyona girmesi sonucu oluşan sarı-turuncu rengin spektrofotometre de ölçülmesi sonucunda, glikoz miktarı tespit edilir. Glikoz ölçüm prosedürü, aşağıda belirtilmiştir.

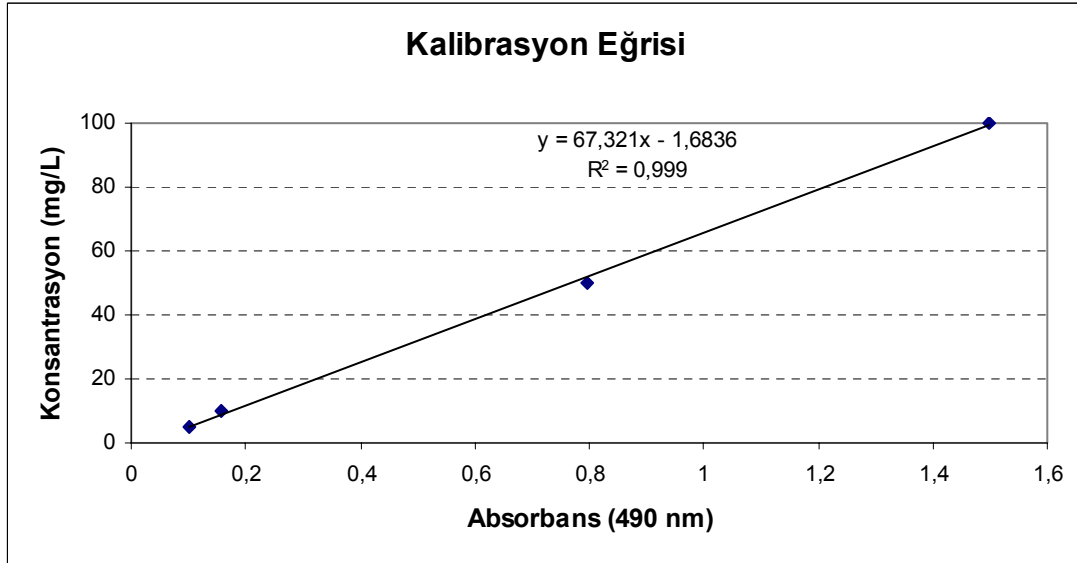
- Bidistile su kullanılarak %80'lik fenol çözeltisi hazırlanır.
- 2 mL'lik örnekler üzerine, hazırlanan %80'lik fenol çözeltisinden 0,05 mL ilave edilir.
- Bu örnekler üzerine 5 mL konsantre H₂SO₄ ilave edikten sonra vorteks ile karıştırılır.
- Örnekler öncelikle 10 dakika oda sıcaklığında, 15 dakika ise 30 °C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilir.
- 490 nm dalga boyunda spektrofotometre de absorbans değeri okunur.

Yapılan dalga boyu taraması sonucunda, 490 nm dalga boyunun glikoz ölçümü için en uygun dalga boyu olduğu belirlenmiştir. Bu dalga boyu, metot da belirtilen değer ile uyumludur. Gerekli durumlarda örnekler, 1/20 oranında seyreltilmiştir. Şahit numune olarak ise bidistile su kullanılmıştır. Her set glikoz ölçümünde, yeni kalibrasyon eğrisi hazırlanmış ve konsantrasyon değerleri bu eğriler yardımı ile

hesaplanmıştır. Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'da glikoz ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon eğrilerinden örnekler verilmiştir.



Şekil 4.5. 0-25 mg/L arasındaki glikoz ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.6. 0-120 mg/L arasındaki glikoz ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon eğrisi

4.4.8. Mikroorganizma Miktarlarının Belirlenmesi

Reaktörlerdeki mikroorganizma miktarları, askıdaki katı madde (MLSS) ve askıdaki uçucu katı madde (MLVSS) yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir (APHA, 1995). Reaktörlerden 10'ar mL alınan numuneler, sabit tartıma getirilmiş (105 °C'de 24 saat) 0,45 µm'lik filtre kağıdından vakum pompası yardımı ile süzölmüş,

filtre üzerinde kalan kısım etüvde, 105 °C'de 24 saat kurutulularak desikatörde soğutulduktan sonra tartılarak MLSS değeri tespit edilmiştir. MLSS tayini gerçekleştirildikten sonra, filtre kağıdının üstünde kalan maddeler ile fırında 550 °C'de 20 dakika yakılmasından sonra alınan tartım ile uçucu katıların miktarı hesaplanmıştır.

4.4.9. Kolonda Tutulan Mikroorganizma Miktarının Belirlenmesi

Kolon reaktörün giriş kısmından başlayarak kolon boyunca 5, 10, 15, 20, 25 ve çıkış kısmı olan 30 cm'den homojenize edilerek alınan kum örneklerinin, MLSS ve MLVSS analizleri gerçekleştirilmiştir. Alınan kum örnekleri, krozelere konularak etüvde 105 °C 'de 24 saat kurutulup, desikatörde soğutulduktan sonra tartılarak MLSS değerleri belirlenmiştir. MLSS tayininden sonra krozeler fırında 550 °C'de 20 dakika yakılıp desikatörde soğutulduktan sonra alınan tartım değerleri ile uçucu katıların miktarı hesaplanmıştır.

4.4.10. Özgül Filtrasyon Direnci

Reaktörlerden alınan mikroorganizma örnekleri 0.45 m μ (MFS, 429LGB) filtre kağıdı kullanılarak vakum filtrasyon düzeneği yardımıyla ÖFD değerleri aşağıdaki formül kullanılarak m/kg olarak hesaplanmıştır (Surucu and Cetin, 1989).

$$\text{ÖFD (m/kg)} = 2.P.b.A^2 / \mu . W$$

P: Uygulanan vakum basıncı, (g /cm²)

A: Filtrasyonun gerçekleştiği kesit alanı, (cm²)

B: Zaman/hacim eğrisine karşı çizilen hacim eğrisi, (s/cm⁶)

μ : Kinetik viskozite, (g/ cm.s)

W: Birim hacim filtrattaki katı madde konsantrasyonu (g/cm³)

4.4.11. Amonyak Tayini

Amonyak tayini için "Standart Analiz yöntemleri"nden "Neslerizasyon Metodu" kullanılmıştır. Bu metot da, çinkosülfat ile spektrofotometrik analizlerde girişim yapabilecek partiküller, sodyum hidroksit ile sağlanan bazik ortamda

öktürölmekte ve ardından nessler reaktifi ile rochelle tuzu eklenerek hazırlanan numuneler spektrofotometrik olarak analiz edilmektedir (APHA, 1995).

5. SONUÇLAR

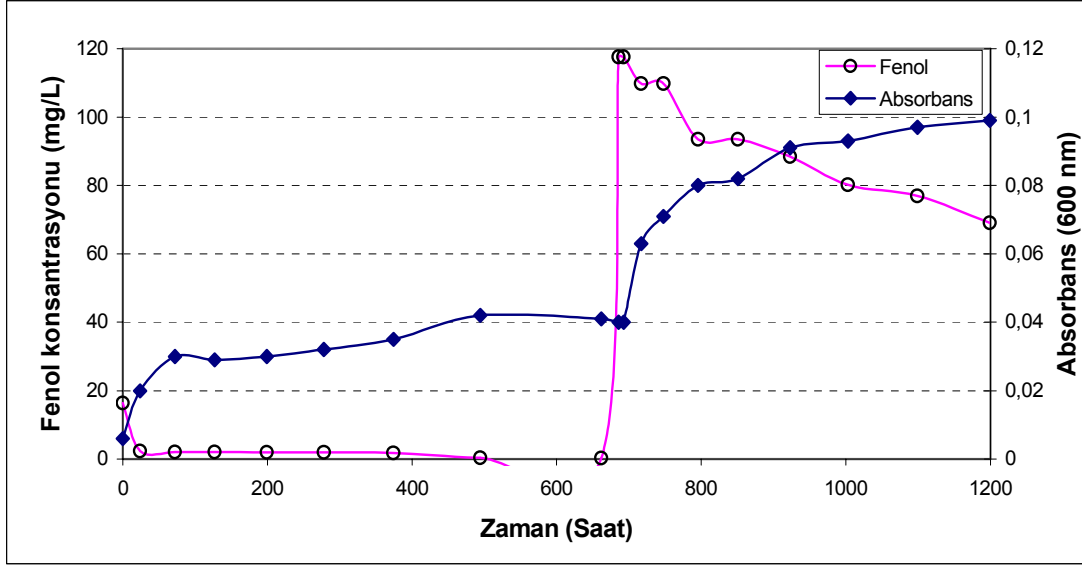
Bu çalışmada, topraktan izole edilen karışık kültürün fenol'ü parçalaması ve bununla ilgili kinetik çalışmalar, gelişim evrelerine bağlı olarak kültürün yüzey özelliklerindeki değişimler incelenmiştir. Elde edilen bulgular kinetik çalışmalar ve taşınım deneyleri olarak gruplandırılmıştır.

5.1. Kesikli Reaktör Deneyleri

Kesikli sistem karıştırılmalı reaktör deneyleri; mikroorganizmaların kullanılan ortamlardaki büyüme özelliklerinin incelenmesi, karbon kaynaklarına bağlı olarak yüzey özelliklerinin ve partikül boyutlarındaki değişimin tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir

5.1.1. Biyolojik Fenol Parçalanması

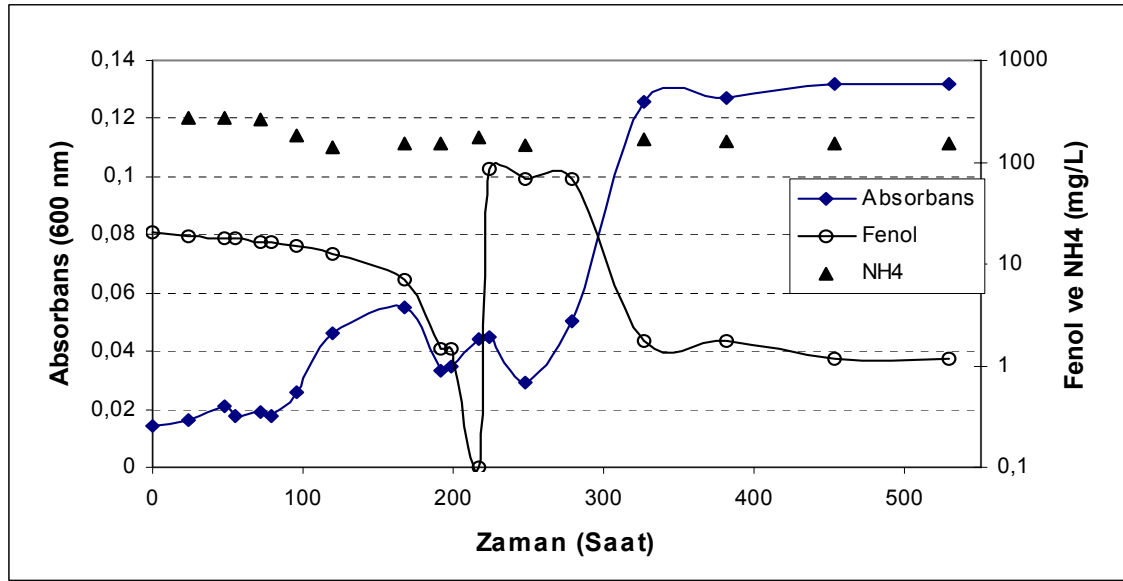
Mikroorganizmaların fenollü ortama adaptasyonu ve biyolojik olarak parçalanmasını göstermek amacıyla yapılan deneylerde; toprak örneklerinden elde edilen doğal mikroorganizma popülasyonları ilk etapta 16 mg/L fenol ve besi çözültüsü içeren ortama aşılmıştır. Şekil 5.1.'de gösterilmiş olan gelişim eğrisinde; 48. saat sonunda, mikroorganizmalardaki gelişime bağlı olarak, fenol konsantrasyonunun 2 mg/L'ye düştüğü belirlenmiştir. Mikroorganizmaların özgül üreme hızı ise $0,034 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Reaktörde fenol'ün tüketilmesiyle birlikte, bu sürenin sonunda mikroorganizma popülasyonunda herhangi bir artış gözlemlenmemiştir. Karbon kaynağı olarak 662. saatte ortama 120 mg/L fenol ilavesi sonucunda, mikroorganizma popülasyonu yeniden gelişmeye başlamış, mikroorganizmaların özgül üreme hızı, $0,024 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. İlk üreme hızına göre ikinci üreme hızındaki azalmanın, reaktör içerisindeki nütrientlerin tüketilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan deneyler sonucunda, elde edilen mikroorganizma kültürünün fenol'ü biyolojik olarak parçalayabildiği sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 5.1. Karışık mikroorganizma kültürünün fenolü parçalaması

5.1.2. Nitrojen'in Biyolojik Fenol Parçalanımı Üzerindeki Etkisi

Fenol parçalanması üzerine nitrojenin etkisini görebilmek amacıyla, ilk fenol konsantrasyonu 20 mg/L olan reaktör içerisine 275 mg/L NH_4 ilave edilmiştir. NH_4 ilavesinden sonra mikroorganizmaların ortama adaptasyon süresinin uzadığı (96 saat) gözlemlenmiştir. Amonyak ilavesinden önce aynı konsantrasyonda fenol içeren ortamda, mikroorganizmaların adaptasyon süresinin 24 saat olduğu belirlenmiştir. Şekil 5.2.'de gösterildiği gibi uzun bir lag fazın sonunda mikroorganizmalar üremeye başlamış ve özgül üreme hızı $0,013 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bakteri popülasyonu yüksek amonyak konsantrasyonuna adapte olduktan sonra reaktör içerisine 100 mg/L fenol ilave edilerek, bakteri gelişimi izlenmiştir. Bu ilaveden sonra, yüksek NH_4 konsantrasyonuna adapte olan mikroorganizma popülasyonunun kısa lag faz süresinin (30 saat) ardından fenol'ü kısa sürede tükettiği gözlemlenmiştir. Monod eşitliğine göre bu kültür için özgül üreme hızı $\mu = 0,023 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, yüksek amonyak konsantrasyonunun, kültürlerin ortama adaptasyonunu zorlaştırdığı, mikroorganizmaların ortama adapte olduktan sonra NH_4 'den etkilenmeyerek normal bir üreme süreci gösterdiği gözlenmiştir.



Şekil 5.2. Amonyak ilavesiyle fenol'ün biyolojik parçalanma süreci

5.1.3. Mikroorganizmaların Fenol'e Adaptasyonu

Topraktan izole edilen mikroorganizma kültürleri, 20 mg/L'lik fenol konsantrasyonundan başlayarak, kademeli bir şekilde 1000 mg/L fenol konsantrasyonu içeren reaktörler içerisine aşılacaktır. 3 aylık zaman sürecinin sonunda 1000 mg/L fenol konsantrasyonunu arıtabilen bakteri populasyonu elde edilmiştir. Mikroorganizmaların yüzey özelliklerinin araştırılması ve taşınım deneyleri sırasında, 1000 mg/L'lik fenol'ü parçalayabilen kültürler kullanılmıştır. Fenol konsantrasyonuna bağlı olarak mikroorganizmaların özgül üreme hızları, Çizelge 5.1.'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Fenol konsantrasyonu artışına bağlı olarak mikroorganizmaların üreme hızları

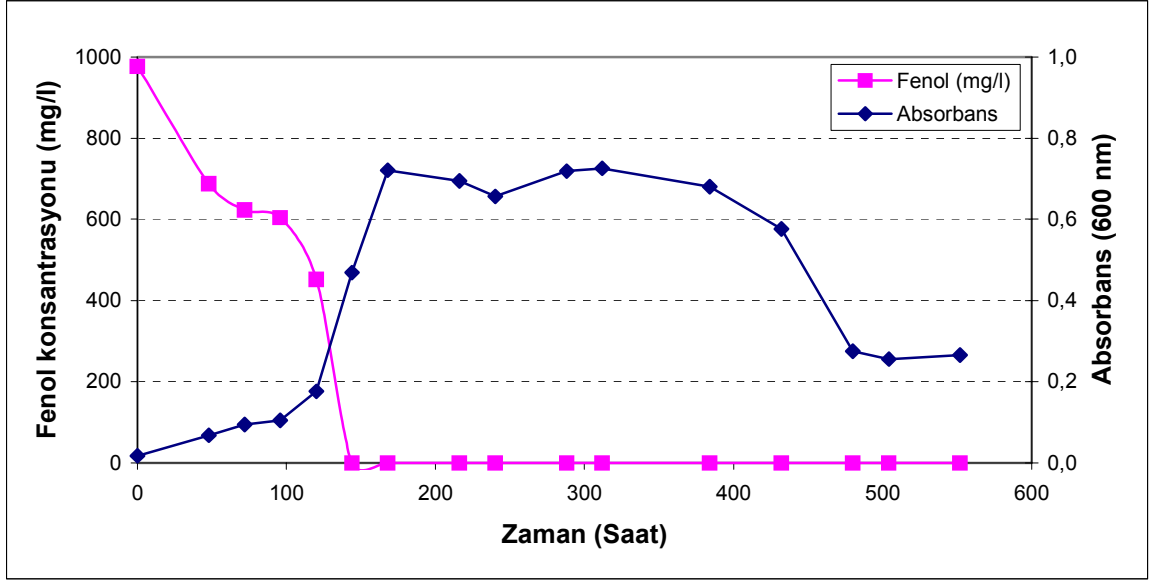
Fenol konsantrasyonu (mg/L)	Özgül üreme hızı (μ, h^{-1})
20	0,034
40	0,033
60	0,036
120	0,027
500	0,021
1000	0,027

5.1.4. Mikroorganizmaların Gelişim Süreçleri

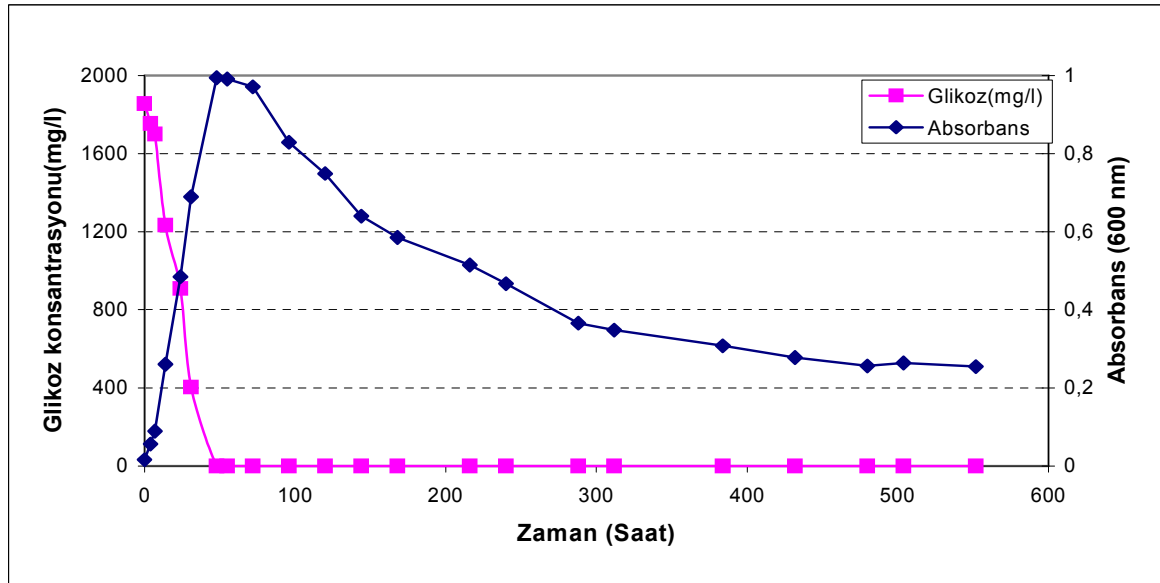
Mikroorganizmaların glikoz ve fenol bulunan ortamlardaki gelişim süreçleri 600 saat boyunca gözlemlenmiş, sonuçlar Şekil 5.3. ve Şekil 5.4.'de gösterilmiştir. Besi ortamında karbon kaynağı olarak fenol'ün (1000 mg/L) kullanılması ile elde edilen mikrobiyal gelişim eğrisi Şekil 5.3.'de verilmiştir. Reaktörde bulunan mikroorganizmalar için lag faz, 96 saat sürmüştür. Adaptasyon sürecinin sonunda, ortama alınan mikroorganizmalar hızlı bir şekilde, logaritmik olarak büyümeye başlamış, 168. saatin sonunda ortamda fenolün tükenmesi sonucunda, üstel büyüme evresini tamamlamışlardır. Dengeli büyüme evresinin sonuna doğru temel besi maddelerinin azalması ile birlikte büyüme hızı azalmaya başlamış, 384. saatin sonunda mikroorganizmalar durağan evresini tamamlamıştır. Plato evresini sonunda ortamda besi maddelerinin tamamen tükenmesi sonucunda ise mikroorganizmalar ölmeye başlamıştır. Monod eşitliği kullanılarak, mikroorganizmaların özgül üreme hızı $\mu=0,027 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Karbon kaynağı olarak glikozun (1915 mg/L) kullanıldığı reaktörde, mikroorganizmalar hızlı bir şekilde üreme göstermiş, kısa bir lag fazın (4 saat) ardından 48. saatin sonunda glikozunda tükenmesi sonucunda üstel büyüme evresini tamamlayarak, 72. saatin sonunda ölüm evresine geçmiştir. Mikroorganizmaların özgül üreme hızı Monod eşitliğine yardımıyla, $\mu= 0,086 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Her iki reaktördeki üreme performansları karşılaştırıldığında; karbon kaynağı olarak fenol kullanılan reaktörde, mikroorganizmaların ortama adaptasyon süreleri, glikoz içeren reaktöre göre daha uzun sürede gerçekleşmiştir. Özgül üreme hızları karşılaştırıldığında ($\mu_{\text{fenol}}=0,022 \text{ h}^{-1}$; $\mu_{\text{glikoz}}=0,086 \text{ h}^{-1}$), glikoz kullanan mikroorganizmaların, fenol kullanan mikroorganizmalara oranla daha hızlı üredikleri açıkça gözlenmiştir. Bu sonuca göre, mikroorganizmaların glikozu biyolojik olarak daha kolay parçaladıkları, fenolü ise glikoza oranla daha zor parçaladıkları söylenebilir.



