

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜT ENDÜSTRİSİ ATIKSUYU VE ORGANİK EVSEL KATI ATIĞIN
HAMMADDE OLARAK KULLANILMASIYLA KARIŞIK KÜLTÜRDEN
POLİHİDROKSİALKANOAT (PHA) ELDESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin KARACA

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Bilimleri, Mühendisliği ve Yönetimi Programı

ARALIK, 2018

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜT ENDÜSTRİSİ ATIKSUYU VE ORGANİK EVSEL KATI ATIĞIN
HAMMADDE OLARAK KULLANILMASIYLA KARIŞIK KÜLTÜRDEN
POLİHİDROKSİALKANOAT (PHA) ELDESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Selin KARACA
(501141761)**

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Bilimleri, Mühendisliği ve Yönetimi Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nevin YAĞCI

ARALIK, 2018

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 501141761 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Selin KARACA, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "SÜT ENDÜSTRİSİ ATIKSUYU VE ORGANİK EVSEL KATI ATIĞIN HAMMADDE OLARAK KULLANILMASIYLA KARIŞIK KÜLTÜRDEN POLİHİDROKSİALKANOAT (PHA) ELDESİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Nevin YAĞCI**

İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Ebru DÜLEKGÜRGEN**

İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Erkan ŞAHİNKAYA

İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Teslim Tarihi : 16 Kasım 2018
Savunma Tarihi : 24 Aralık 2018



ÖNSÖZ

Öncelikle desteğini hiç esirgmeden bana yol gösteren, bütün bilgi birikimini benimle paylaşan, tez danışmanım, saygıdeğer hocam Doç.Dr.Nevin YAĞCI'ya,

Tez çalışmam boyunca gerek laboratuvarında gerekse diğer konularda yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Emine UBAY ÇOKGÖR, Doç. Dr. Tuğba ÖLMEZ HANCI, Doç. Dr. İlke PALA ÖZKÖK, Doç. Dr. Didem OKUTMAN TAŞ ve Araş.Gör. Emine Gözde ÖZBAYRAM'a

Yüksek lisans eğitimim boyunca ders aldığım ve bilgi birikimimi elde etmemi sağlayan İTÜ Çevre Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine,

Tanıştığımız ilk günden beri bana olan sevgisi, inancı, hoşgörüsü ve anlayışıyla her daim yanımda olan sevgili nişanlım Çetin SADIKOĞLU'na

Bugünlere gelmemin başlıca sebebi olan, maddi manevi destekleri ve gösterdikleri anlayış ve sabırdan dolayı sevgili annem Oya KARACA, babam Ömer KARACA, ablam Tuğba HEPGÜLER ve bütün aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. (Proje No: MYL-2018-41346 ve MGA-2018-41142).

Aralık 2018

Selin KARACA
(Çevre Mühendisi)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ŞEKİL LİSTESİ	xv
ÖZET	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 Çalışmanın Amacı.....	1
1.2 Konu ve Kapsam.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	3
2.1 Plastikler ve Çevreye Etkileri	3
2.2 Biyoplastikler.....	4
2.3 Polihidroksialkanoat (PHA).....	6
2.4 Karışık Mikrobiyal Kültürden PHA Üretimi	8
2.5 Kültür Zenginleştirme.....	9
2.5.1 Açlık – Tokluk rejimi	10
2.5.2 Anaerobik-Aerobik rejim.....	12
2.6 PHA Üretiminde Atıkların Hammadde Olarak Kullanılması.....	14
2.6.1 Süt endüstrisi atıksuyu	15
2.6.2 Evsel organik katı atık	16
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1 Ardışık Kesikli Reaktörler	19
3.2 Sentetik Atıksu.....	21
3.3 Hammadde (Karbon Kaynağı).....	22
3.4 Fermentasyon Deneyleri	23
3.5 Kesikli PHA Depolama Deneyleri.....	24
3.6 Analizler.....	25
3.6.1 Uçucu Yağ Asidi (UYA)	25
3.6.2 Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ).....	25
3.6.3 AKM ve UAKM	27
3.6.4 Toplam Kjeldahl Azotu (TKN).....	27
3.6.5 Toplam Fosfor (TP)	29
3.6.6 Anyonlar	29
3.6.7 PHA	29
3.6.8 pH.....	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1 Reaktörlerin Proses İzlemeleri.....	33
4.2 Süt Endüstrisi Atıksuyu ve Organik Katı Atığın Asidifikasyonu.....	36

4.3	PHA Depolayan Karışık Mikrobiyal Kültürün Zenginleştirilmesi	38
4.4	PHA Depolama Deneyleri	42
4.5	Mikrobiyal Topluluk Karakterizasyonu.....	51
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
	KAYNAKLAR.....	57
	ÖZGEÇMİŞ.....	63



KISALTMALAR

AKM	: Askıda Katı Madde
AKR	: Ardışık Kesikli Reaktör
BOİ₅	: Biyolojik Oksijen İhtiyacı
CO₂	: Karbondioksit
DAS	: Demir Amonyum Sülfat
F/M	: Besin/Mikroorganizma
GAO	: Glikojen akümüle eden organizma
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
PA	: Poliamid
PAO	: Fosfor akümüle eden organizma
PBS	: Polibütülen Süksinat
PBAT	: Polibütülen Adipat Tereftalat
PCL	: Polikaprolakton
PE	: Polietilen
PET	: Polietilen Tereftalat
PHA	: Polihidroksialkanoat
PHB	: Polihidroksibütirat
PHV	: Polihidroksivalerat
PLA	: Polilaktik Asit
PP	: Polipropilen
PS	: Polistiren
PTT	: Politrimetilen Tereftalat
SRT	: Çamur yaşı
TKN	: Toplam kjeldahl azotu
TN	: Toplam azot
TP	: Toplam fosfor
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UAKM	: Uçucu Askıda Katı Madde
UYA	: Uçucu Yağ Asidi

3H2MB : 3-hidroksi-2-metilbütirat

3H2MV : 3-hidroksi-2-metilvalerat



SEMBOLLER

E	: Elastikiyet katsayısı
T_c	: Çevrim süresi
T_g	: Camlaşma sıcaklığı
T_m	: Erime sıcaklığı
X_{cr}	: Kristalleşme derecesi
Q	: Debi
ε	: Kopma uzaması
σ	: Çekme dayanımı



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Petrol türevli plastiklerin ve tipik PHA'ların mekanik özellikleri (Yang, 2007; Andreessen ve diğ., 2014).	8
Çizelge 2.2 : Kültür geliştirme sistemlerinin temel özeti (Kourmentza ve diğ., 2017)	10
Çizelge 3.1 : Reaktörlerin işletme koşulları.....	19
Çizelge 3.2 : Sentetik atıksu karakterizasyonu.....	22
Çizelge 3.3 : Makro ve mikro nütrient çözeltilerinin içeriği.	22
Çizelge 3.4 : Kesikli PHA depolama deneyi verileri.....	25
Çizelge 3.5 : TKN deneyi için Standart Yöntemler'de verilen numune hacimleri (APHA, 2005).....	28
Çizelge 4.1 : AKR-1 ve AKR-2 kararlı hal UAKM konsantrasyonları.....	35
Çizelge 4.2 : PHA depolama deneyleri özet bilgileri.	43



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Biyoplastiklerin şematik gösterimi (Pittmann ve diğ., 2016).....	4
Şekil 2.2 : 2017 yılı sektörel küresel biyoplastik üretim kapasitesi (www.european-bioplastics.org).	5
Şekil 2.3 : Geçirimli elektron mikroskobu altında R. Eutropha hücrelerinde depolanan PHA granülleri (Hawaii Üniversitesi) (Yang, 2007).	6
Şekil 2.4 : PHA'nın genel kimyasal yapısı(Carmo, 2013).....	7
Şekil 2.5 : Açlık-Tokluk rejimi sistem konfigürasyonu (Paul ve Liu, 2012).	11
Şekil 2.6 : Açlık-Tokluk rejiminde fazlara göre karbon kaynağı, PHA ve hücre büyümesi değişimi (Serafim, 2006).....	11
Şekil 2.7 : Açlık-Tokluk rejiminde PHA üretim metabolizması (Salehizadeh ve diğ., 2004).....	12
Şekil 2.8 : Anaerobik-Aerobik rejim sistem konfigürasyonu (Paul ve Liu, 2012). ...	13
Şekil 2.9 : Anaerobik-Aerobik rejimde PHA üretim metabolizması (Salehizadeh ve diğ., 2004).....	14
Şekil 2.10 : Anaerobik fermentasyon ile UYA üretimi (Çallı ve Tuğdaş, 2010).	15
Şekil 2.11 : Türkiye atık karakterizasyonu (T.C Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2016).	17
Şekil 3.1 : Reaktörlere ait şematik gösterim ve reaktörlerin çevrim döğüleri.	20
Şekil 3.2 : Reaktörlerin işletme aşamasından bir görünüm.	21
Şekil 3.3 : Süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık fermentasyon deneyleri.	23
Şekil 3.4 : Kesikli PHA depolama deneyleri.	24
Şekil 3.5 : PHA numunesi hazırlanması ve ekstraksiyonu.	30
Şekil 4.1 : AKR-1 Set1 reaktör izleme KOİ sonuçları.....	33
Şekil 4.2 : AKR-1 Set2 ve *Set2 reaktör izleme KOİ sonuçları.....	34
Şekil 4.3 : AKR-2 Set3 reaktör izleme KOİ sonuçları.....	34
Şekil 4.4 : AKR-2 Set4 ve *Set4 reaktör izleme KOİ sonuçları.....	35
Şekil 4.5 : Süt endüstrisi atıksuyunun farklı F/M oranlarında fermentasyon deney sonuçları.	36
Şekil 4.6 : Organik katı atığın farklı F/M oranlarında fermentasyon deney sonuçları.	37
Şekil 4.7 : Fermente süt endüstrisi atıksuyu (F/M=10) UYA içeriği.....	37
Şekil 4.8 : Fermente organik katı atık (F/M=10) UYA içeriği.	38
Şekil 4.9 : Set1 PHA içeriği ve türleri.	39
Şekil 4.10 : Set2 PHA içeriği ve türleri.	39
Şekil 4.11 : *Set2 PHA içeriği ve türleri.	40
Şekil 4.12 : Set3 PHA içeriği ve türleri.	41
Şekil 4.13 : Set4 PHA içeriği ve türleri.	41
Şekil 4.14 : *Set4 PHA içeriği ve türleri.	42
Şekil 4.15 : Set1 süt endüstrisi atıksuyu aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.	43

Şekil 4.16 : Set1 organik katı atık aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.	44
Şekil 4.17 : Set3 süt endüstrisi atıksuyu aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.	44
Şekil 4.18 : Set3 organik katı atık aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.	45
Şekil 4.19 : *Set2 ve *Set4 rejimlere göre PHA içerikleri.	45
Şekil 4.20 : Set1 ve Set3 rejimlere göre organik katı atık PHA içerikleri.	46
Şekil 4.21 : Set1 ve Set2 PHA depolanmasında çamur yaşının etkisi.	46
Şekil 4.22 : Set3 ve Set4 PHA depolanmasında çamur yaşının etkisi.	47
Şekil 4.23 : Set1 süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık PHA üretimi.	47
Şekil 4.24 : *Set2 ve *Set4'te sentetik atıksuya UYA beslemesi sonrası değişimler.	48
Şekil 4.25 : Süt endüstrisi atıksuyu setlerinin PHA türleri.	49
Şekil 4.26 : Organik katı atık setlerinin PHA türleri.....	49
Şekil 4.27 : Süt endüstrisi atıksuyu için bütün Setler'de üretilen PHA miktarları. ...	50
Şekil 4.28 : Organik katı atık için bütün Setler'de üretilen PHA miktarları.....	50
Şekil 4.29 : Mikrobiyal komünitenin şube düzeyinde ısı haritası gösterimi (S1: Açlık-Tokluk rejimi, S2: Anaerobik-Aerobik-Anoksik rejim)	51
Şekil 4.30 : Mikrobiyal komünitenin aile düzeyinde ısı haritası gösterimi (S1: Açlık- Tokluk rejimi, S2: Anaerobik-Aerobik-Anoksik rejim).....	52

SÜT ENDÜSTRİSİ ATIKSUYU VE ORGANİK EVSEL KATI ATIĞIN HAMMADDE OLARAK KULLANILMASIYLA KARIŞIK KÜLTÜRDEN POLİHİDROKSİALKANOAT (PHA) ELDESİ

ÖZET

Petrol türevli plastikler yaygın kullanımlarına rağmen doğada çok uzun süreler bozunmadan kalması ve çevreye olan zararlarıyla bilinirler. Günümüzde bu plastiklerin yerini almaya aday olan biyoplastikler yenilenebilir biyokütle kaynaklarından elde edilen bir plastik türüdür fakat biyoplastikler yüksek maliyetlerinden dolayı dünyada halen yeterli endüstriyel üretim seviyesine ulaşamamışlardır.

Bu sebeple bu yüksek lisans tez projesinin amacı biyoplastiklerin hammaddesi olan polihidroksialkanoat (PHA) üretiminde, PHA depolayan mikroorganizmaların karışık kültür içeren atık aktif çamurdan sağlanması, yüksek maliyetten sorumlu faktörlerden biri olan karbon kaynağı olarak atıksu ve/veya katı atıklar kullanılması ile hem maliyetin düşürülmesi hem de atıkların yenilenebilir kaynak olarak değerlendirilip atığın faydalı ürüne dönüştürülmesidir.

Bu amaca yönelik olarak PHA depolanması, depolama miktarının artırılması ve sistem konfigürasyonunun belirlenmesini hedefleyen deneysel bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada hammadde olarak süt endüstrisi atıksuyu ve evsel organik katı atık (gıda atığı) kullanılmıştır. Çalışma üç aşamada yürütülmüştür.

Birinci aşamada PHA depolayan mikroorganizma grubunun üretilmesi için sentetik evsel atıksu ile beslenen ve açlık-tokluk rejimi ve anaerobik-aerobik-anoksik rejimde işletilen iki ayrı ardışık kesikli reaktör (AKR) işletilmiştir. İşletme esnasında açlık-tokluk rejiminde 3 ve 6 gün, anaerobik-aerobik-anoksik rejimde 8 ve 12 gün olmak üzere ikişer farklı çamur yaşı denenmiştir. Her bir reaktör 96 gün çalıştırılmış ve 12 gün sentetik atıksuya UYA beslemesi yapılmıştır. Reaktörlerden atılan çamurda kesikli PHA depolama deneyleri gerçekleştirilmiştir.

İkinci aşamada hammadde kaynağı olarak seçilen süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atıkların asidifikasyonu amacıyla fermentasyon deneyleri yapılmıştır. Deneyler her iki karbon kaynağı için de farklı F/M oranlarında (1, 2,5, 5, 10) 6 gün yürütülmüş ve optimum değeri veren koşullar 4. gün ve F/M=10 olarak belirlenmiştir. Asidifikasyon deneyi sonuçlarına göre, seçilen koşullarda süt endüstrisi atıksuyunun üst suyundan 7,2 gKOİ/L, organik katı atık üstsuyundan ise 5,8 gKOİ/L uçucu yağ asidi (UYA) elde edilmiştir.

Üçüncü aşamada ise kültür seçilimi yapılan biyokütle ve ön deneylerin verilerine göre tekrarlanan fermentasyon deneylerinden elde edilen UYA, PHA üretimi için uygun işletme koşullarını araştırmak üzere kesikli deneyler yürütülmüştür. Kesikli deneyler toplamda 6 set için farklı F/M oranlarında denenmiş ilk iki sette elde edilen verilere göre değişkenler indirgenerek diğer 4 sete uygulanmıştır.

PHA üretiminde en yüksek verim organik katı atıktan sağlanmış olup kuru biyokütle ağırlığı başına %67,3 PHA içeriği açlık-tokluk rejimiyle zenginleştirilmiş çamur yaşı 3 gün olan biyokütle ile elde edilmiştir. Hammadde olarak süt endüstrisi atıksuyu kullanılması durumunda ise PHA içeriği %4,9 değerinde kalmış olup çamur yaşı 8 gün olan anaerobik-aerobik-anoksik biyokütleden elde edilmiştir.

Bu çalışmada, atıkların (özellikle gıda atıklarının) hammadde kaynağı olarak kullanılmasıyla, PHA depolama kabiliyeti olan alışmış atık aktif çamurun bulunduğu atıksu arıtma tesislerinde kurulabilecek fermentasyon sistemleri ile entegre çalışarak biyopolimer üretimi yapılabileceği gösterilmiştir.



POLYHYDROXYALKANOATE (PHA) PRODUCTION FROM MIXED MICROBIAL CULTURE BY USING DAIRY WASTEWATER AND FOOD WASTE AS RAW MATERIALS

SUMMARY

Petroleum-derived plastics are known for their long-term deterioration in nature and their environmental hazards, despite their widespread use. Today, bioplastics, which are candidates for replacing these plastics, are a kind of plastic derived from renewable biomass sources, but bioplastics have not yet reached the sufficient level of industrial production in the world due to their high costs.

The purpose of this master thesis: in the production of polyhydroxyalkanoate (PHA) which is the raw material of bioplastics, PHA-storing microorganisms are produced from waste-activated sludge with mixed culture and the carbon source, which is one of the factors responsible for high cost, is obtained from wastewater and/or solid wastes.

For this purpose, an experimental study was conducted aiming to increase PHA storage, storage amount and system configuration. In this study, milk wastewater and domestic organic solid waste were used as raw materials. The study was carried out in three stages.

Firstly, in order to enrich PHA-storing microbial culture, two lab-scale activated sludge systems consisted of sequencing batch reactors (SBRs) with working volume of 4 L were operated parallel to offer feast/famine (FF) (SBR-1) and anaerobic/aerobic/anoxic (AnAA) (SBR-2) growth conditions. Each reactor was initially seeded with excess activated sludge obtained from a municipal wastewater treatment plant for enrichment of PHA storing community, and fed with synthetic wastewater reflecting similar characteristics and COD fractions with domestic wastewater.

In order to offer feast/famine (FF) environment, SBR-1 operated with 5 h reaction phase followed by 1 h of settling, decanting and idle periods to provide substrate gradient. Simultaneous feeding and aeration were initiated at the beginning of each cycle. The influent wastewater flow-rate of 12 L/d was fed into the reactor with tCOD concentration of around 500 mg COD/L during the operation period of SBR-1. The lab-scale reactor was operated for more than 90 days and 12 days VFA feeding duration in a constant temperature room maintained at $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ under organic loading rate of 1.5 gCOD/L.d and sludge age of 3 and 6 days.

The experimental data required for the evaluation of PHA storage capability of anaerobic/aerobic growth conditions, SBR-2 was continuously operated in an anaerobic/aerobic/anoxic (AnA) sequence with a short post-aerobic phase to improve sludge settleability. This system was designed for organic carbon and nutrient removal. The reactor was operated in sequential cycles of 4 h: 60 min of anaerobic reaction including fast feeding of 5 min with a flow-rate of 15 L/d; 60 min of aeration; 45 min

of anoxic; 15 min of aeration to improve setting properties of the sludge; 60 min of settling, decanting and idle. The COD concentration of the wastewater was around 400 mg COD/L during the operation period of SBR-2. The lab-scale reactor was operated for more than 90 days and 12 days VFA feeding duration in a constant temperature room maintained at $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ under organic loading rate of 1.5 g COD/L.d, which is identical to the SBR-1, and sludge age of 8 and 12 days.

In the second stage, fermentation tests were carried out for acidification of milk wastewater and organic solid wastes, which were selected as two separate raw material sources. Fermentation experiments were performed in 1L glass bottles. The TS and VSS values of anaerobic inoculum sludge were 357 and 73 g/L, respectively. For dairy wastewater and organic solid waste, 7300 mg COD was calculated in each bottle. The experiments were carried out for both carbon sources at different F/M ratios (1, 2.5, 5, 10) for 6 days and the optimum values were determined as 4 days and F/M= 10. The VFA production was monitored during the tests by measuring acetic acid, propionic acid, valeric acid, butyric acid, isobutyric, valeric acid, isovaleric acid, caproic acid and heptanoic acid. Total VFA was calculated by conversion of each acid concentration to equivalent COD concentration. According to the results of the acidification test, 7.2 gCOD/L of dairy wastewater and 5.8 gCOD/L UYA for organic solid waste were obtained in the optimum condition.

In the third stage, the PHA production potential of the fermented dairy wastewater and organic food wastes was examined using acclimated activated sludge in SBRs as initial biomass under aerobic and anaerobic batch conditions. The food-to-microorganism (F/M) ratios used for these batch experiments were selected between 1-5 and identical for both VFA sources. The tests were initiated with the supernatant of acidified sources and biomass collected from sludge wastage line of each SBR systems. The acidification efficiencies were varied from batch to batch, thus the actual characterization was used for estimation of production of PHA derived from VFA produced in the experiments. VFA and PHA samples were collected every 30-60 minutes intervals for a period of 5h.

High concentrations of PHA were achieved with acidified food waste, while lower PHA concentration observed with acidified dairy wastewater during the entire accumulation tests. The highest yield in PHA production was obtained from organic solid waste and 67.3% PHA content per dry biomass weight was obtained by biomass enriched with FF regime with sludge age 3 day. In the case of the use of dairy wastewater as raw material, PHA content was 4.9%, and it was obtained from anaerobic-aerobic biomass with sludge age 8 day. The results show that PHA content of the activated sludge may be significantly different compared to F/M ratio and the source of fermented VFA. In this study, C / N = 21 for milk wastewater and C / N = 44 for organic solid waste. In terms of PHA production capacities, it was observed that organic solid waste with a high C / N ratio produced a higher yield of PHA. Due to high concentration of TKN in milk wastewater, nitrogen-restricted condition could not be achieved and PHA production was not seen as seen in organic solid waste.

According to data gathered in this study, production of 173 kg polymer from 1000 m³ of dairy wastewater, and 20.3 kg polymer from 1 tone of food waste is possible. The composition of resulting copolymer (PHBV) is suitable for the production of disposable items and food packaging materials.

This study shows that biopolymer production can be done by integrating the systems that can be installed in the wastewater treatment plants where the waste activated sludge will be obtained by using the wastes as the raw material source.





1. GİRİŞ

1.1 Çalışmanın Amacı

Son yıllarda biyolojik olarak parçalanabilir materyallerden en umut verici olarak karşımıza çıkanlardan birisi hemen hemen tüm bakteriler tarafından üretilen/depolanan polihidroksialkanoat (PHA) polimer ailesi olarak bilinmektedir. Polietilen ve polipropilene benzer özelliklere sahip PHA ürünleri, genellikle işletme ve hammadde kaynaklanan yüksek maliyetlerinden dolayı tercih sıralamasında sonraya kalmaktadır.

Bu çalışmanın amacı atıkların hammadde olarak kullanılmasıyla çevre dostu biyoplastiklerin dünyaya faydalı olmak üzere endüstriyel üretimde daha az maliyetle yer almasının önünün açılabilmesi için gerekli ön çalışmaların yapılmasıdır.

1.2 Konu ve Kapsam

Biyoplastiklerin PHA'dan üretilmesinde karbon kaynağı olarak kullanılacak hammaddenin yüksek maliyeti dolayısıyla ucuz ve uygun hammadde arayışında günden güne atık maddelere yönelim gerçekleşmektedir. Böylece bertaraf edilmesi ayrıca maliyet gerektiren atıklar/atıksular hammadde olarak kullanılarak ikili fayda sağlanabilecektir.

Bu çalışmanın konusu biyoplastiklerin hammaddesi olan polihidroksialkanoatların (PHA) üretimini optimize edecek sistem konfigürasyonunun önerilmesi, bu sistemin optimum koşullarının belirlenmesi ve elde edilecek PHA miktar ve kompozisyonunun belirlenmesidir. Bu konu kapsamında açlık-tokluk rejimi ve anaerobik-aerobik-anoksik rejim olmak üzere kültür zenginleştirme sistemleri iki ayrı reaktörde denenmiştir. Ayrıca süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık olmak üzere iki hammadde kaynağının asidifikasyon verimleri incelenerek kesikli deneylerle zenginleştirilmiş kültürde PHA üretimine katkıları incelenmiştir.



2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1 Plastikler ve Çevreye Etkileri

Polimerler, monomer adı verilen küçük moleküllerin art arda tekrarlı kümeleşmesi ile oluşan uzun zincirli makromoleküllerdir. Plastikler ise öncelikli olarak petrol kaynaklı bileşiklerden sentezlenen polimerlerdir.

Plastikler, termoplastikler ve termosetler olmak üzere iki türe ayrılır. Termoplastikler ısıtılarak ve soğutularak şekil verilebilen bir plastik türüdür. Günümüzde üretilen plastiklerin %90'ı termoplastiktir. Bu gruba örnek olarak polietilen (PE), polipropilen (PP), polietilen tereftalat (PET), polivinilklorür (PVC) ve polistiren (PS) verilebilir. Termosetler ise ısı veya başka yollarla şekillendirilip sertleştikten sonra yeniden işlenemez ve şekillendirilemezler. Epoksi (EP), poliüretan (PUR) ve ticari olarak teflon adıyla bilinen politetrafloroetilen (PTFE) termosetlere örnek olarak verilebilir (Stevens, 2002).

Petrol bazlı plastik malzemeler günlük yaşantımızda önemli bir rol oynamaktadır. Bu tür malzemelere yönelik artan talep iki temel sorun ortaya çıkarmaktadır: (i) azalan petrol rezervleri artık yakın gelecekte toplumdaki gelen yüksek talebi karşılayamayacaktır ve (ii) bu plastikler biyolojik olarak tamamen bozunmadığından, atık bertarafı önemli bir konu haline gelmektedir (Andreessen ve diğ., 2014).

Dünya genelinde günlük 89 milyon varil¹ ham petrol tüketilmektedir. Buna göre 1,5 trilyon varil olarak kanıtlanmış küresel ham petrol rezervlerinin 2060 yılında tükeneceği tahmin edilmektedir. 1 ton plastik üretilebilmesi için 1,8 ton ham petrol kullanılmakta ve bu proses sonucu 1,9 ton CO₂ salınımı gerçekleşmektedir (Bernard, 2014).

Petrol türevli plastiklerin doğaya ve canlılara birçok zararı bulunmaktadır. Bu plastikler doğada çok yavaş bir şekilde bozunmakta veya tamamen bozunmamakta ve zehirli son ürünlere dönüşebilmektedir. Bu konuda en önemli endişe son ürünlerin

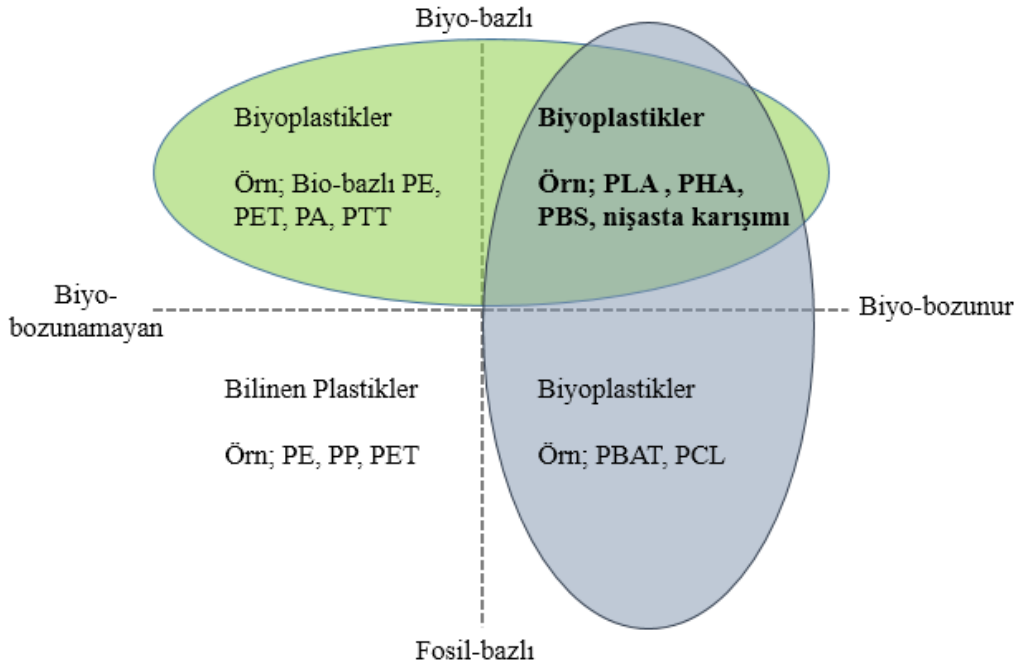
¹ 1 varil: 159 litre

doğrudan veya dolaylı olarak yeraltı sularına sızmasıyla besin zincirine ulaşması, insanlar dahil toksisite ve mutasyona neden olmasıdır (Bernard, 2014). Bazen de petrol türevli plastiklerin doğrudan zararları olabilmektedir. Örneğin; içecek ambalajı olan sert plastik yapımında kullanılan Bisfenol-A kimyasalı, mikrokirleticiler arasına girmiş olup endokrin bozucu (hormon bozucu) olarak bilinmektedir (Rubin, 2011).

2.2 Biyoplastikler

Biyoplastik, biyo-bazlı olan bitkisel yağlar ve yağlar, mısır nişastası, bezelye nişastası veya mikrobiyota gibi yenilenebilir biyokütle kaynaklarından elde edilen biyo-bozunur bir plastik türüdür.

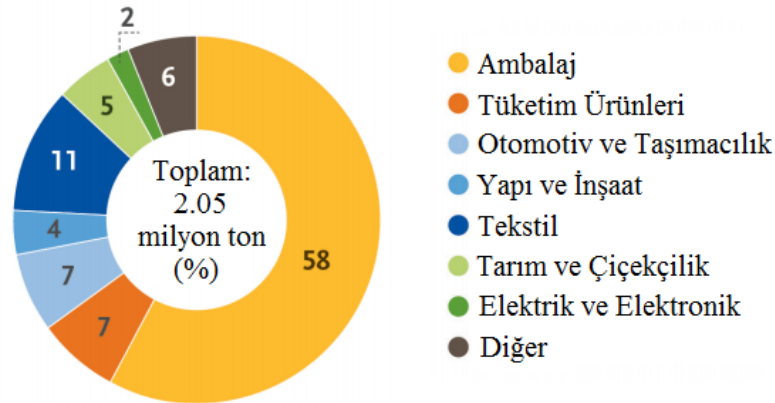
Tüm biyo-bazlı malzemelerin genellikle biyolojik olarak parçalanabilen ve aynı şekilde tüm biyolojik olarak parçalanabilen malzemelerin biyo-bazlı olmadığına anlaşılması önem taşımaktadır. Mikroorganizmalar tarafından uygun koşullar altında parçalanıp besin maddesi olarak kullanılabilen malzemeler biyo-bozunur olarak kabul edilmektedir (Ashter, 2016). Şekil 2.1’de biyo-bazlı içeriklerine ve biyo-bozunabilirliklerine göre plastik türlerinin sınıflandırıldığı bir malzeme koordinat sistemi verilmiştir. Koordinat sistemi biyo-bazlı, biyo-bozunabilir, fosil-bazlı ve biyo-bozunamayan olmak üzere dört bölüme ayrılmıştır.



Şekil 2.1 : Biyoplastiklerin şematik gösterimi (Pittmann ve diğ., 2016).

- Biyo-bazlı olup biyo-bozunamayan plastikler: PE, PET, PA ve PTT gibi,
- Biyo-bazlı ve biyo-bozunur plastikler: PLA, PHA ve PBS gibi,
- Fosil-bazlı olup biyo-bozunabilir plastikler: PBAT ve PCL gibi,
- Fosil-bazlı ve biyo-bozunamayan plastikler: geleneksel plastikler PE, PP, PS gibi.

Biyoplastikler petrol bazlı olmadıklarında dolayı 2025 yılına kadar plastik üretimi için kullanılan petrol tüketiminin %15-20 oranında azalması beklenmektedir. (Ashter, 2016). Şu anda biyoplastikler yıllık üretilen 320 milyon ton plastikten yaklaşık %1'ini temsil etmektedir. Avrupa Biyoplastik Birliği ve Nova Enstitüsü'nün derlediği piyasa verilerine göre küresel biyoplastik üretim kapasitesi 2017 yılında yaklaşık 2,05 milyon ton iken 2022 yılında yaklaşık 2,44 milyon tona çıkacağı öngörülmektedir. Ayrıca Şekil 2.2'de görüldüğü üzere biyoplastik pazarında en büyük paya %58 ile ambalaj sektörü sahiptir (www.european-bioplastics.org).



Şekil 2.2 : 2017 yılı sektörel küresel biyoplastik üretim kapasitesi (www.european-bioplastics.org).

Pittmann ve arkadaşları (2016) laboratuvar ölçeğinde yaptıkları deney sonuçlarına ve Alman atıksu arıtma tesislerinden elde ettikleri ayrıntılı verilere dayanarak 2015 yılı dünya çapındaki biyopolimer üretiminin %20'den fazlasını Almanya'daki olası teorik üretimin gerçekleştirebileceğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada Avrupa Birliği üyesi ülkeler hakkında daha derin bir tahmin yapılarak dünyadaki biyopolimer üretiminin %115'inin Avrupa atıksu arıtma tesislerinde üretilebileceğini göstermişlerdir.

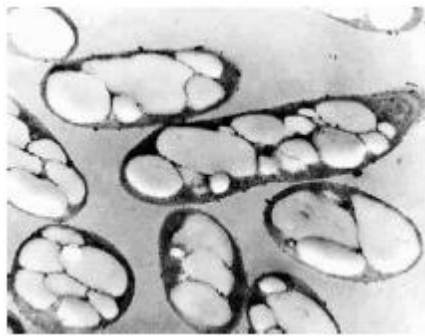
2.3 Polihidroksialkanoat (PHA)

Çeşitli mikroorganizmalar zorlu şartlar altında gerektiğinde kullanmak üzere hücre içi depolama yaparlar. Depolama türleri PHB, PHV, 3H2MV ve 3H2MB gibi çeşitli şekillerde olabilir. Bütün bu depo polimerlerinin genel adı polihidroksialkanoat (PHA) olarak bilinir (Rhu ve diğ., 2003). PHA üreten 300'den fazla farklı mikroorganizma olduğu ve PHA bileşeni olarak 100'den fazla monomer olduğu bulunmuştur (Paul ve diğ., 2012).

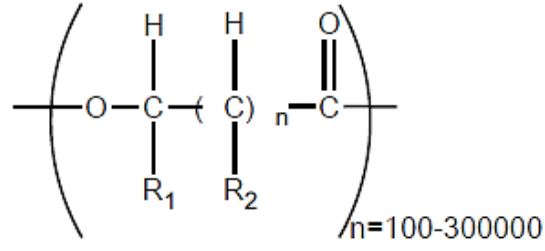
PHB ilk olarak 1925 yılında Fransız mikrobiyolog Lemoigne tarafından tanımlanmıştır. Lemoigne, izole ettiği *Bacillus megaterium* türünden kloroform ekstraksiyonuyla polimer elde etmiştir. Fakat PHB'ye ait genel bilgi 1973 yılında Dawes ve Senior tarafından özetlenmiştir. 1974 yılında ise Wallen ve Rohwedder aktif çamurdan PHB haricinde farklı türlerde PHA elde edilebileceğini belgelemiştir (Doi, 1990).

PHA üreten bakteriler, fototrofik bakteriler, arkeler, gram pozitif-gram negatif bakteriler, aerobik bakteriler ve anaerobik bakteriler gibi farklı taksonomik grupları içerir (Yang, 2007). PHA'lar, hücre içerisinde 0,2-0,5 µm çaplı ayrı granüller halinde depolanırlar (Yang, 2007).

Şekil 2.3'te PHA granüllerinin görüntüsü, Şekil 2.4'te PHA monomerlerinin genel kimyasal yapısı verilmiştir. "n" lineer polyester yapısındaki karbon sayısını, R1 ve R2 ise değişken hidrokarbon yan zincirlerini göstermektedir.



Şekil 2.3 : Geçirimli elektron mikroskobu altında *R. Eutropha* hücrelerinde depolanmış PHA granülleri (Hawaii Üniversitesi) (Yang, 2007).



$n=1, R_1=\text{CH}_3$ and $R_2=\text{H} \Rightarrow$ Poly(3-hydroxybutyrate)

$n=1, R_1=\text{CH}_2\text{CH}_3$ and $R_2=\text{H} \Rightarrow$ Poly(3-hydroxyvalerate)

$n=1, R_1=\text{CH}_2\text{CH}_3$ and $R_2=\text{CH}_3 \Rightarrow$ Poly(3-hydroxy-2-methylvalerate)

Şekil 2.4 : PHA'nın genel kimyasal yapısı(Carmo, 2013)

Hidroksialkanoatlar üç gruba ayrılabilirler: kısa zincirli hidroksialkanoatlar (scl-HA) 3-5 karbonlu olarak, orta uzunlukta zincirli hidroksialkanoatlar (mcl-HA) 6-14 karbonlu olarak ve uzun zincirli hidroksialkanoatlar (lcl-HA) 14'ten fazla karbonlu olarak bilinmektedirler (Pandey ve diğ., 2016; Kaur ve Roy, 2015).

Alkil grubun (R) boyutu, PHA'ların malzeme özelliklerini yüksek ölçüde etkilemektedir. Kısa zincirli PHA'ların metil ve etil grupları gibi küçük yan zincirleri yüksek gerilme modülü, yüksek kristallik ve kopmada düşük uzama ile sert malzeme özelliği gösterirken, orta uzunlukta zincirli PHA'ların büyük yan zincirleri nispeten düşük kristallik, kopmada yüksek uzama ve düşük erime sıcaklığına sahip elastik malzeme özelliği göstermektedirler (Yang, 2007). scl-PHA (kısa zincirli) polipropilene, mcl-PHA (orta uzunlukta zincirli) ise düşük yoğunluklu polietilene benzer özellikler taşımaktadır (Serafim, 2006). Çizelge 2.1'de petrol türevli plastiklerin ve tipik PHA'ların mekanik özellikleri verilmiştir.

Petrol türevli plastiklerin aksine, PHA yenilenebilir kaynaklardan üretilmekte ve bertaraf edilmek amacıyla mikroorganizmalar tarafından oksijenli ortamda karbondioksit ve suya kadar ayrıştırılabilmektedir (Mendez-Vilas, 2015). PHA biyoplastiklerinin uzun vadeli etkisi caziptir. Memeliler tarafından PHA'nın yutulması, hiçbir zararlı etki göstermemektedir. Mikroorganizmalar üzerinde ise ne polimer ne de yıkıma uğrayan ara maddeler toksik etki yaratmamaktadır (Bernard, 2014).

Çizelge 2.1 : Petrol türevli plastiklerin ve tipik PHA'ların mekanik özellikleri (Yang, 2007; Andreessen ve diğ., 2014).

Özellikler	Birim	PP	LDPE	P3HB	P3HV	P3HB 3HV
Erime Sıcaklığı, T_m	°C	168	123	177	119	140
Camlaşma Sıcaklığı, T_g	°C	-20	-36	4	-15	-1
Kristalleşme Derecesi, X_{cr}	%	60	30	70	-	60
Elastikiyet Katsayısı (Young Modülü), E	Gpa	1.3	0.4	3.5	-	0.8
Çekme Dayanımı, σ	Mpa	36	20	43	31	20
Kopma Uzaması, ϵ	%	350	530	5	14	50

Kısaltmalar: PP:polipropilen; LDPE:düşük yoğunluklu polietilen; P3HB:poli(3 hidroksibütirat); P3HV:poli(3 hidroksivalerat); P3HB3HV: poli(3-hidroksibütirat ile %10 mol 3-hidroksivalerat)

Depolanan PHA'nın hücre içinden çıkarılması ve saflaştırılması amacıyla kloroform, metilen klorid, 1,2-dikloroetan, propilen karbonat gibi çeşitli organik çözücülerle ekstraksiyon yapılabilmektedir (Doi, 1990).

PHA'lar tıbbi biyo-implantlardan biyoyakıtlara, yem katkı maddelerine, endotoksin giderimine, gıda kalitesinde yüzey aktif maddelere, kimyasallara, ilaçlara ve üç boyutlu baskı malzemelerine kadar değişen endüstriyel zincirde kullanılmaktadır (Pandey ve diğ., 2016). Uygun bakteriyel kültür seçimi, ucuz karbon kaynağı, verimli fermentasyon ve geri kazanım süreçleri PHA'nın ticarileştirilmesi için dikkate alınması gereken önemli hususlardır (Mendez-Vilas, 2015).

2.4 Karışık Mikrobiyal Kültürden PHA Üretimi

Günümüzde, PHA petrol türevli plastiklere alternatif bir malzeme olarak ticarileştirilmiş olsada çoğunlukla saf kültür sistemleri kullanılarak üretilmekte olup sağlanan aseptik şartlardan dolayı maliyeti yüksektir. Böylece PHA'ların geniş kullanımı sınırlanmakta ve petrol türevli plastiklerle rekabet edememektedir. Bu sebeple hiçbir sterilizasyona gerek duymayan ve atık/atıksu kullanılmasını sağlayan karışık mikrobiyal kültüre yönelim gerçekleşmiştir. Örneğin karışık kültür kullanılarak Açlık-tokluk stratejisiyle kağıt endüstrisi atıksuyundan maksimum PHA depolama kapasitesi hücre kuru ağırlığı başına %77 olarak elde edilmiştir (Fradinho ve diğ., 2016).

PHA üretiminde çoğunlukla glukozun besin olarak kullanıldığı saf kültürlerden farklı olarak, karma kültür biyoteknolojisinde, PHA üretimi için öncü olarak uçucu yağ asitleri (UYA) kullanılmaktadır (Kourmentza ve diğ., 2017). Karışık mikrobiyal kültür kullanılarak atık ve atıksulardan elde edilen PHA'ların üretimi genellikle belirli bir işlem sırası ile gerçekleştirilir: (1) UYA üretimi için asidojenik fermentasyon; (2) Atıksu arıtımı ile eşzamanlı olarak PHA depolayan biyokütlenin kültür gelişimi; (3) Biyokütlenin PHA içeriğini en üst düzeye çıkarabilmek için PHA akümüasyonu ve (4) Polimer geri kazanımı. Bu tür bir yaklaşım, atıksu ve atıklar bertaraf edilirken aynı zamanda değerli ürün üretimini içeren entegre bir yaklaşımdır (Bengtsson ve diğ., 2017).

Chua ve arkadaşları (2003) atıksu arıtma tesisinde karışık kültürle PHA üretimi üzerine yaptıkları çalışmada sadece atıksu ile beslenen sistemde PHA içeriğini biyokütlenin %20'si, asetat içeren atıksu ile beslendiğinde ise biyokütlenin %30'u olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada çamur yaşının 3 iken çamur yaşı 10 olduğu zamana göre daha iyi PHA depolama kapasitesi elde ettiklerini belirtmişlerdir.

2.5 Kültür Zenginleştirme

Atık aktif çamurun PHA üretiminde kullanılmasında ardışık kesikli reaktörlerde fermente atık/atıksuların beslenmesiyle farklı sistem konfigürasyonları uygulanmaktadır (Saharan ve diğ., 2014). Son on yıldır, orta çöktürme fazı olan aerobik dinamik besleme, azot kısıtlı aerobik dinamik besleme, aydınlatılmış AKR ile fotosentetik, ışısız tokluk fazıyla fotosentetik, sürekli tokluk fazıyla fotosentetik, aerobik-anoksik, anoksik-aerobik, mikroaerofilik olmak üzere bir çok kültür geliştirme sistemi kullanılmakla birlikte hala en çok kullanılan sistemler açlık-tokluk ismiyle de bilinen aerobik dinamik besleme ve anaerobik-aerobik sistemlerdir (Kourmentza ve diğ., 2017; Saharan ve diğ., 2014). Çizelge 2.2'de bu iki kültür geliştirme sisteminin temel özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.2 : Kültür geliştirme sistemlerinin temel özeti (Kourmentza ve diğ., 2017)

Anaerobik-Aerobik (AN/AE) Kültür Geliştirme		
	Tokluk	Açlık
Havalandırma	Yok	Var
e⁻ alıcısı	PHA	Oksijen
Enerji kaynağı	Glikojen/Polifosfat	PHA oksidasyonu
Karbon kaynağı	Dış substrat	PHA
PHA depolama için stres koşulu	Elektron alıcısı eksikliği* Substratın geçici varlığı***	

Aerobik Dinamik Besleme (Açlık-Tokluk) ile Kültür Geliştirme		
	Tokluk	Açlık
Havalandırma	Var	Var
e⁻ alıcısı	Oksijen	Oksijen
Enerji kaynağı	Substrat oksidasyonu	PHA Oksidasyonu
Karbon kaynağı	Dış substrat	PHA
Azot kullanımı	Var**	Var**
PHA depolama için stres koşulu	Substratın geçici varlığı***	

*e⁻ alıcısı eksikliğinin stres koşulu olmasına rağmen bu kısıtlama bu kültürlerin PHA üretmesinde zorunluluk değildir, aerobik koşulda da üretebilir.

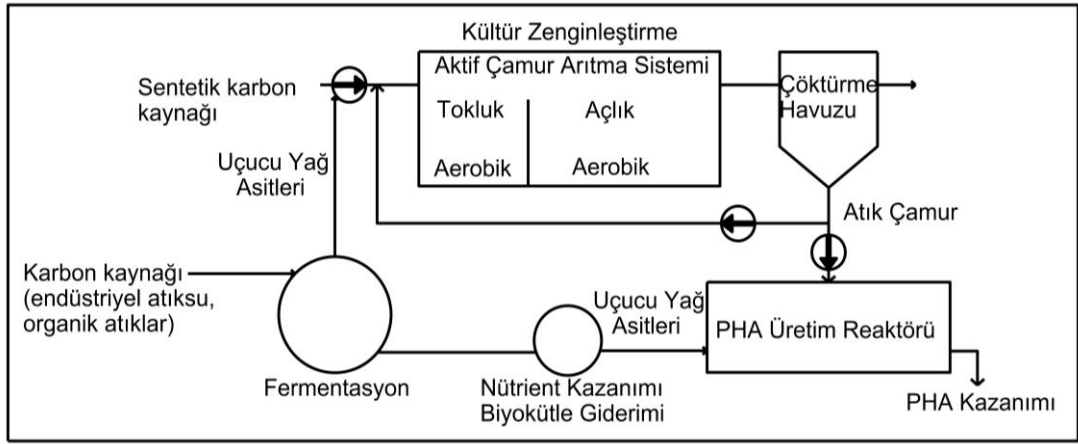
**Çeşitli C/N oranları, açlık veya tokluk fazında azot kısıtlaması ile sonuçlanmıştır. Bununla birlikte pek çok geniş çaplı konfigürasyon her iki fazda da azot kullanımı sağlayabilir.

***Substratın geçici varlığı, depolanan PHA'yı tüketen açlık fazında büyüme; içsel büyüme faktörlerinin sınırlandırılması; substrat ilavesinde PHA üreticilerinin daha yüksek depolama ile yanıt vermesi aşamalarını sağlar.

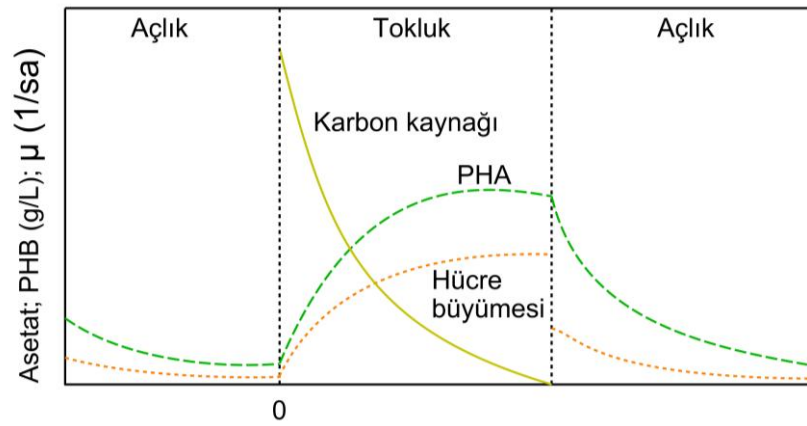
2.5.1 Açlık – Tokluk rejimi

Günümüzde açlık tokluk rejimi, karışık mikrobiyal kültürden PHA üretim sistemlerinde PHA depolayan mikroorganizmaları seçmek için en yaygın uygulanan stratejidir (Fradinho ve diğ., 2016). Açlık tokluk rejiminde PHA depolanmasını sağlayan sınırlayıcı faktör karbon kaynağı mevcudiyetidir. Bu rejimde süreç mikroorganizmaların aerobik koşulda aşırı miktarda karbon kaynağına tabi tutulması ve sonrasında yine aerobik koşulda uzun süreli karbon eksikliği yaşamalarına bağlı olarak işlemektedir (Kourmentza ve diğ., 2017). Açlık-tokluk rejiminin kullanıldığı bir sistemin şematik gösterimi Şekil 2.5'te, açlık ve tokluk fazlarına göre PHA üretimi, karbon kaynağı tüketimi ve hücre büyümesindeki eş zamanlı değişiklikleri gösteren çizim ise Şekil 2.6'da verilmiştir.

PHA aerobik koşullar altında asetil-CoA ile asetattan, propiyonil-CoA ile propiyonattan, hidroksilasil-CoA ile bütirat ve valerattan ve beta oksidasyonuyla uzun yağ asitlerinden üretilebilir (Kootstra, 2017).



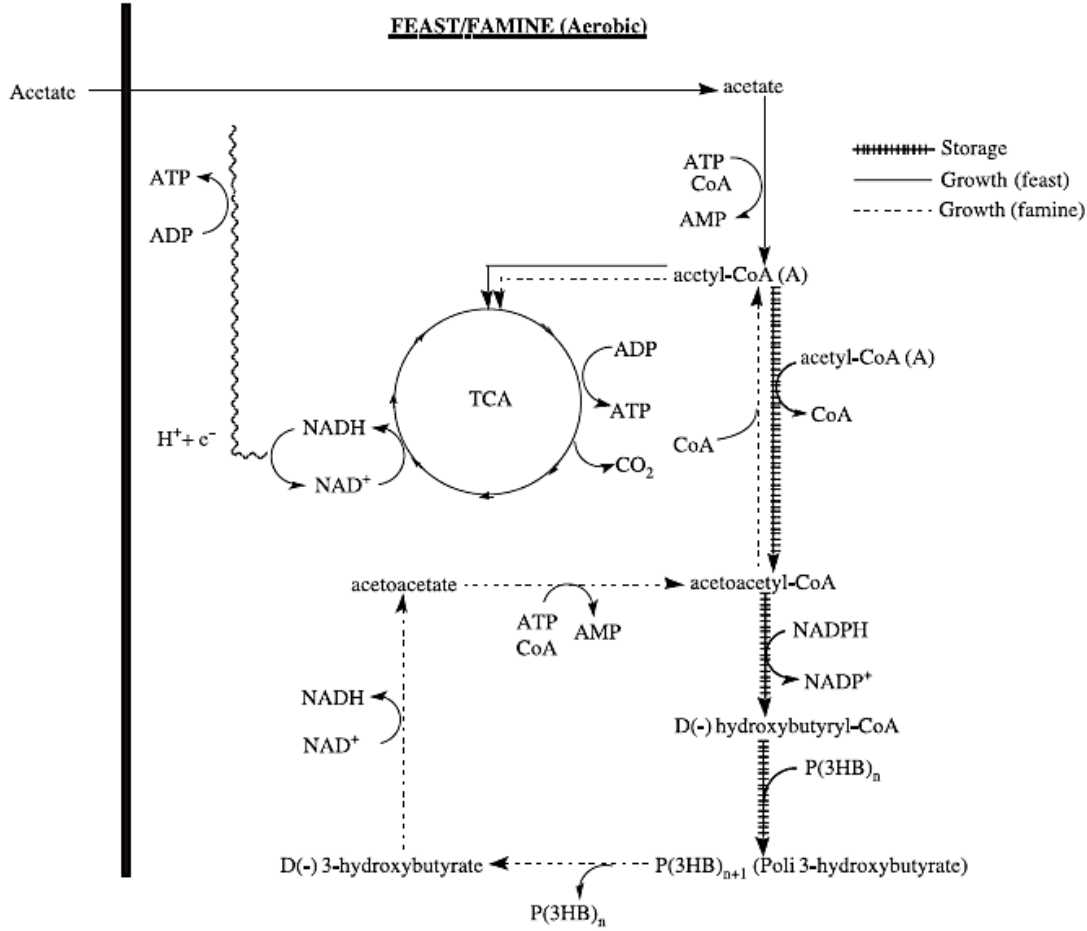
Şekil 2.5 : Açlık-Tokluk rejimi sistem konfigürasyonu (Paul ve Liu, 2012).