Şekil 5.3. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi



Şekil 5.4. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi

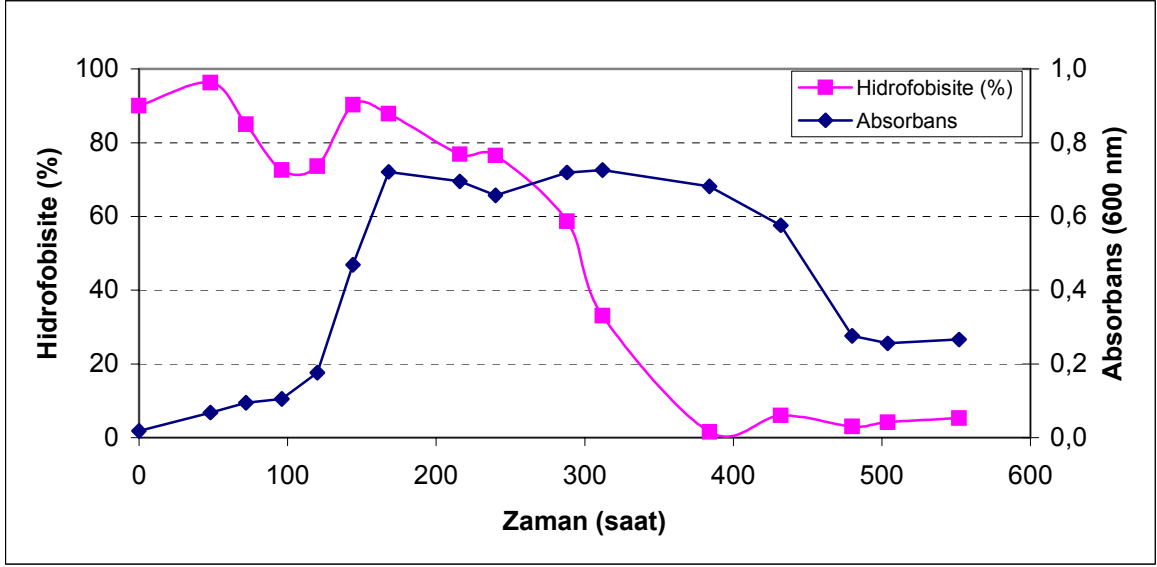
Literatürde yer alan benzer çalışmalarda; fenol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak mikroorganizmaların uzun bir adaptasyon süresi gösterdikleri, glikoz içeren reaktörlerde ise bu sürenin çok kısa olduğu bildirilmiştir (Masque et al., 1987; Tarighian et al., 2003; Kumar et al., 2005).

Masque et al. (1987) tarafından yapılan çalışmada, mikroorganizmaların 1000 mg/L fenol 'ü biyolojik olarak parçalayabilmeleri için öncelikle 20 gün gibi uzun bir adaptasyon süresi geçirdikleri tespit edilmiştir.

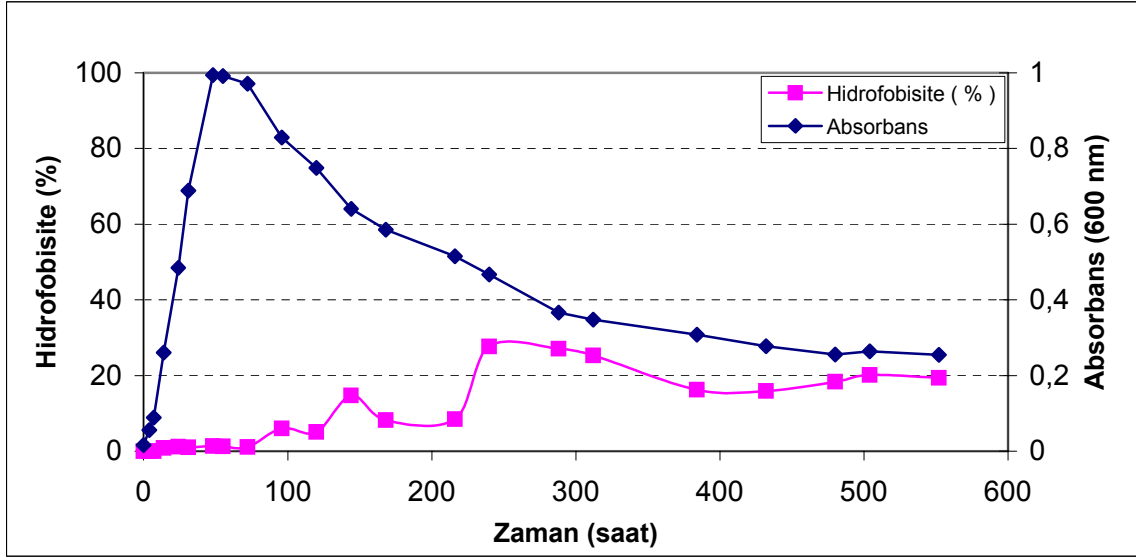
5.1.5. Mikroorganizma Gelişim Evrelerine Bağlı Olarak Hidrofobisite Değişimi

Mikroorganizmaların yüzey özellikleri; karbon kaynağına ve üreme evresine bağlı olarak değişmektedir (Loosdrecht et al., 1987). Bu nedenle, çalışma sürecinde mikroorganizmaların yüzey özelliklerindeki değişim de izlenmiştir. Karışık kültür içeren mikroorganizmaların, gelişim evresine bağlı olarak yüzey özelliklerindeki değişim, MATH metodu kullanılarak ölçülmüştür.

Karbon kaynağı olarak fenol kullanılan reaktörde mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesi , adaptasyon evresinde (lag faz) % 90, üstel büyüme evresinin sonunda %87,88 , ölüm evresinde %5,32 değerine ulaşmıştır. Mikroorganizmalar üreme evrelerine bağlı olarak hidrofobik yüzey özelliklerinden, hidrofilik yüzey özelliğine sahip olmuşlardır. Bunun aksine; glikoz içeren reaktörde; %0,80'den başlayan hidrofobisite, üstel büyüme evresinin sonunda %1,38, ölüm evresinde % 19,39'a ulaşmıştır. Hidrofilik özellik gösteren mikroorganizmalar, gelişim evrelerinin sonuna doğru hidrofobik özellik kazanmışlardır. Yapılan deneyler neticesinde; karbon kaynaklarına bağlı olarak, mikroorganizmaların yüzey özelliklerinin, buna bağlı olarak da yüzeye yapışabilme derecelerinin gelişim evrelerini boyunca değişiklik gösterebileceği sonucuna ulaşılabilir. Mikroorganizmaların karbon kaynaklarına bağlı olarak yüzey özelliklerindeki değişiklikler, Şekil 5.5. ve Şekil 5.6.'da gösterilmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda da gelişim süreci boyunca mikroorganizmaların yüzey özelliklerinin değişebileceği, gelişim ortamındaki farklılıkların da buna bir etken olduğu bildirilmiştir (Loosdrecht et al., 1987; Ljungh and Wadstorm,1995; Farrell and Quilty, 2002; Powell et al., 2003; Sanin et al., 2003; Hua, et al., 2003;Thiebault and Coulon, 2005). Gelişim ortamlarına bağlı olarak çeşitli mikroorganizma kültürlerinin, ölüm evresindeki yüzey hidrofobisiteyi Çizelge 5.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.5. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmaların gelişim evrelerine bağlı hidrofobisite değişimi



Şekil 5.6. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmaların gelişim evrelerine bağlı olarak hidrofobisite değişimi

Çizelge 5.2. Farklı gelişim ortamlarında mikroorganizma kültürlerinin ölüm evresindeki yüzey hidrofobisite değerleri

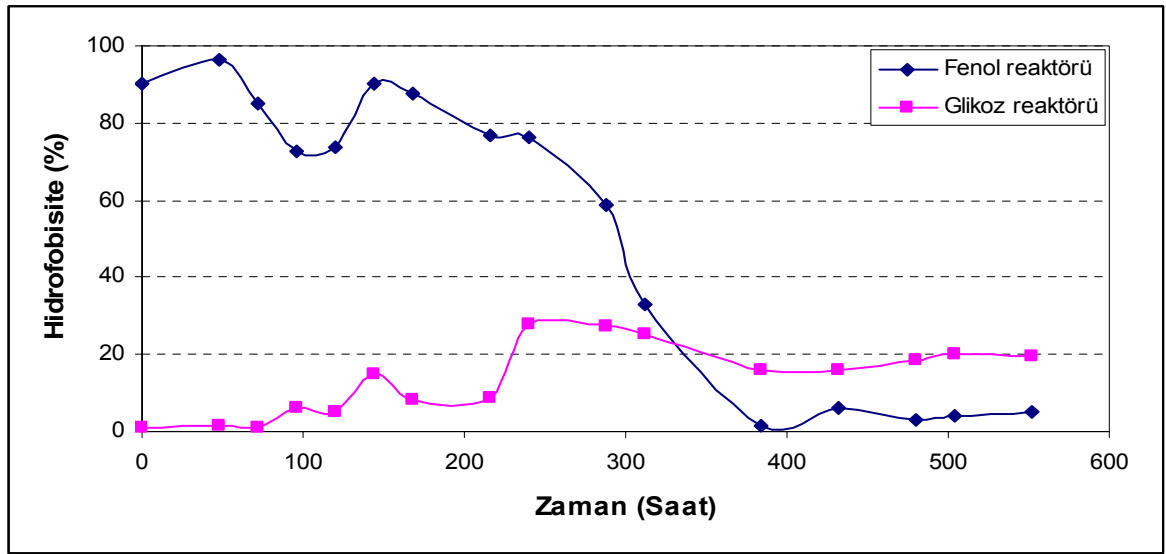
Kültür	Üreme ortamı					
	Siyanürik asit	Glikoz	n-undekan	n-hexadekan	Glikoz	Fenol
<i>Rhodococcus corallinus</i> *	%98	%82	-	-	-	-
<i>Pseudomonas strain A</i> *	%43	%2,1	-	-	-	-
<i>Pseudomonas strain D</i> *	%40	%1,8	-	-	-	-
<i>Candida antarctica</i> **	-	-	%52	%43	%18	-
Karışık kültür***	-	%19,39	-	-	-	%5,32

* Sanin et al., 2003

** Hua et al., 2003

*** Tez çalışması

Karbon kaynaklarına bağlı olarak mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesindeki değişim karşılaştırmalı olarak Şekil 5.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.7. Karbon kaynağına bağlı olarak mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesinin zamana bağlı değişimi

5.1.6. Mikroorganizmaların Partikül Boyutlarındaki Değişim

Mikroorganizmaların, gelişim evreleri boyunca partikül boyutları da değişmektedir (Thiebault and Coulon, 2005). Çalışmada mikrobiyal kültürün gelişim evrelerine

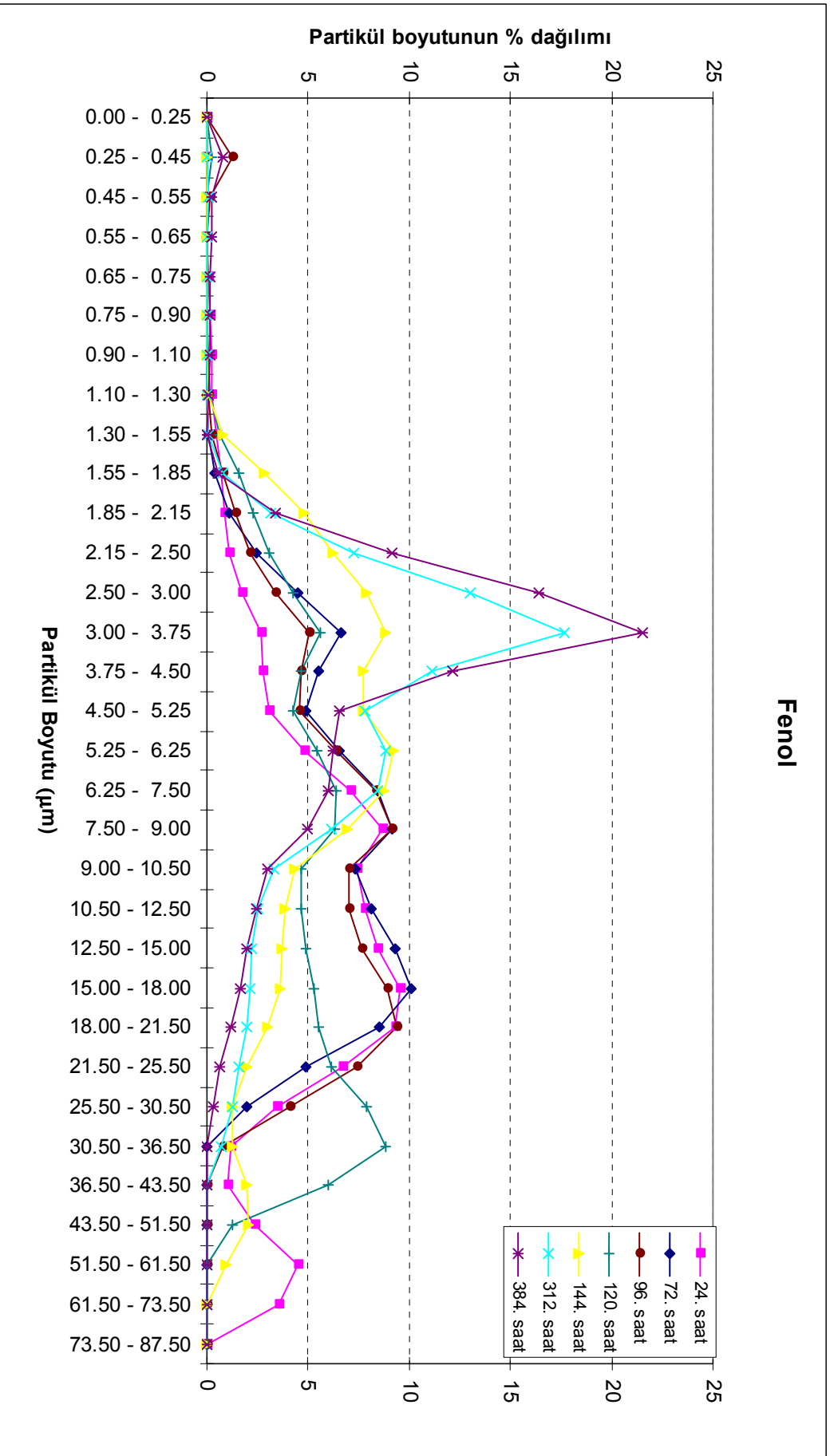
bağlı olarak partikül boyutundaki değişimler lazerli tane boyu ölçüm cihazı (Sympatec marka) kullanılarak izlenmiştir.

Karbon kaynağı olarak fenol kullanılan reaktöre ait mikroorganizma yumaklarının partikül boyutları, Şekil 5.8.'de gösterilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi; yüzey hidrofobisitenin yüksek olduğu, 24, 72, 96, 120 ve 144. saatlerde yumakların partikül boyutları daha büyüktür. Yüzey hidrofobisitesinin düştüğü, 312. ve 384. saatlerde yumakların partikül boyutlarında da düşüş gözlemlenmiştir.

Karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan reaktörde Şekil 5.9'da görüleceği gibi, düşük hidrofobisitenin gözlemlendiği 24, 72, 96, ve 120. saatlerde mikroorganizma yumaklarının boyutları daha düşüktür. Hidrofobisitenin artışına bağlı olarak, 144, 312 ve 384. saatlerde yumak boyutların büyüdüğü tespit edilmiştir.

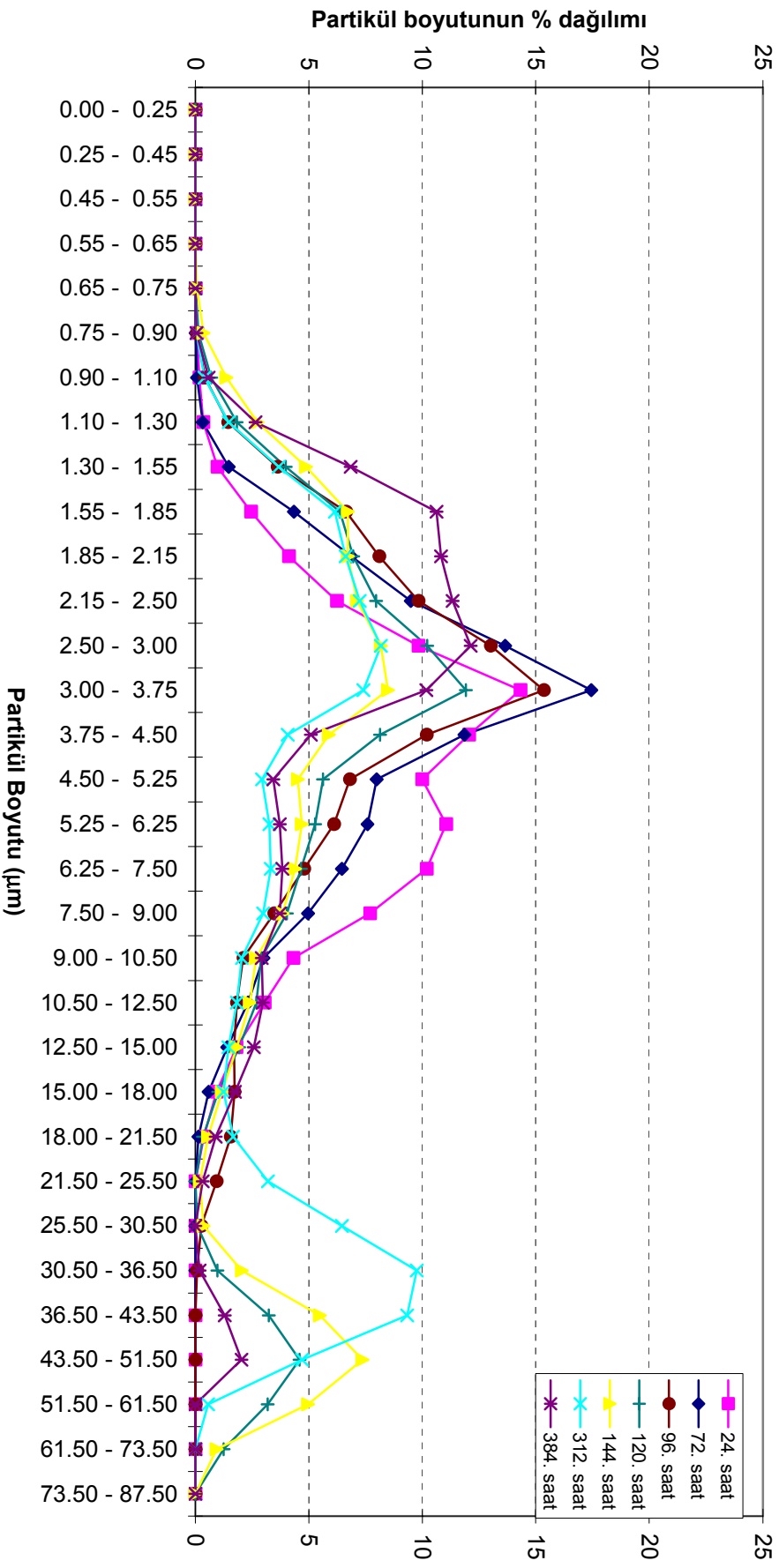
Elde edilen sonuçlara göre; hidrofobisite artışının, mikroorganizmaların yumaklaşmasına yardımcı olduğu, düşük hidrofobisiteelerde iyi bir yumaklaşma oluşmadığı sonucuna varılabilir. Bu bulgu daha önce yapılmış olan çalışmalarda belirtilen sonuçlarla uyumludur (Urbain et al., 1993; Jorand et al., 1994; Schmidt et al., 1996; Bossier et al., 1996, 1998; Zita and Hermansson, 1997; Tay et al., 2001; Yang et al., 2003; Thiebault and Coulon, 2005).