Şekil 2.6 : Açlık-Tokluk rejiminde fazlara göre karbon kaynağı, PHA ve hücre büyümesi değişimi (Serafim, 2006).

Besi maddesi mevcudiyetinin (tokluk fazı) ardışık periyotlarına maruz bırakılan biyokütle ve besi maddesinin sistemde mevcut olmadığı (açlık periyodu) durum literatürde sıklıkla dengesiz büyüme olarak adlandırılmaktadır. Dinamik koşullar altında, biyokütlenin büyümesi ve polimerin depolanması, fazladan bir dış besi maddesi olduğunda eşzamanlı olarak meydana gelmektedir. Tüm harici besi maddesi tüketildiğinde, depolanmış polimer karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılabilir (Şekil 2.7). Bu durumda, depolama polimerleri, büyüme sınırlaması olmayan koşullar altında oluşturulmaktadır. Depolama olayı genellikle büyüme üzerinde baskındır, ancak uzun bir süre boyunca besi maddesinin sürekli olarak bulunduğu koşullar altında, fizyolojik adaptasyon gerçekleşmekte ve büyüme daha önemli hale gelmektedir. Geçici besi maddesi tedariki ile karşılaşıldığında PHA depolayabilme yeteneği olan mikroorganizmalar, bu kabiliyete sahip olmayanlara kıyasla bir rekabet avantajı sağlamaktadır. Bu yaklaşım, besi maddesinin PHA'ya

dönüşümünü sağlarken glikojen veya polifosfat gibi diğer hücre içi materyallere dönüşmemesini sağlamaktadır (Salehizadeh ve diğ., 2004).



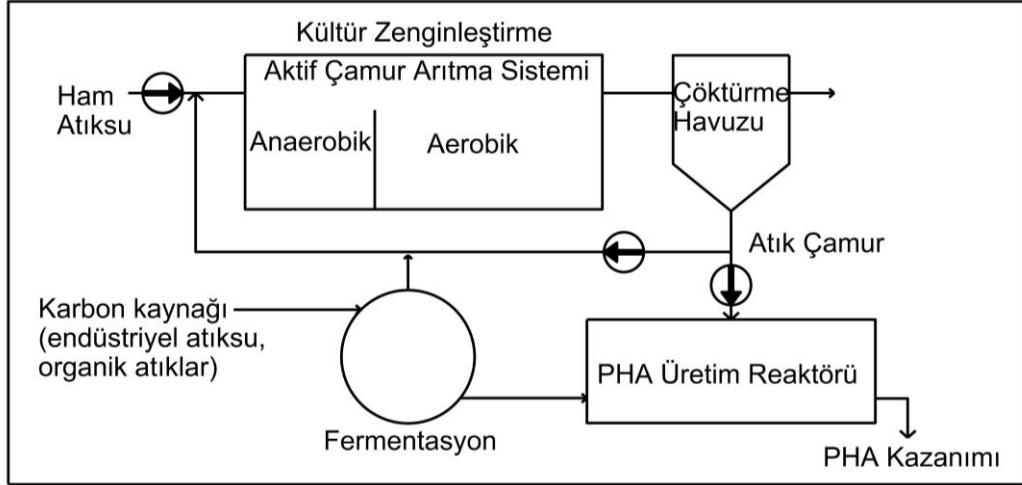
Şekil 2.7 : Açlık-Tokluk rejiminde PHA üretim metabolizması (Salehizadeh ve diğ., 2004).

Chen ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada aktif çamurdan PHA üreten bakteri grubunun zenginleştirilmesinde açlık-tokluk rejimiyle çalışan ve fermente şeker kamışı atıksuyu ile beslenen ardışık kesikli reaktör işletmişlerdir. Buna göre %61,26 PHA içeriği olan zenginleştirilmiş kültürü elde etmek için optimum işletme koşullarını, çamur yaşı 5 gün, karbon konsantrasyonu 2,52 gKOİ/L ve başlangıç biyokütle konsantrasyonu 3,65 g/L olarak belirlemişlerdir.

2.5.2 Anaerobik-Aerobik rejim

Karışık kültürlerde PHA üretimi ilk olarak aerobik-anaerobik aşamaları içeren atıksu arıtma tesislerinde aktif çamur ile biyolojik fosfor gideriminde gözlenmiştir. Böylece PHA depolayan mikroorganizma topluluğunu zenginleştirmeye yönelik ilk girişimler bu koşulların kopyalanmasıyla gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.8). Bu sistemde fosfat

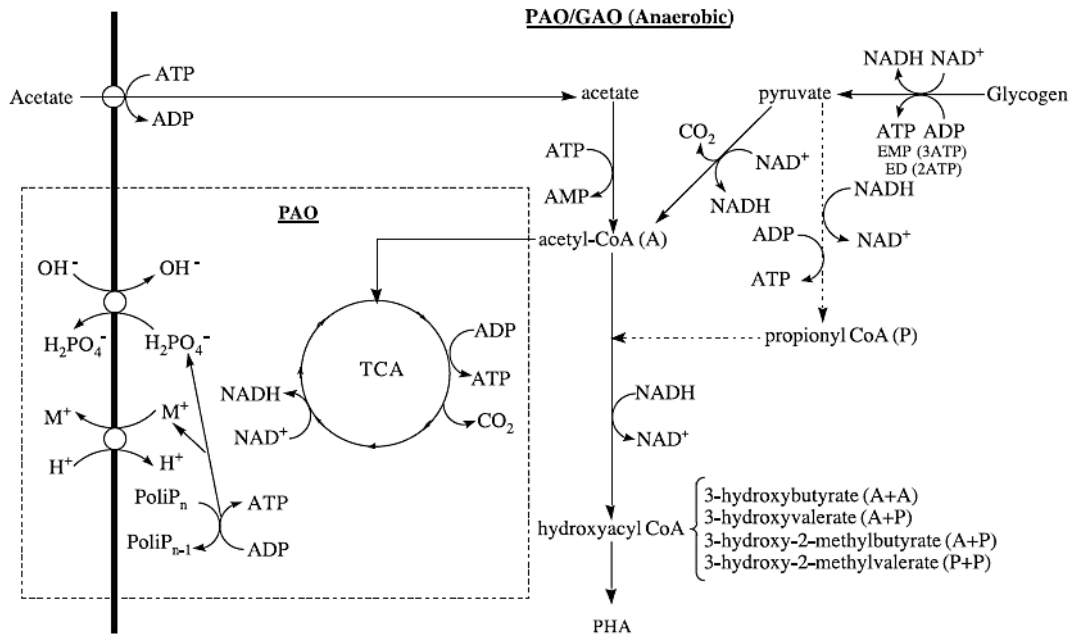
akümüle eden (PAO) ve glikojen akümüle eden (GAO) organizmalar, e^- alıcısının sınırlandırıldığı anaerobik fazda PHA üretmeleriyle tanımlanmışlardır. Bu mikroorganizmalar aerobik fazda mevcut oksijeni kullanarak hücre içi depolanan PHA'yı tüketirken daha yüksek ATP verimi elde ederler (Kourmetza ve diğ., 2017).



Şekil 2.8 : Anaerobik-Aerobik rejim sistem konfigürasyonu (Paul ve Liu, 2012).

Biyolojik fosfor giderimi yapan sistemle birlikte PHA üretiminin eşzamanlı yapılması etkili bir yöntem olabilmektedir. Fosfor akümüle eden organizmalar (PAO) ilk olarak Wallen ve Rohwedder tarafından bulunmuştur. Bu organizmalar PHA'yı anaerobik faz altında polifosfat yıkımından türetilen enerji ile depolamaktadırlar. Aynı şekilde glikojen akümüle eden organizmalar da (GAO) uçucu yağ asitlerini bünyelerine alarak asetil-CoA ve propiyonil-CoA ile PHA'ya dönüştürebilmektedirler. Fakat aynı zamanda bu mikroorganizmalar anaerobik fazda glikojen ve polifosfat depolaması da yaptıklarından dolayı PHA üretim kapasitesi sınırlanmaktadır (Saharan ve diğ., 2014; Kourmetza ve diğ., 2017). Şekil 2.9'da anaerobik (PAO/GAO) rejimde PHA üretim metabolizması verilmiştir.

Aktif çamur anaerobik koşullar altında hücre kuru ağırlığının yaklaşık % 20'si kadar PHA'yı depolayabilir (Salehizadeh ve diğ., 2004). Bununla birlikte, 1990'ların sonlarında aerobik dinamik beslenme yöntemi ile zenginleştirme çalışmaları yapılmış, daha yüksek PHA içeriği elde edilmiştir ve dolayısıyla anaerobik-aerobik araştırma çalışmaları sınırlı kalmıştır. Fakat ileri araştırmalar anaerobik-aerobik sistemlerin aerobik dinamik beslemeye kıyasla havalandırma gereksinimleri açısından enerji maliyetinden tasarruf edilebilen faydalı sistemler olduğunu kanıtlayabilir (Kourmetza ve diğ., 2017).



Şekil 2.9 : Anaerobik-Aerobik rejimde PHA üretim metabolizması (Salehizadeh ve diğ., 2004).

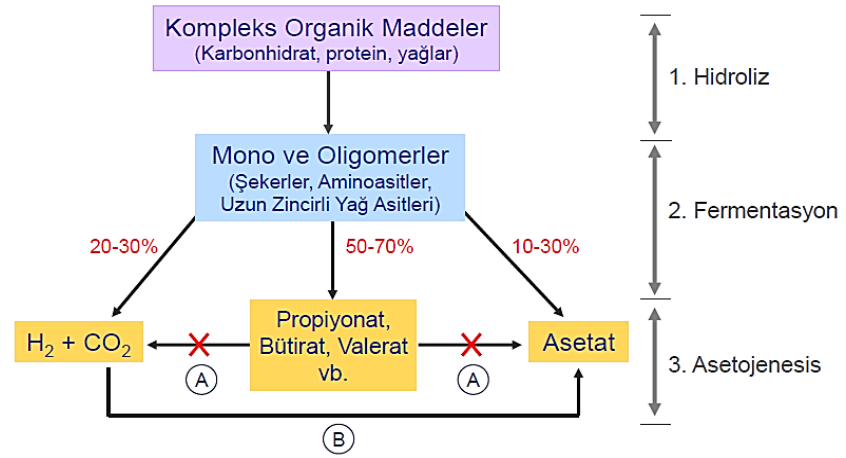
2.6 PHA Üretiminde Atıkların Hammadde Olarak Kullanılması

PHA üretiminde toplam üretim maliyetinin %40-48'inin hammadde kaynaklı olduğu söylenmektedir (Rodriguez-Perez ve diğ., 2018). Günümüzün boru sonu atıkları ve atıksularını yenilenebilir hammaddeler üreten biyorafinerilere dönüştürmek mümkün görünmektedir (Bengtsson ve diğ., 2017). PHA üretimi için üç tip yenilenebilir hammadde bulunmaktadır: tahıllar veya bunların bileşenleri, tarım ve ormancılık biyokütlesi ve endüstriyel atıklar/atıksular (Yang, 2007). Görece yüksek UYA konsantrasyonlarına sahip endüstriyel atıksuların arıtılması esnasında PHA depolayan mikroorganizma grubunun kültür gelişiminin mümkün olduğu kanıtlanmıştır (Bengtsson ve diğ., 2017).

Çalışmalar substrat bileşimi, konsantrasyonu ve tüketiminin üretilen PHA türünü de değiştirdiğini rapor etmektedir. Ayrıca pH ve sıcaklığın da PHA üretimini ve bileşimini etkilediği belirtilmiştir (Saharan ve diğ., 2014). Asetat, propiyonat ve bütirat kullanılarak yapılan PHA sentezinde HB ve HV cinsinden depolama olduğu görülmüştür. Laktat, malat, süksinat, pirüvat, propiyonat ve aspartatın substrat olarak kullanılmasıyla HB/HV kopolimerlerinin yanında 3H2MV ve 3H2MB'de üretilmiştir (Salehizadeh ve diğ., 2004).

Aktif çamur AN/AE ve aerobik dinamik besleme (ADF) sistemiyle ardışık kesikli reaktörde zenginleştirilebilmektedir. UYA içeriği polimerin içeriğini ve yapısını etkilemektedir. Aerobik ortamda fermente gıda atıklarıyla PHA depolama %39,6 seviyesindeyken fermente edilmemiş gıda atıklarında bu oran %35,6 seviyesinde kalmaktadır. Bu durum fermente edilen organik atıkların, kullanımından önce ayrıştırılması gereken kompleks organik besi maddelerine göre daha verimli tüketildiğini göstermektedir (Saharan ve diğ., 2014).

UYA'lar anaerobik fermentasyonla iki aşamada üretilir: ilk aşama hidroliz fazı ve ikinci aşama asidifikasyon fazıdır. Hidroliz fazında kompleks organik maddeler amino asitler, şekerler ve uzun zincirli yağ asitlerine dönüştürülmekte, asidifikasyon fazında ise bu bileşenler uçucu yağ asitleri ve alkollere dönüştürülmektedir (Kootstra, 2017). Anaerobik fermentasyon aşamalarından asetojenesiste (Şekil 2.10) sintrofik-asetojenesis (A) propiyonat ve bütiratın anaerobik olarak asetat ve H₂'e oksitlenmesinden sorumludur, homo-asetojenesis (B) ise CO₂ ve H₂'den tek son ürün olarak asetat üretiminden sorumludur (Çallı ve Tuğdaş, 2010). Metan üretim safhası (metanojenesis) pH ya da fermentasyon süresi ile engellenmektedir.



Şekil 2.10 : Anaerobik fermentasyon ile UYA üretimi (Çallı ve Tuğdaş, 2010).

2.6.1 Süt endüstrisi atıksuyu

Süt endüstrisi genellikle birçok ülkede gıda işleme atıksularının en büyük kaynağı olarak kabul edilmektedir. Bu endüstrinin yüksek çeşitlilik gösteren doğası nedeniyle, çeşitli ürün işleme, taşıma ve paketlenme işlemleri, farklı kalite ve miktarlarda atıklar oluşturmaktadır. Genel olarak, süt işleme endüstrisinden elde edilen atıklar, proteinler,

karbonhidratlar ve lipitler gibi yüksek konsantrasyonlarda organik madde, yüksek konsantrasyonlarda KOİ içermektedir (Wang ve diğ., 2004).

Süt endüstrisinde oluşan atıksuların bir kısmı proses ve ekipman arızaları kaynaklı olmakla birlikte çoğu yıkamadan kaynaklanmaktadır. Yıkama yapılan ekipmanlar, üretim çevrimleri arasındaki taşıma hatları ve ekipmanları, tankerler, süt siloları olarak sayılabilir (Demirel ve diğ., 2004). Süt endüstrisi işlenen 1 litre süt başına ortalama 2-6 litre süt atıksuyu oluşturmaktadır (RAC/CP, 2002). Bir başka kaynakta ise bu değer 0,2-10 litre, ortalamada 2,5 litre atıksu olarak verilmiştir (Shete ve Shinkar, 2013).

Süt endüstrisi süt, tereyağı, yoğurt, dondurma, çeşitli tatlılar ve peynir gibi farklı ürünler ürettiğinden, bu tür atıkların özellikleri, sistemin türüne ve kullanılan işletim yöntemlerine bağlı olarak büyük ölçüde farklılık göstermektedir (Demirel ve diğ., 2004). Bu sebeple süt endüstrisi atıksuyu KOİ konsantrasyonu 80–95000 mg/L gibi geniş bir aralıkta değer vermektedir (Chokshi ve diğ., 2016).

Yu ve Fang'ın (2002) yaptıkları çalışmada KOİ'nin %48,4'ünün UYA'ya dönüştüğünü belirtmiş ve biyokütle verimini pH 5,5'te 0,32 mgUAKM/mgKOİ olarak elde etmişlerdir. Aynı çalışmada asetat, propiyonat, bütirat ve etanolün ana ürünler olduğunu, pH 4-4,5 arasında propiyonat ve etanol ağırlıklı üretim olurken pH 6-6,5 arasında asetat ve bütirat ağırlıklı üretim olduğunu belirtmişlerdir (Yu ve Fang, 2002).

Chakravarty ve arkadaşları (2010), süt ve dondurma proses atıksuyundan pilot ölçekli sistemde PHA üretimi üzerine yaptıkları çalışmada atıksuyu fermente ederek kullanmış ve yaklaşık %43 PHA içeriği elde etmişlerdir. PHA üretim verimini ise 0,25 kg PHA/kg KOİ olarak belirtmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada Bosco ve Chiampo (2010) süt endüstrisi atıksuyundan pH ayarlaması olmadan ürettikleri PHA yüzdesini 13,82 gPHA/gUAKM olarak bulmuşlardır.

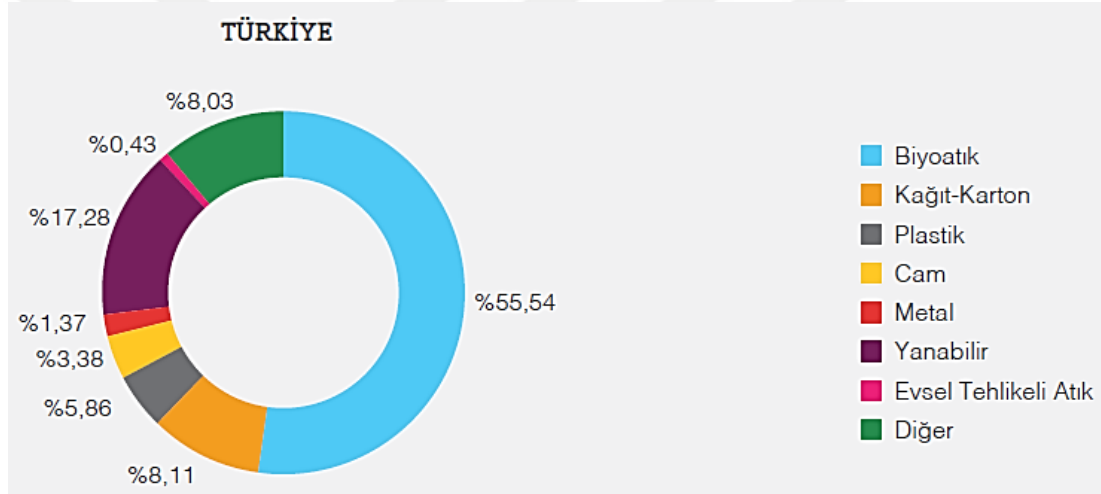
2.6.2 Evsel organik katı atık

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), insanlar için üretilen gıda maddelerinin küresel olarak üçte birinin atık olarak sonlandığını ve bunun da yılda 1,3 milyar ton olduğunu tahmin etmektedir (www.fao.org). Gıda israfı küresel bir konudur ve bu nedenle gıda atıkları değerli biyoürünler yaratma potansiyeline sahiptir. Avrupa'da 57 milyar tonu evsel kaynaklı ve yemek hizmeti kaynaklı olmak üzere

yılda yaklaşık 88 milyon ton gıda israf edildiği tahmin edilmektedir (Nielsen ve diğ., 2017).

Belediye atıklarına gelecek olursak Avrupa Birliği ülkelerinde 2015 yılında %40-60'ı organik olan 241 milyon ton belediye atığı toplanmıştır (Vea ve diğ., 2018). TÜİK belediye atık istatistiklerine göre ise 2016 yılında belediyelerce 31,6 milyon ton katı atık toplanmıştır. Bu atıkların sadece %9,8'i geri dönüşüm tesislerine gönderilirken %61,2'si düzenli depolama tesislerine gönderilmiştir. Ayrıca 2016 yılı kişi başı toplanan günlük ortalama atık miktarı 1,17kg olarak hesaplanmıştır (www.tuik.gov.tr).

Evsel katı atıkların yaklaşık %50'sinin organik atık olduğu bilinmektedir (Garcia ve diğ., 2018). Türkiye'de ise 2016 verilerine göre bu değer %55,54'e kadar çıktığı görülmektedir (Şekil 2.11).



Şekil 2.11 : Türkiye atık karakterizasyonu (T.C Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2016).

Yeşil (2013) tez çalışmasında organik katı atığın KOİ'sini $332,8 \pm 25,2$ g/kg olarak belirtmiştir. Bir diğer kaynakta KOİ'nin 102-954 g/kg arasında değiştiği belirtilmiştir (Cavinato ve diğ., 2017). İTÜ yemekhane atığıyla ilgili yapılan bir başka tez çalışmasında organik atığın KOİ'si 373781 mg/L olarak bulunmuştur (Kasarıcı, 2012). Kim ve arkadaşları (2015) 50 adet öğütülmüş evsel organik katı atık numunesi üzerinde karakterizasyon çalışmaları yapmış ve 1 gram kuru atığın KOİ: BOİ₅: AKM: TN: TP oranını sırasıyla 1,21: 0,58: 0,36: 0,025: 0,013 olarak bulmuşlardır.

Evsel katı atığın organik kısmı üzerine yapılan çalışmalarda elde edilen UYA miktarının 63-263 gUYA/kgKOİ aralığında değişen değerler verdiği belirtilmiştir (Cavinato ve diğ., 2017). Garcia ve arkadaşları (2018) evsel organik atıktan pH kontrolü olmaksızın yaptıkları deneylerde en yüksek UYA dönüşüm verimine 111 ± 20

mgKÖI/g atık olarak 6-7 günlük fermentasyon aşamasından sonra ulaşmışlardır. Bir diğer çalışmada Wang ve arkadaşları (2014) 20 günde pH 6'da gıda atıklarından anaerobik fermentasyon ile 51,3 gKÖI/L konsantrasyonunda UYA elde etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada asetik asit ve bütirik asidin baskın bileşenler olduğu belirtilmiştir (Wang ve diğ., 2014).

Çallı ve Tuğtaş (2010) evsel organik katı atık ile yaptıkları çalışmada 2 kg atıktan 100 günde 66 g UYA üretebildiklerini belirtmektedirler. Bu çalışmada elde edilen UYA'nın %35'i asetat, %27'si bütirat, %14'ü propiyonat, %12'si valerat ve %8'i kaproat formundadır. Bu çalışmada fermentasyon esnasında metan gazı üretimi kaynaklı kayda değer bir UYA kullanımı olmadığı sonucuna varıldığından elde edilen UYA'nın karbon kaynağı olarak PHA üretimi, azot giderimi, biyo-elektrik ve biyo-hidrojen gibi farklı alanlarda kullanılabileceği ile ilgili öneriler sunulmaktadır. Evsel katı atıkların organik kısmı üzerine yapılan bir başka çalışmada Colombo ve arkadaşları (2017) UYA üretimini 151gUYA/kg organik atık olarak elde etmişlerdir. Çalışmanın devamında karışık mikrobiyal kültür ile kg organik atık başına 33,22±4,2 g PHA üretimi sağlamışlardır. Bu çalışma asidik fermentasyonu optimize ederek evsel katı atıkların organik kısmından yüksek miktarda UYA elde edilmesi ve bunun da PHA'ya dönüştürülmesinin mümkün olabileceğini göstermektedir.

Rhu ve arkadaşları (2003) gıda atıklarından PHA üretiminde oksijen ve besi maddesi kısıtlı koşulları kullanarak ardışık kesikli reaktör işletmişlerdir. Bu çalışmada fosfor kısıtlı anaerobik-aerobik sistemde maksimum PHA içeriğini %51, üretim verimini ise 25 kgPHA/1ton gıda atığı olarak elde etmişlerdir. PHB/PHA oranı ise yüksek asetat konsantrasyonu nedeniyle 0,74-0,77 aralığında bulunmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Ardışık Kesikli Reaktörler

PHA depolayan mikroorganizma grubunun üretilmesi amacıyla kültür seçimine yönelik sentetik atıksu (evsel karakterli) ile beslenen ve besi maddesi giderimi yapan iki adet ardışık kesikli reaktör (AKR) kurulmuştur. AKR'ler için gerekli biyolojik aktif çamur, İstanbul'daki bir ileri biyolojik atıksu arıtma tesisinin havalandırma havuzundan temin edilmiştir. Bu reaktörler AKR-1 ve AKR-2 olarak isimlendirilmiştir. Her iki reaktör farklı çamur yaşlarında işletilmiştir. İşletme koşullarına göre de Set1, Set2, Set3, Set4, *Set2 ve *Set4 olarak isimlendirilmiştir. *Set2 ve *Set4 işletme koşullarında reaktörlere de UYA beslemesi yapılarak PHA depolama kapasitelerindeki değişime bakılmıştır. Reaktör hacimleri 4 L olarak seçilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 : Reaktörlerin işletme koşulları.

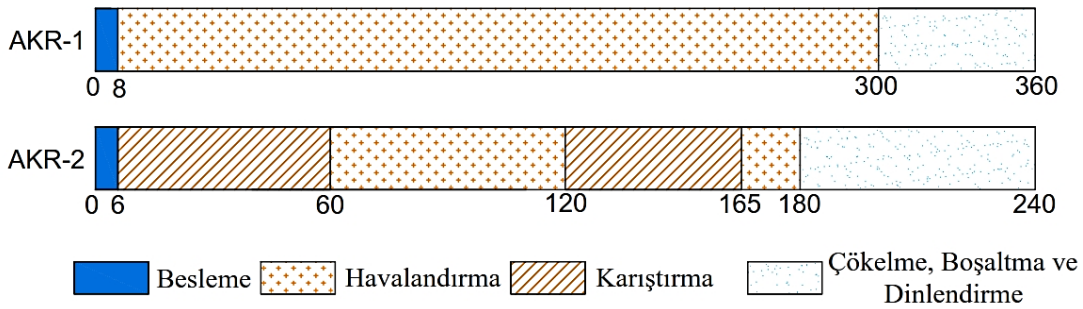
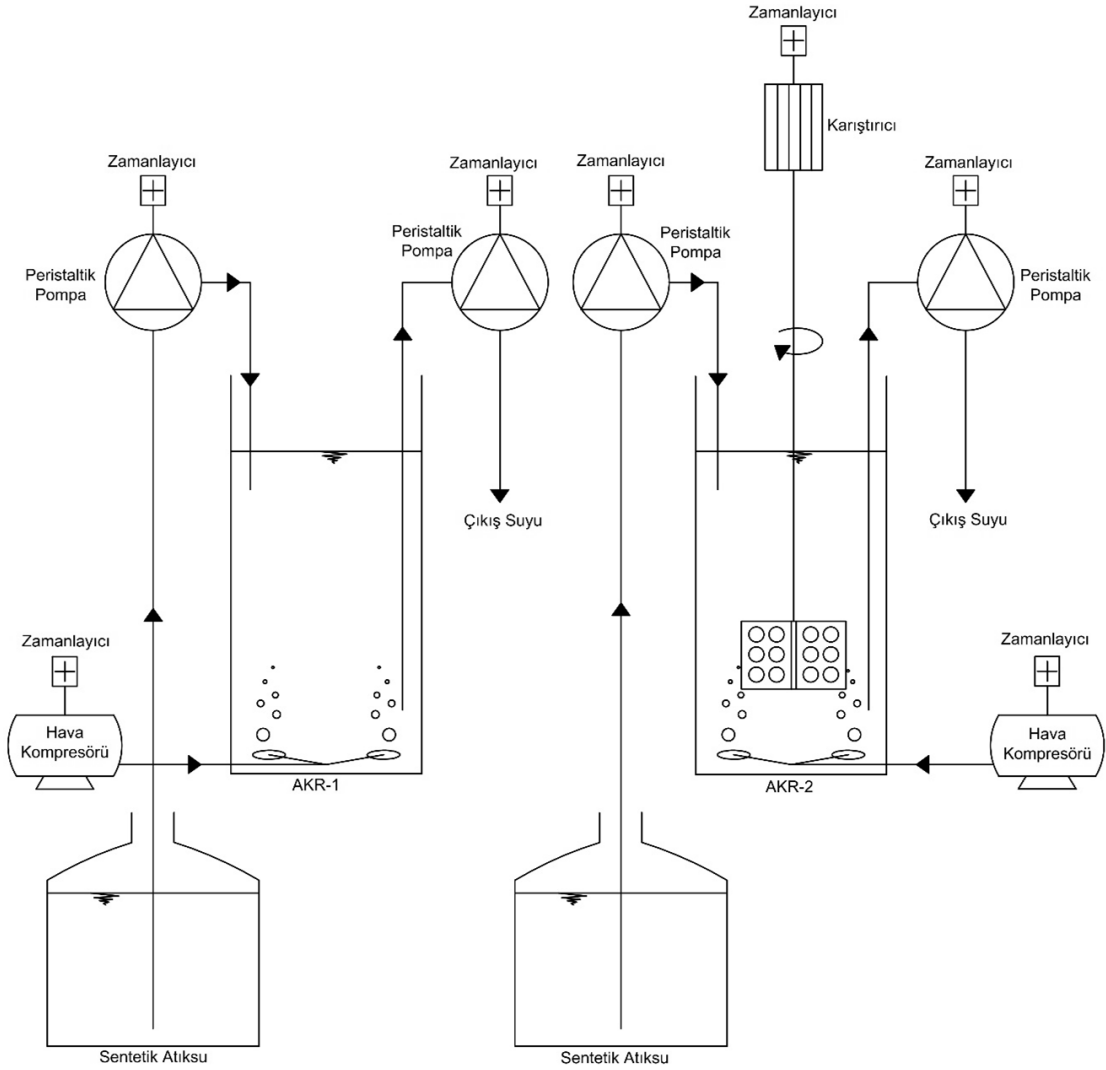
AKR-1 (Açlık-Tokluk)	AKR-2 (Anaerobik-Aerobik-Anoksik)
Tc = 6 saat	Tc = 4 saat
m = 4 çevrim/gün	m = 6 çevrim/gün
SRT = 3 gün (Set1) ve 6 gün (Set2,*Set2)	SRT = 8 gün (Set3) ve 12 gün (Set4,*Set4)
Organik Yükleme Oranı = 1,5 gKOİ/L.gün	Organik Yükleme Oranı = 1,5 gKOİ/L.gün
Q = 12 L/gün	Q = 15 L/gün
Besleme = 500 mg KOİ/L	Besleme = 400 mg KOİ/L
Reaktör Hacmi = 4 L	Reaktör Hacmi = 4 L

AKR-1 Açlık-Tokluk rejiminde (aerobik dinamik besleme) ve günde 4 çevrim yapacak şekilde işletilmiştir. Her bir çevrim 300 dakika havalandırma fazı ve 60 dakika çökeltme-boşaltma fazından meydana gelmektedir. AKR-1'de 3 gün ve 6 gün olmak üzere iki farklı çamur yaşı denenmiştir. 500 mgKOİ/L sentetik atıksu ile 12L/gün debisinde ve 1,5 gKOİ/L.gün organik yükleme oranında besleme yapılmıştır.

AKR-2 ise Anerobik-Aerobik rejimde ve günde 6 çevrim yapacak şekilde işletilmiştir. Her bir çevrim 60 dakika karıştırma, 60 dakika havalandırma, 45 dakika havasız karıştırma, çökelmenin iyileştirilmesi için 15 dakika son havalandırma ve 60 dakika

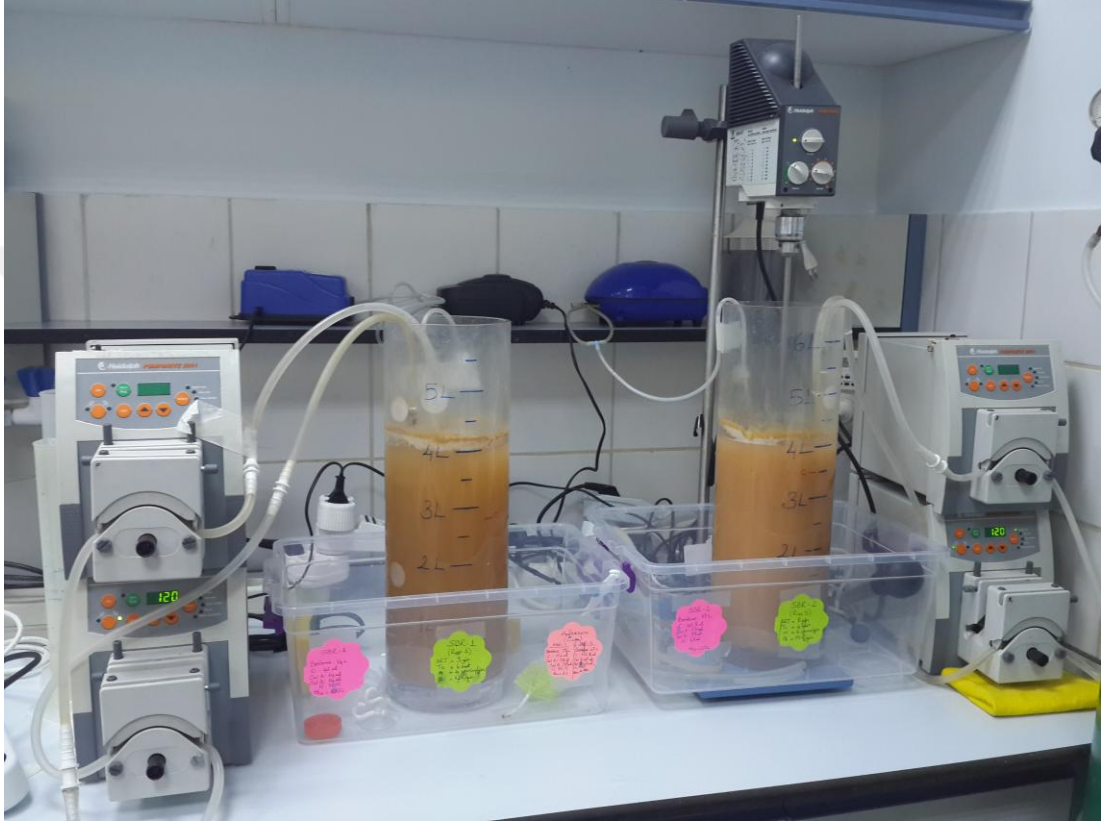
çökeltme-boşaltma fazından meydana gelmektedir. AKR-2’de 8 gün ve 12 gün olmak üzere iki farklı çamur yaşı denenmiştir. 400 mgKOİ/L sentetik atıksu ile 15L/gün debisinde 1,5 gKOİ/L.gün organik yüklenme oranında besleme yapılmıştır.

Reaktörlerin her ikisi de toplamda 96 gün çalıştırılmıştır. *Set2 ve *Set4 koşulları için reaktörlere 12 gün süreyle uçucu yağ asidi beslemesi yapılmıştır.



Şekil 3.1 : Reaktörlere ait şematik gösterim ve reaktörlerin çevrim döğüleri.

Reaktörlerde besleme ve boşaltma peristaltik pompa vasıtasıyla sağlanmıştır. Çamur yaşını sağlamak amacıyla günlük çamur atma işlemi ise manuel olarak yapılmıştır. Pompalar, hava kompresörleri ve mekanik karıştırıcı zamanlayıcılara bağlı olarak çalıştırılmıştır (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2).



Şekil 3.2 : Reaktörlerin işletme aşamasından bir görünüm.

3.2 Sentetik Atıksu

Sentetik atıksu, evsel atıksu karakterli olacak şekilde karbon kaynağı, makro nütrientler ve mikro nütrientleri içeren ayrı stok çözeltiler olarak hazırlanıp stok çözeltilerin belirli miktarda musluk suyuna karıştırılmasıyla hazırlanmıştır.

Karbon kaynağı %30 Glukoz, %30 Pepton, %20 Nişasta, %15 Maya ve %5 Sodyum asetat içerecek şekilde hazırlanmıştır (Morgan-Sagastume ve diğ., 2014). Nişasta sıcak suda çözündürüldüğünden dolayı karbon kaynağı stok çözeltisinden ayrı olarak hazırlanmıştır. Gerekli azot, fosfor ve iz elementler ise makro nütrientler çözeltisi (Solüsyon A) ve mikro mütrientler çözeltisinden (Solüsyon B) karşılanmıştır. AKR-1

için 500 mgKOİ/L olacak şekilde sentetik atıksu hazırlamak için 1L suya karbon kaynağı stok çözeltisinden 3 ml, nişasta çözeltisinden 5 ml, Solüsyon A'dan 1 ml, Solüsyon B'den 1 ml ilave edilmiştir. AKR-2 için ise 400 mgKOİ/L olacak şekilde sentetik atıksu hazırlamak için 1L suya karbon kaynağı stok çözeltisinden 2,4 ml, nişasta çözeltisinden 4 ml, Solüsyon A'dan 1 ml, Solüsyon B'den 1 ml ilave edilmiştir (Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2 : Sentetik atıksu karakterizasyonu.

Parametre	Sonuçlar
KOİ	500 mg/L
TN	52 mg/L
TP	10 mg/L
pH	7,07

Çizelge 3.3 : Makro ve mikro nütrient çözeltilerinin içeriği.

Stok Çözeltisi	İçerik	Miktar (g/L)
Solüsyon A	KH ₂ PO ₄	26,3
	K ₂ HPO ₄	22,5
	NH ₄ Cl	152,9
Solüsyon B	MgSO ₄ .7H ₂ O	15
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,5
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,5
	MnCl ₂ .2H ₂ O	0,41
	CaCl ₂ .2H ₂ O	2,65

*Set2 ve *Set4 işletme koşullarında reaktörlere ayrıca UYA beslemesi yapılmıştır. UYA çözeltisi sentetik olarak her iki reaktör için toplam 140 mgUYA/L içerecek şekilde 125mg/L asetik asit ve 15mg/L propiyonik asitten hazırlanmıştır.

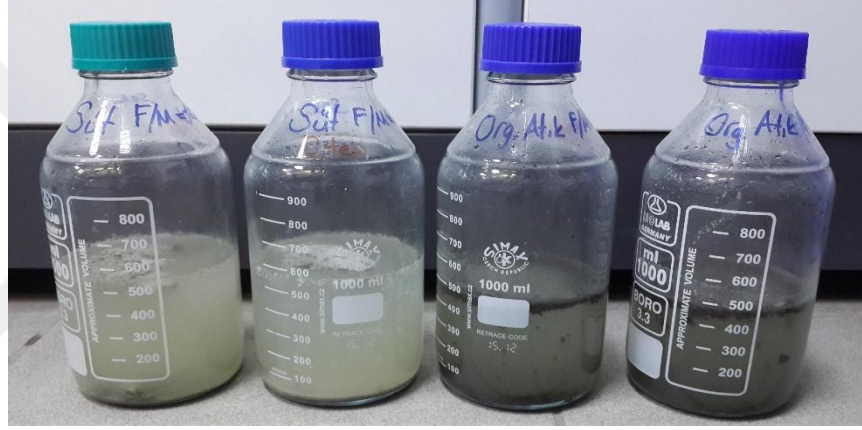
3.3 Hammadde (Karbon Kaynağı)

PHA elde edilmesinde PHA bileşimine ve miktarına etkilerini gözlemek amacıyla süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık olmak üzere iki farklı hammadde karbon kaynağı olarak kullanılmıştır. Süt endüstrisi atıksuyunu simüle etmek üzere atıksu sentetik olarak kutu süt kullanılarak hazırlanmıştır. 150 ml sütün 1 L'ye tamamlanmasıyla elde edilen atıksuyun karakterizasyon deneyleri tekrarlı olmak üzere yapılmış KOİ, TKN ve TP değerleri sırasıyla 14550±355 mg/L, 700±20 mg/L ve 132±0,3 mg/L olarak belirlenmiştir.

Organik katı atık ise İstanbul Teknik Üniversitesi yemekhanesinden temin edilmiş olup içeriğinde tavuk, sebze, makarna ve baklagil bulunmaktadır. Organik katı atık parçalayıcıdan geçirilip seyreltilerek kullanılmıştır. Organik katı atık için de karakterizasyon deneyleri tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. 1 g organik katı atığın KOİ, TKN, TP ve kuru ağırlık yüzdesi sırasıyla 343 ± 22 mg/g, $7,8\pm 0,8$ mg/g, $3,5\pm 0,4$ mg/g ve %28,5 olarak ölçülmüştür.

3.4 Fermentasyon Deneyleri

PHA elde edilmesinde hammadde (karbon kaynağı) olarak kullanılması planlanan süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atığın asidifikasyonunun sağlanması amacıyla öncelikle fermentasyon ön deneme deneyleri yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 : Süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık fermentasyon deneyleri.

Fermentasyon deneyleri 1L'lik cam şişelerde yapılmıştır. Anaerobik aşı çamurunun AKM ve UAKM değeri sırasıyla 357 ve 73 g/L'dir. Süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık için her şişede 7300 mg KOİ bulunacak şekilde hesaplama yapılmış ve dört farklı F/M oranında (F/M=1, F/M=2,5, F/M=5 ve F/M=10) deneyler yürütülmüştür. Fermentasyon şişelerine süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık numuneleri konulup anaerobik aşı çamuru eklenmiştir. Atıksuyun ve katı atığın pH değerleri 6-7 aralığında olduğundan pH ayarlaması yapılmamıştır. Fermentasyon şişeleri azot gazından geçirilerek $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 6 gün bekletilmiştir. Şişelerden her gün numune alınarak $0,22\ \mu\text{m}$ gözenek çaplı kartuş filtreden süzülüp Gaz Kromatografi cihazında uçucu yağ asidi(UYA) okumaları yapılmıştır. Süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık için optimum UYA değerini veren gün 4. gün F/M oranı ise 10 olarak tespit edilmiş ve PHA depolama deneylerinde 4. gün F/M=10 fermentasyon üstsuyu kullanılmıştır.

3.5 Kesikli PHA Depolama Deneyleri

Bütün işletme koşulları için ardışık kesikli reaktörlerden atılan çamur ile süt endüstrisi atıksuyu fermentasyon üstsuyu ve organik katı atık fermentasyon üstsuyu kullanılarak farklı F/M oranları (F/M=1-5 arası) için PHA depolama deneyleri yapılmıştır (Şekil 3.4). Bu deneyler öncesinde her işletme koşulu için reaktör izleme deneyleri yapılarak o reaktörün çevrimi boyunca KOİ, PHA ve anyon analizi için iyon kromatografi numuneleri alınmıştır.



Şekil 3.4 : Kesikli PHA depolama deneyleri.

PHA depolama deneyleri kesikli deneyler olup 1L'lik beherlerde Set1 ve Set3 işletme koşulunda 5 saat süreyle farklı F/M oranlarında aerobik ve anaerobik olmak üzere farklı koşullarda denenmiştir.

Bu deneylerden elde edilen sonuçlara göre Set2, Set4, *Set2 ve *Set4 işletme koşullarında ise deneyler 6 saat süreyle ve aerobik olarak yürütülmüştür. Çizelge 3.4'te yürütülen deneylerdeki hedeflenen F/M oranına göre biyokütle ve fermentasyon üstsuyu hacimleri verilmiştir.

Reaktörlerden alınan çamura ve fermentasyon üstsuyuna askıda katı madde ve uçucu askıda katı madde deneyleri yapılmıştır. Fermente üstsular 3500 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek tortusundan arındırılıp kullanılmıştır. Deneyin yapıldığı 5-6 saat süresince ilk iki saat her yarım saatte bir, sonraki saatlerde ise saat başı PHA ve UYA numuneleri alınmıştır.

Çizelge 3.4 : Kesikli PHA depolama deneyi verileri.

Reaktör	İşletme Koşulu	Kesikli PHA Depolama Deneyi Verileri			
		Hedeflenen F/M Oranı	Biyokütle Hacmi (ml)	Süt Atıksuyu Fermentasyon Üstsuyu Hacmi (ml)	Organik Atık Fermentasyon Üstsuyu Hacmi (ml)
AKR-1	Set1	2	333	140	165
		3,5	333	250	290
		5	333	360	420
AKR-2	Set3	2	125	135	160
		3,5	125	245	285
		5	125	345	400
AKR-1	Set2	3,5	330	285	335
AKR-2	Set4	3,5	165	230	270
AKR-1	* Set2	3,5	330	495	580
AKR-2	* Set4	3,5	165	270	315

3.6 Analizler

3.6.1 Uçucu Yağ Asidi (UYA)

Süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atığın fermentasyonu sonucu elde edilen üstsuyun UYA içeriğini (asetik asit, propiyonik asit, valerik asit, formik asit, bütirik asit, izobütirik asit, izovalerik asit, kaproik asit, heptanoik asit) ve PHA depolama deneyleri boyunca UYA miktarındaki değişimi belirlemek için yapılmıştır. 2 ml numune şırınga ile çekilerek 0,22 µm gözenek çaplı kartuş filtreden geçirilmiş ve cam viallere alınmıştır. Numuneler bekletilmeden DB-FFAP-Organik asit kolonlu (0,53 mm, 30 m, 1 µm) gaz kromatografında (Agilent 6890N) ölçümleri yapılmıştır. Cihaz, sonuçları mgUYA/L cinsinden vermektedir. Sonrasında sonuçlar asitlerin tam karbon oksidasyonuna göre oksijenle tepkimeye girmesinden elde edilen katsayı ile çarpılarak mgKOİ/L birimine dönüştürülmüştür.

3.6.2 Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)

KOİ deneyi, reaktörlerin proses işleyişlerinin izlemelerinde, fermentasyon öncesi süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atığın KOİ'sinin belirlenmesinde ve sentetik atıksu hazırlama aşamasında kullanılmıştır.

3.6.2.1 Kapalı yöntem

Kapalı Yöntem KOİ Standart Yöntemler'e göre ölçülmüştür (APHA, 2005). KOİ'si 400 mg/L'ye kadar olan numunelerde kapalı yöntem uygulanmıştır. Çözünmüş KOİ numuneleri 0,45 µm gözenek çaplı kartuş filtereden geçirilmiştir. 2,5 ml numune cam tüpe alınıp üzerine 1,5 ml potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ve çeker ocak altında 3,5 ml gümüşlü sülfirik asit eklenmiştir. Numuneler çift tekrarlı olmak üzere hazırlanmıştır ve numunelerin kapakları kapatıldıktan sonra 150°C termoreaktörde 2 saat parçalama işlemi yapılmıştır. Şahit için numune yerine 2,5 ml distile su kullanılmıştır. Parçalama işlemi sonrasında numuneler termoreaktörden alınarak oda sıcaklığına kadar soğuması beklenmiştir. Soğuyan numunelerin üzerine 2 damla ferroin indikatörü ilave edilerek mavi-yeşil renkten kiremit kırmızısı rengine dönene kadar standart demir amonyum sülfat (DAS) çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon işlemi otomatik titratör kullanılarak yapılmıştır. Her KOİ deneyinde DAS'ın standardizasyonu yapılmıştır. Bunun için 9 ml distile suyun üzerine 4,5 ml potasyum dikromat ilave edilmiştir. Sonrasında 2 damla ferroin indikatörü eklenerek DAS ile titre edilmiştir.

3.6.2.2 Açık Yöntem

Açık Yöntem KOİ, ISO6060 prosedürüne uygun olarak ölçülmüştür. KOİ'si 400 – 700 mg/L arasında olan numunelerde açık yöntem kullanılmıştır. Şilifli erlene 10 ml numune alınıp üzerine 3 adet borasilikat cam boncuk atılmıştır. Sonrasında 5 ml potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ve çeker ocak altında 15 ml gümüşlü sülfirik asit eklenmiştir. Numuneler çift tekrarlı olarak hazırlanmıştır. Erlenler soğutma suyu önceden açılan geri soğutucuya takılarak ısıtıcı üzerinde 2 saat kaynatılmıştır. 2 saat sonunda ısıtıcı kapatılıp erlenler oda sıcaklığına geldiğinde soğutucu 45 ml distile su ile yıkanmıştır. Soğutucudan çıkarıldıktan sonra numunelerin üzerine 2 damla ferroin indikatörü ilave edilerek mavi-yeşil renkten kiremit kırmızısı rengine dönene kadar standart demir amonyum sülfat (DAS) çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon işlemi otomatik titratör kullanılarak yapılmıştır. Her KOİ deneyinde DAS'ın standardizasyonu yapılmıştır. Bunun için 10 ml potasyum dikromat çözeltisi 4 mol/L sülfirik asit (H_2SO_4) çözeltisi ile 100 ml'ye seyreltilmiş ve 2 damla ferroin indikatörü damlatılarak DAS ile titre edilmiştir.

Kapalı ve açık yöntem KOİ ölçümünde numune, şahit ve standardizasyon sarfiyatları kaydedilerek aşağıda verilen formül (3.1)'e göre KOİ konsantrasyonu hesaplanmıştır.

$$\text{KOİ (mg/L)} = \frac{(a - b) \times N \times 8000}{V} \quad (3.1)$$

a: Şahidin DAS sarfiyatı (ml)

b: Numunenin DAS sarfiyatı (ml)

N: DAS çözeltisinin Normalitesi

V: Numune hacmi (ml)

3.6.3 AKM ve UAKM

Askıda Katı Madde (AKM) ve Uçucu Askıda Katı Madde (UAKM) deneyleri Standart Yöntemler'e göre yapılmıştır (APHA, 2005). Reaktörlerin haftalık olarak AKM ve UAKM deneyleri yapılmıştır. Ayrıca PHA depolama deneyleri öncesinde reaktörlere ve fermentasyon üstsularına yapılmıştır. Öncelikle standart cam elyafı filtreler (Millipore AP40) sabit tartıma getirilmek üzere 20 ml distile su ile yıkandıktan sonra 103-105°C'de 1 saat kurutulmuş ve desikatörde 30 dakika bekletilerek darası alınmıştır. Askıda katı madde tayini için 5ml veya 10 ml numune süzme setinde süzildükten sonra filtreler 103-105°C'de 1 saat kurutulmuş ve desikatörde 30 dakika bekletilip tartılmıştır. Uçucu askıda katı madde tayini için ise askıda katı madde tayini sonrası tartılan filtreler 550°C'de 30 dakika yakılmış ve desikatörde 30 dakika bekletilerek tartılmıştır. Askıda katı madde ve uçucu askıda katı madde hesapları aşağıda formül (3.2) ve (3.3)'te verilmiştir.

$$\text{AKM (mg/L)} = \frac{(B - A) \times 1000}{\text{Numune Hacmi (ml)}} \quad (3.2)$$

$$\text{UAKM (mg/L)} = \frac{(B - C) \times 1000}{\text{Numune Hacmi (ml)}} \quad (3.3)$$

A: Filtre Darası (g)

B: 103-105°C'de kurutma sonrası filtre tartımı (g)

C: 550°C'de yakma sonrası filtre tartımı (g)

3.6.4 Toplam Kjeldahl Azotu (TKN)

TKN deneyi Standart Yöntemler Makro-Kjeldahl metodu kullanılarak yapılmıştır (APHA, 2005). Çizelge 3.5'e göre numune hacmi belirlendikten sonra alınan numune

azot balonuna aktarılmıştır. Hacmi 300 ml'den az olan numuneler distile su ile 300 ml'ye tamamlanmıştır. Balon içine 3-4 adet borasilikat cam boncuk atılıp 50 ml hazım ayraç ilave edilmiş ve karıştırıldıktan sonra parçalama ünitesine yerleştirilmiştir. Parçalama işlemi sırasında balon içerisinde SO₂ dumanı görülmeye başlandıktan sonra 30 dakika daha kaynatılmıştır. Parçalama işlemi sonunda balondaki numune şeffaf ve açık yeşil bir hal almış ve soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan numune üzerine 300 ml distile su eklenmiş ve çözünmesi beklenmiştir.

Çizelge 3.5 : TKN deneyi için Standart Yöntemler'de verilen numune hacimleri (APHA, 2005).