Hidrofobisite, mikroorganizmaların toplanmasında etken faktörlerden biridir. Yüksek hidrofobisite de iyi bir yumaklaşma gözlenirken, düşük hidrofobisite de yumaklaşma oranının azaldığı tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak da, hidrofobisitenin yumak oluşumu üzerine önemli bir etkide bulunduğu belirlenmiştir.

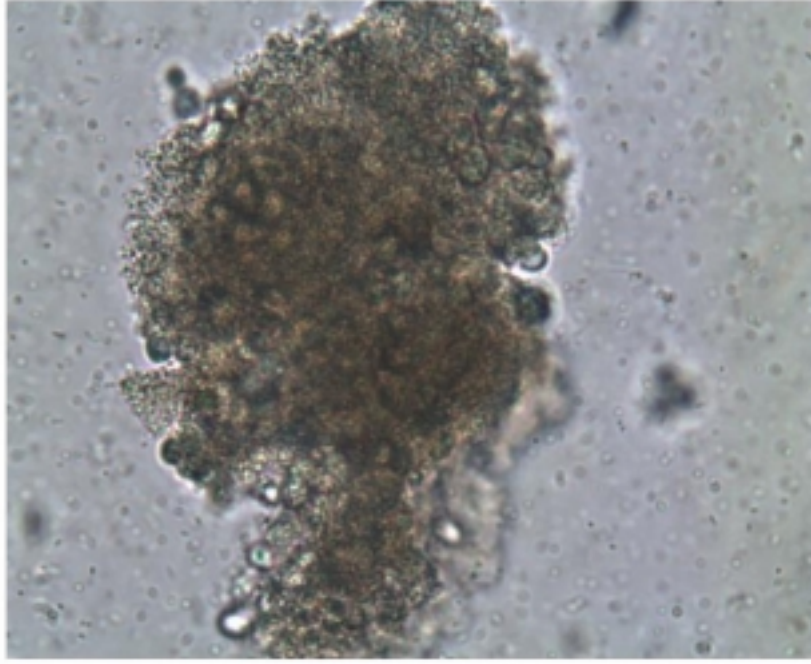


Şekil 5.8. Karbon kaynağı olarak fenol kullanılan reaktöre ait yumakların partikül boyutları (µm)

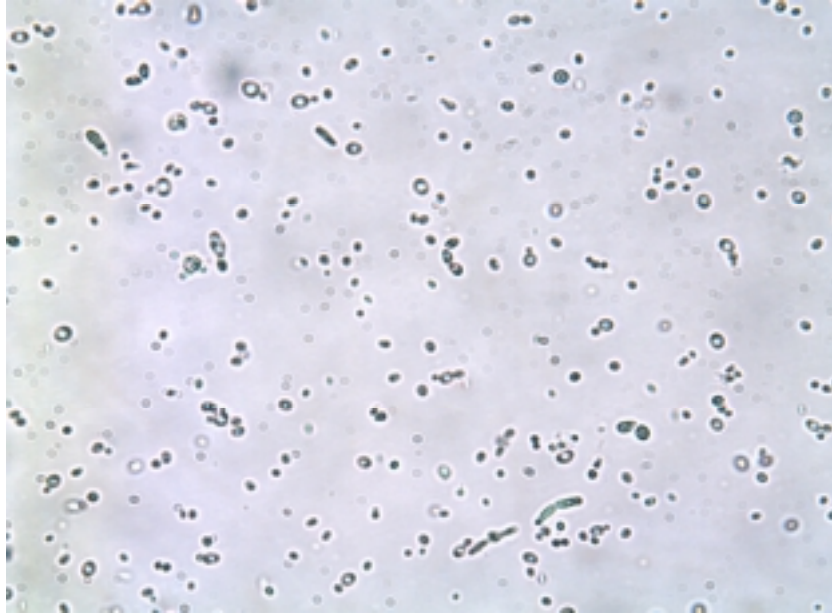
Glikoz



Şekil 5.9. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan reaktöre ait yumakların partikül boyutları (µm)



Şekil 5.10. Yüksek hidrofobisite'ye sahip karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizma yumağının görünümü (40x büyütme)



Şekil 5.11. Düşük hidrofobisite'ye sahip karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmaların genel görünümü (40x büyütme)

Fenollü ortamda gelişen, yüzey hidrofobisitesi, %72,58 olarak ölçülmüş, mikroorganizma kültürünün gelişim evresinin 96. saatinde çekilmiş fotoğrafı (Leica DMIL, Leica DFC 280 kamera, 40x) Şekil 5.10.'da gösterilmiştir. Fotoğrafta, mikroorganizmaların yumak oluşturduğu görülmektedir.

Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan, yüzey hidrofobisitesi %6,05 olarak ölçülmüş, gelişim evresinin 96. saatinde mikroorganizma kültürünün çekilmiş fotoğrafı ise Şekil 5.11.'de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi, mikroorganizmaların düzgün bir yumak oluşturamadığı belirlenmiştir. İyi bir yumaklaşma olmayışının nedeninin, düşük hidrofobisiteden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yumakların partikül boyutu ölçüm sonuçları 96. saatte incelendiğinde; fenol kullanan hidrofobik mikroorganizmaların partikül boyutlarının, glikoz kullanan hidrofilik mikroorganizmalara oranla daha büyük olduğu gözlemlenmektedir. Fenol kullanan mikroorganizmaların yumak boyutları, 7,50-9,00 µm, 18,00-21,50 µm arasında yoğunlaşırken, glikoz kullanan mikroorganizmaların bakteri boyutu 3-3,75 µm arasında değişmektedir. Yüzey hidrofobisitesinin, yumaklaşmada etkili olan parametrelerden biri olduğu düşünülmektedir.

5.1.7. Hücre Dışı Polimer Üretimi

Mikroorganizmaların yumaklaşmasında etken rol oynayan bileşenlerden bir diğeri ise; mikroorganizmalar tarafından üretilen ve hücre duvarına yapışık olan hücre dışı polimerlerdir (Pavoni et al., 1972). Bu polimerik yapı, mikroorganizmaların bir arada tutulmasına yardımcı olmaktadır (Keiding and Nielsen,1997). Mikroorganizmalardaki polimer miktarının, yumaklaşma üzerindeki etkisini belirleyebilmek amacıyla, ölüm evresinin 312. saatinde reaktörlerden alınan örneklerde polimer miktarları tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen deneyler neticesinde Çizelge 5.3.'de belirtilmiş olan sonuçlara ulaşılmıştır.

Çizelge 5.3. Karbon kaynaklarına bağlı olarak, mikroorganizmaların hücre dışı polimer miktarları

Karbon Kaynağı	Polimer karbonhidrat (mg/L)	Polimer protein (mg/L)
Fenol	9,9	17,53
Glikoz	30,02	32,27

Fenol kullanan mikroorganizmalarda, glikoz'u karbon kaynağı olarak kullanan mikroorganizmalara oranla %67,22 daha az karbonhidrat ve %45,68 daha düşük protein üretimi gerçekleştiği belirlenmiştir. 312. saatte gerçekleştirilen partikül boyutu ölçüm sonuçlarına göre; glikoz kullanan mikroorganizmaların yumak boyutlarının 2,50-3,00 µm ile 30,50-43,50 µm arasında yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Fenol kullanan mikroorganizmalara ait yumak boyutları ise Şekil 5.8.'de görüleceği gibi, 3.00-3.25 µm ile 5.25-6.25 µm arasında dağılım göstermektedir. Bu sonuçlar neticesinde; glikoz tüketen mikroorganizmaların yumak boyutlarının, bu saatte, fenol kullanan mikroorganizmalara oranla daha büyük olduğu belirlenmiştir. Buna bağlı olarak da, hücre dışı polimer miktarının yumaklaşmayı arttırdığı söylenebilir. Literatürde bu bulguları destekleyen çalışmalar mevcuttur (Jorand et al., 1994; Schmidt and Ahring,1996; Dignac et al., 1998; Tay et al., 2001; Wilén et al., 2003; Yang et al., 2004).

5.1.7.1. Polimer üretiminin prosesler üzerindeki etkileri

Mikroorganizmaların ürettiği hücre dışı polimer miktarlarının karbon kaynaklarına bağlı olarak değişimini belirledikten sonra, bu değişimin yumakların su tutma kapasitesi üzerinde etkisi olup olmadığı incelenmiştir. Dört adet havalandırılmalı olarak hazırlanan kesikli reaktör içerisinde, farklı oranlarda glikoz ve fenol ilavesi gerçekleştirilmiştir. Kullanılan konsantrasyonlar, Çizelge 5.4.'de belirtilmiştir.

Çalışmalarda HDP'lerin fizikokimyasal yapısı hakkında bilgi sahibi olabilmek için, üreme sürecinde çamurun hidrofobisitesi ölçülerek takip edilmiş, susuzlaştırma işlemleri ile bir ilişkinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Mikroorganizmaların, özgül filtrasyon direnci, üstel üreme evresinin sonunda ölçülmüştür. Deney sonuçları Çizelge 5.5. 'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.4. Kesikli reaktörlerde kullanılan glikoz ve fenol konsantrasyonları

Reaktör Numarası	Glikoz (g/L)	Fenol (mg/L)
1	2	5
2	1	30
3	0.5	60
4	0.1	120

Çizelge 5.5. Farklı glikoz/fenol oranları için Özgül Filtrasyon Direnci

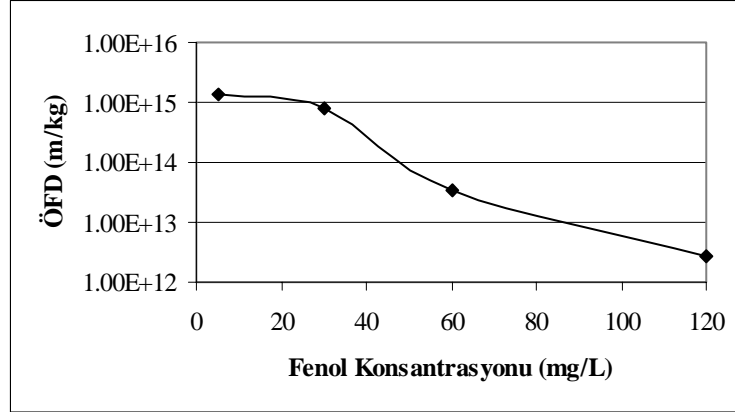
Reaktör Numarası	ÖFD (m/kg)
1	1.35×10^{15}
2	7.89×10^{14}
3	3.49×10^{13}
4	2.7×10^{12}

En yüksek ÖFD değerinin $1,35 \times 10^{15}$ m/kg ile reaktör 1'de, en düşük ÖFD değerinin ise $2,7 \times 10^{12}$ m/kg ile reaktör 4'de olduğu Çizelge 5.5.'de gösterilmiştir. Buna bağlı olarak; reaktörlerdeki glikoz konsantrasyonu azaldıkça, ÖFD değerinin de azaldığı belirlenmiştir.

Bir numaralı reaktörde, yüksek glikoz konsantrasyonu ile birlikte ÖFD değerinin de yüksek olması, hücre dışı polimer miktarının fazla oluşuna işaret etmektedir. Buna bağlı olarak kolay parçalanabilen karbon kaynaklarının, çamurdaki yüksek su tutma kapasitesine sahip hücre dışı polimer miktarında artış meydana getireceği söylenebilir.

ÖFD değerlerinin logaritması alındığında Şekil 5.12.'de görüleceği gibi çamur susuzlaştırma işleminin, fenol konsantrasyon arttıkça kolaylaştığı belirlenmiştir. Hidrofobisite ölçümleri sonucunda, glikoz miktarı en az olan 1 numaralı reaktörde en düşük hidrofobisite değeri ölçülmüştür. Fenol konsantrasyonu arttıkça, hidrofobisite değerinde de artış meydana gelmiştir. Gözlemlerimiz, HDP miktarı ve

mikroorganizmaların yüzey hidrofobisiteleri arasında ters orantı olduğu göstermektedir.



Şekil 5.12. Biyolojik çamurlarda fenol konsantrasyonuna bağlı olarak ÖFD değişimi.

Yapılan deneyler neticesinde, biyolojik olarak zor parçalanan karbon kaynaklarının daha az HDP üretimine sebep olduğu, bunda çamur susuzlaştırma işlemleri kolaylaştırdığı tespit edilmiştir.

Literatürde yer alan çalışmalarda, çamur yapılarındaki suyun, çoğunlukla mikroorganizma popülasyonlarından oluşan yumaklar içerisinde, hücre dışında tutulduğu bildirilmiştir. Suyun tutulmasından önemli rolü olan HDP'lerin, ağırlıklı olarak karbonhidratlardan oluştuğu ve genellikle hidrofilik özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Durmaz ve Sanin, 2003). Hidrofilik polimer yapısının, suyun uzaklaştırılmasında engelleyici bir unsur olduğu düşünülmektedir. Hücre dışı polimer miktarları ise, atıksuların karbon içerikleriyle orantılı olarak değişmektedir. Yüksek karbonhidratlı substratların, yüksek miktarda karbonhidrat içeren hücre dışı polimer ürettikleri gözlemlenmiştir (Durmaz ve Sanin, 2001). Glikozun örnek olarak verilebileceği biyolojik parçalanması kolay karbon bileşikleri, daha çok hücre dışı polimer oluşmasına sebep olmakta ve hidrofilik olan bu yapılar suyu tutarak çamur susuzlaştırma işlemini zorlaştırmaktadır. (Glasgow,2003).

5.2. Kolon Reaktör Deneyleri

Akış rejimi, bakteriyel taşınımında belirleyici parametrelerden birisidir. Mikroorganizmalar, laminer akış şartlarında gözenek yüzeyi ile daha çok etkileşmekte ve tutunma olasılıkları artmaktadır. Yer altı sularında genellikle

laminer akış şartlarının görülmesi, çevre uygulamalarında akış rejimlerine dikkat edilmesini gerektirmektedir. Taşınım deneyleri sırasında kolon içindeki akış rejimini belirlemek için daha önce belirlenen iz madde kullanılarak gözlemler yapılmıştır.

5.2.1. İz Element Deneyleri

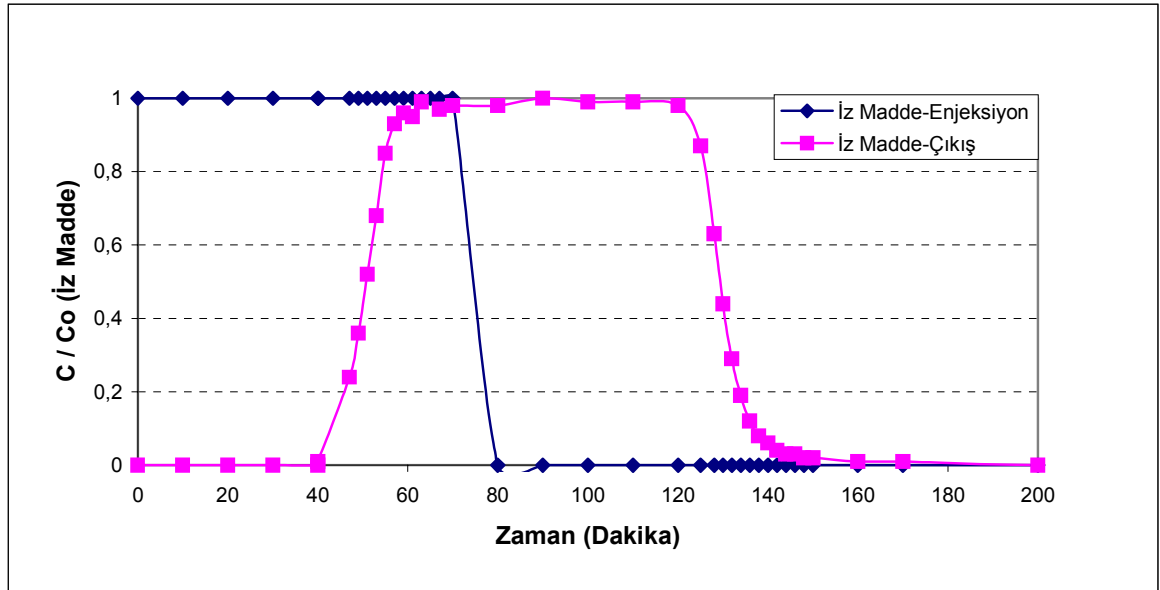
5.2.1.1. Düşük akış hızında (4,5 mL/d) iz element taşınımı

Dolgu kolon kullanılarak yapılan deneylerinin ilk aşamasında, inert iz element kullanarak kolon içerisindeki akış rejimi belirlenmiştir. İz element olarak metilen mavisi, $KMnO_4$ ve $K_2Cr_2O_7$ alternatifleri araştırılmış, $K_2Cr_2O_7$ kullanılmasına karar verilmiştir. Kolon reaktörün giriş ve çıkış noktaları arasındaki uzunluk 30 cm'dir. Kolon çıkışı debisi 4,5 mL/dakika olarak ayarlanmış ve belirli zaman aralıkları ile alınan çıkış suyu örneklerinde absorpsiyon ölçümleri yapılmıştır.

Kolon porozitesi, kolonların boş ve dolu ağırlıkları arasındaki farklar kullanarak hesaplanmış ve izleme deneyleriyle doğrulanmıştır. Kum için literatürde belirtilen tipik değer %20-50 arasındadır (Davis et al., 1985). Bu çalışmada hazırlanan kolon reaktördeki kumun porozitesi, %28 olarak hesaplanmıştır.

İz element Şekil 5.13.'de görüldüğü gibi kolondan 40. dakikadan itibaren çıkmaya başlamaktadır. Çıkışta öncü kuyruğun olmayışı, kolonda piston akış rejiminin sağlandığını, dolgu malzemesinin homojen yayıldığını ve akış açısından kısa yollar açılmadığını göstermektedir. İz elementin en yüksek konsantrasyonu, 0,49 g/L, 65. dakikada görülmekte ve bu konsantrasyon 80. dakikaya kadar devam etmektedir. 80. dakikadan itibaren kolon reaktöre besi çözeltisi verilerek çekilme kuyruğunun oluşumu gözlenmiştir. İz element kolonu, 150. dakikada tamamen terk etmekte ve sonrasında kısa çekilme kuyruğunu oluşturmaktadır. İz element için kolondan çıkış 125. dakikada başlamakta ve 150. dakikaya kadar devam etmektedir. Çekilme kuyruğu ise, 170. dakikaya kadar gözlemlenmiştir. Bu kuyruk, iz maddenin gözeneklerden geç ayrılmasından kaynaklanmaktadır. Çalışmalar sırasında gözlenen kuyruk konsantrasyonu ve 20 dakikalık süre, deneysel çalışmalar içerisinde kabul edilebilecek salınımlardır. Bu akış profiline göre, iz elementin kolonda ortalama kalış süresi 40 dakikadır. Kolon dolgu miktarı ve

kullanılan debi, 4,5 mL/dakika, ile hesaplanan kalma zamanı ise 49 dakikadır. Reaktörde 40 ile 49. dakikalar arasında ön kuyruk oluşumu gözlenmiştir. Bu sonuç, sistemde düşük dispersiyon olduğu anlamını taşımaktadır. Kolon deneylerinde sıklıkla rastlanan bu olgu, deney sonuçlarını etkilememektedir (Davis et al., 1985). İz element, çıkış profili sistemde tutulan madde olup olmadığını belirlemek için 240. dakikaya kadar izlenmiş ve profilde her hangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Kolona enjekte edilen madde miktarı 1285 g, kolondan çıkan iz element miktarı ise 1262 g'dır. Bu nedenle, kullanılan iz maddenin sistemde tutulmadığı sonucuna varılmıştır. Bütün iz element çalışmalarının sonunda, kolon en az üç boşluk hacmi kadar mikroorganizma besi yeri ile yıkanmış ve mikrobiyal tutunma deneylerine başlanmıştır. Çalışmada absorbands birimi kullanılarak kütle dengesi yapılmıştır. Bir absorbands biriminin 0,02 g/mL mikroorganizmaya karşılık geldiği MLVSS çalışmaları sırasında tespit edilmiştir. Düşük akış hızındaki diğer iz madde taşınım profili Ek Şekil 1.'de verilmiştir.



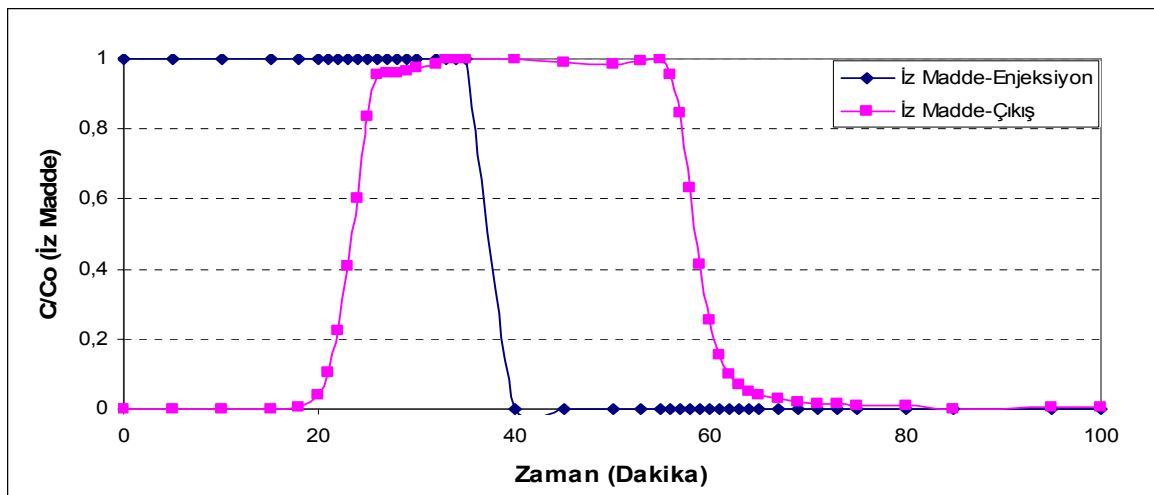
Şekil 5.13. Düşük akış hızında iz element taşınım profili

5.2.1.2. Yüksek akış hızında (10 mL/d) iz element taşınımı

Bu çalışmada da; düşük akış hızlı deneyler sırasında uygulanan protokol takip edilmiş; kolonun yaş doldurulması, iz element deneyleri, kolonun yıkanması ve mikroorganizmaların enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yüksek akış hızı

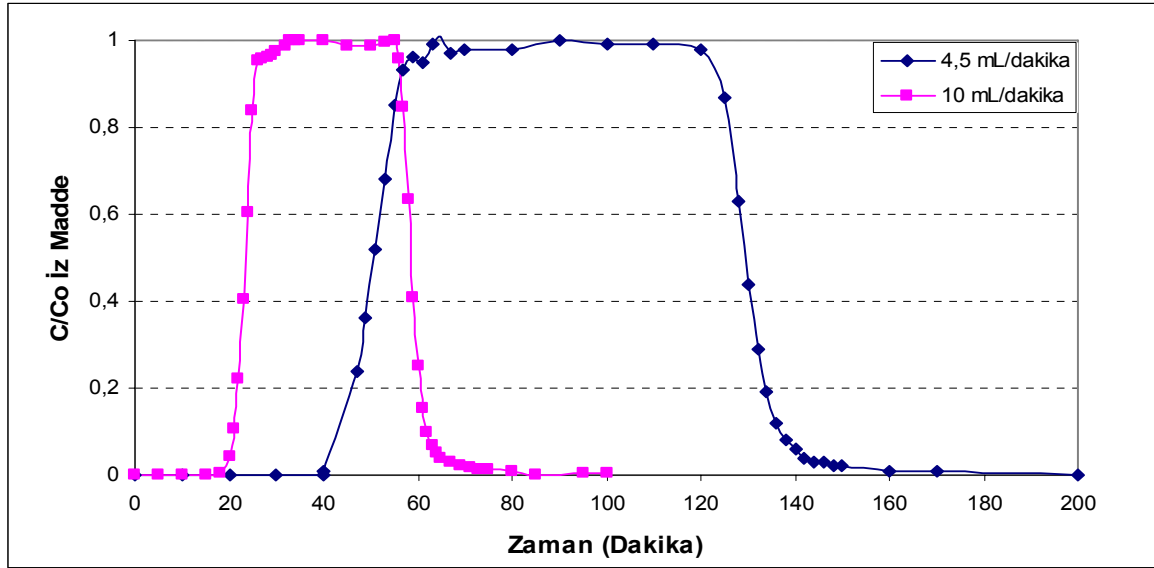
çalışmalarında kullanılan debi, 10 mL/d'dır. Kolon reaktörün porozitesi ise %30 olarak hesaplanmıştır.

Yüksek akış hızlı taşınım çalışmalarında, Şekil 5.14.'de görüleceği gibi iz elementin 18. dakikadan itibaren kolon reaktörden dışarı çıkmaya başladığı gözlemlenmiştir. İz elementin en yüksek konsantrasyonu, 0,5 g/L, 34. dakikada görülmekte ve bu konsantrasyon 35. dakikaya kadar devam etmektedir. 35. dakika , reaktöre besi çözeltisi enjekte edilerek çekilme kuyruğu oluşumu gözlemlenmiştir. İz element kolonu 70. dakikada tamamen terk etmekte ve sonrasında kısa çekilme kuyruğu görülmektedir. İz element için kolondan çıkış 56. dakikada başlamakta ve 70. dakikaya kadar devam etmektedir. Çekilme kuyruğu ise 80. dakikaya kadar gözlemlenmiştir. Bu akış profilinde iz elementin kolonda ortalama kalış süresi, 18 dakika olarak belirlenmiştir. Kullanılan debi, 10 mL/d, ile hesaplanan kalma zamanı ise 25. dakikadır. Bu sonuç, reaktörde 18 ile 25. dakikalar arasında ön kuyruk göstermektedir. Sistemde tutulan madde olup olmadığını tespit edebilmek için iz element çıkış profili 100. dakikaya kadar izlenmiş ve profilde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Kolona enjekte edilen madde miktarı 1232 g, kolondan çıkan iz element miktarı ise 1208 g'dır. Bu sonuç, kullanılan iz maddenin sistemde tutulmadığı göstermektedir. Kolon besi ortamı çözeltisi ile yıkandıktan sonra mikrobiyal tutunma deneyleri gerçekleştirilmiştir. Yüksek akış hızında gerçekleştirilen diğer iz madde taşınım deney sonuçları, Ek Şekil 3. ve Ek Şekil 4.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.14. Yüksek akış hızında iz madde taşınım profili

Düşük ve yüksek akış hızlarında, iz madde taşınım profillerindeki farklılık Şekil 5.15.'de belirtilmiştir.



Şekil 5.15. Düşük ve yüksek akış hızlarındaki taşınım profillerinin karşılaştırılması

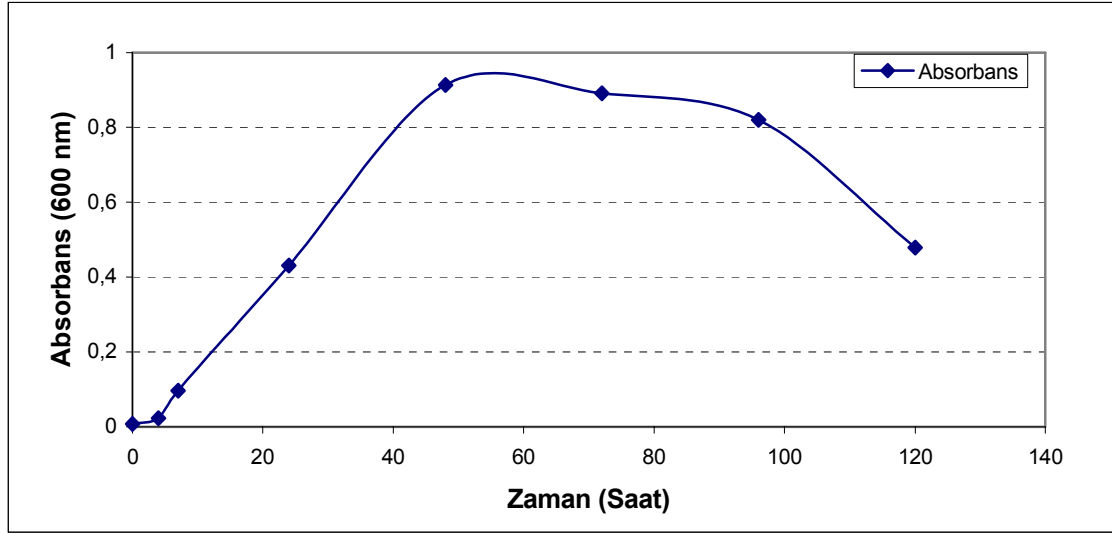
Her iki debi için elde edilen iz element profilleri karşılaştırıldığında; kolonda kalma süreleri (düşük akış hızı için, 40 dakika; yüksek akış hızı için, 18 dakika), taşınan madde miktarı arasındaki fark karşılaştırmalı grafikte gösterilmektedir. İz elementin kolonlardan çıkışının düşük debili çalışmalarda daha uzun çekilme kuyruğu oluşturduğu grafikte de görülmektedir (düşük akış hızı için 20 dakika; yüksek akış hızı için 10 dakika).

5.2.2. Bakteri Taşınım Deneyleri

5.2.2.1. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait taşınım profilleri

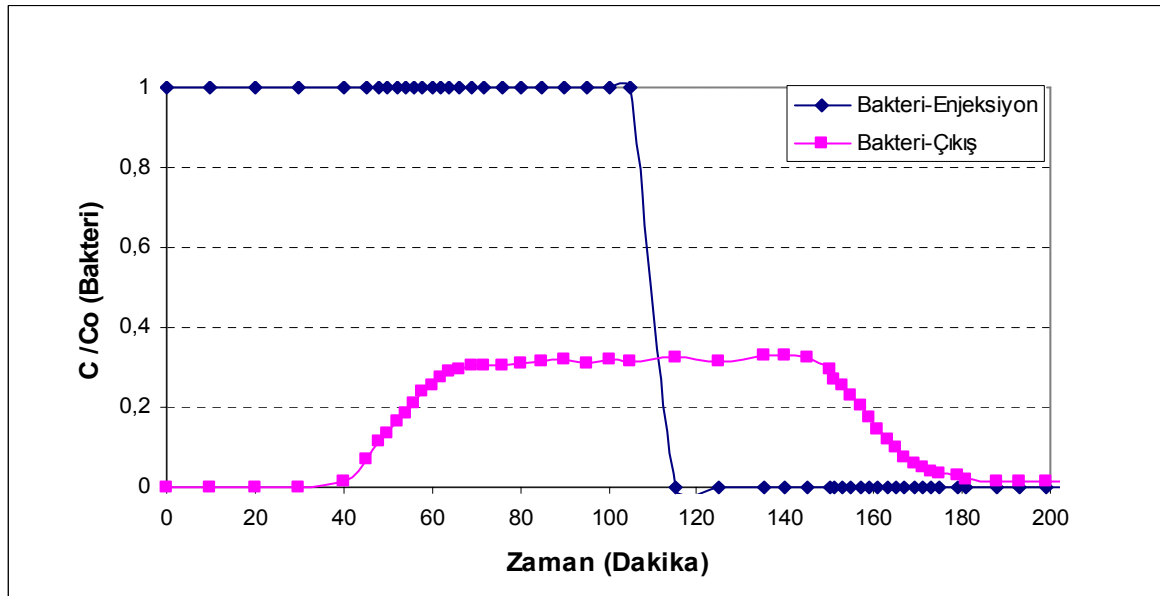
5.2.2.1.1 Düşük akış hızında (4,5 mL/d) mikroorganizma taşınımı

İz element taşınım deneyinden sonra kolon özellikleri belirlenen reaktöre, karbon kaynağı olarak glikoz kullanılarak üretilen mikroorganizmalar, üstel üreme evresinin sonunda, plato evresinin hemen başında (48. saat), kolona enjekte edilmiş ve taşınım deneyi gerçekleştirilmiştir. Deneylerde kullanılan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi grafiği Şekil 5.16.'da gösterilmiştir. Kullanılan kültürün özgül üreme hızı, $\mu = 0,099$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.16. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi

Düşük akış hızında, karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait taşınım profili Şekil 5.17.'de gösterilmiştir.

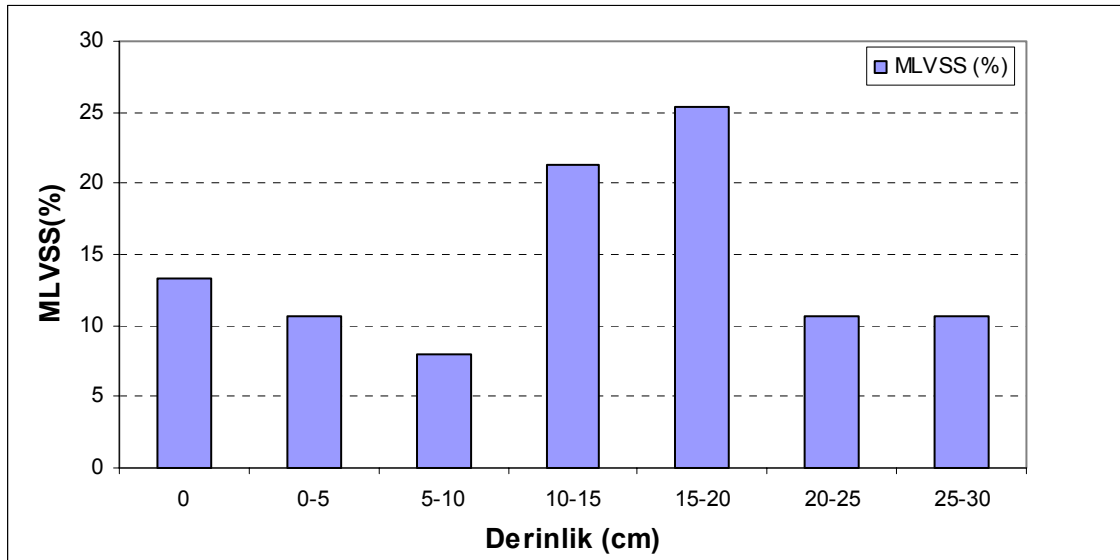


Şekil 5.17. Düşük akış hızında karbon kaynağı olarak glikoz kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili

Glikoz ile beslenen mikroorganizmaların kolon reaktöre enjeksiyonundan sonra 40. dakikadan itibaren kolonu terk etmeye başladıkları gözlemlenmiştir. Bu zaman, 4,5 mL/dakika akış debisinde gerçekleştirilen iz element taşınım sonuçları ile paralellik göstermektedir. Mikroorganizma kültürünün en yüksek absorbans değeri,

85. dakikada görülmekte ve bu değer 105. dakikaya kadar devam etmektedir. Bu dakikadan itibaren kolon reaktöre besi çözeltisi verilmeye başlanmıştır. Mikroorganizmalar için kolondan çıkış 150. dakikada başlamakta ve 181. dakikaya kadar devam etmektedir. Çekilme kuyruğunu ise 200. dakikaya kadar devam etmektedir. Yapılan deney sonucunda, kolona enjekte edilen mikroorganizmaların, %66,37'sinin reaktörde takılıp kaldığı, %33,63'ünün ise reaktörü terk ettiği hesaplanmıştır.

Hidrofobisite deneyi neticesinde, reaktöre enjeksiyonu gerçekleştirilen mikroorganizmaların %17,5 hidrofobik olduğu belirlenmiştir. Kolon reaktörde, kum yüzeyine takılı kalan mikroorganizmaların, derinliğe göre % dağılımları Şekil 5.18.'de gösterilmiştir.



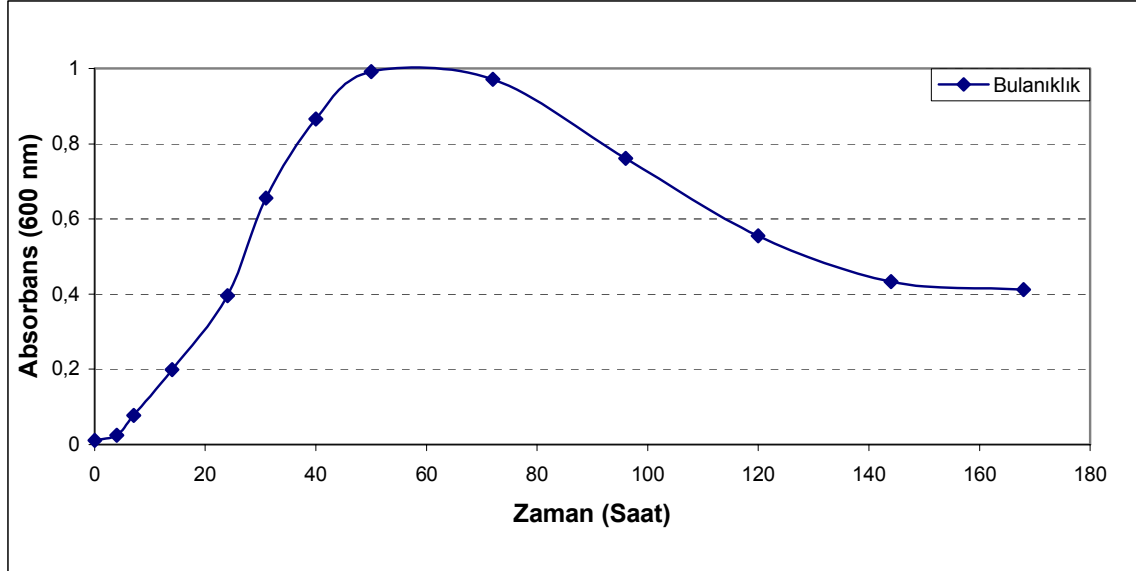
Şekil 5.18. Düşük akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofilik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı

Kolon reaktörde, kum yüzeyine tutunmuş mikroorganizmaların büyük bir çoğunluğunun, 10-15 ve 15-20 cm. derinliklerine yoğunlaştığı tespit edilmiştir.

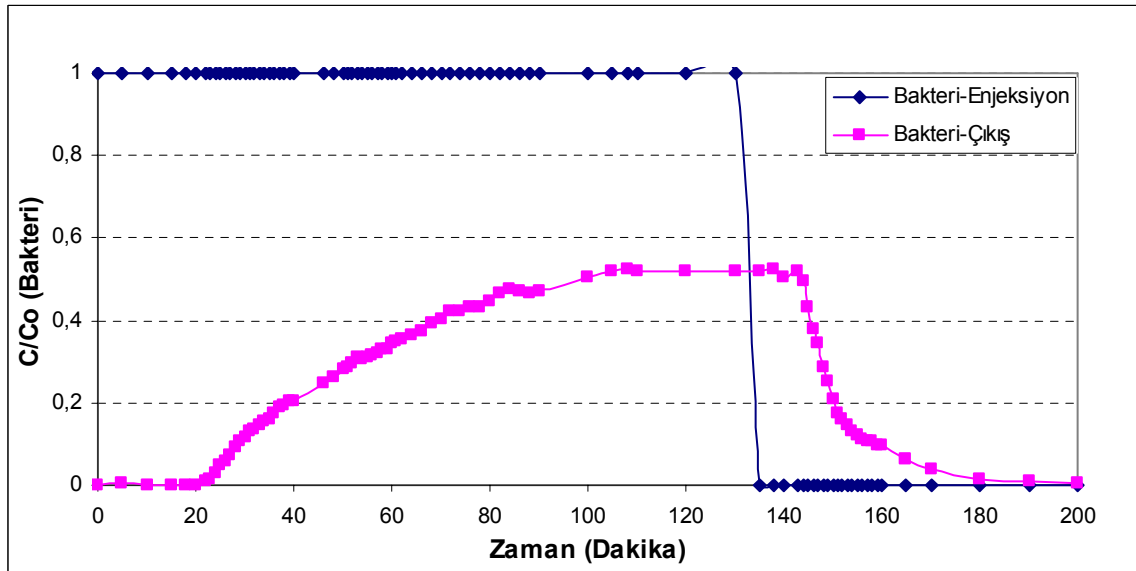
5.2.2.1.2 Yüksek akış hızında (10 mL/d) mikroorganizma taşınımı

Yüksek akış hızında gerçekleştirilen iz element taşınım deneyi sonunda, glikoz ile beslenen mikroorganizmalar üstel üreme evresinin sonunda (50. saat) kolon reaktöre enjekte edilerek taşınım özellikleri incelenmiştir. Deneyde kullanılan

mikroorganizma kültürünün gelişim eğrisi Şekil 5.19.'da verilmiştir. Bu kültüre ait özgül üreme hızı $\mu = 0,084 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Yüksek akış hızında mikroorganizma taşınım profili Şekil 5.20.'de gösterilmiştir.