TKN-N (mg/L)	Numune Hacmi (ml)
0-1	500
1-10	250
10-20	100
20-50	50
50-100	25

Distilasyon ünitesi çıkışına içinde 50 ml indikatörlü borik asit çözeltisi bulunan erlen yerleştirilmiştir. Sonrasında 50 ml nötralizasyon ayraç ilave edilen balonlar önceden distile su ile temizliği yapılmış ve soğutma suyu açılmış distilasyon ünitesine takılmıştır. Erlen içeriği 250 ml oluncaya kadar distilasyon işlemine devam edilmiştir. Distilasyon ünitesinden alınan erlen içeriği 0,02 N standart sülfürik asit çözeltisi ile rengi yeşilden açık leylak rengine dönene kadar titre edilmiştir. Şahit numune için deney distile su ile aynı işlemler yapılarak tekrarlanmış ve TKN-N aşağıda verilen formül (3.4)'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{TKN} - \text{N (mg/L)} = \frac{(A - B)N \times 14 \times 1000}{V \text{ (ml)}} \quad (3.4)$$

A : Numune için titrasyonda harcanan H₂SO₄ çözeltisi hacmi (ml)

B : Şahit için titrasyonda harcanan H₂SO₄ çözeltisi hacmi (ml)

N : Standart H₂SO₄ çözeltisinin normalitesi

V : Numune hacmi (ml)

3.6.5 Toplam Fosfor (TP)

TP deneyi Standart Yöntemler'e göre yapılmıştır (APHA, 2005). Tam karışımli numunede 5ml alınıp mikro-kjeldahl balonuna aktarılmış ve içerisine 2-3 adet borosilikat cam boncuk atılmıştır. Üzerine 1 ml konsantre sülfirik asit (H_2SO_4) ve 5 ml konsantre nitrik asit (HNO_3) ilave edilerek havalandırma sistemi önceden açılmış parçalama ünitesine yerleştirilmiştir. Mikro-kjeldahl balonunda 1 ml numune kalana kadar parçalama işlemi sürdürülmüştür. Soğuyan numunenin üzerine 20 ml distile su ilave edildikten sonra 1 damla fenolfitalein indikatörü damlatılmış ve pembe renk elde edilinceye kadar 1 N NaOH çözeltisi ile nötralize edilmiştir. Balon içeriği kaba filtreden süzülerek 100 ml'lik balon jojeye aktarılmıştır. Numune 100 ml'ye distile su ile tamamlandıktan sonra üzerine 4 ml amonyum molibdat çözeltisi eklenmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonrasında 0,5 ml kalay klorür çözeltisi ilave edilerek mavi renk gelişimi için 10 dakika bekletilmiş ve spektrofotometrede 690 nm dalga boyunda hemen ölçümü sağlanmıştır. Deney şahit numune için distile su ile ayrıca yürütülmüştür. TP kalibrasyon eğrisine göre mg/L cinsinden hesaplanmıştır.

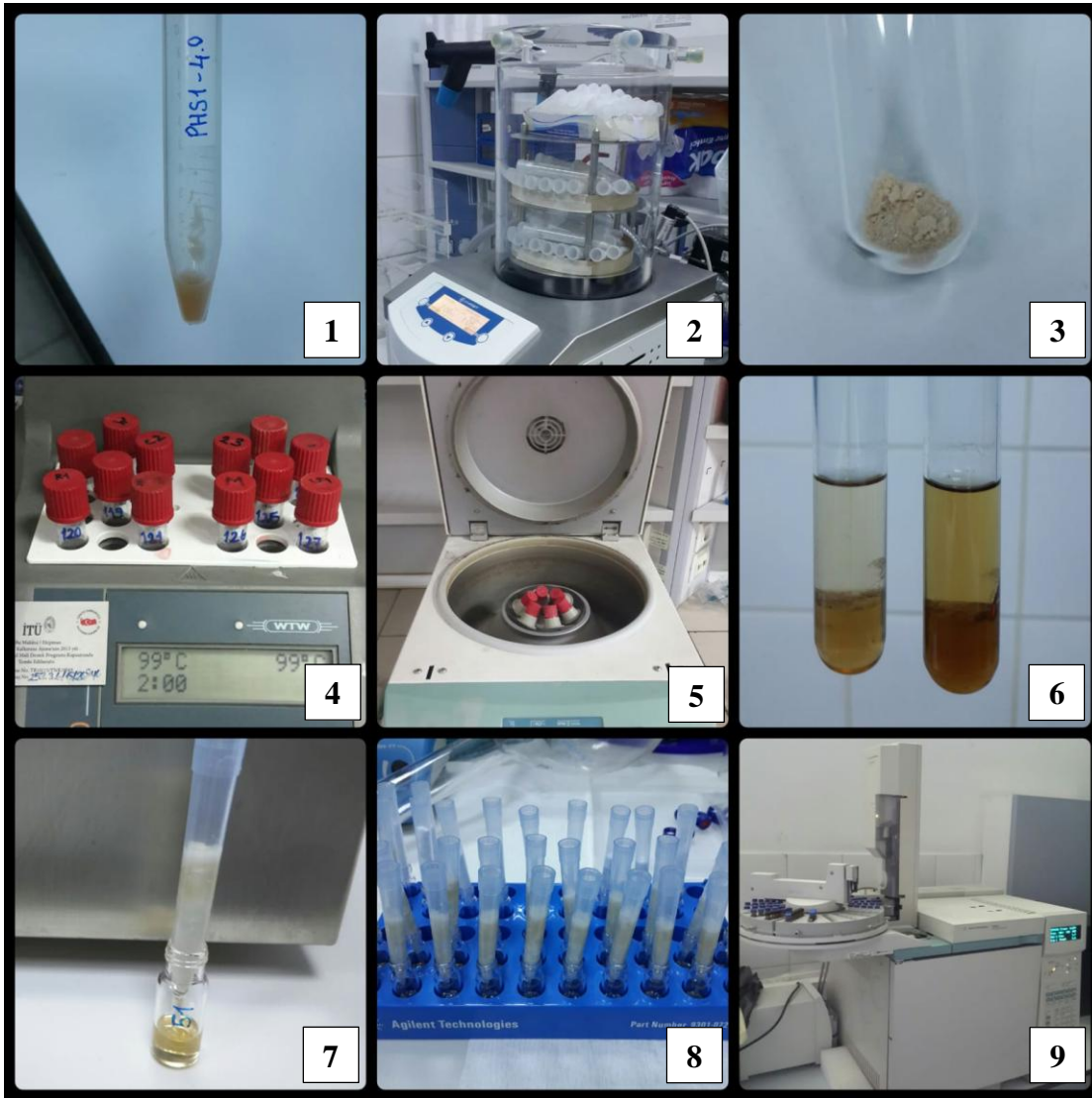
3.6.6 Anyonlar

Sistem kontrolü amaçlı anyon tayini (PO_4 , NO_2 , NO_3 , SO_4 , Cl) "Dionex Aquion" iyon kromatograf kullanılarak yapılmıştır. Numuneler 0,22 μm gözenek çaplı kartuş filtreden süzülerek HDPE kaplara alınmış ve cihazda ölçümü yapılmıştır.

3.6.7 PHA

PHA ölçümleri Beun ve diğ. (2000) tarafından tanımlanan gaz kromatografik ölçüm yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Numuneler 15 ml'lik santrifüj tüplerine alınıp üzerlerine biyolojik aktiviteyi durdurmak amacıyla 2 damla formaldehit damlatılmıştır. 5000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenip üst fazı dökülen çamur numunesi 5 ml fosfat tampon çözeltisi ile yıkanıp tekrardan 5000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Numunelerin üst fazı döküldükten sonra ekstraksiyon aşamasını beklemek üzere $-20^\circ C$ 'de dondurulmuştur (Şekil 3.2-1). Sonrasında PHA numuneleri $-50^\circ C$ 'de 48 saat liyofilizasyon işlemi ile kurutulmuştur (Şekil 3.2-2). Kurutulan numuneler 20-30 mg aralığında tartılarak cam tüplere alınmıştır (Şekil 3.2-3). Ekstraksiyon için, 100 mg benzoik asit 5 ml 1-propanol içerisinde çözdürülmüş ve hacimce 1:4 oranında %37'lik HCl + 1-propanol içeren asit karışımı hazırlanmıştır.

Her bir numuneye 50 µl iç standart, 1,5 ml asit karışımı ve 1,5 ml 1,2 dikloroetan ilave edilmiştir. Numuneler 100°C’de 15 dakikada bir çalkalanarak 2 saat kaynatılmıştır (Şekil 3.2-4). Oda sıcaklığına gelen numunelere 3ml distile su ilave edilip 10 dakika vortekslelendikten sonra faz ayrımı sağlayabilmek için 2700 rpm’de 5 dakika santrifüjlenmiştir (Şekil 3.2-5,6). Alt tarafta toplanan organik fazdan 1 ml alınarak numunenin cam elyafı ve sodyum sülfat içeren kolondan cam vialle geçişi sağlanmıştır (Şekil 3.2-7,8). Kalibrasyon için Sigma Aldrich marka %88-12 PHB-PHV karışımı içeren standarttan ve kaproik asidin sodyum tuzundan 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 ve 2,5 mg tartılarak numunelerle aynı analiz yöntemi uygulanmıştır.



Şekil 3.5 : PHA numunesi hazırlanması ve ekstraksiyonu.

PHA ölçümleri alev-iyonizasyon detektörlü ve kapiler kolonlu (Innowax 19095N-123) gaz kromatograf (Agilent 6890N) ile analiz edilmiş ve PHB, PHV ve 3H2MV cinsinden ölçümler yapılmıştır (Şekil 3.2-9).

3.6.8 pH

pH ölçümleri “Thermo Scientific Orion Star A211” pH metre ile yapılmıştır. Cihazda cam elektrot bulunmaktadır. Cihaz kalibrasyonu günlük olarak yapılmıştır. Reaktörlerden alınan numunelerin, fermentasyon öncesi süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık numunelerinin pH ölçümleri oda sıcaklığında ve tam karışımda gerçekleştirilmiştir. pH metre sabitlendiğinde okunan değer kaydedilmiştir.



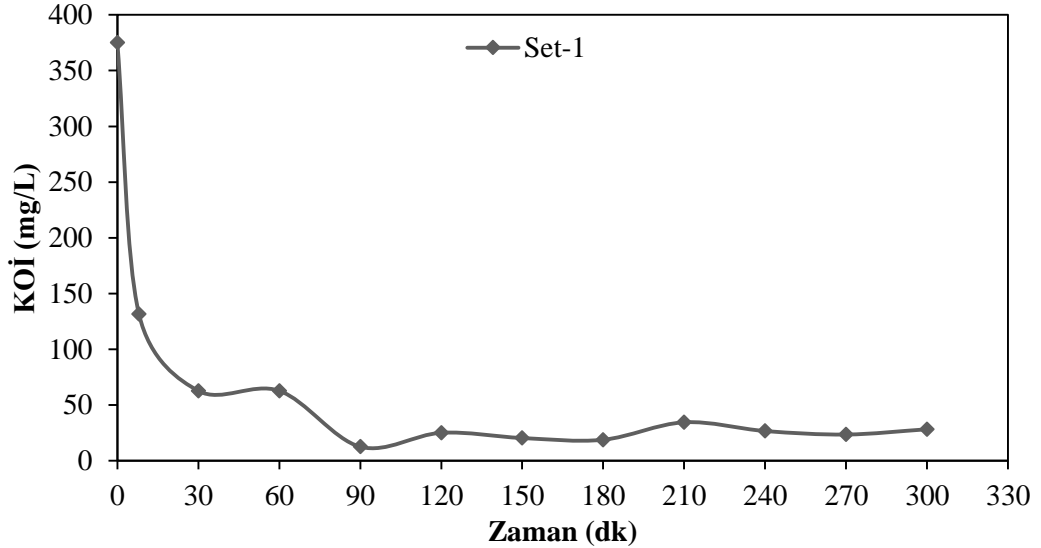


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

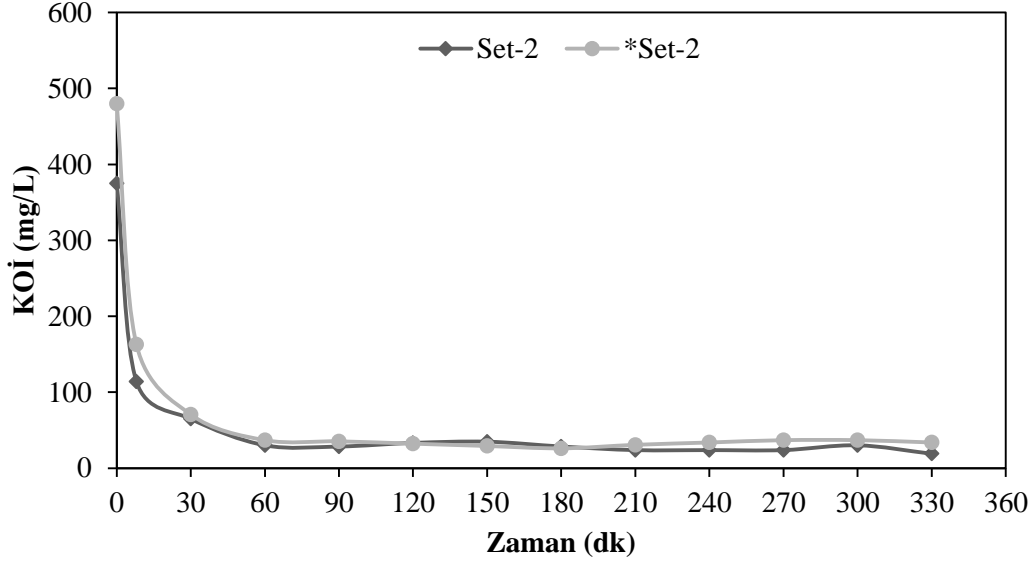
4.1 Reaktörlerin Proses İzlemeleri

Bu çalışma boyunca açlık-tokluk ve anaerobik-aerobik-anoksik olmak üzere farklı rejimlerde işletilen 2 ayrı reaktörde 6 adet işletme koşulu denenmiştir. PHA depolama deneyleri öncesinde her bir işletme koşulunun proses verimleri günlük izlemeler ile yapılmıştır. Her iki AKR'de de yüksek KOİ giderim verimine ulaşıldığı gözlenmiştir.

500 mgKOİ/L sentetik atıksu ile beslenen AKR-1 Set1'de KOİ değeri ilk 30 dk'da 60 mg/L, 90 dk'da ise yaklaşık 25 mg/L seviyesine kadar düşmüştür (Şekil 4.1). AKR-1 Set2 ye bakıldığında KOİ'nin benzer bir profil izlediği ve yine 25 mg/L seviyesine kadar düştüğü görülmektedir. *Set2'de ilave UYA beslemesi yapıldığından dolayı sentetik atıksuyun KOİ'si 640 mg/L olup ilk 30 dk'da 70 mg/L, 90 dk'da 35 mg/L seviyesine düştüğü görülmektedir (Şekil 4.2). Bu sonuçlara göre çamur yaşının 3 veya 6 gün olmasının KOİ gideriminde etkisi olmadığı ve giderim veriminin %90'ın üzerinde olduğu görülmektedir.

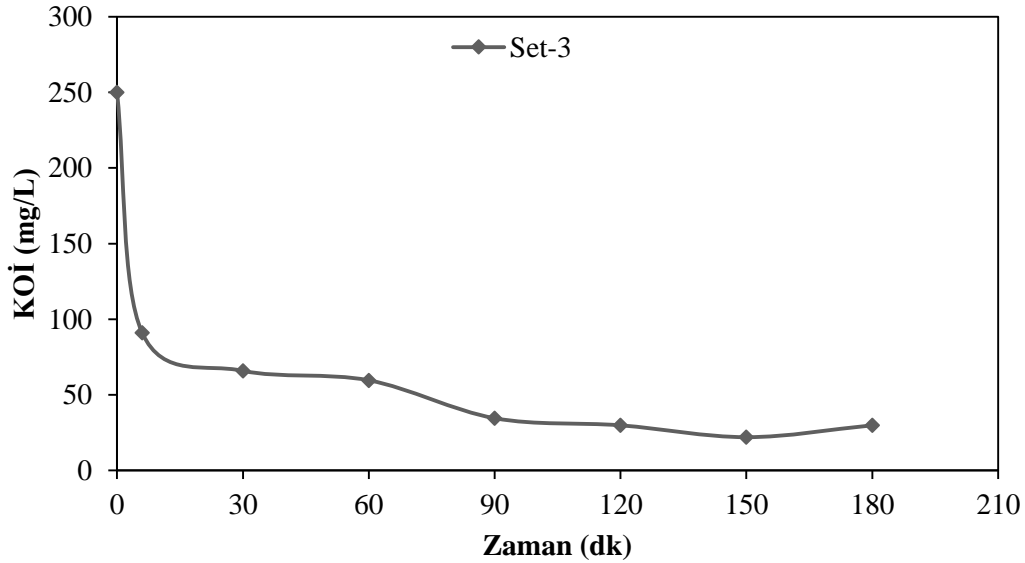


Şekil 4.1 : AKR-1 Set1 reaktör izleme KOİ sonuçları.

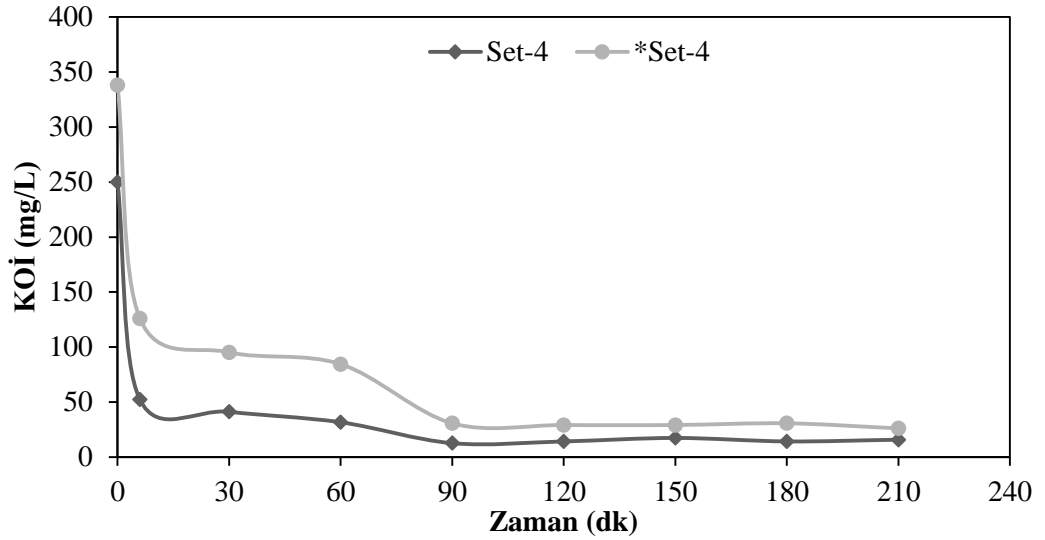


Şekil 4.2 : AKR-1 Set2 ve *Set2 reaktör izleme KOİ sonuçları.

400 mgKOİ/L sentetik atıksu ile beslenen AKR-2'ye bakacak olursak Set3'de KOİ değeri ilk 30 dk'da 65 mg/L, 90 dk'da ise yaklaşık 30 mg/L seviyesinde görülmektedir (Şekil 4.3). Set4'e bakıldığında KOİ'nin 30dk'da 40 mg/L, 90dk'da ise 15mg/L seviyesine kadar düştüğü görülmektedir. *Set4'de ilave UYA beslemesi yapıldığından dolayı sentetik atıksuyun KOİ'si 540 mg/L olup ilk 30 dk'da 95 mg/L, 90 dk'da 30 mg/L seviyesine düştüğü görülmektedir (Şekil 4.4). Yine AKR-1 ile aynı şekilde çamur yaşının 8 veya 12 gün olmasının KOİ gideriminde etkisi olmadığı ve giderim veriminin %90'ın üzerinde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3 : AKR-2 Set3 reaktör izleme KOİ sonuçları.



Şekil 4.4 : AKR-2 Set4 ve *Set4 reaktör izleme KOİ sonuçları.

Azot ve fosfor gideriminde anaerobik-aerobik-anoksik rejimde çalışan AKR-2’de açıklık-tokluk rejiminde çalışan AKR-1’e göre daha yüksek giderim oranları görülmüştür. Sonuçlardan da anlaşılacağı üzere çamur yaşının azot ve fosfor gideriminde etkisi büyüktür. Çamur yaşı arttıkça giderim verimi artmaktadır. Çamur yaşı 6 günde çıkış suyunda $\text{NO}_x\text{-N}$ konsantrasyonu 12 mg/L iken çamur yaşı 12 günde bu değer 2 mg/L’nin altına düşmektedir. $\text{PO}_4\text{-P}$ ise 4 mg/L’den 1 mg/L’nin altına düşmektedir.

Reaktör içi pH değerleri Set1, Set2, Set3, Set4, *Set2 ve *Set4 için sırasıyla ortalama 7,75, 7,42, 7,26, 7,23, 7,79 ve 7,91 olarak ölçülmüştür.

AKR sistemlerinde günlük katı madde izlemeleri dikkate alınarak, katı madde değişimlerinin sabitlendiği tarihten itibaren sistemlerin kararlı dengeye ulaştıkları kabul edilmiştir. AKR-1 ve AKR-2’nin kararlı haldeki UAKM konsantrasyonu değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

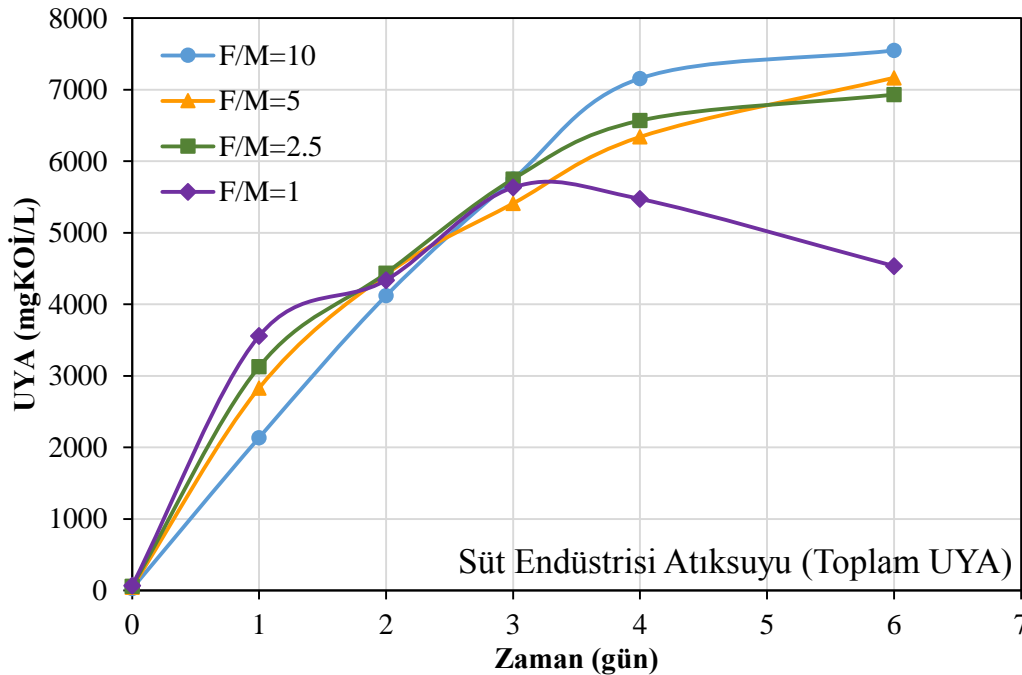
Çizelge 4.1 : AKR-1 ve AKR-2 kararlı hal UAKM konsantrasyonları.

İşletme Koşulu	UAKM (mg/L)
Set1	1600±132
Set2	1803±93
*Set2	2854±278
Set3	3825±220
Set4	2476±268
*Set4	3306±119

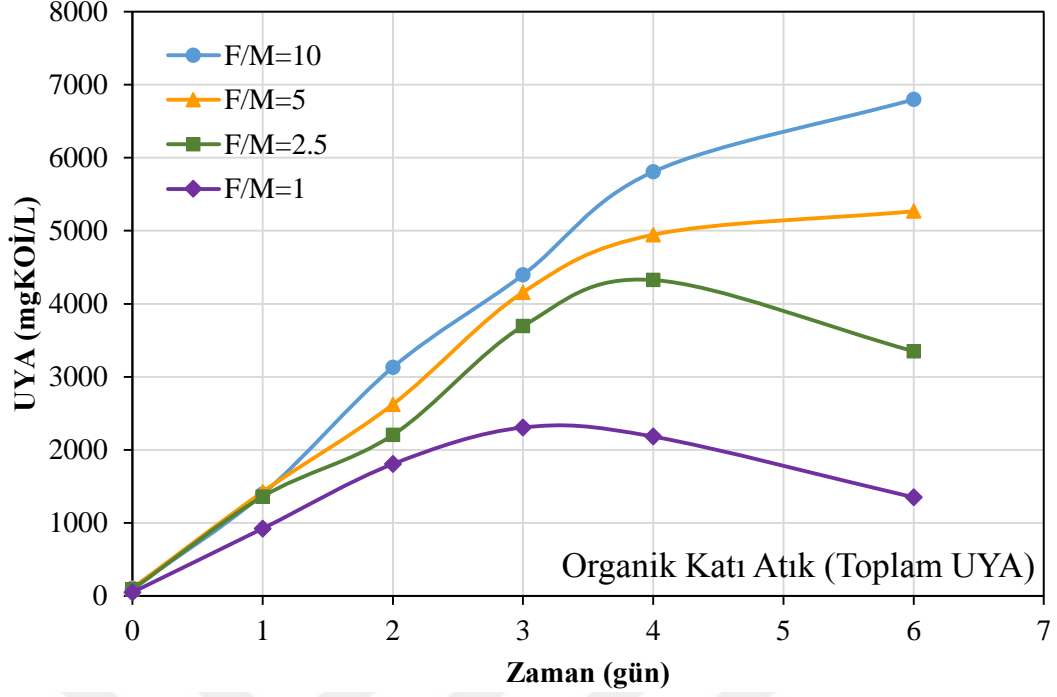
4.2 Süt Endüstrisi Atıksuyu ve Organik Katı Atığın Asidifikasyonu

PHA depolama deneyleri öncesinde süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atıkla fermentasyon ön deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneyler sırasında UYA üretimi, asetik asit, formik asit, propiyonik asit, valerik asit, izovalerik asit, bütirik asit, izobütirik asit, kaproik asit ve heptanoik asit ölçülerek izlenmiştir. Toplam UYA, her asit konsantrasyonunun eşdeğer KOİ konsantrasyonuna dönüştürülmesiyle hesaplanmıştır. Tüm fermentasyon deneyleri karşılaştırmalı değerlendirme için mümkün olduğu kadar benzer KOİ konsantrasyonu ile başlatılmıştır.

Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'dan görüldüğü üzere organik katı atığın F/M oranının 1 olduğu durum haricinde bütün deneyler 3. güne kadar çok benzer artış eğilimi göstermiştir. Maksimum UYA konsantrasyonları süt endüstrisi atıksuyu için 7550 mgKOİ/L, organik katı atık için 6800 mgKOİ/L olarak 6. gün ve F/M oranı 10'da elde edilmiştir. Sonuçlar içeriklerin neredeyse tamamının 6. günde bozunduğunu göstermektedir. 4. gün sonrasında UYA üretim hızında düşme görülmektedir. Daha düşük F/M oranlarında ise 3. ve 4. günden sonra (süt endüstrisi atıksuyunda F/M=1, organik katı atıkta F/M=1 ve F/M=2,5) toplam UYA miktarında azalma görülmektedir bu durum UYA'nın bu süre sonrasında metan üretimi için kullanılmaya başlandığını göstermektedir.