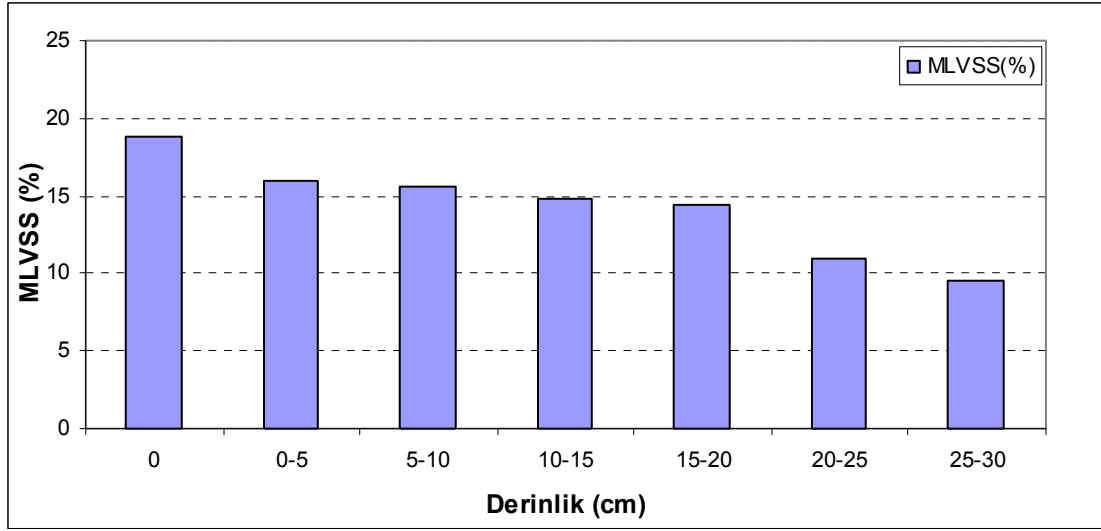
Şekil 5.19. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi



Şekil 5.20 Yüksek akış hızında karbon kaynağı olarak glikoz kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili

Glikozlu ortamda gelişen mikroorganizmalar yüksek akış hızında, Şekil 5.20.'de görüldüğü gibi 22. dakikadan itibaren kolon reaktörden dışarı çıkmaya başlamışlardır. Kültürün en yüksek absorbans değeri 108. dakikada görülmekte ve

bu değerin 120. dakikaya kadar devam ettiği yapılan ölçümler sonucunda gözlenmektedir. Bu dakikadan sonra kolon reaktöre besi çözültisi verilmeye başlanmıştır. Mikroorganizmalar 145. dakikada kolondan ayrılmaya başlamakta ve 180. dakikaya kadar devam etmektedir. Mikroorganizma taşınım deneyi sonucunda, reaktöre gönderilen mikroorganizmaların %56,19'unun reaktörde takıldığı, %43,81'inin ise reaktörü terk ettiği belirlenmiştir. Kültürün hidrofobisitesi %15,56 olarak ölçülmüştür. Kolon reaktörde, kum yüzeyine takılı kalan mikroorganizmaların, derinliğe göre % dağılımları Şekil 5.21.'de gösterilmiştir.

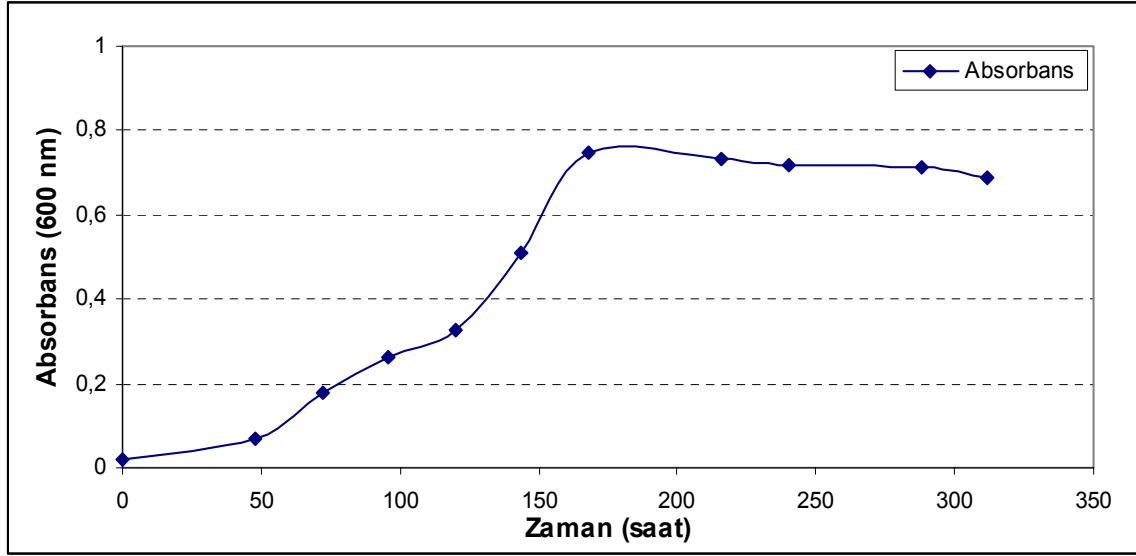


Şekil 5.21. Yüksek akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofilik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı

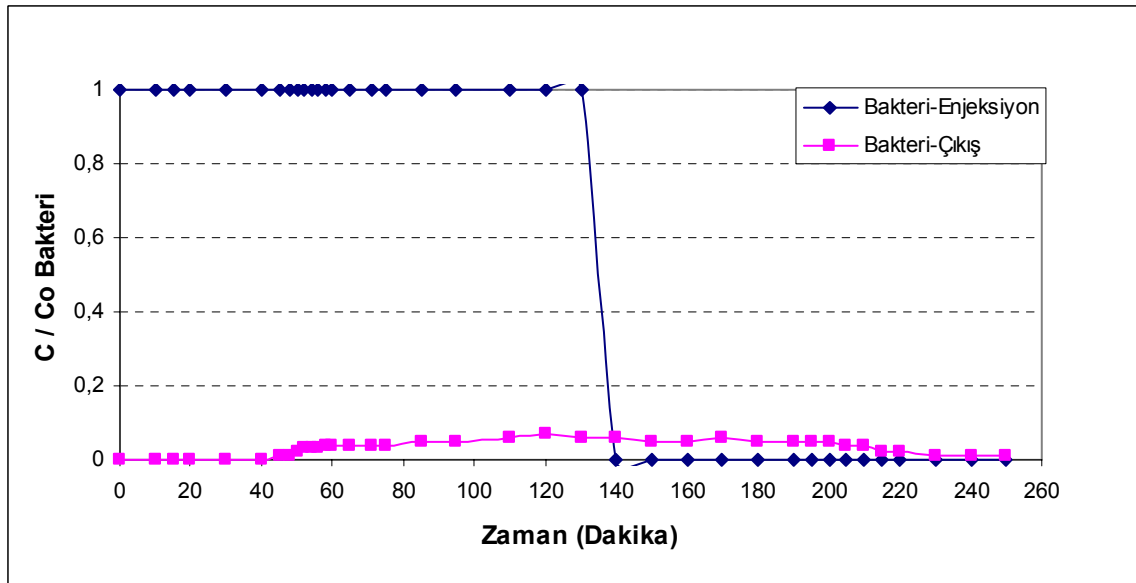
5.2.2.2. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait taşınım profilleri

5.2.2.2.1 Düşük akış hızında (4,5 mL/d) mikroorganizma taşınımı

Kolon özellikleri iz element taşınım deneyinde belirlenen reaktöre karbon kaynağı olarak fenolün kullanıldığı ortamda büyütülmüş, mikroorganizmalar üstel üreme evresinin sonunda, 168. saatte, kolona enjekte edilmiştir. Deneylerde kullanılan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi Şekil 5.22.'de gösterilmiştir. Mikroorganizmalara ait özgül üreme hızı, Monod eşitliği kullanılarak $\mu=0,020 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.22. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi

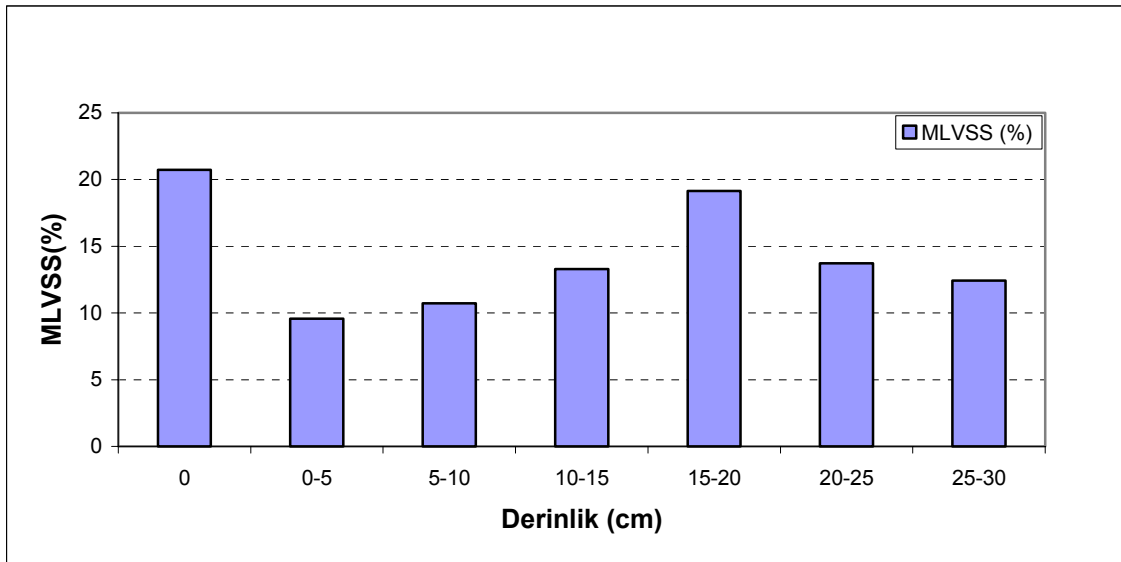


Şekil 5.23. Düşük akış hızında karbon kaynağı olarak fenol kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili

Düşük akış hızında, kolona gönderilen mikroorganizmaların, 45. dakikadan itibaren reaktörden çıkmaya başladığı en yüksek absorbans değerini ise 120. dakikada gösterdiği, bu değerini ise 140. dakikaya kadar değişmeden kaldığı saptanmıştır. 140. dakikadan itibaren reaktöre besi çözeltisi enjekte edilmeye başlanmış, mikroorganizmaların 195. dakikadan itibaren reaktörden ayrılmaya

başladığı ve 250. dakikada reaktörü tamamen terk ettikleri gözlenmiştir. Düşük akış hızında yapılan bu gözlemler Şekil 5.23.'de gösterilmiştir.

Mikroorganizmaların kolona gönderilmeden önce, MATH metoduna göre yapılan hidrofobisite ölçümü sonucunda yüzey hidrofobisitesinin %68 olduğu belirlenmiştir. Bu değer, mikroorganizmaların hidrofobik özellik gösterdiğini işaret etmektedir. Yapılan deneyler sonucunda, reaktöre gönderilen bakterilerin % 94,05'inin kolon içinde kaldığı, % 5,95'inin ise kolonu terk ettiği belirlenmiştir. Kolon reaktörde, kum yüzeyine takılı kalan mikroorganizmaların, derinliğe göre % dağılımları Şekil 5.24.'de gösterilmiştir.



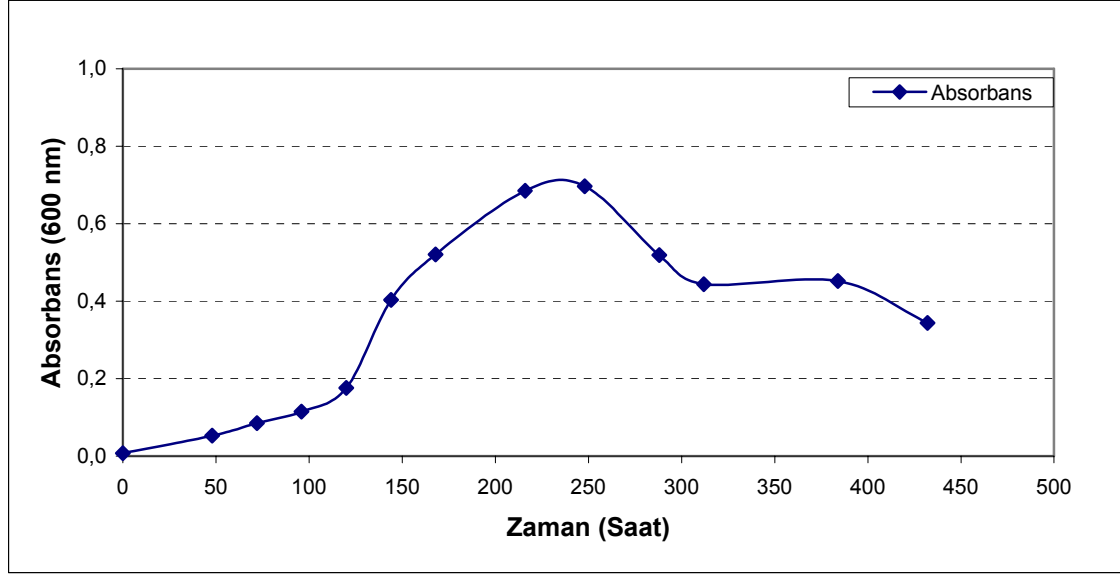
Şekil 5.24. Düşük akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofobik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı

Kolondan geçirilen mikroorganizmaların %20'sinin ilk cm'lerde kolonda takıldığı gözlenmiştir. Bu mikroorganizmaların, hidrofobik özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

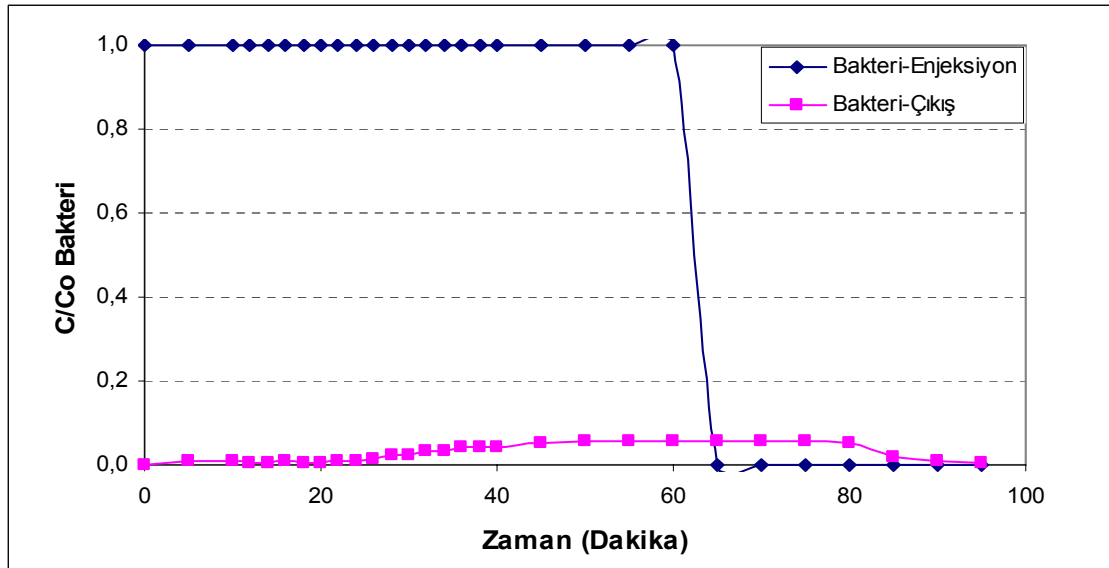
5.2.2.2.2 Yüksek akış hızında (10 mL/d) bakteri taşınımı

Fenollü ortamda geliştirilen mikroorganizma kültürü, üstel büyüme evresinin sonunda, 216. saat, yüksek akış hızında kolona enjekte edilmiştir. Enjeksiyonu gerçekleştirilen kültürün gelişim eğrisi Şekil 5.25.'de gösterilmiştir. Monod eşitliğine göre mikroorganizmaların özgül üreme hızı, $\mu = 0,016 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

MATH metoduna göre yüzey hidrofobisitesi ise, %75,12 olarak ölçülmüştür. Populasyon, hidrofobik yüzey özelliği taşımaktadır.



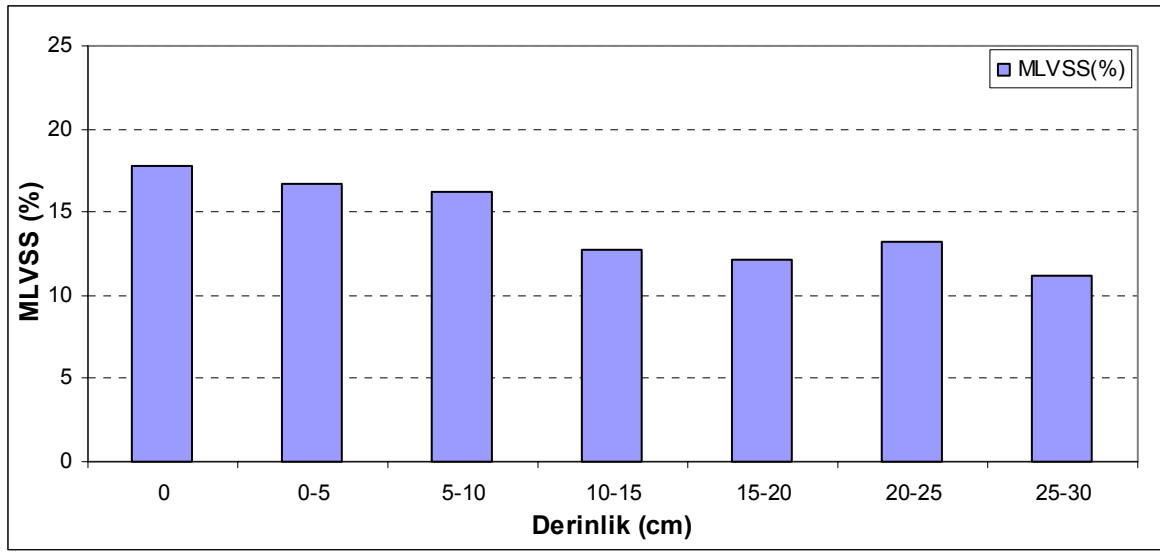
Şekil 5.25. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi



Şekil 5.26. Yüksek akış hızında karbon kaynağı olarak fenol kullanılarak üretilen mikroorganizmalara ait taşınım profili

Yüksek akış hızında fenollü ortamda geliştirilen mikroorganizmaların taşınım profili Şekil 5.26.'da gösterilmiştir. Kolon reaktöre enjekte edilen mikroorganizma kültürü 22. dakikadan itibaren reaktörden dışarı çıkmaya başlamıştır. Mikroorganizmalar için reaktörden en yüksek çıkış konsantrasyonu 55. dakikada görülmekte ve bu

değer 60. dakikaya kadar devam etmektedir. Bu dakikadan sonra mikroorganizma enjeksiyonu kesilerek reaktöre besi çözeltisi enjekte edilmeye başlanmıştır. Mikroorganizmaların 80. dakikadan itibaren reaktörden ayrılmaya başladığı, 90. dakikada ise tamamen reaktörü terk ettikleri belirlenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda, reaktöre enjeksiyonu gerçekleştirilen mikroorganizmaların %94,76'sının kolonda takılıp kaldığı, %5,24'ünün kolonu terk ettiği belirlenmiştir. Kolon reaktörde, kum yüzeyine takılı kalan mikroorganizmaların, derinliğe göre % dağılımları Şekil 5.27.'de gösterilmiştir.



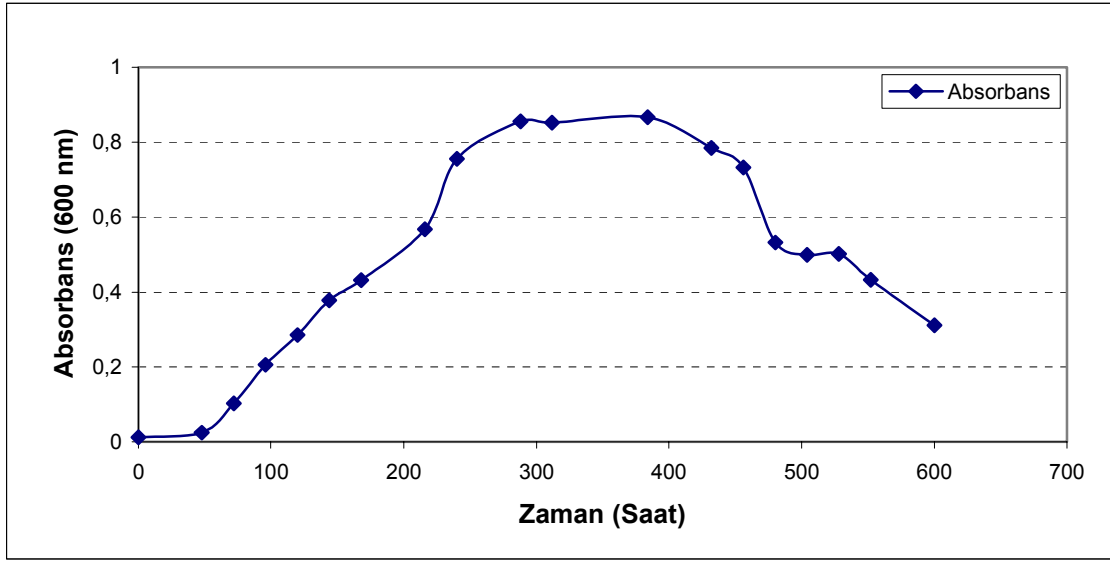
Şekil 5.27. Yüksek akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan hidrofobik mikroorganizmaların derinliğe göre dağılımı

Kum yüzeyine takılan mikroorganizmaların, yüksek hidrofobisite ve yumaklaşmadan dolayı reaktörün üst kısımlarında yoğunlaştığı gözlemlenmektedir.