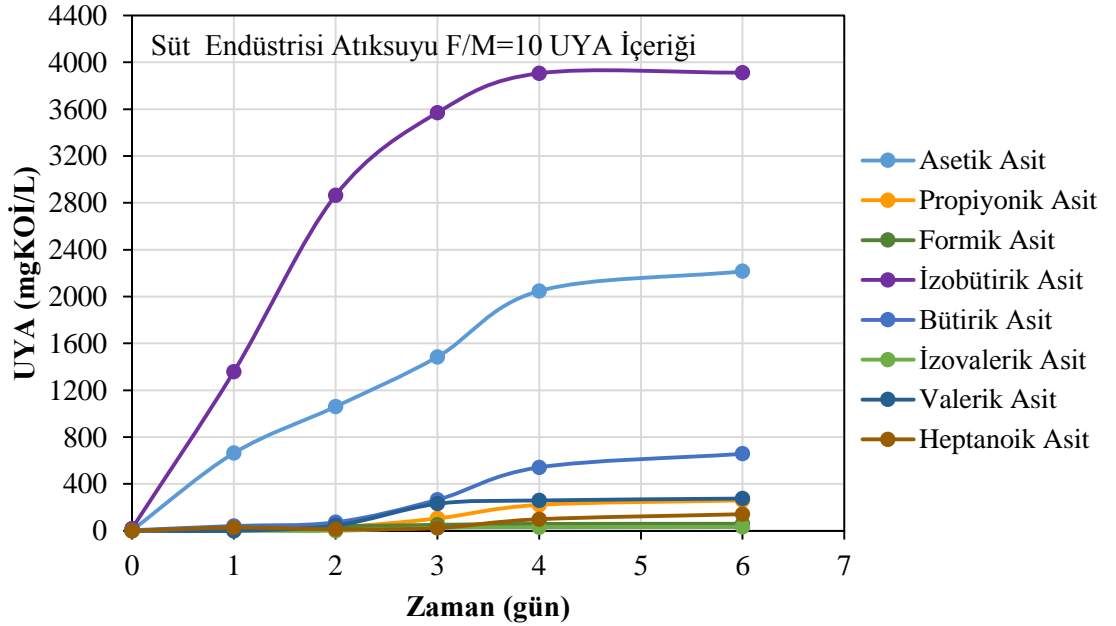


Şekil 4.5 : Süt endüstrisi atıksuyunun farklı F/M oranlarında fermentasyon deney sonuçları.



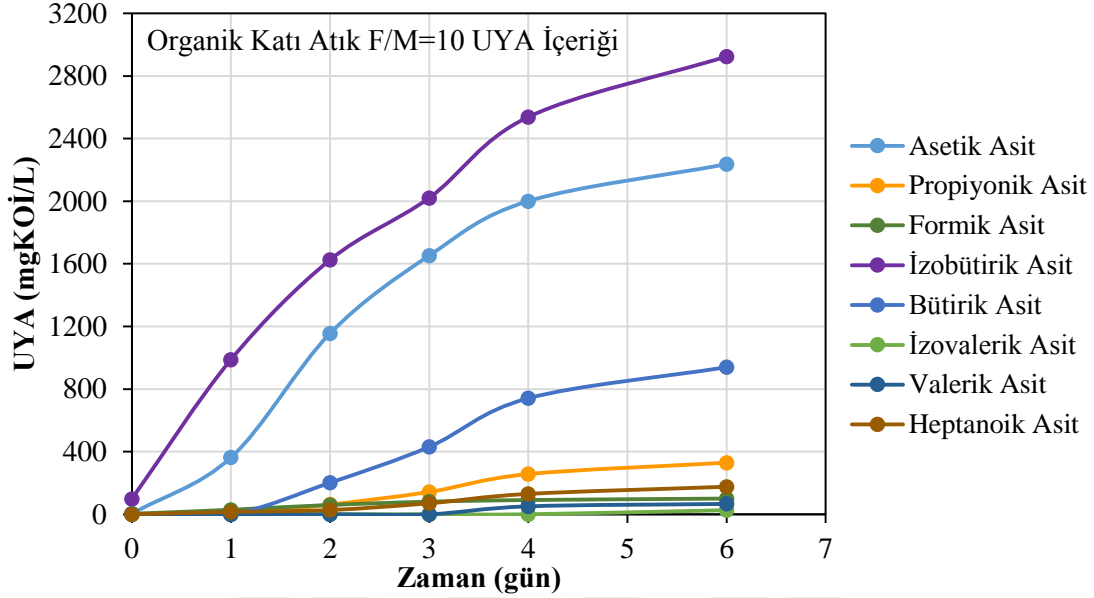
Şekil 4.6 : Organik katı atığın farklı F/M oranlarında fermentasyon deney sonuçları.

Buna göre 4. günde F/M=10 için asidifikasyon verimleri süt endüstrisi atıksuyu için 4,90 gKOİ/gUAKM, organik katı atık için 3,18 gKOİ/gUAKM olarak elde edilmiştir. Bu değerler F/M=1 için 3,75 ve 1,19 olarak hesaplanmıştır. Bu nedenle optimum koşullar hidrolik bekleme süresi 4 gün ve F/M=10 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.7 : Fermente süt endüstrisi atıksuyu (F/M=10) UYA içeriği.

Fermente hammaddeleri UYA içeriklerine bakılırsa (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8) her ikisi içinde en yüksek dört konsantrasyonu izobütirik asit, asetik asit, bütirik asit ve propiyonik asidin verdiği görülmektedir.



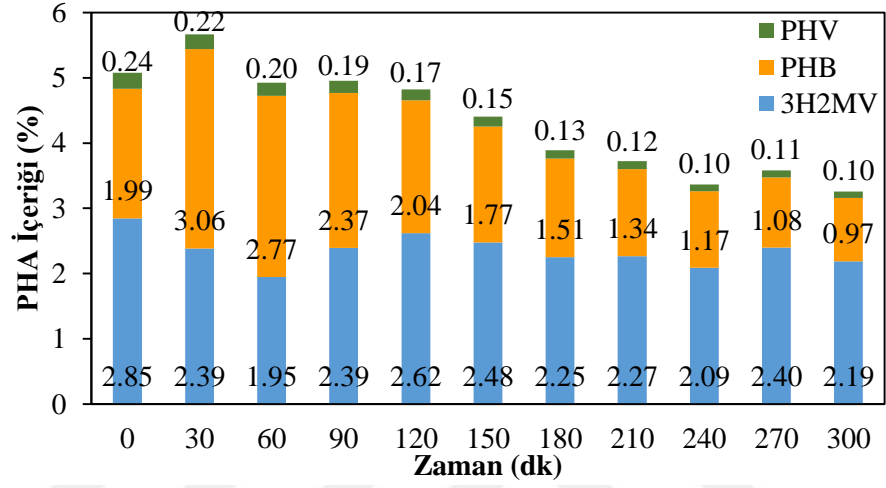
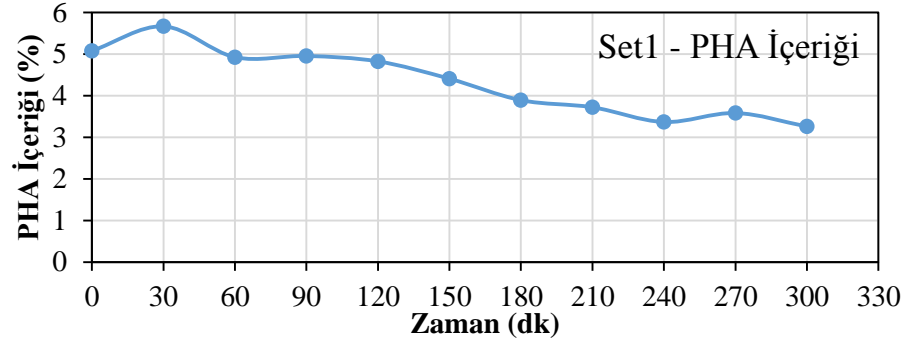
Şekil 4.8 : Fermente organik katı atık (F/M=10) UYA içeriği.

Belirlenen bu koşullar PHA depolama deneylerinde hammadde olarak fermente süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atığın kullanılmasında tekrarlanarak uygulanmıştır.

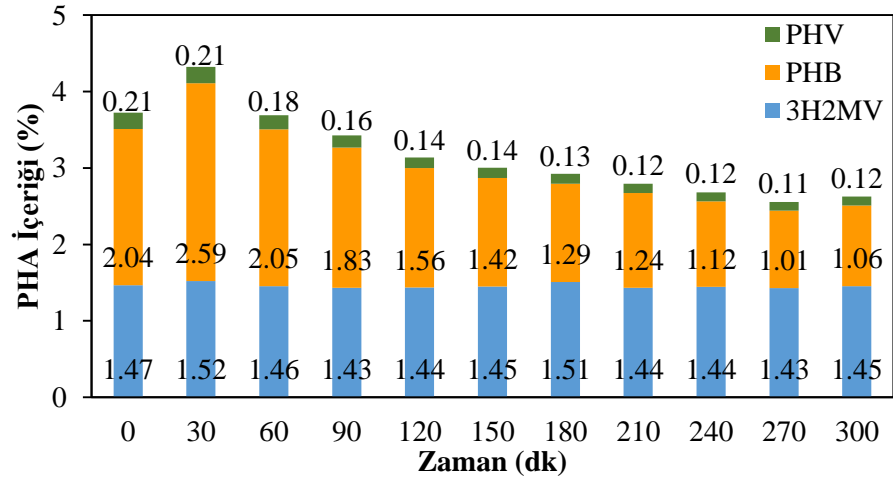
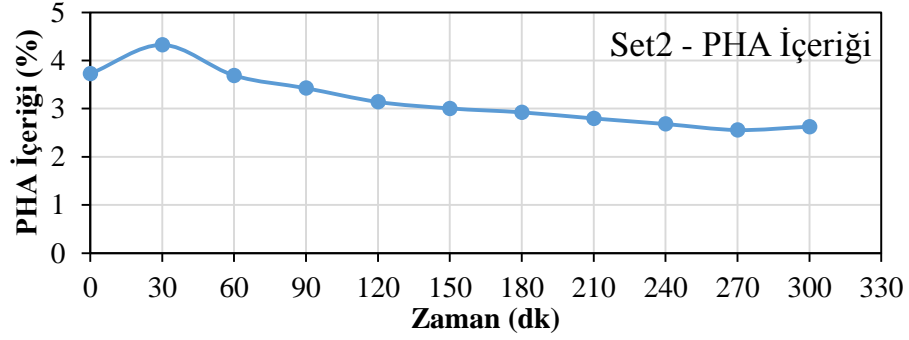
4.3 PHA Depolayan Karışık Mikrobiyal Kültürün Zenginleştirilmesi

PHA depolayan kültürün zenginleştirilmesi 3 ve 6 gün çamur yaşında açlık-tokluk rejiminde ve 8 ve 12 gün çamur yaşında anaerobik-aerobik-anoksik rejimde işletilen ardışık kesikli reaktörlerde gerçekleştirilmiştir. Sistemler belirtilen çamur yaşlarında kararlı hale geldiklerinde PHA içeriklerine bakılmıştır. Atıksu arıtma tesisinden alınan aktif çamurun PHA içeriği %0,9 olarak belirlenmiştir.

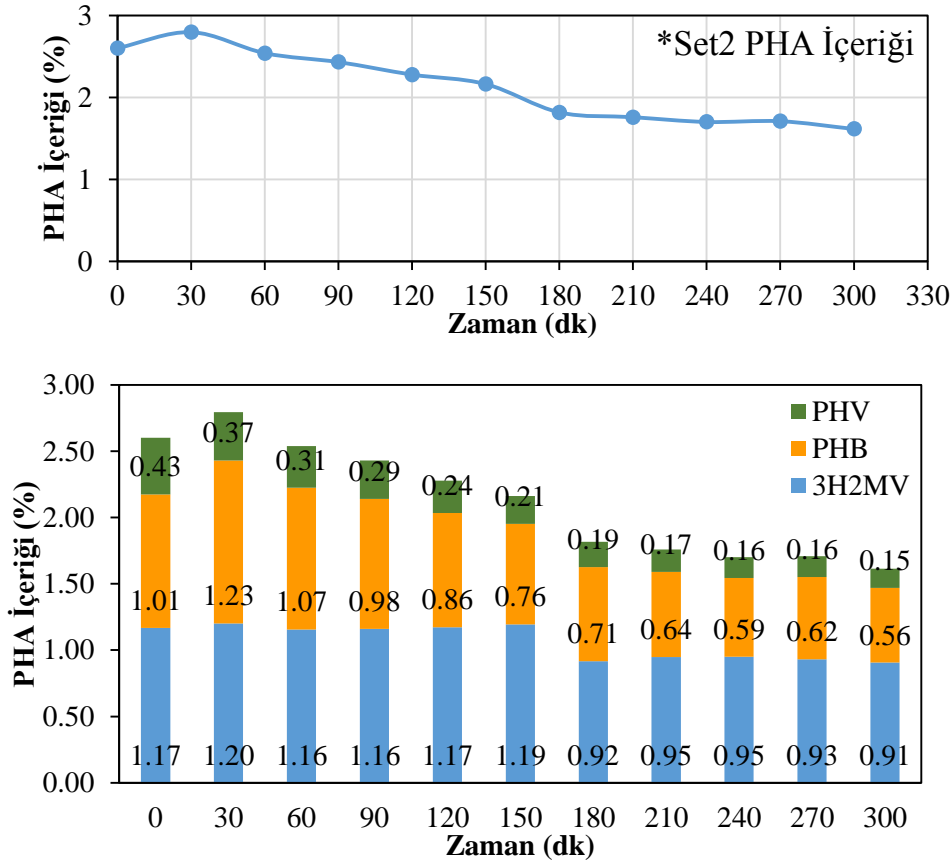
Açlık-tokluk rejiminde işletilen AKR-1'de aktif çamurun maksimum PHA içeriği çevrimin 30. dakikasında Set1, Set2 ve *Set2 için sırasıyla %5,7, %4,3 ve %2,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11). Çevrim sonunda Set1'in PHA içeriği %3,2 iken Set2'de %2,6 ya düşmüş ve sentetik atıksuya UYA çözeltisi eklenmesine rağmen beklenmedik bir şekilde Set3'te artış gözlenmemiştir. Bu nedenle sonuçlar, uzun süren açlık fazında reaktörde mevcut bir karbon kaynağı bulunmadığından mikroorganizmaların içsel olarak depolanmış PHA'yı tüketmeye başladığını ortaya çıkarmıştır.



Şekil 4.9 : Set1 PHA içeriği ve türleri.



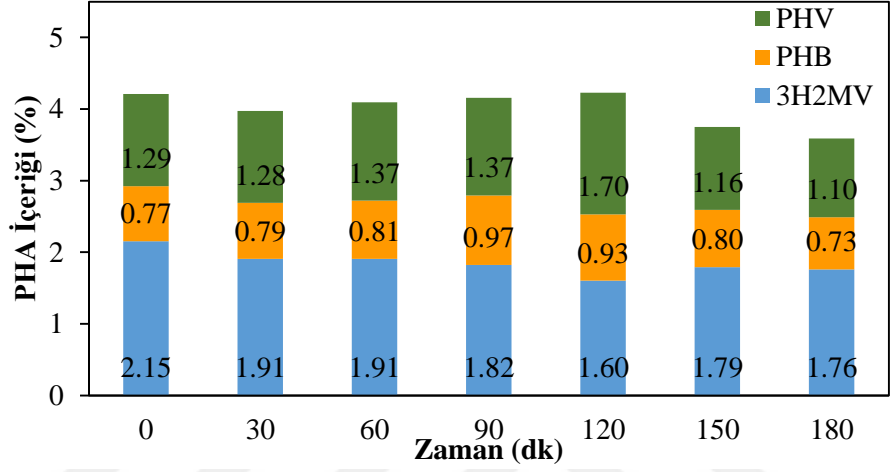
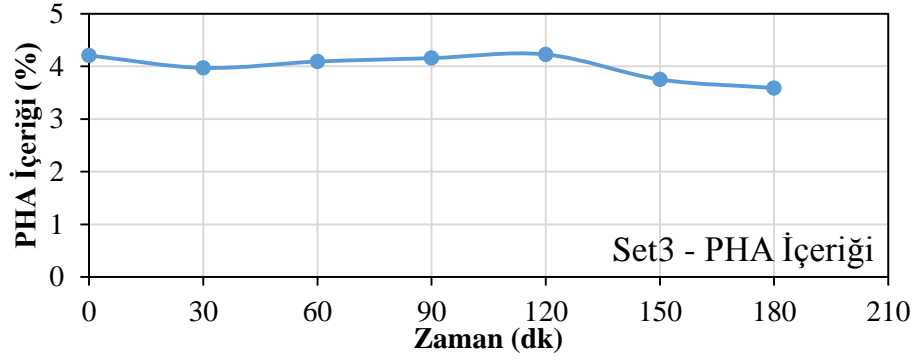
Şekil 4.10 : Set2 PHA içeriği ve türleri.



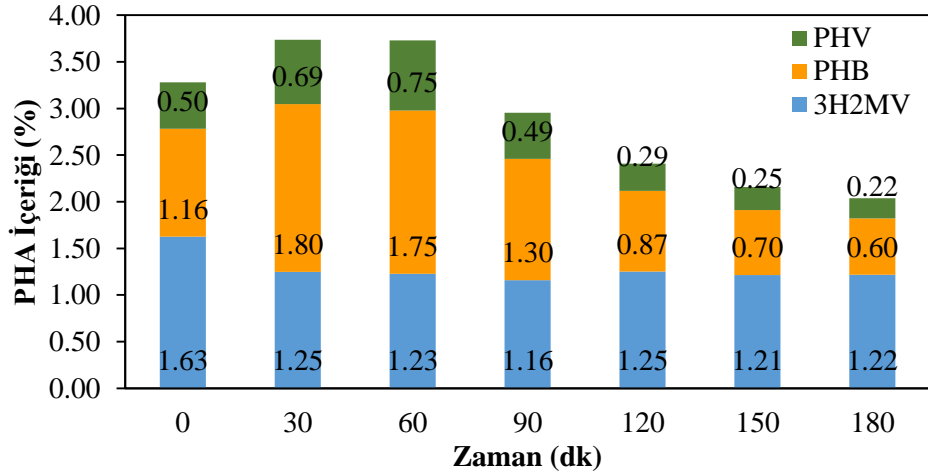
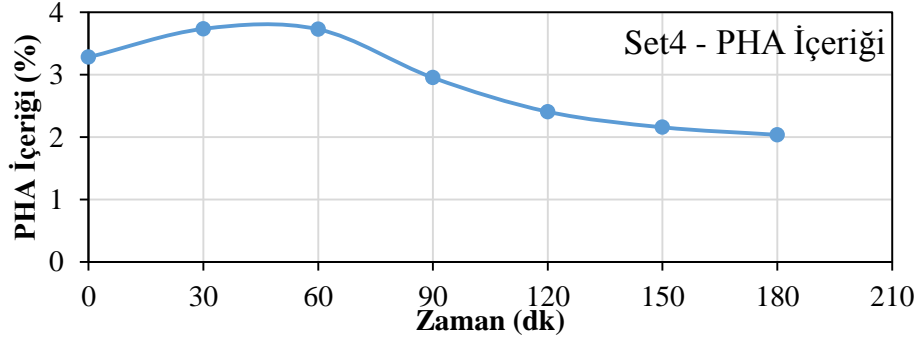
Şekil 4.11 : *Set2 PHA içeriği ve türleri.

Anaerobik-aerobik-anoksik rejimde işletilen AKR-2’de aktif çamurun maksimum PHA içeriği çevrimin 120. dakikasında Set3 için %4,2 ve 60. dakikasında Set4 ve *Set4 için sırasıyla %3,7 ve %12,4 değerine ulaşılmıştır (Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14). PHA içerikleri çevrim sonlarında karbonun tükenmesi kaynaklı azalmıştır. Çevrim sonlarında Set3, Set4 ve *Set4 için PHA içerikleri sırasıyla %3,6, %2,0 ve %10,0 değerine ulaşmıştır.

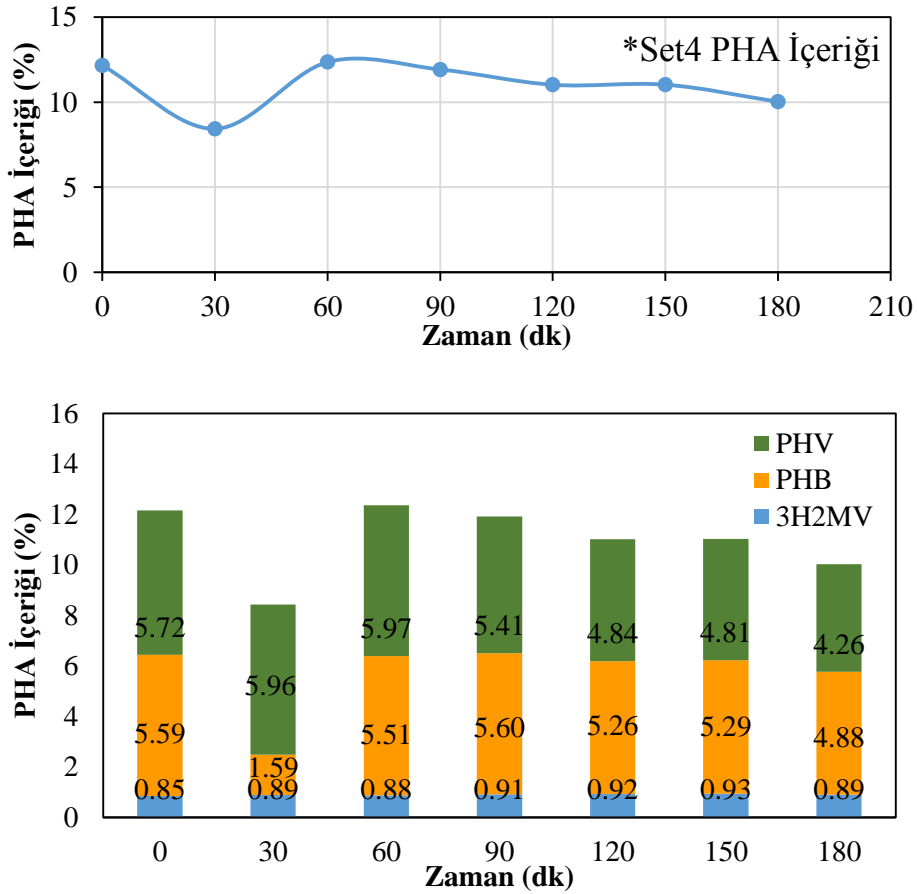
PHA türlerine bakıldığında Set1, Set2 ve *Set2’de PHB ve 3H2MV türlerinin birbirine neredeyse eşit ve yoğunluklu türler olduğu görülmektedir. Set3’te PHV ve 3H2MV, Set4’te PHB ve 3H2MV, *Set4’te ise türlerin PHV ve PHB ağırlıklı olduğu görülmektedir. Özellikle *Set4 için net olarak Şekil 4.14’te de görüldüğü üzere, elde edilen PHA içeriklerinde ilk 30 dakikada görülen düşüşler sistemlerde ön-anoksik ortam oluştuğunu düşündürmektedir.



Şekil 4.12 : Set3 PHA içeriği ve türleri.



Şekil 4.13 : Set4 PHA içeriği ve türleri.



Şekil 4.14 : *Set4 PHA içeriği ve türleri.

4.4 PHA Depolama Deneyleri

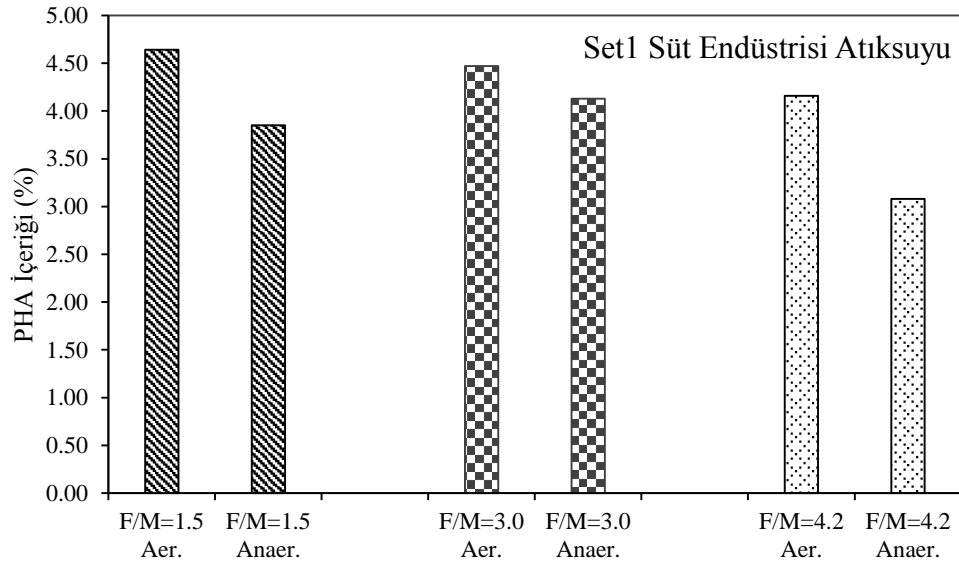
PHA depolama deneyleri kesikli deneyler olup biyokütle kültür zenginleştirilmesi yapılan AKR-1 ve AKR-2'den karbon kaynağı ise fermente süt endüstrisi atıksuyu ve fermente organik atıktan sağlanmıştır.