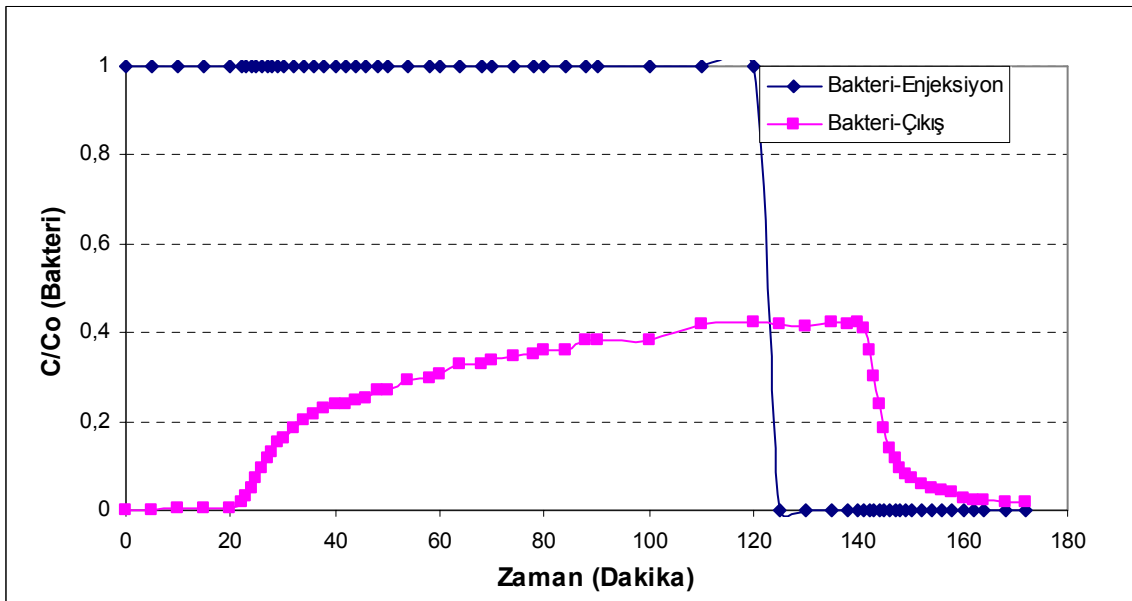
5.2.2.2.3 Yüksek akış hızında hidrofilik bakteri taşınımı

Mikroorganizmaların gelişim evrelerine bağlı olarak, yüzey hidrofobisitelerinin değişebileceği, Bölüm 5.1.3.'de belirtilmiştir. Buna bağlı olarak, karbon kaynağı olarak fenol'ün kullanıldığı ortamda geliştirilen ve ölüm evresine ulaşmış mikroorganizmaların reaktörde taşınım profili yapılan kolon deneyi sonucunda gösterilmiştir.

Fenol'ü biyolojik olarak parçalayan mikroorganizmalar ölüm evresine ulaştığında, 600. saat, kolona enjekte edilmiştir. Yapılan hidrofobisite ölçümü sonucunda, populasyonun hidrofobisitesinin değiştiği, %13,24, azaldığı görülmüştür. Bölüm 5.1.3.'de belirtilen deneylerde de gözlemlendiği gibi, fenol'ü kullanan mikroorganizmaların gelişim evresinin sonuna doğru hidrofilik özellik kazanmaktadırlar. Mikroorganizmaların gelişim eğrisi Şekil 5.28.'de gösterilmiş olup, özgül üreme hızı, $\mu = 0,015 \text{ h}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Mikroorganizma taşınım grafiği Şekil 5.29.'da gösterilmiştir.



Şekil 5.28. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmalara ait gelişim eğrisi



Şekil 5.29. Yüksek akış hızında karbon kaynağı olarak fenol kullanılarak üretilen hidrofilik mikroorganizmalara ait taşınım profili

Fenol kullanan mikroorganizmalar yüksek akış hızında, 22. dakikadan itibaren reaktörden dışarı çıkmaya başlamışlardır. Bu zaman, aynı akış hızındaki iz element taşınım zamanı ile uyumludur. Mikroorganizmalar için en yüksek çıkış konsantrasyonu 110. dakikada görülmekte ve bu konsantrasyon 120. dakikaya kadar devam etmektedir. 120. dakikadan itibaren reaktöre besi çözeltisi verilmeye başlanmış, mikroorganizmaların 141. dakikadan itibaren reaktörü terk etmeye başladıkları gözlenmiştir. Mikroorganizmalar reaktörü 172. dakikada tamamen terk etmişlerdir. Yüksek akış hızında, kolon reaktörde mikroorganizmaları taşınım profili Şekil 5.29.'da gösterilmiştir. Deney sonucunda kolona enjekte edilen mikroorganizma popülasyonunun %64,35'i kum yüzeyine tutunmuş, %35,65'i ise kolonu terk ettiği belirlenmiştir.

5.2.2.3. Kolon reaktör deneylerinde kullanılan mikroorganizmaların özgül üreme hızları

Kolon reaktör deneylerde kullanılan mikroorganizmalara ait özgül üreme hızları

Çizelge 5.6.'da verilmektedir.

Çizelge 5.6. Kolon reaktör deneylerinde kullanılan mikroorganizmaların özgül üreme hızları

	Özgül üreme hızı μ, h^{-1}	
	Fenol (1000 mg/L)	Glikoz (1915 mg/L)
Düşük debili çalışmada kullanılan kültürler	0,020	0,099
Yüksek debili çalışmalarda kullanılan kültürler	0,016	0,084
Yüksek debili çalışmada kullanılan hidrofilik kültür	0,015	-

Kolon reaktöre enjekte edilmeden önce kesikli reaktörlerde geliştirilen mikroorganizma kültürlerinin üreme hızları incelendiğinde glikoz kullanan kültürlerin fenol kullanan kültürlere oranla daha hızlı üredikleri gözlenmektedir.

5.2.2.4. Farklı karbon kaynaklarında geliştirilen mikroorganizma kültürlerinin, akış hızlarına bağlı olarak kolon reaktörde taşınımlarının karşılaştırılması

5.2.2.4.1 Düşük akış hızında kolonda taşınım sonuçlarının karşılaştırılması

Kullanılan karbon kaynaklarına bağlı olarak mikroorganizmaların yüzey

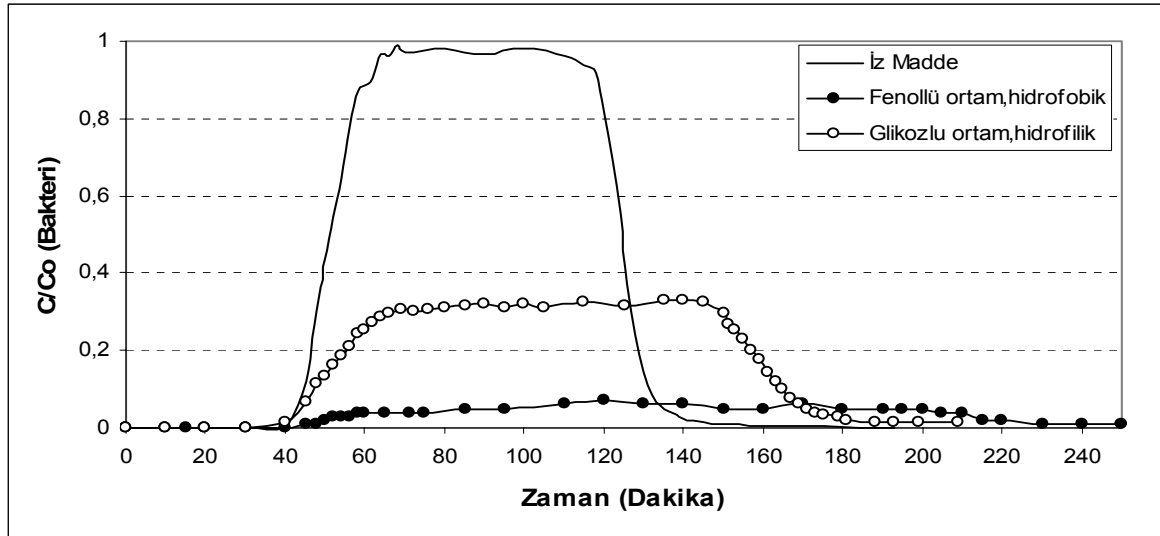
hidrofobisitesi, kolon reaktörde kum yüzeyine takılma ve terk etme yüzdeleri karşılaştırılmalı olarak Çizelge 5.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.7. Düşük akış hızında kolon reaktörde mikroorganizmaların gösterdiği taşınım karakteristikleri

Akış Hızı (Q=4,5 mL/dakika)	Karbon Kaynağı	
	Fenol	Glikoz
Hidrofobisite (%)	68	17,5
Reaktörde takılı kalan mikroorganizma miktarı (%)	94,05	66,37
Reaktörden çıkan mikroorganizma miktarı (%)	5,95	33,63

Fenol'ü biyolojik olarak parçalayan mikroorganizma kültürlerinin, üstel büyüme evresinin sonunda yüzey hidrofobisitesinin, glikozu parçalayan mikroorganizmalara oranla daha yüksek olduğu Çizelge 5.7.'de gösterilmiştir. Bu durum; fenol tüketen mikroorganizmaların daha hidrofobik olduğunu göstermektedir. Mikroorganizmaların yüzey hidrofobisite değerindeki artışın, yüzeye yapışma miktarını arttırdığı bilinmektedir (Loosdrecht, 1987; Thaveesri, 1995). Gerçekleştirilen deneyler sonucunda da, yüksek yüzey hidrofobisitesine (%68) sahip mikroorganizmaların kolonda takılma miktarlarının (%94,05), düşük yüzey hidrofobisite (%17,5) değeri gösteren mikroorganizmalara oranla daha fazla olduğu gözlenmiştir. Düşük yüzey hidrofobisitesine sahip mikroorganizmaların aynı akış şartlarında, yüksek hidrofobisite değerine sahip mikroorganizmalara oranla sistemde daha az tutunduğu (%66,37), akışla beraber reaktörde taşınımının daha kolay olduğu belirlenmiştir.

Hidrofobik yüzey özelliklerine sahip mikroorganizmalarda, yumaklaşmanın yaygın olarak görüldüğü Bölüm 5.1.4.'de belirtilmiştir. Yumaklaşma ise; taşınan parçacık boyutunu büyütmede, takılmayı ve taşınım hızında yavaşlamayı beraberinde getirmektedir. Yüksek yüzey hidrofobisitesi gösteren mikroorganizmaların kolonda takılma nedenlerinden diğerinin de, yumaklaşma olabileceği söylenebilir. Farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizma populasyonlarının, düşük akış hızında gösterdiği taşınım profilleri Şekil 5.30.'da gösterilmiştir.



Şekil 5.30. Farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizmaların düşük akış hızında gösterdiği taşınım profilleri

Düşük akış hızında, mikroorganizma ve iz madde taşınımı karşılaştırıldığında; kolon içerisinde mikroorganizmaların iz elemente göre daha uzun sürede taşındıkları gözlenmektedir. Mikroorganizmaların reaktör içerisinde tutulduğu, iz elemente göre daha uzun süreli taşınım zamanı kullandıkları belirlenmiştir.

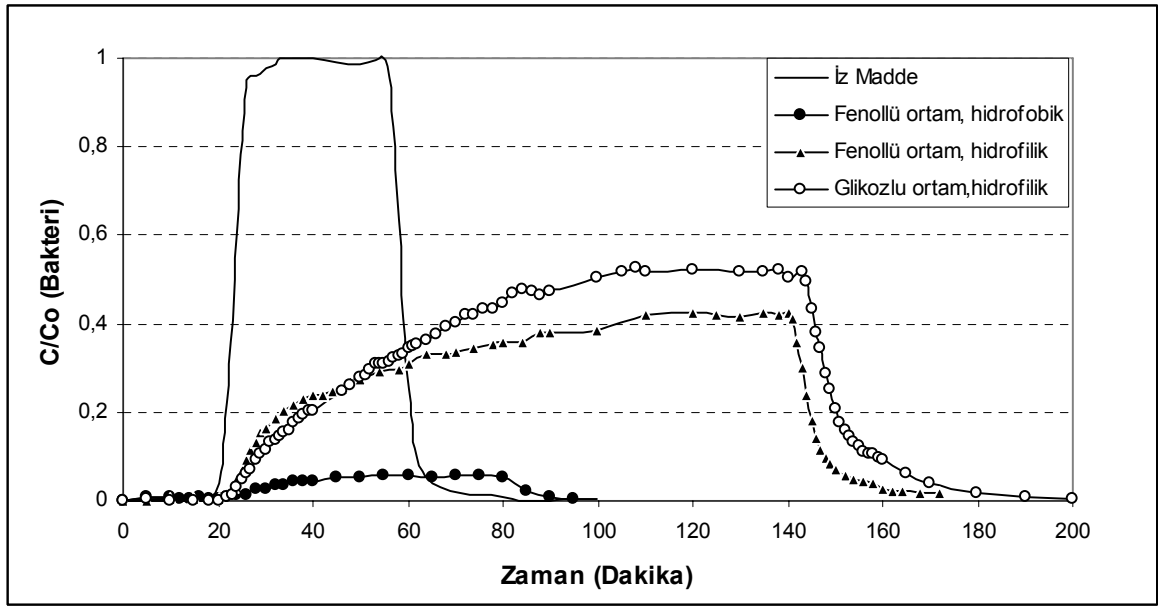
5.2.2.4.2 Yüksek akış hızında kolonda taşınım sonuçlarının karşılaştırılması

Mikroorganizmaların yüzey hidrofobisiteşeri ve kolonda tutulmaları arasındaki fark karşılaştırmalı olarak Çizelge 5.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.8. Yüksek akış hızında kolon reaktörde mikroorganizmaların gösterdiği taşınım karakteristikleri

Karbon Kaynağı			
Akış Hızı (Q=10 mL/d)	Fenol	Fenol (Hidrofilik)	Glikoz
Hidrofobisite (%)	75,12	13,24	15,56
Reaktörde takılı kalan mikroorganizma miktarı (%)	94,76	64,35	56,19
Reaktörden çıkan mikroorganizma miktarı (%)	5,24	35,65	43,81

Yüksek debili taşınım deneyleri sonucunda, yüzeyleri hidrofobik olan mikroorganizmaların, düşük yüzey hidrofobisiteli gösterten mikroorganizmalara oranla kolonda daha fazla takıldığı belirlenmiştir. Kullanılan karbon kaynağının yanı sıra, gelişim evresine bağlı olarak yüzey özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin, takılmanın oranının artmasında önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Çizelge 5.8.'de görüldüğü gibi karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmaların üstel üreme evresinin sonunda, yüksek yüzey hidrofobisitesinden (%75,12) dolayı, ölüm evresinde hidrofilik özellik gösteren mikroorganizmalara oranla (karbon kaynağı olarak fenol kullanan) daha fazla (%94,76) kolonda tutunum gösterdiği saptanmıştır. Farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizmaların, yüksek akış hızında gösterdikleri taşınım profilleri Şekil 5.31.'de karşılaştırılmalı olarak gösterilmiştir.



Şekil 5.31. Farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizmaların yüksek akış hızında gösterdiği taşınım profilleri

5.2.2.4.3 Fenol ile beslenen mikroorganizmaların farklı debilerde taşınım sonuçlarının karşılaştırılması

Fenol ile beslenen mikroorganizmaların, farklı debilerde akış debilerinde, yüzey özelliklerine bağlı olarak taşınım özellikleri karşılaştırılmalı olarak Çizelge 5.9.'da gösterilmiştir.

Çizelge 5.9. Karbon kaynağı olarak fenol'ü kullanan mikroorganizmaların taşınım karakteristikleri

Kolon Akış Hızları			
Karbon Kaynağı (fenol)	4,5 mL/dakika	10 mL/dakika hidrofobik kültür	10 mL/dakika hidrofilik kültür
Hidrofobisite (%)	68	75,12	13,24
Reaktörde takılı kalan mikroorganizma miktarı (%)	94,05	94,76	64,35
Reaktörden çıkan mikroorganizma miktarı (%)	5,95	5,24	35,65

Çalışmanın sonuçları, akış hızındaki artışın, yüksek hidrofobik yüzey özelliği gösteren mikroorganizmaların taşınımı üzerinde etkinliğinin az olduğu göstermiştir (Çizelge 5.9.). Hidrofobik yüzeye sahip mikroorganizmalar kolon içerisinde tutulmaktadır. Düşük akış hızında hidrofobik kültürler için kolonda tutunum oranı %94,05 iken yüksek akış hızında, tutunum yüzdesi %94,76'dır. Gelişim evresine bağlı olarak; yüzey hidrofobisitesinin düşmesiyle beraber mikroorganizmaların kum yüzeyi ile etkileşiminin azalmasına paralel, tutunum oranında da azalma tespit edilmiştir. Bu gözlem, mikroorganizma türlerinin yanı sıra üreme fazının yüzey özelliklerine etkisi olduğu ve taşınım prosesini etkilediğini doğrulamaktadır.

5.2.2.4.4 Glikoz kullanan mikroorganizmaların farklı debilerde taşınım sonuçlarının karşılaştırılması

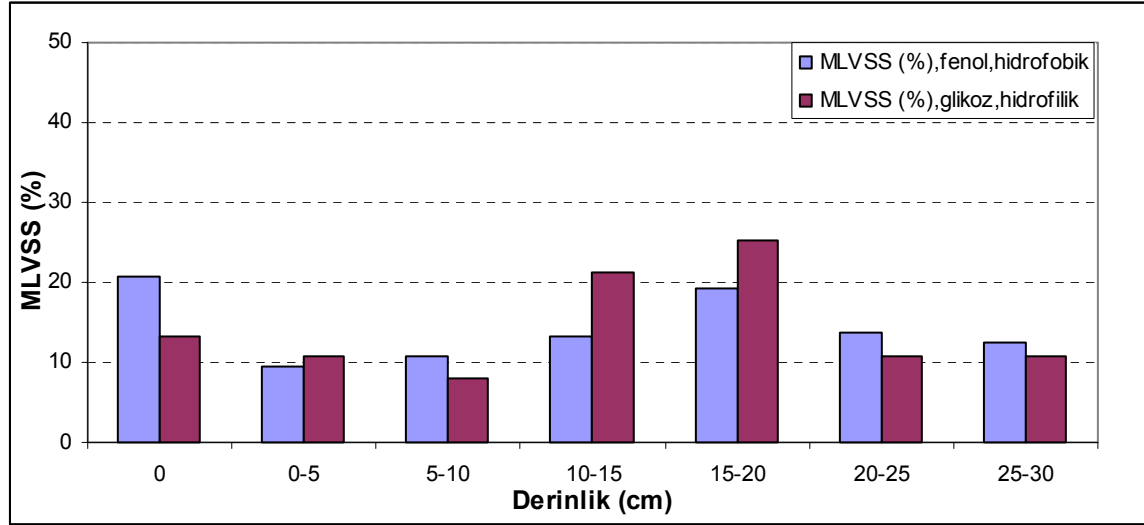
Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesi ve akış hızlarına bağlı olarak kolon reaktörde taşınım özellikleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 5.10.'da gösterilmiştir. Yüzey hidrofobisiteyi düşük olan mikroorganizmalar debi değişikliklerinden etkilenmişlerdir. Artan debi ile birlikte kolonda tutunum miktarları azalmıştır. Bu gözlem daha hidrofobik yüzeyli popülasyonun davranışından farklıdır. Az hidrofobik popülasyonun kum yüzeyleri ile etkileşimi, kolonda kalma süresinin artması ile artmaktadır.

Çizelge 5.10. Karbon kaynağı olarak glikoz'u kullanan mikroorganizmaların taşınım karakteristikleri

Kolon Akış Hızları		
Karbon kaynağı (glikoz)	4,5 mL/dakika	10 mL/dakika
Hidrofobisite (%)	17,5	15,56
Reaktörde takılı kalan mikroorganizma miktarı (%)	66,37	56,19
Reaktörden çıkan mikroorganizma miktarı (%)	33,63	43,81

5.2.2.5. Mikroorganizmaların kolonda kum yüzeyine tutunum sonuçlarının karşılaştırılması

Düşük akış hızında; farklı yüzey özellikleri gösteren mikroorganizma kültürlerinin, kolon boyunca yoğunlaştığı derinlikler Şekil 5.32.'de belirtilmiştir.

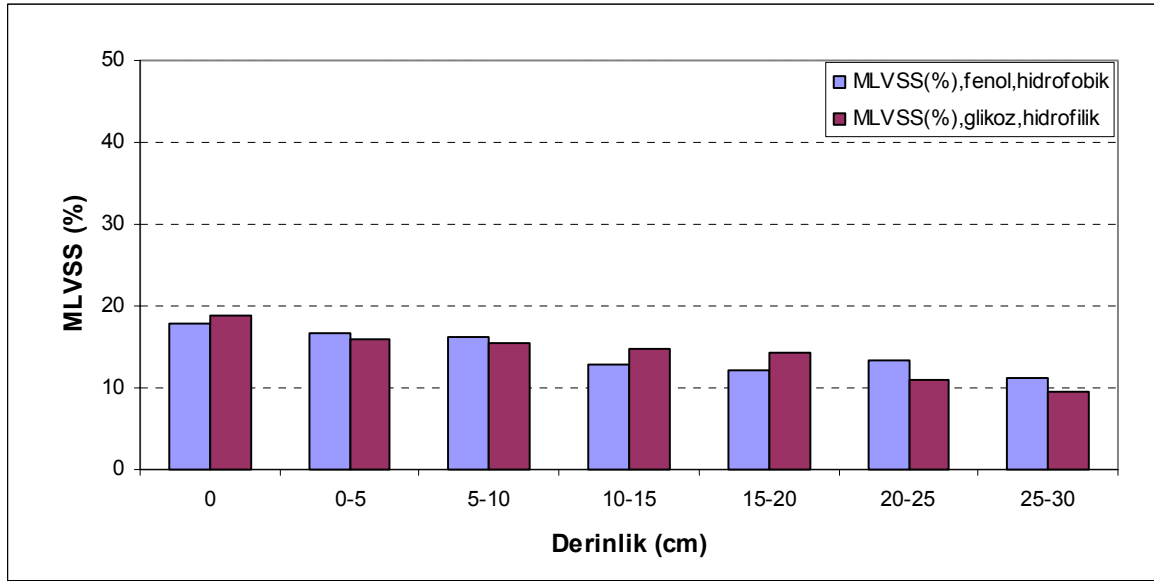


Şekil 5.32. Düşük akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizma popülasyonlarının derinliğe göre dağılımı

Hidrofobik yüzey özelliklerine sahip mikroorganizmaların büyük bir kısmı giriş noktasında kum yüzeyine tutunmuştur. Bunun bir diğer nedeninin, yüksek hidrofobisiteye bağlı olarak meydana gelen yumaklaşmadan kaynaklandığı söylenebilir. Yüzey-yüzey etkileşiminin yanı sıra hidrofobik parçacıklarının çaplarının büyük olmasına bağlı olarak dar geçitlerde takılmalarının, taşınımın iz elementten farklı oluşmasını sağladığı düşünülmektedir. Hidrofilik yüzey özelliğine

sahip mikroorganizmaların ise, daha küçük olduğu ve reaktör boyunca daha kolay ilerledikleri, reaktöre girişte tutunum oranlarının daha az olduğu gözlenmiştir.

Yüksek akış hızında; yüzey özelliklerindeki farklılıklara bağlı olarak yüksek akış hızında mikroorganizmaların kolon reaktörde dağılım oranları Şekil 5.33.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.33. Yüksek akış hızında kolon reaktörde kum yüzeyine takılan farklı yüzey özelliklerine sahip mikroorganizma popülasyonlarının derinliğe göre dağılımı

Yüksek akış hızlarında mikroorganizmaların kolon girişinde tutulduğu, akış hızındaki artışın mikroorganizmaların kolon boyunca taşınımında önemli bir etkide bulunmadığı gözlenmektedir.

Kolonda tutunum oranlarına ait diğer şekiller Ek Şekil 5. ve Ek Şekil 6.'da gösterilmiştir.

6. GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Genel Sonuçlar

Çalışma süresince elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir.

- Petrol türevleri ile kirlenmiş topraktan izole edilen mikroorganizma kültürleri, fenol'ü biyolojik olarak parçalayabilmektedirler.
- Fenol içeren ortama ilave edilen yüksek amonyak konsantrasyonlarının, kültürlerin ortama adaptasyonunu zorlaştırdığı, mikroorganizmaların ortama adapte olduktan sonra amonyaktan etkilenmeyerek normal bir üreme süreci gösterdiği belirlenmiştir.
- Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizma kültürlerinin, ortama adaptasyon süresinin (96 saat), glikoz kullanan mikroorganizmalara göre (4 saat) daha uzun olduğu belirlenmiştir. Özgül üreme hızları karşılaştırıldığında ($\mu_{\text{fenol}}=0,022 \text{ h}^{-1}$; $\mu_{\text{glikoz}}=0,086 \text{ h}^{-1}$), glikoz kullanan mikroorganizmaların, fenol kullanan mikroorganizmalara oranla daha hızlı üredikleri gözlenmiştir. Bu verilere göre, mikroorganizmaların glikozu biyolojik olarak daha kolay parçaladıkları, fenolü ise glikoza oranla daha zor parçalayabildikleri sonucuna varılmıştır.
- Karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmaların yüzey hidrofobisitesi , adaptasyon evresinde % 90 seviyelerinde iken, gelişim evresi boyunca düşerek ölüm evresinde %5,32 değerine ulaşmıştır. Bunun aksine; karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmaların %0,80'den başlayan yüzey hidrofobisitesi, gelişime bağlı olarak artmış ve ölüm evresinde % 19,39'a ulaşmıştır. Karbon kaynaklarına bağlı olarak, mikroorganizmaların yüzey özelliklerinin, buna bağlı olarak da yüzeye yapışabilme derecelerinin gelişim evrelerini boyunca değişiklik gösterebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

- Mikroorganizmaların gelişim evrelerine boyunca partikül boyutu ölçüm sonuçlarına göre hidrofobisite artışının, mikroorganizmaların yumaklaşmasına yardımcı olduğu, düşük hidrofobisitelere iyi bir yumaklaşma oluşmadığı gözlenmiştir.
- Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan mikroorganizmalarda daha fazla hücre dışı polimer oluşumu (polimer protein_{glikoz} = 32, 27 mg/L, polimer protein_{fenol} = 17,53 mg/L; polimer karbonhidrat_{glikoz} = 30,02 mg/L, polimer karbonhidrat_{fenol} = 9,9 mg/L) tespit edilmiştir.
- Hücre dışı polimer miktarındaki artışın yumaklaşmaya yardımcı olduğu belirlenmiştir.
- Mikroorganizmaların yüksek hücre dışı polimer miktarları ile yüzey hidrofobisiteleri arasında ters orantı olduğu belirlenmiştir.
- Biyolojik olarak zor parçalanabilen karbon kaynaklarının daha az HDP üretimine sebep olduğu, kolay parçalanabilen karbon kaynaklarının ise yüksek su tutma kapasitesine sahip HDP üretiminde artış meydana getirdiği belirlenmiştir. Bunun sonucunda, biyolojik olarak zor parçalanabilen karbon kaynaklarının susuzlaştırma işlemlerini kolaylaştırdığı tespit edilmiştir.
- Kolon reaktör deneylerinde kullanılan, üstel üreme evresinin sonunda ulaşmış, karbon kaynağı olarak fenol kullanan mikroorganizmaların hidrofobisitesinin, glikoz kullanan mikroorganizmalara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.
- Kolon reaktör deneylerinde, düşük akış hızında (4,5 mL/d), karbon kaynağı olarak fenol kullanan, yüzey hidrofobisitesi %68 olarak ölçülmüş hidrofobik mikroorganizmaların kolona enjekte edilmesi sonucunda, %94,05'inin kolonda takıldığı, %5,95'ünün reaktörü terk ettiği belirlenmiştir.

- Düşük akış hızında, karbon kaynağı olarak glikoz kullanan hidrofilik (%17,5) mikroorganizmaların, %66,37'inin kolon reaktörde kum yüzeyine takıldığı, % 33,63'ünün ise reaktörü terk ettiği gözlenmiştir.
- Yüksek akış hızında (10 mL/d), karbon kaynağı olarak fenol kullanan, hidrofobik (%75,12) mikroorganizmaların, %94,76'sının reaktörde takıldığı, %5,74'ünün terk ettiği tespit edilmiştir.
- Yüksek akış hızında, glikozu biyolojik olarak parçalayan hidrofilik (%15,56) mikroorganizmaların, %56,19'unun kolonda takılı kaldığı, %35,65'inin reaktörü terk ettiği belirlenmiştir.
- Yüksek akış hızında, karbon kaynağı olarak fenol kullanan, ölüm evresine ulaşmış hidrofilik (%13,24) mikroorganizmaların, %64,35'inin kolon reaktörde kum yüzeyine takıldığı, %35,65'inin kolonu terk ettiği belirlenmiştir.
- Mikroorganizmaların yüzey hidrofobitesindeki artışa bağlı olarak, yüzeye tutunmalarının arttığı, hidrofilik yüzey özelliği gösteren mikroorganizmaların hidrofobik mikroorganizmalara göre gözenekli ortamda taşınmalarının daha kolay olduğu tespit edilmiştir.
- Karışık mikroorganizma kültürlerinin, biyolojik olarak parçaladıkları karbon kaynaklarına göre, gözenekli ortamda farklı taşınım profilleri gösterdiği belirlenmiştir.

6.2. Öneriler

Bakteriyel taşınım, parametre ve etkileşimler açısından son derece kompleks bir proses olmasına karşın, uygulama olarak ekonomiktir ve yarattığı çevresel etki daha düşüktür.

Çevre mühendisliği uygulamaları açısından mikroorganizmaları yeraltına önceden belirlenmiş noktalara yollamanın, buralarda tutunmalarının ve üremelerini

sağlamanın, başka bir değişle onları kontrol etmenin mümkün olabileceği bu tez çalışmasında yüzey özellikleri açısından ve akış hızlarına bağlı olarak incelenmiş ve gösterilmiştir.

Yeraltında biyofilm gelişimini, tıkanmalara neden olabilmekte, porozite ve permeabiliteyi değiştirmekte ve mikroorganizmaların taşınımını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle daha sonraki çalışmalarda bu faktörün etkileri daha belirgin olarak ortaya çıkarılabilir ve arıtım potansiyelini ne yönde etkileyeceği belirlenebilir.

Yapılan çalışmalar soortaya çıkacak sonuçların endüstriyel çevre kirlenmesinin engellenmesinde, düşük maliyetli kirlilik kontrolünde ve kazalara karşı acil eylem uygulamalarında kontrol parametreleri olarak kullanılmasını sağlanabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abuhamed, T., Bayraktar, E., Mehmetoğlu, T. And Mehmetoğlu, Ü., 2004, Kinetics model for growth of *Pseudomonas putida* F1 during benzene, toluene and phenol biodegradation, *Process Biochemistry*, 39(8),983-988.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1989, Toxicological Profile for Phenol. NTIS, Report PB90-181249, Atlanta, Georgia.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1998, Toxicological Profile for Phenol, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA.
- Ahn, I.S. and Lee, C.H., 2003, Kinetic studies of attachment and detachment of microbial cells from soil, *Environ. Technol.* 24, 411-418.
- Alexander, M., 1994, Biodegradation and bioremediation,. Academic Press, A division of Harcourt Brace & Company, New York. pp. 71-98.
- American Public Health Association (APHA), 1989, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17th Ed., American Public Health Association.
- American Public Health Association (APHA), 1995, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th Ed. Topic 2540 Solids, Washington D.C.
- Aquino, M.D., Korol, S., Santini, P. Moretton, J., 1988, Biodegradation of phenolic compounds: Improved degradation of phenol and benzoate by indigenous strains of *Acinobacter* and *Pseudomonas*, *Rev. Latinoam. Microbiol.*, 30(3), 283-288.
- ASTM D 854, 2002, Standard Test Methods for Specific Gravity of Soil Solids by Water Pycnometer, ASTM International, West Conshohocken, USA.
- Atlas, R.M., 1997, Handbook of microbiological media. Lawrence C.P. (eds), Boca Raton, ISBN: 0-84932-638-9, pp.919.
- Banat, F.A., AL-Bashir, B., AL-Asheb, S., Hayajneh, O., 2000, Adsorption of Phenol by Bentonite. *Environmental Pollution*, 107(3), 391-398.
- Bolster, C.H., Mills, A.L., Hornberger, G.M., Herman,J.S., 2001, Effect of surface coatings, grain size and ionic strength on the maximum attainable coverage of bacteria on sand surfaces, *Journal of Contaminant Hydrology*, 50, 287-305.
- Bossier, P. and Verstraete, W., 1996, Triggers for microbial aggregation in activated sludge, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45, 1-6.
- Bülbül, G. and Aksu, Z., 1997, Atıksulardaki fenol kirliliğinin serbest ve Ca-Aljinat'a tutuklanmış *P. putida* ile giderilmesinin kesikli karıştırmalı tepkime kabında

karşılaştırmalı olarak incelenmesi, Turkish Journal of Engineering and Environmental Science, 21, 175-181.

Canter, L.W. and Knox, R.C., 1986, Groundwater Pollution Control, Lewis Publishers, Chelsea, Mich., pp.130–156.

Characklis, W.G., Trulear, M.G., Bryers, J.D., Zilver, N., 1982, Dynamics of biofilm processes: methods, Water Research, 16, 1207-1216.

Davis, S.N., Campbell D.J., Bentley H.W., Flynn T.J., 1985, Ground Water Tracers, National Water well association , 200 p.

Diaz, E. and Prieto, M.A., 2000, Bacterial promoters triggering biodegradation of aromatic pollutants, Curr. Opin. Biotechnol.,11, 467-475.

Dignac, M.F., Urbain, V., Rybacki, D., Snidaro, D., Scribe, P., 1998, Chemical description of extracellular polymers: implication oactivated sludge structure, Water Science and Technology, 38, 45-53.

Dluhy, M., Sefcik, J., Bales, V., 1993, Degradation of aromatic compounds by Pseudomonas putida, Acta Biotechnol.,13(4), 333-340.

Dobbins, D.C., Thornton-Manning, J.R., Jones, D.D., Federle, T.W., 1987, Mineralization potential for phenol in subsurface soils, J. Environ. Qual., 16(1), 54-58.

Dong, H., 2002, Significance of electrophoretic mobility distribution to bacterial transport in granular porous media, Journal of Microbiological Methods, 51, 83-93.

Dubois, M, Gilles,K.A., Hamilton,J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, Anal. Chem., 28, 350–356.

Durmaz, B. and Sanin, F.D., 2001, Effect of carbon to nitrogen ratio on the composition of microbial extracellular polymers in activated sludge, Water Sci. Technol., 44, 221–229.

Durmaz, B. and, F.D. Sanin, 2003, Effect of carbon to nitrogen ratio on the physical and chemical properties of activated sludge, Environmental Technology, 24, 1331-1340.

Farrell, A. and Quilty, B., 2002, Substrate-dependent autoaggregation of Pseudomonas putida CP1 during the degradation of mono-chlorophenols and phenol, J Ind Microbiol Biotechnol., 28, 316-324.

Fedorak, P.M. and Hrudey, S.E., 1986, Nutrient requirements for the methanogenic degradation of phenol and p-cresol in anaerobic draw and feed cultures, Water Res., 20(7), 929-934.

- Fedorak, P.M., Roberts, D.J., Hrudey, S.E., 1986, The effects of cyanide on the methanogenic degradation of phenolic compounds, *Water Res.*, 20(10), 1315-1320.
- Flathman, P. E., Jerger, D.E., Bottomley, L., 1989, Remediation of contaminated ground water using biological techniques, *Ground Water Monitoring Review*, 9, 105-119.
- Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P.H., 1996, Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin, *Water Res.*, 30, 1749–1758.
- Gannon, J.T., Manilal, V.B., Alexander, M., 1991, Relationship between cell surface properties and transport of bacteria through soil, *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 190-193.
- Gibson, D.T., Zylstra, G.J., Chauhan, S., 1990, Biotransformations catalyzed by toluene dioxygenase from *Pseudomonas putida* F1, p. 121-132. In S. Silver, A. M. Chakrabarty, B. Iglewski, and S. Kaplan (ed.), *Pseudomonas: Biotransformations, Pathogenesis, and Evolving Biotechnology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Glasgow L.A., 2003, Deformation of individual aggregates and flocs, *Journal Of Dispersion Science And Technology*, 24, 715-720.
- Guerra, R., 2001, Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents, *Chemosphere*, 44(8), 1737-1747,
- Gupta, T., Pradhan, N.C., Adhikari, B., 2003, Separation of Phenol from Aqueous Solution by Pervaporation Using HTPB Based Polyurethaneurea Membrane, *Journal of Membrane Science*, 217, 43-53.
- Hagedorn, C., McCoy, E.L., Rahe, T.M., 1981, The potential for groundwater contamination from septic effluent, *J. environ. Qual.*, 10, 1-8.
- Harvey, R. W. and Garabedian, S.P., 1991, Use of colloid filtration theory in modeling movement of bacteria through a contaminated sandy aquifer, *Environ. Sci. Technol.*, 25, 178–185.
- Higgins, M. and Novak, J.T., 1997, Characterization of extracellular protein and its role in bioflocculation, *J. Environ. Eng.*, 123, 479-485.
- Houghton, J.E. and Shanley, M.S., 1994, Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals, Catabolic potential of Pseudomonads, Chaundry, G.R. (eds.), Dioscorides Press, pp. 11-32.
- HSDB, 1995, 1999, Hazardous Substances Data Bank On-line data base, <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc161.htm>
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Phenol>, Phenol.
- <http://textbookofbacteriology.net/growth.html>, Growth of bacterial populations, Todar's online textbook of bacteriology.

- <http://www.aquasu.com/sustandartlari.htm>, İçme suyu standartları.
- <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/phenol.html>, Technology Transfer Network Air Toxics Website, Phenol.
- <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc161.htm#SectionNumber:1.1>, International programme on chemical safety, Environmental health criteria, Phenol,
- <http://www.nsc.org/library/chemical/Phenol.htm>, Phenol.
- http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf, Fritsche, W., Hofrichter, M., 6 Aerobic degradation by microorganisms.
- Hua, Z., Chen, J., Lun, S., Wang, X., 2003, Influence of biosurfactants produced by *Candida* on surface properties of microorganism and biodegradation of n-alkanes, *Water Research.*, 37, 4143-4150.
- In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS), 2002, Toxicological Review of phenol.
- Israelachvili, J.N., 1992, Intermolecular and surface forces, Academic Press, London, 450 p.
- Jenneman, G.E., Knapp, R.M., McInerney, M.J., Menzie, D.E., Revus D.E., 1984, Experimental studies of in situ microbial-enhanced oil recovery, *Society of Petroleum Engineers Journal*, 24, 33- 37.
- Jin, B., Wilén, B.M., Lant, P., 2004, Impacts of morphological, physical and chemical properties of sludge flocs on dewaterability of activated sludge, *Chemical Engineering Journal*, 98, 115-126.
- Jorand, F., Guicherd, P., Urbain, V., Manem, J., Block, J.C., 1994, Hydrophobicity of activated sludge flocs and laboratory-growth bacteria, *Water Sci. Technol.*, 30, 211-218.
- Jordan, W., Gerlich, O., Ullrich, J., 1986, Phenol, *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-UCH, Weinheim, A19, 299-312.
- Keeton, T.W. and Gould, J.L., 1999, Genel Biyoloji, (çev. Editörleri: A. Demirsoy, İ. Türkan), Palme Yayıncılık, ISBN 975-7477-58-3, Ankara, 1194s.
- Keiding, K. and Nielsen, P.H., 1997, Desorption of organic macromolecules from activated sludge flocs: effect of ionic composition, *Wat. Res.*, 31(7), 1665-1672.
- Knoll, G. and Winter, J., 1987, Anaerobic degradation of phenol in sewage sludge: benzoate formation from phenol and carbon dioxide in the presence of hydrogen, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 25(4), 384-391.

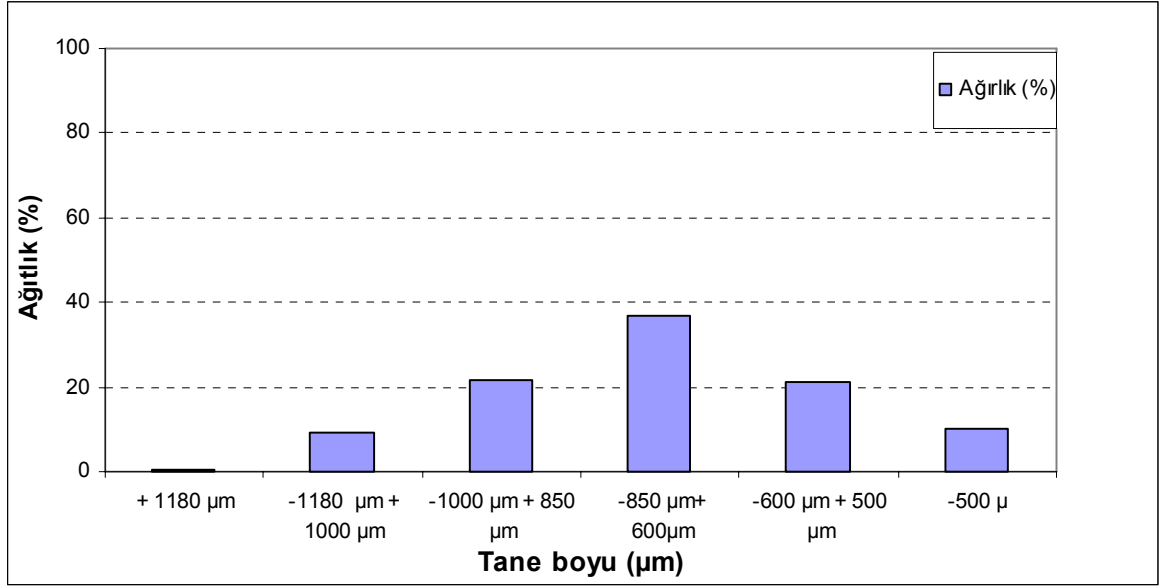
- Kumar, A., Kumar, S., Kumar S., 2005, Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194, *Biochemical Engineering Journal.*, 22, 151-159.
- Kumaran, P. and Paruchuri, Y.L., 1997, Kinetics of phenol biotransformation, *Water Res.*, 31, 11-22.
- Lappan, R.E. and Fogler H.S., 1996, Reduction of porous media permeability from insitu *Leuconostoc Mesenteroides* growth and dextran production, *Biotechnology and Bioengineering*, 50, 6-15.
- Lee, W., Kang, S., Shin, H., 2003, Sludge characteristics and their contribution to microfiltration in submerged membrane bioreactors, *Journal of Membrane Science*, 216, 217-227.
- Livingston, A.,G. and Chase, 1989, Modeling of phenol degradation in a fluidized bed-bioreactor, *AIChE journal*, 35(12), 1980-1992.
- Ljungh, A. and Wadstrom, T., 1995, Growth-conditions influencing expression of cell-surface hydrophobicity of staphylococci and other woundinfection pathogens, *Microbiol Immunol.*, 39, 753–760.
- Lob, K.C. and Tar, P.P., 2000, Effect of additional carbon sources on biodegradation of phenol, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 64, 756-763.
- Loosdrecht, M.M., Lykleme, J., Norde, W., Schraa, G., Zehnder, A.J.B., 1987, The role of bacteria cell wall hydrophobicity in adhesion, *Applied Environmental Microbiology*. 53, 1893-1897.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.H., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265–275.
- Luo, Q., Wang, H., Zhang, X., Qian, Y., 2005, Effect of direct electric current on the cell surface properties of phenol degrading bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 423-427.
- Marchesi, J.R., White, G.F., House W.A., Russell, N.J., 1994, Bacterial cell hydrophobicity is modified during the biodegradation of anionic surfactants, *FEMS Microbiology Letters.*, 124, 387-392.
- Marlow, H. J., Duston, K.L., Wiesner, M.R., Tomson, M.B., Wilson, J.T., Ward, C.H., 1991, Microbial transport through porous media: the effects of hydraulic conductivity and injection velocity, *J. Hazard. Mater.*, 28, 65–74.
- Masque, C., Nolla, M., Bordons, A., 1987, Selection and adaptation of a phenol-degrading strain of *Pseudomonas*, *Biotechnol. Lett.*, 9, 655-660.
- Mehmannavaz, R., Prasher, O.S., Ahmad, D., 2001, Cell surface properties of rhizobial strains isolated from soils contaminated with hydrocarbons: hydrophobicity and adhesion to sandy soil, *Process Biochemistry*, 36(7), 683-688.