İlk aşamada AKR-1 ve AKR-2'nin ilk setleri olan Set1 ve Set3'ten alınan aktif çamurun PHA depolama potansiyeli farklı F/M oranları ve farklı koşullar (aerobik ve anaerobik) altında incelenmiştir. PHA içeriği farklı F/M oranlarından ve farklı koşullardan önemli ölçüde etkilenmiştir. Kesikli deneylerin aerobik ya da anaerobik koşullar altında yürütülmesinde her iki çamurda da benzer benzer depolama eğilimleri görülmüş ve aerobik koşullarda daha yüksek depolama oranları elde edilmiştir. Hedeflenen 2, 3,5 ve 5 F/M oranları çeşitli değişkenler sebebiyle sağlanamasa da Set'ler arası birbirleriyle uyumlu değerler elde edilmiş olup değerlendirme bu duruma göre yapılmıştır. Bütün Setlere ait maksimum değeri veren koşuldaki özet bilgileri içeren tablo Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

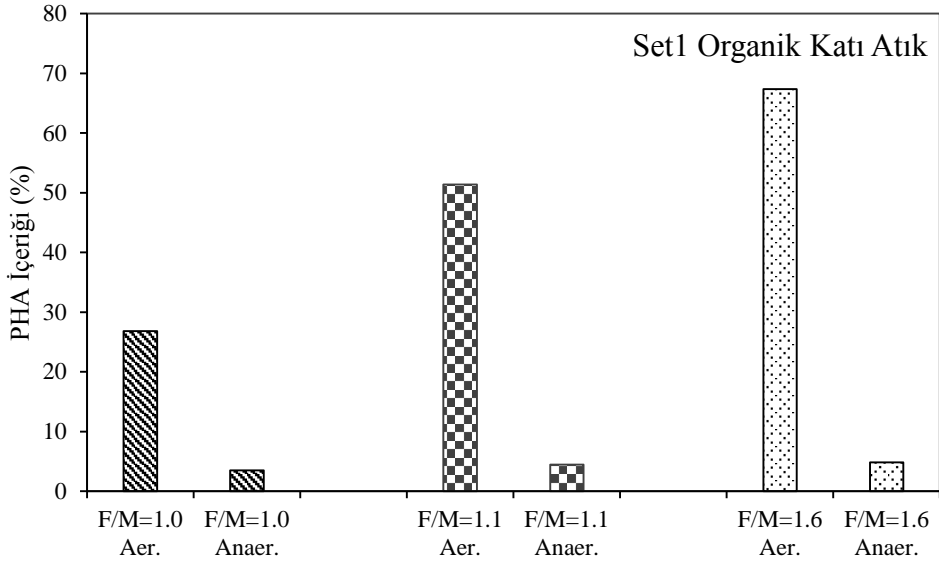
Çizelge 4.2 : PHA depolama deneyleri özet bilgileri.

Set	Hammadde Kaynağı	PHA İçeriği (%)	UAKM (mg)	Fermente Üstsu Miktarı (ml)	Fermente Üstsu UYA (mgKOİ/L)	UYA Miktarı (mg)	F/M
Set1	Süt Atıksuyu	4,64	522,81	140	5408	757,07	1,4
Set1	Organik Atık	67,34	489,51	420	1830	768,75	1,6
Set2	Süt Atıksuyu	3,59	673,20	285	6824	1944,81	2,9
Set2	Organik Atık	23,35	673,20	335	4532	1518,17	2,3
*Set2	Süt Atıksuyu	3,01	1056,00	495	4924	2437,38	2,3
*Set2	Organik Atık	32,22	1056,00	580	3149	1826,45	1,7
Set3	Süt Atıksuyu	4,85	438,75	135	7070	954,46	2,2
Set3	Organik Atık	41,05	495,00	285	2363	673,55	1,4
Set4	Süt Atıksuyu	3,40	387,75	230	6824	1569,49	4,0
Set4	Organik Atık	19,95	387,75	270	4532	1223,60	3,2
*Set4	Süt Atıksuyu	4,25	579,15	270	4924	1329,48	2,3
*Set4	Organik Atık	32,10	579,15	315	3149	991,95	1,7

Kesikli deneyin aerobik ve anaerobik yürütülmesi koşulu sırasıyla 3 gün ve 8 gün çamur yaşına sahip Set1 ve Set3'te denenmiştir. Süt endüstrisi atıksuyu için Set3-F/M=3,6 deneyi haricinde aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi açısından büyük farklılıklar görülmemekle birlikte aerobik koşullarda PHA üretiminin daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.15 ve Şekil 4.17).

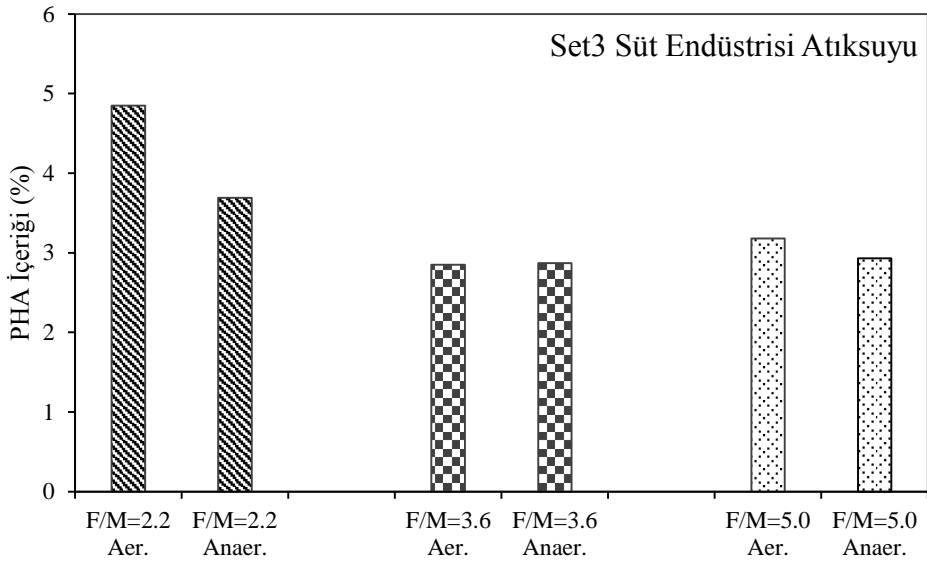


Şekil 4.15 : Set1 süt endüstrisi atıksuyu aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.

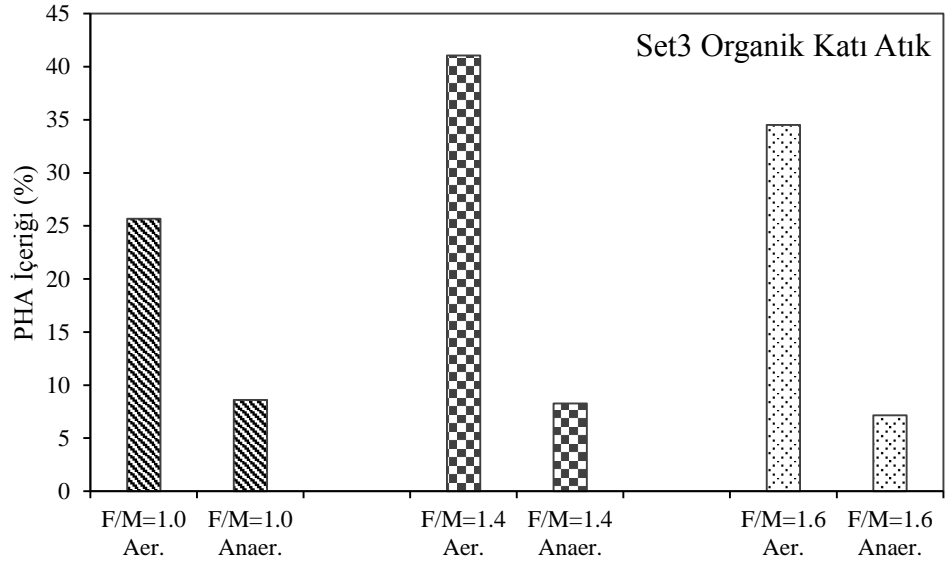


Şekil 4.16 : Set1 organik katı atık aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.

Organik katı atıkta ise hem Set1 hem de Set3'te aerobik ve anaerobik koşul arasında yüksek farklılıklar bulunmakta olup aerobik koşulda PHA üretiminin çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Buna göre aerobik koşulda Set1'de organik katı atık için en yüksek PHA içeriği %67,3 olarak bulunmuştur (Şekil 4.16 ve Şekil 4.18).



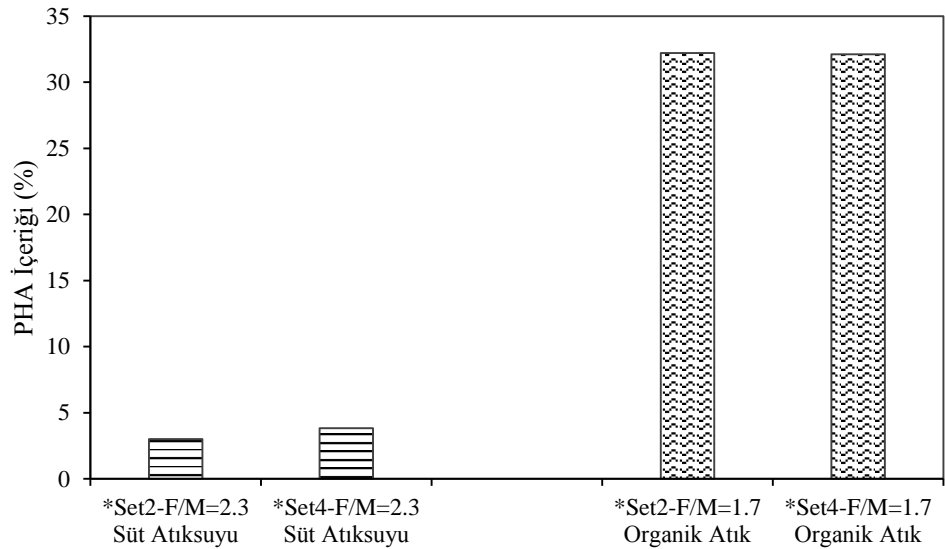
Şekil 4.17 : Set3 süt endüstrisi atıksuyu aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.



Şekil 4.18 : Set3 organik katı atık aerobik ve anaerobik koşulda PHA üretimi.

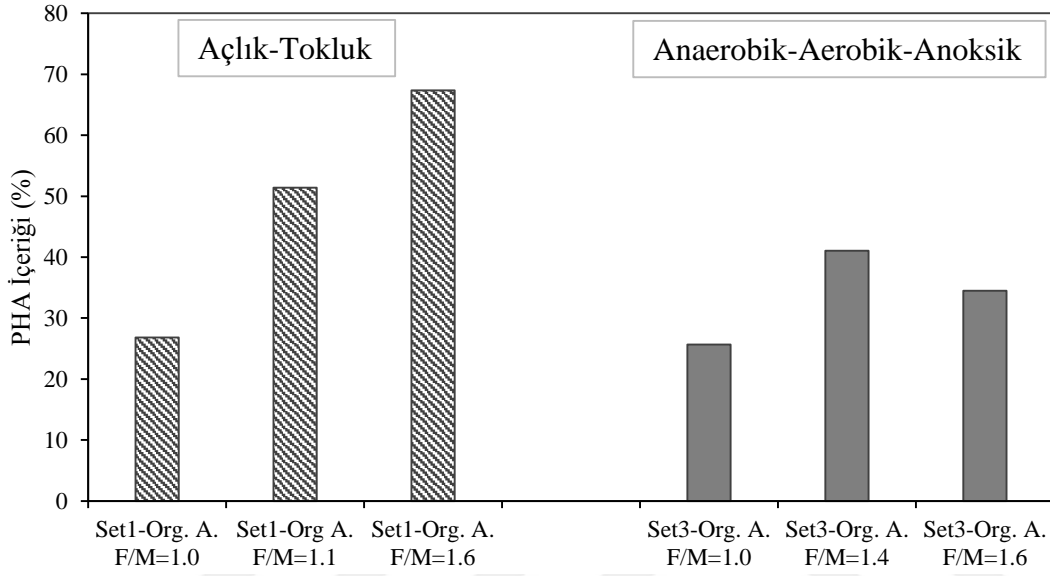
Görülen yüksek farklılıklardan dolayı Set1 ve Set3 sonrası işletilen Set2, Set4,*Set2 ve *Set4'te anaerobik koşul elenerek kesikli deneyler sadece aerobik olarak gerçekleştirilmiştir.

Kültür zenginleştirme rejimleri arasındaki farkı en net gösteren işletme koşulları aynı F/M oranlarını yakalamış olan *Set2 ve *Set4'tür. Hem süt hem de organik katı atık açısından PHA üretimi bakımından farklılığın yok denecek kadar az olduğu görülmektedir. Şekil 4.19'da *Set2'de süt endüstrisi atıksuyundan elde edilen PHA %3,0 iken *Set4'te %3,8 olduğu, *Set2'de organik katı atıktan elde edilen PHA %32,2 iken *Set4'te %32,1 olduğu görülmektedir.



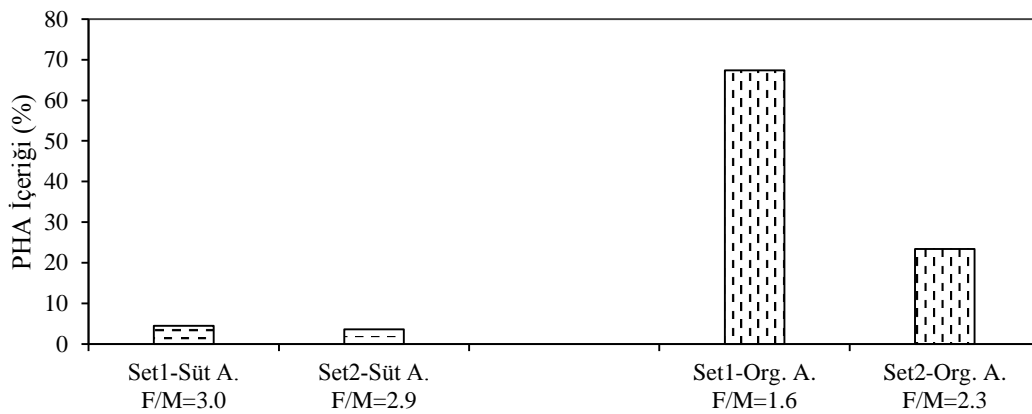
Şekil 4.19 : *Set2 ve *Set4 rejimlere göre PHA içerikleri.

Daha düşük çamur yaşında işletilen (3 gün ve 8 gün) Set1 ve Set3'te ise kültür zenginleştirme rejimleri arasında görülen farklılıklar artmaktadır. Şekil 4.20'de benzer F/M değerlerine sahip olan organik atık üzerinden bakacak olursak düşük çamur yaşında açlık-tokluk rejiminde işletilen çamurun daha yüksek PHA depolama potansiyeli olduğu görülmektedir ve organik katı atık için maksimum PHA değerini (%67,3) vermiştir.



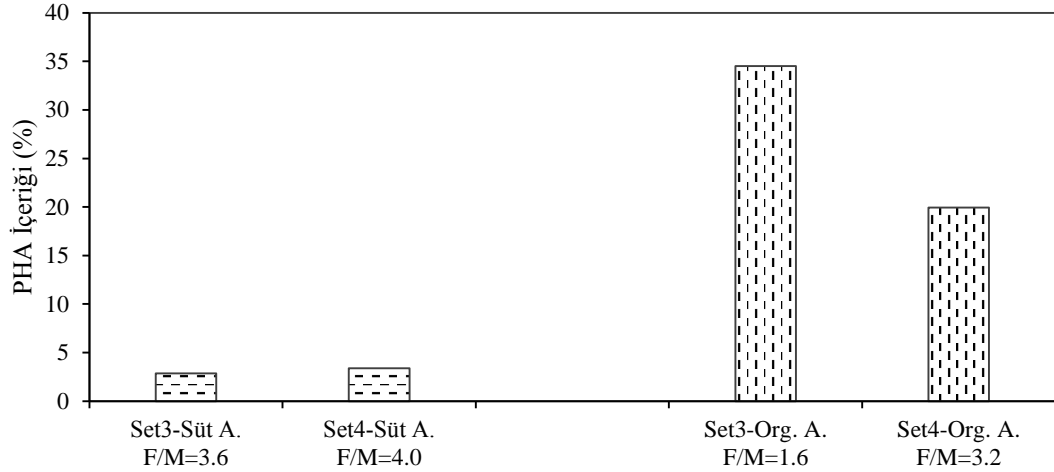
Şekil 4.20 : Set1 ve Set3 rejimlere göre organik katı atık PHA içerikleri.

Çamur yaşındaki artışın PHA depolanmasını her iki rejimin çamurunda da olumsuz yönde etkilediği görülmektedir. Açlık-tokluk rejiminde işletilen Set1'de çamur yaşı 3 gün iken Set2'de 6 güne çıktığında benzer F/M oranlarındaki hem süt atıksuyu hem de katı atıkta PHA depolanmasında düşüş yaşandığı görülmektedir (Şekil 4.21). Bu değer süt endüstrisi atıksuyunda %4,5'ten %3,6'ya düşerken organik katı atıkta %67,3'ten %23,4'e düşmektedir.



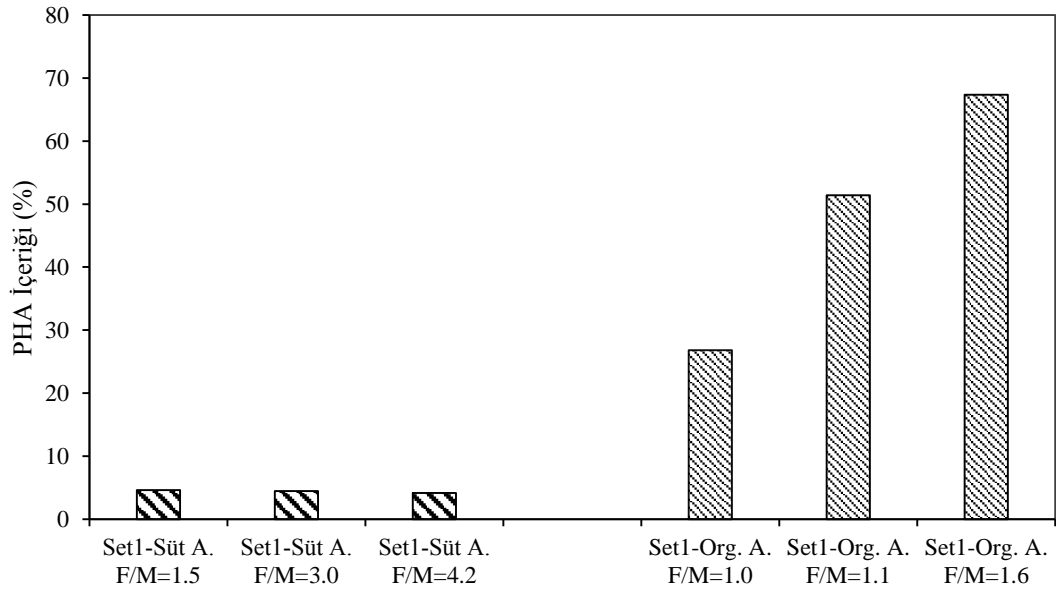
Şekil 4.21 : Set1 ve Set2 PHA depolanmasında çamur yaşının etkisi.

Anaerobik-aerobik-anoksik rejimde işletilen Set3’de çamur yaşı 8 gün iken Set4’te çamur yaşı 12 güne çıktığında aynı şekilde organik atıktaki PHA depolanmasında düşüş görülürken süt endüstrisi atıksuyunda artış görülmekte fakat bu artış organik atıktaki düşüşe göre çok küçük miktarda kalmaktadır (Şekil 4.22).



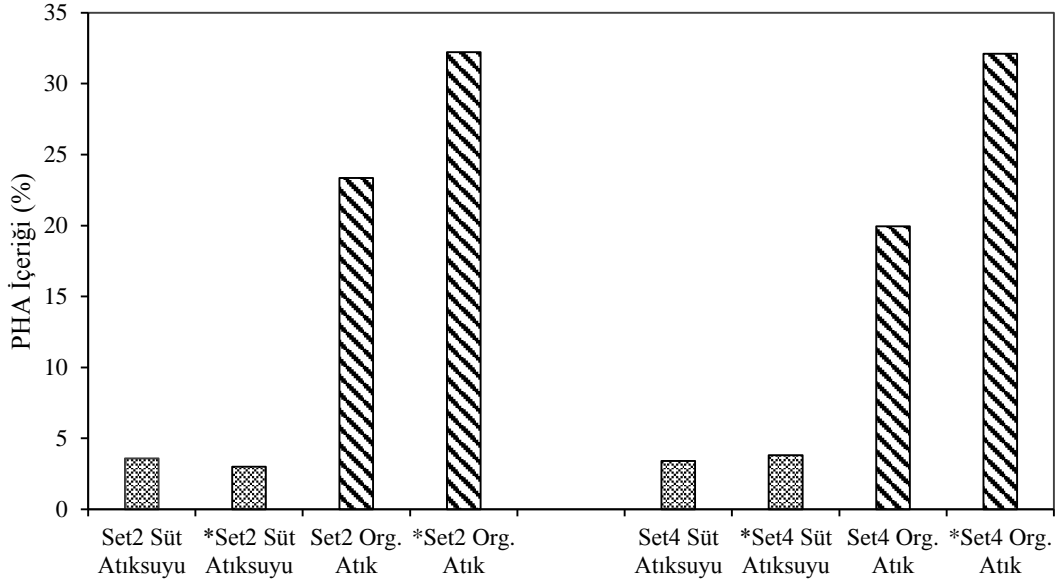
Şekil 4.22 : Set3 ve Set4 PHA depolanmasında çamur yaşının etkisi.

F/M oranlarındaki değişimin etkisine Set1 üzerinden bakılacak olursa F/M oranının 2’ye kadar artışına PHA üretim potansiyeli pozitif yönde tepki verirken 2’den sonraki artışlarda negatif yönde tepki verdiği görülmektedir. Set1’de maksimum PHA depolanması süt endüstrisi atıksuyu için F/M=1,5’ta (%4,6) gerçekleşirken organik katı atık için F/M=1,6’da (%67,3) gerçekleşmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23 : Set1 süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık PHA üretimi.

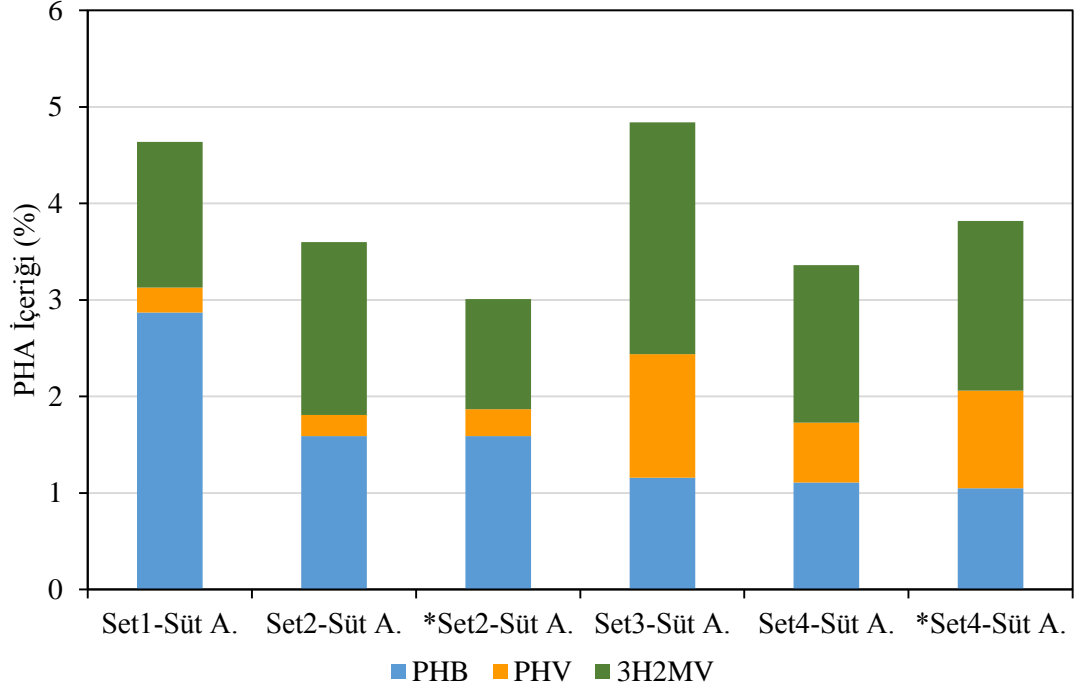
Sentetik atıksuya UYA çözültisi eklenmesiyle her iki rejimde de PHA depolama potansiyelinin artıp artmayacağı kontrol edilmiştir. *Set2'nin süt endüstrisi atıksuyu için PHA içeriği beklenmedik bir şekilde azalırken *Set2 organik atık için %38, *Set4 süt endüstrisi atıksuyu için %12, *Set4 organik atık için ise %60 oranında artış göstermiştir (Şekil 4.24).



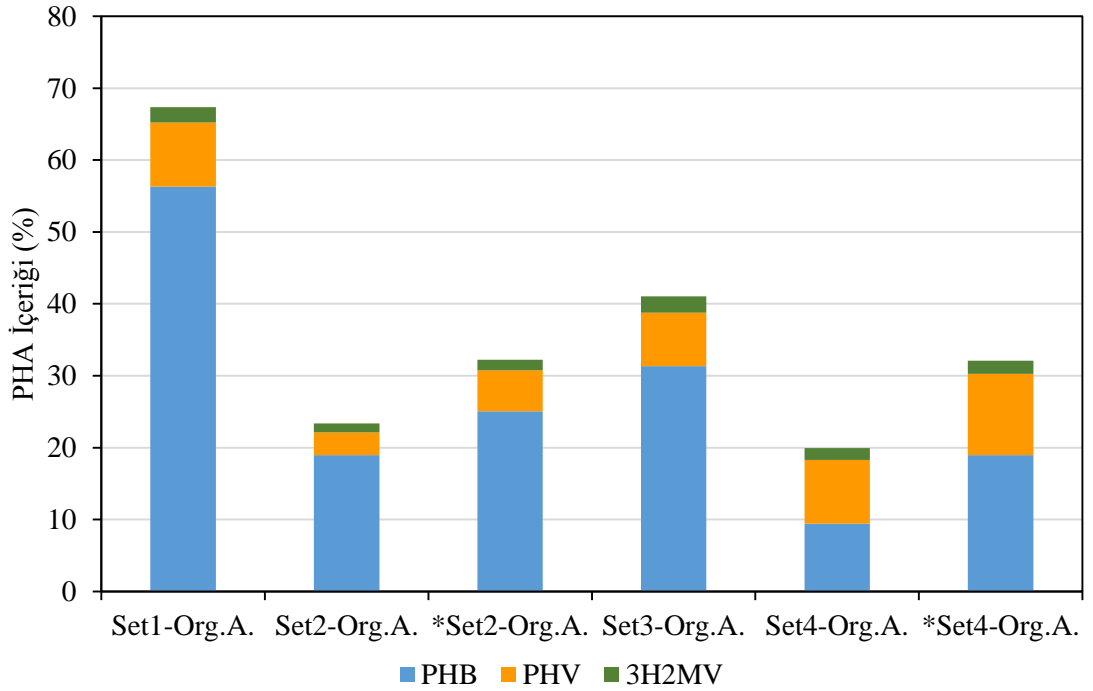
Şekil 4.24 : *Set2 ve *Set4'te sentetik atıksuya UYA beslemesi sonrası değişimler.