- Monod, J., 1949, The growth of bacterial cultures, *Annu. Rev. Microbiol.*, 3, 371-394.
- Nakhia, G.F. and Al- Harazin, J.M., 1993, Simplified analysis of biodegradation kinetics of phenolic compound by heterogeneous cultures, *Environmental Technology*, 14, 751-760.
- Nuhoglu A. and Yalcin B., 2005, Modelling of phenol removal in a batch reactor *Process Biochemistry*, 40, 1233-1239.
- Papanastasiou, A.C., 1982, Kinetics of biodegradation of 2,4-dichlorophenoxyacetate in the presence of glucose, *Biotechnol. Bioeng.*, 24, 2001-2011.
- Pavoni, J.L., Tenney, M.W. and Echelberger, W.F., 1972, Bacterial axocellular polymers and biological flocculation, *J. WPCF.*, 44, 414-431.
- Powell, C.D., Quain, D.E., Smart, K.A., 2003, The impact of brewing yeast cell age on fermentation performance attenuation and flocculation, *FEMS Yeast Res.*, 3, 149-157.
- Prpich, G.P. and Daugulis, A.J., 2004, Polymer development for enhanced delivery of phenol in a solid-liquid two-phase partitioning bioreactor, *Biotechnol. Progr.*, 20, 1725-1732 .
- Raiders, R.A., McInerney, M.J., Revus, D.E., Torbati, H.M., Knapp, R.M., Jenneman, G.E., 1986, Selectivity and depth of microbial plugging in Berea sandstone cores, *J. Ind. Microbiol.*, 1, 195-203.
- Reardon, K.F., Mosteller, D.C., Bull Rogers, J.D., 2000, Biodegradation kinetics of benzene, toluene and phenol as single and mixed substrates for *Pseudomonas putida* F1, *Biotechnology and Bioengineering*, 69(4), 386-400.
- Riser-Roberts, E., 1998, *Remediation of petroleum-contaminated soils: Biological, physical, and chemical Processes*, Lewis Publishers, ISBN: 0873718321 Boca Raton, FLA.
- Rosenberg, M., 1980, Bacterial adherence to hydrocarbons: a useful technique for studying cell surface hydrophobicity, *FEMS Microbiol Lett.*, 22, 289– 295.
- Saha, N.C., Bhunia, F., Kaviraj, A., 1999, Toxicity of phenol to fish and aquatic ecosystems, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63, 195-202.
- Sandrin, S.K., Jordan, F.L., Maier. R.M., Brusseau, M.L., 2001, Biodegradation During contaminant transport in porous media: 4. Impact of microbial lag and bacterial cell growth, *Journal of Contaminant Hydrology*, 50, 225-242.
- Sanin, S. L., Sanin, F. D., Bryers, J. D., 2003, Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degrading bacteria, *Process Biochem.*, 38, 909-914.

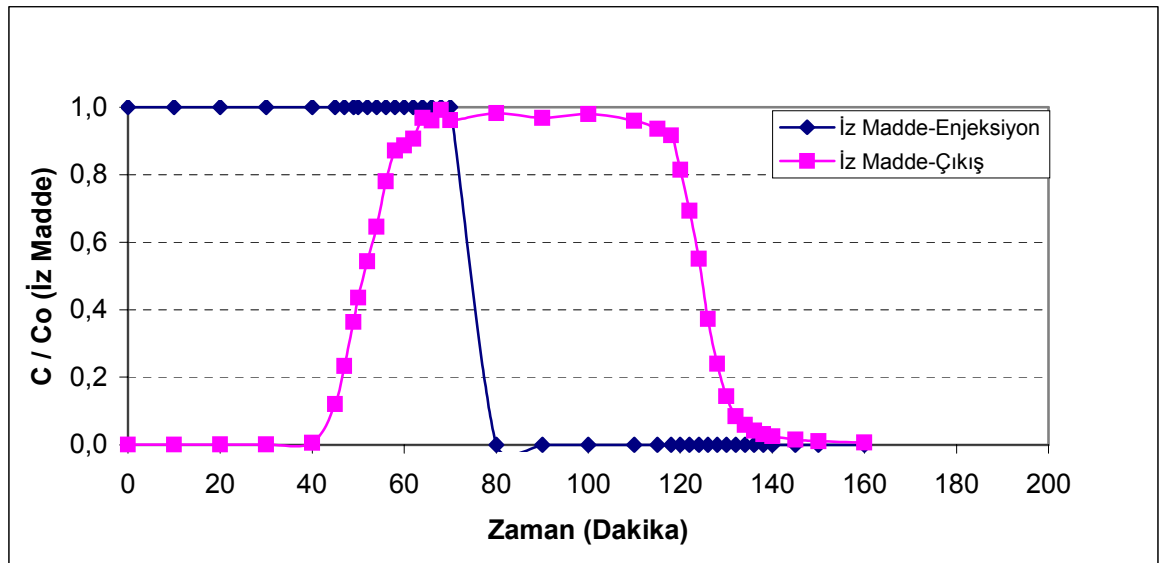
- Sanin, S.L., 2003, Effect of starvation on resuscitation and the surface characteristics of bacteria, *J. Environ. Sci. Health.*, 38, 1517-1528.
- Sarkar, C.S., Niyoga, S., Basudam, J., 2002, Separation of phenol-water mixture by membrane pervaporation using polyimide membranes, *J. Appl Polym. Sci.*, 83, 882-829.
- Schmidt, J.E. and Ahring, B.K., 1996, Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors, *Biotechnol. Bioeng.*, 49, 229–246.
- Sokol, W. and Howell, J.A., 1981, Kinetics of phenol oxidation by washed cells, *Biotechn. Bioeng.*, 23, 2039–2049.
- Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (SKKY), Resmi Gazete; 2004 tarihli ve 26687 sayılı Yönetmelik.
- Surucu, G. and Cetin, F.D., 1989, Effect Of Temperature, pH And DO Concentration On Filterability And Compressibility Of Activated-Sludge, *Water Research*, 23(11), 1389-1395.
- Sutherland, I.W., 2001, Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework, *Microbiol UK.*, 147, 3–9.
- Tarighian, A., Hill, G., Headley, J., Pedras, S., 2003, Enhancement of 4-chlorophenol biodegradation using glucose, *Clean Technologies and Environmental Policy*, 5, 61-65.
- Tay, J.H., Liu, Q.S., Liu, Y., 2001, The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 90, 227–233.
- Tay, J.H., Liu, Q.S., Liu, Y., 2002, Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors, *Environ Technol.*, 23, 931-936.
- Taylor, S.W. and Jaffé, P.R., 1990, Substrate and biomass transport in a porous medium, *Water Resources Research*, 26(9), 2181-2194.
- Thaveesri J., Daffonchio D., Lessens B., Vandermeren P., Verstraete W., 1995, Granulation and sludge bed stability in upflow anaerobic sludge bed reactors in relation to surface thermodynamics, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 3681–3686.
- Thiebault, F. and Coulon, J., 2005, Influence of carbon source and surface hydrophobicity on the aggregation of the yeast *Kluyveromyces fragilis*, *Canadian Journal of Microbiology*, 51, 91-94.
- Tibbles, B.J. and Baecker, A.A.W., 1989, Effects and fate of phenol in simulated landfill sites, *Microb. Ecol.*, 17(2), 201-206.

- Travors, J.T., Van Elsas, J.D., Van Overbeek, L.S., Starodub, M.E., 1990, Transport of genetically engineered *Pseudomonas Fluorescens* Strain through a soil microcosm, *Applied Environmental Microbiology*, 56, 401-408.
- Tsubata, T., Tezuka, T., Kurane, R., 1997, Change of cell membrane hydrophobicity in a bacterium tolerant to toxic alcohols, *Can J Microbiol.*, 43, 295–299.
- Urbain, V., Block, J. C., Manem, J., 1993, Biofoculation in activated sludge: an analytic approach, *Water Res.*, 27, 829-838.
- Van Loosdrecht, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., Zehnder, A.J.B., 1987, Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1898–1901.
- Vandevivere, P. and Beveye, P., 1992, Effect of bacterial extracellular polymers on the saturated hydraulic conductivity of sand columns, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(5), 1690-1698.
- Walker, S.L., Hill, J.E., Redman, J.A., Elimelech, M., 2005, Influence of growth phase on adhesion kinetics of *Escherichia coli* D21g, *Applied Environmental Microbiology.*, 71, 3093-3099.
- Wiggins, B.A. and Alexander, M., 1988, Role of chemical concentration and second carbon sources in acclimation of microbial communities for biodegradation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 54(11), 2803-2807.
- Wilén, B.M., Jin, B., Lant, P., 2003, The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties, *Water Research*, 37, 2127-2139.
- Yang, S.F., Tay J.H., Liu, Y., 2004, Inhibition of free ammonia to the formation of aerobic granule, *Biochemical Engineering Journal*, 17, 41-48.
- Yener, J. and Aksu, Z., 1999, Atıksulardaki fenol ve kloro fenollerin aktif karbon ve kurutulmuş aktif çamura adsorpsiyonu, *Tr. J. of Engineering and Environmental Science*, 23, 93-104.
- Zita, A. and Hermansson, M., 1997, Effects of bacterial cell surface structure and hydrophobicity on attachment to activated sludge flocs, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 1168-1170.

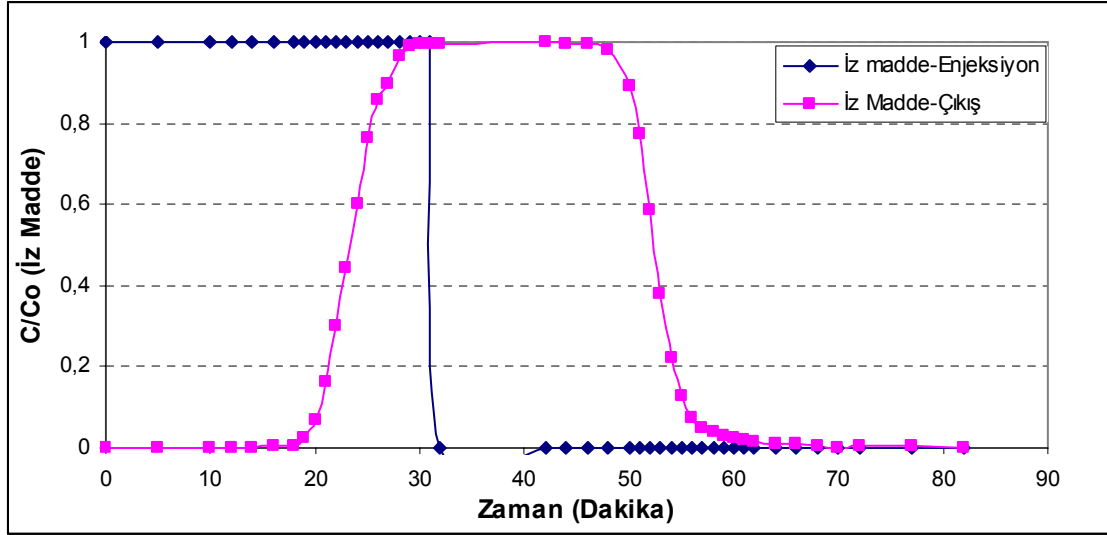
EKLER



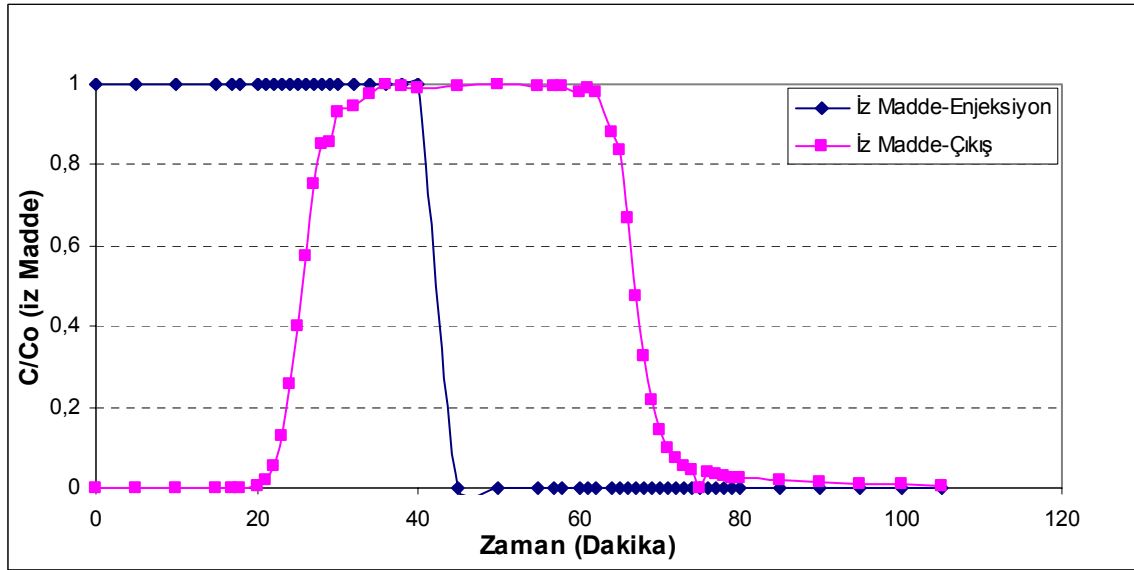
Ek Şekil 1. Kolon reaktörde dolgu maddesi olarak kullanılan kumun, tane boyu analiz sonuçları



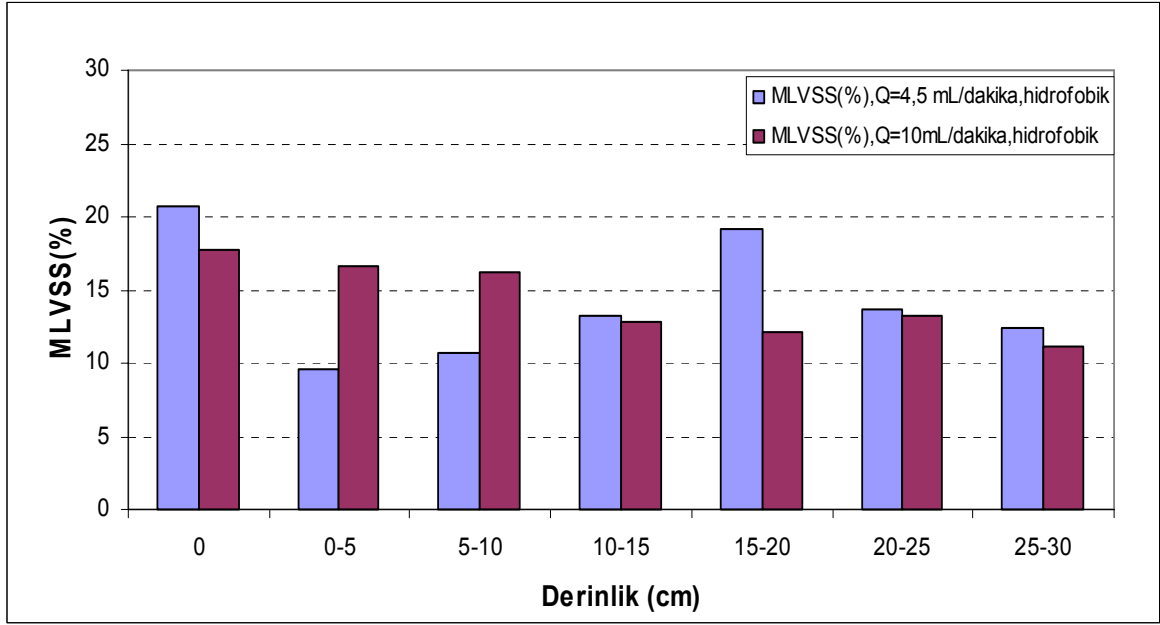
Ek Şekil 2. Düşük akış hızında iz madde taşınım profili



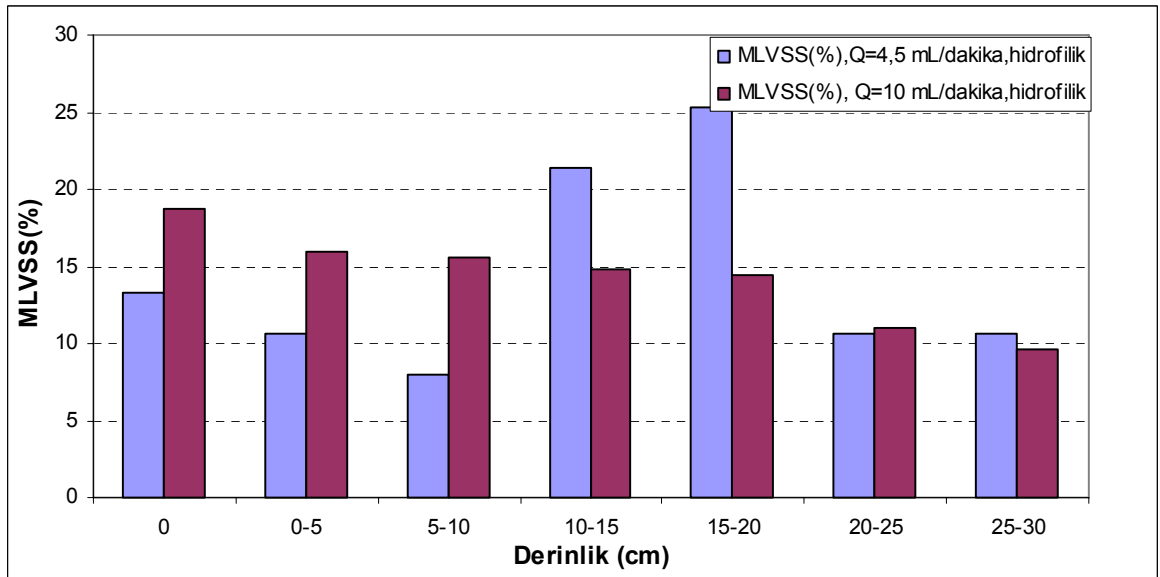
Ek Şekil 3. Yüksek akış hızında iz madde taşınım profili



Ek Şekil 4. Yüksek akış hızında iz madde taşınım profili



Ek Şekil 5. Karbon kaynağı olarak fenol kullanan hidrofobik mikroorganizmaların, akış hızlarına bağlı olarak kolon reaktörde kum yüzeyine takılma oranlarının derinliğe dağılımı



Ek Şekil 6. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanan hidrofilik mikroorganizmaların, akış hızlarına bağlı olarak kolon reaktörde kum yüzeyine takılma oranlarının derinliğe dağılımı

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gonca YILMAZ

Doğum Yeri : İspir

Doğum Yılı : 1979

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1992-1995 Rize Lisesi

Lisans :1999-2000 Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Çevre Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi: 2001-2002 Bilim Mühendislik, Çevre Mühendisi, ÇED çalışmaları,
Kayseri

2002-2002 Atol Mühendislik, Çevre Mühendisi, ÇED çalışmaları,
Kayseri