Bu çalışmada elde edilen PHA'nın önemli bir kısmı PHB'den oluşmaktadır. Asidifikasyon aşamasında elde edilen fermente asitlerin bileşimine bağlı olarak PHA yapısı kuvvetli bir şekilde etkilendiği bilinmektedir. Fermentasyon deneylerinden elde edilen verilere göre en yüksek miktara sahip asit türleri asetik asit ve izobütirik asit olduğundan PHA oluşumu yüksek oranda PHB cinsinden olmuştur. Bütün setlerin maksimum PHA değerlerini veren verilere göre PHA türlerini gösteren grafikler süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atık için ayrı olarak Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da verilmiştir.

Bu çalışmada atık/atıksu başına üretilen maksimum PHA değerlerine bakılacak olursa süt endüstrisi atıksuyu için 0,17 (g PHA/ L süt atıksuyu) değeriyle Set1 F/M=1,5'te ulaşılmış, organik katı atık için 20,30 (g PHA/ kg organik katı atık) değeriyle Set1 F/M=1,0'de ulaşılmıştır (Şekil 4.27 ve Şekil 4.28).



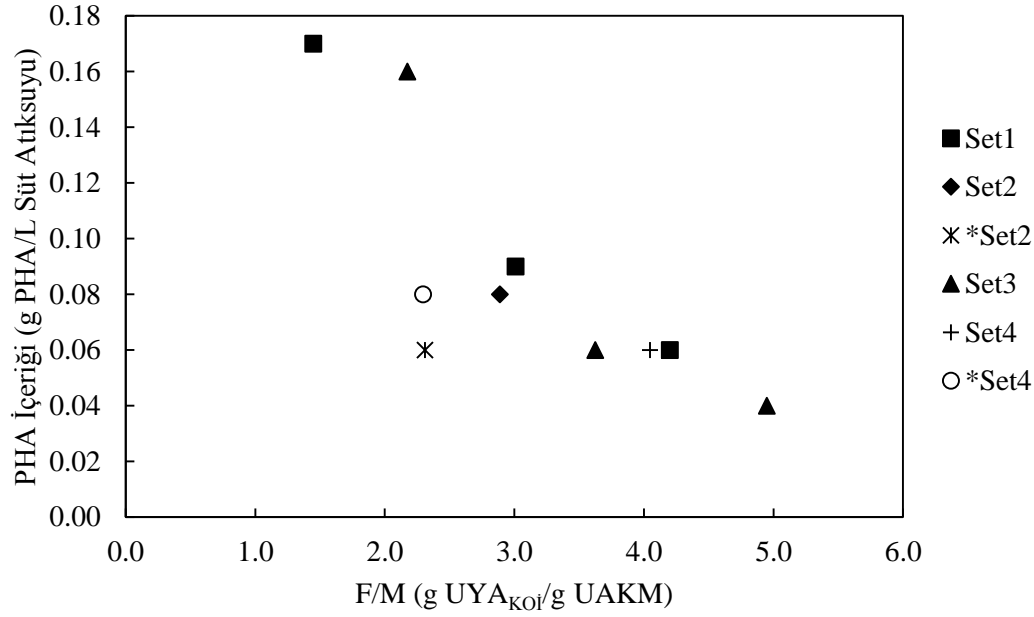
Şekil 4.25 : Süt endüstrisi atıksuyu setlerinin PHA türleri.



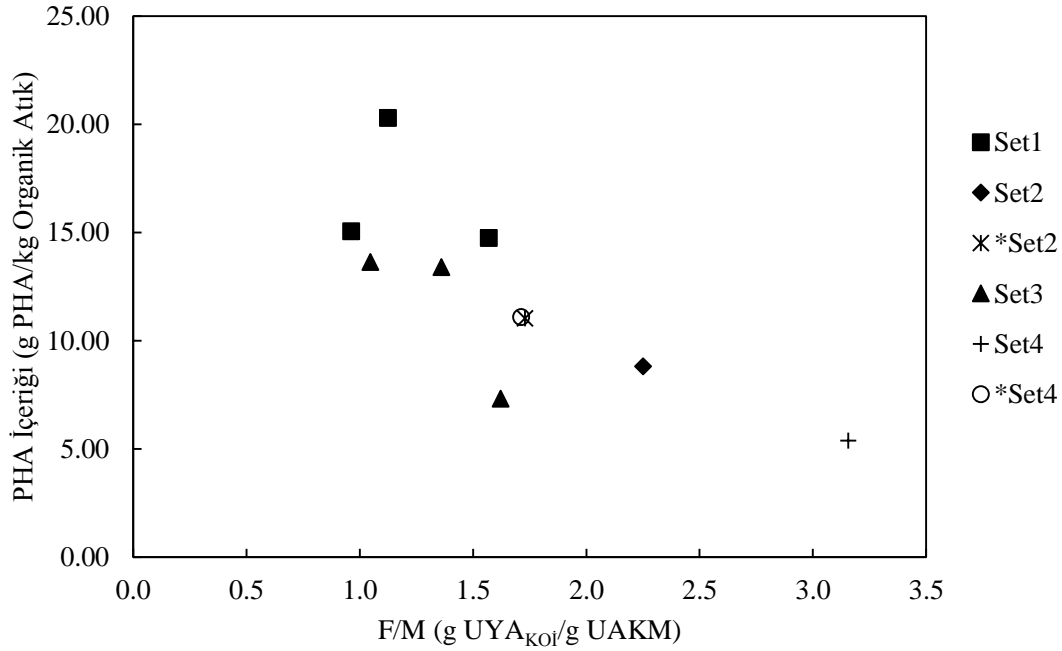
Şekil 4.26 : Organik katı atık setlerinin PHA türleri.

Artan C/N oranı ile PHA üretim verimi artış gösterirken spesifik büyüme veriminin azaldığı bilinmektedir. Önceki çalışmalarda PHA depolanması için yüksek C/N oranı optimum koşul olarak belirtilmiştir. (Kumar ve diğ., 2004; Montiel-Jarillo ve diğ., 2017). Yapılan bu çalışmada da süt endüstrisi atıksuyu için C/N=21, organik katı atık

için C/N=44 olarak hesaplanmıştır. PHA üretim kapasitelerine bakıldığında yüksek C/N oranına sahip organik katı atıktan literatürle benzer şekilde daha yüksek verimle PHA üretimi elde edildiği görülmüştür. Süt endüstrisi atıksuyunda yüksek konsantrasyonda bulunan TKN nedeniyle azot kısıtlı koşul sağlanamamış ve organik katı atıktaki görüldüğü kadar PHA üretimi görülememiştir.



Şekil 4.27 : Süt endüstrisi atıksuyu için bütün Setler’de üretilen PHA miktarları.

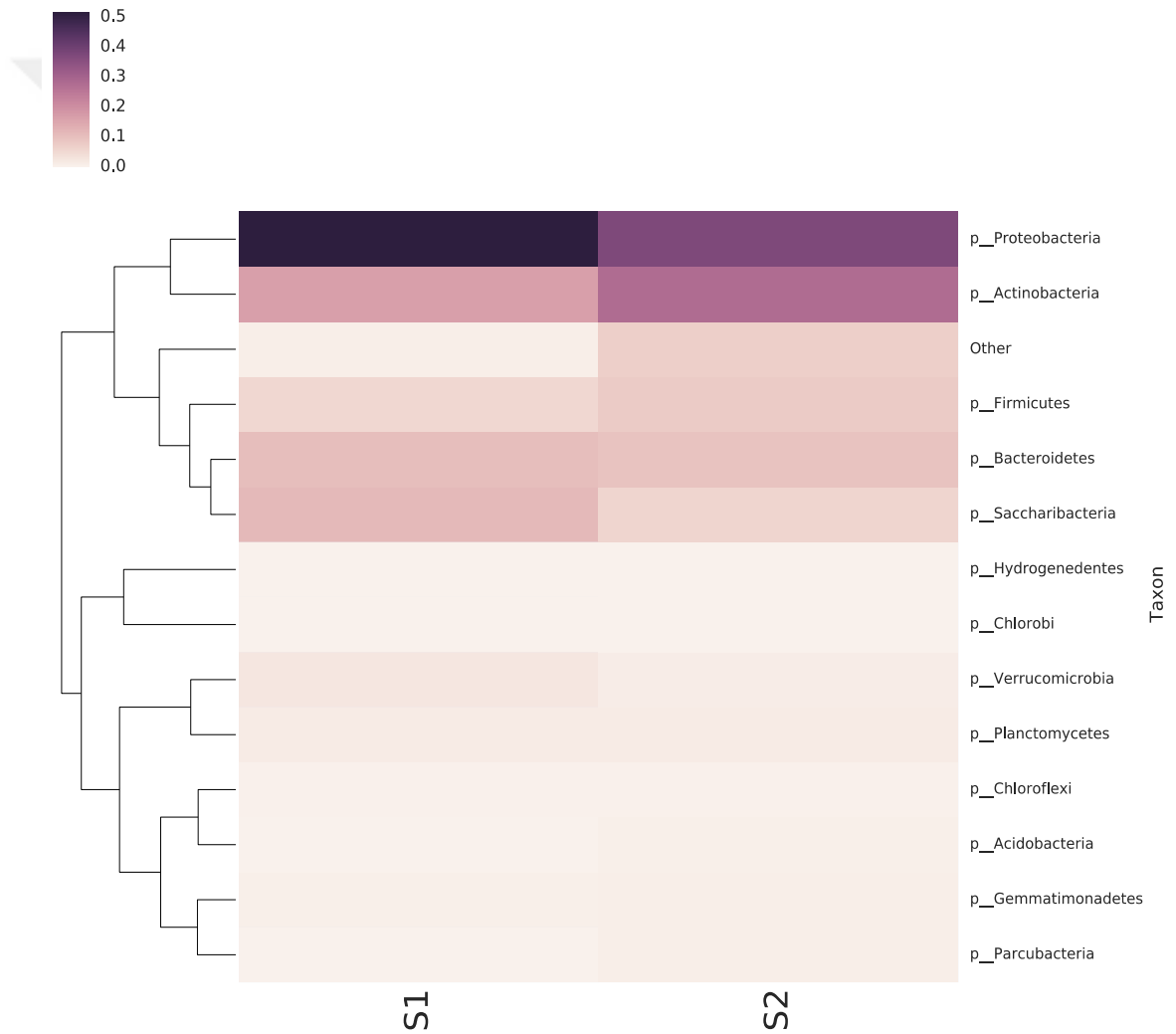


Şekil 4.28 : Organik katı atık için bütün Setler’de üretilen PHA miktarları.

4.5 Mikrobiyal Topluluk Karakterizasyonu

Çalışma sırasında açlık-tokluk rejiminde işletilen ardışık kesikli reaktörden *Set2 işletme koşulu sonunda (çamur yaşı: 6 gün) ve anaerobik-aerobik-anoksik rejimde işletilen ardışık kesikli reaktörden *Set4 işletme koşulu sonunda (çamur yaşı: 12 gün) numuneler alınarak mikrobiyal topluluğun tanımlanmasına yönelik karakterizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.29'da *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* şubelerine ait türlerin her iki sistemde de baskın olduğu tespit edilmiştir. Fakat bu şubelerin göreceli bollukları işletme rejimine göre farklılık göstermektedir.

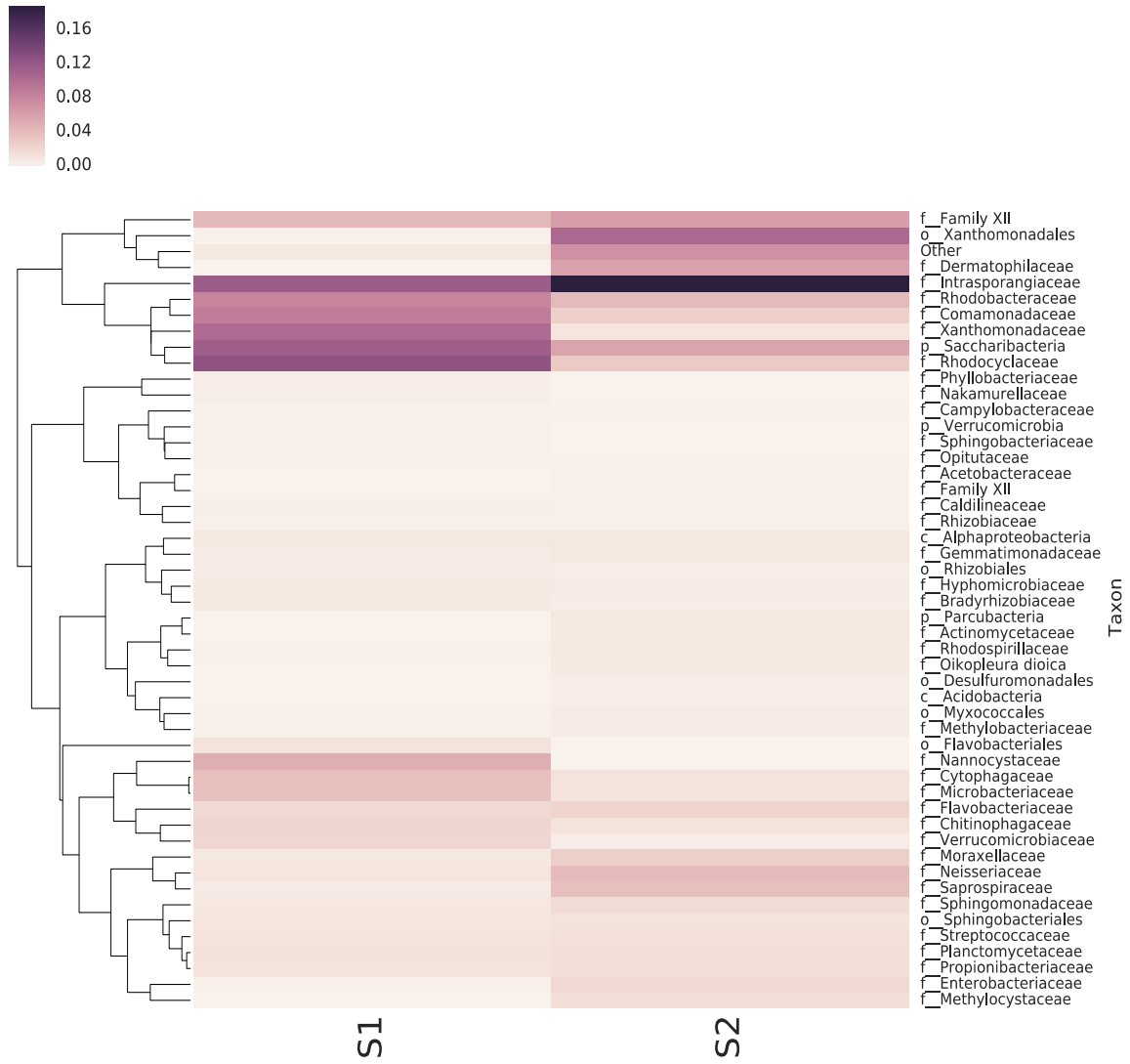


Şekil 4.29 : Mikrobiyal komünitenin şube düzeyinde ısı haritası gösterimi (S1: Açlık-Tokluk rejimi, S2: Anaerobik-Aerobik-Anoksik rejim)

Açlık-tokluk rejiminde işletilen sistemde *Proteobacteria* toplam mikrobiyal topluluğun %51'ini temsil ederken, anaerobik-aerobik-anoksik rejimde %37'sini oluşturmaktadır.

İkinci en baskın şube olan *Actinobacteria* türleri anaerobik-aerobik-anoksik rejim sisteminde avantaj elde ederek mikrobiyal topluluğun %28'ini oluşturmuştur. Bunun yanında açlık-tokluk rejiminde işletilen sistemin %17'si bu şubeye ait türler tarafından temsil edilmektedir. Bu şubeleri takiben, iki sistemde de *Bacteroidetes*, *Saccharibacteria* ve *Firmicutes* türleri mikrobiyal topluluğun %20'den fazla kısmını temsil etmektedir. Elde edilen veriler, literatürde son yıllarda yürütülen benzer çalışmalarla örtüşmektedir (Szabó ve diğ., 2017; Huang ve diğ., 2018).

Aile düzeyinde ise iki sistem arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Şekil 4.30). Açlık-tokluk rejiminde işletilen sistemde göreceli bolluğu en yüksek aile olarak *Rhodocyclaceae* tespit edilirken (% 12,4), anaerobik-aerobik-anoksik rejimde işletilen sistemde mikrobiyal topluluğun yalnızca %3'ü bu aile tarafından temsil edilmektedir.



Şekil 4.30 : Mikrobiyal komünitenin aile düzeyinde ısı haritası gösterimi (S1: Açlık-Tokluk rejimi, S2: Anaerobik-Aerobik-Anoksik rejim)

Farklı olarak, anaerobik-aerobik-anoksik rejimde işletilen sistemde *Intrasporangiaceae* ailesine ait türler baskın olarak görülmüştür (%19). *Xanthomonadaceae*, *Comamonadaceae* ve *Rhodobacteraceae* türleri açlık-tokluk rejiminde işletilen sistemdeki mikrobiyal toplulukta önemli rol oynamakta, birlikte sistemin %27'sini temsil etmektedir. Huang ve arkadaşları (2018) tarafından yürütülen benzer bir çalışmada *Rhodocyclaceae* ve *Rhodobacteraceae* ailesine ait türlerin açlık-tokluk rejiminde işletilen sistemi domine ettiği, bu türlerin PHA depolama özelliği gösterdiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, *Comamonadaceae* üyelerinin de depo polimerleri üretme yeteneği olduğu bilinmektedir (Szabó ve diğ., 2017). *Intrasporangiaceae* ailesine ait türler ise, biyolojik fosfor gideriminde önemli rol oynamaktadır (Stackebrandt ve diğ., 2014).



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, açlık-tokluk rejimi ve anaerobik-aerobik-anoksik rejim kullanılarak zenginleştirilen aktif çamur ile asidifikasyonu sağlanmış süt endüstrisi atıksuyu ve organik katı atığın PHA üretimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. PHA'nın üretimi ve bileşiminin doğrudan UYA bileşenleriyle ilişkili olduğu görülmüştür. Her iki hammadde kaynağından farklı fermentasyon verimleri elde edilmiştir. Asidifikasyon aşamasını kontrol edebilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Yüksek F/M oranlarında PHA üretiminin düştüğü gözlemlenmiştir. Buna göre yüksek F/M oranları pH kontrollü olmak üzere tekrar denenebilir. Bu çalışmada özellikle organik katı atıkların fermente üstsuyu ile elde edilen PHA miktarları atıkların asidifikasyonu ile sürekli sistemlerde biyopolimer üretmek için ümit verici bir yaklaşım ortaya koymaktadır. Düşük çamur yaşının PHA üretimini arttırdığı görülmüştür. PHA üretimini arttırmak için yapılan ve bu çalışmada kullanılan strateji, UYA'nın bir kısmının AKR'lerin beslediği sentetik atık suya eklenmesiyle daha yüksek PHA verimliliğinin sağlanabileceğine dair doğrulayıcı kanıtlar sağlamıştır. Buna göre düşük çamur yaşında daha yüksek PHA içeriği veren AKR'ye de UYA beslemesi yapılarak fermente organik katı atık ile PHA içeriğinin %67,3'ün üzerine çıkarılabileceği görülmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen verilere göre 1000 m³ süt endüstrisi atıksuyundan 173 kg polimer ve 1 ton organik katı atıktan 20,3 kg polimer üretilebileceği hesaplanmıştır. Elde edilen PHBV kopolimeri tek kullanımlık ürünlerin ve ambalaj malzemelerinin üretimi için uygun PHA kompozisyonuna sahiptir.

İleriki çalışmalarda atıkların asidifikasyon verimliliğinin iyileştirilmesi ve optimum C/N oranıyla birlikte pH kontrollü PHA depolama deneylerinin daha fazla araştırılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Andreessen, B., Taylor, N., Steinbüchel, A.** (2014). Poly(3-Hydroxypropionate): a Promising Alternative to Fossil Fuel- Based Materials, *Applied and Environmental Microbiology*, 80 (21), 6574–6582.
- APHA.** (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st edn. American Public Health Association, Washington, DC.
- Ashter, S.A.** (2016). Introduction to Bioplastics Engineering, Elsevier, USA.
- Bengtsson, S., Karlsson, A., Alexandersson, T., Quadri, L., Hjort, M., Johansson, P., Morgan-Sagastume, F., Anterrieu, S., Arcos-Hernandez, M., Karabegovic, L., Magnusson, P., Werker, A.** (2017). A process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from municipal wastewater treatment with biological carbon and nitrogen removal demonstrated at pilot-scale, *New Biotechnology*, 35, 42–53.
- Bernard, M.** (2014). Industrial Potential of Polyhydroxyalkanoate Bioplastic: A Brief Review, *University of Saskatchewan Undergraduate Research Journal*, 1, 1-14.
- Beun, J.J., Dircks, K., Van Loosdrecht, M.C., Heijnen, J.J.** (2002). Poly- β -hydroxybutyrate metabolism in dynamically fed mixed microbial cultures, *Water Research*, 36(5), 1167-1180.
- Bosco, F., Chiampo, F.** (2010). Production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) using milk whey and dairy wastewater activated sludge Production of bioplastics using dairy residues, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109(4), 418-421.
- Carmo, I.** (2013). Food waste valorization through the production of polyhydroxyalkanoates by mixed microbial cultures (Yüksek Lisans Tezi), Nova Lizbon Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Lizbon-Portekiz.
- Cavaillé, L., Grousseau, E., Pocquet, M., Lepeuple, A., Uribelarrea, J., Hernandez-Raquet, G., Paul, E.** (2013). Polyhydroxybutyrate production by direct use of waste activated sludge in phosphorus-limited fed-batch culture, *Bioresource Technology*, 149, 301–309.
- Cavinato, C., Frison, N., Herrero, N., Gottardo, M., Ros, C.D., Strazzera, G., Cherubin, A., Fatone, F., Pavan, P., Bolzonella, D.** (2017). Volatile fatty acids production from organic waste for biorefinery platforms, University of Verona, Department of Biotechnology. Atina.
- Chakravarty, P., Mhaisalkar, V., Chakrabarti, T.** (2010). Study on polyhydroxyalkanoate (PHA) production in pilot scale continuous mode wastewater treatment system, *Bioresour. Technol.*, 101, 2896–2899.

- Chen, Z., Huang, L., Wen, Q., Zhang, H., Guo, Z.** (2017). Effects of sludge retention time, carbon and initial biomass concentrations on selection process: From activated sludge to polyhydroxyalkanoate accumulating cultures, *Journal of Environmental Sciences*, 52, 76-84.
- Choksi, K., Pancha, I., Ghosh, A., Mishra, S.** (2016). Microalgal biomass generation by phycoremediation of dairy industry wastewater: An integrated approach towards sustainable biofuel production, *Bioresource Technology*, 221, 455–460.
- Chua, A.S.M., Takabatake, H., Satoh, H., Mino, T.** (2003). Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater: effect of pH, sludge retention time (SRT), and acetate concentration in influent, *Water Research*, 37, 3602–3611.
- Colombo, B., Favini, F., Scaglia, B., Sciarria, T.P., D’Imporzano, G., Pognani, M., Alekseeva, A., Eisele, G., Cosentino, C., Adani, F.** (2017). Enhanced polyhydroxyalkanoate (PHA) production from the organic fraction of municipal solid waste by using mixed microbial culture, *Biotechnology for Biofuels*, 10(201).
- Çallı, B., Tuğdaş, A.E.** (2010). Eysel Katı Atıklardan Anaerobik Fermantasyon ile Organik Asit Üretimi, Marmara Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Organik Atıklardan Kompost ve Yenilebilir Enerji Üretimi & Kompostun Kullanım Alanları Çalışmayı, Göztepe/İstanbul.
- Demirel, B., Yenigün, O., Onay, T.T.** (2004). Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review, *Process Biochemistry*, 40, 2583–2595.
- Doi, Y.** (1990). *Microbial Polyesters*, John Wiley & Sons, Inc. USA.
- Fradinho, J.C., Reis, M.A.M., Oehmen, A.** (2016). Beyond feast and famine: Selecting a PHA accumulating photosynthetic mixed culture in a permanent feast regime, *Water Research*, 105, 421-428.
- Garcia, N.H., Strazzera, G., Frison, N., Bolzonella, D.** (2018). Volatile Fatty Acids Production from Household Food Waste, *Chemical Engineering Transactions*, 64, 103-108.
- Huang, L., Chen, Z., Wen, Q., Zhao, L., Lee, D. J., Yang, L., & Wang, Y.** (2018). Insights into Feast-Famine polyhydroxyalkanoate (PHA)-producer selection: Microbial community succession, relationships with system function and underlying driving forces. *Water research*, 131, 167-176.
- Kasarıcı, A.O.** (2012). Yemekhane ve Hayvan Atıklarından Bioenerji Geri Kazanımı (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kaur, G., Roy, I.** (2015). Strategies for Large-scale Production of Polyhydroxyalkanoates, *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 29 (2), 157–172.
- Kim, M., Chowdhury, M. M. I., Nakhla, G., & Keleman, M.** (2015). Characterization of typical household food wastes from disposers: fractionation of constituents and implications for resource recovery at wastewater treatment, *Bioresource technology*, 183, 61-69.

- Kourmentza, C., Placido, J., Venetsaneas, N., Burniol-Figols, A., Varrone, C., Gavala, H.N., Reis, M.A.M.** (2017). Recent Advances and Challenges towards Sustainable Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production, *Bioengineering*, 4 (55).
- Kumar, M. S., Mudliar, S. N., Reddy, K. M. K., & Chakrabarti, T.** (2004). Production of biodegradable plastics from activated sludge generated from a food processing industrial wastewater treatment plant, *Bioresource technology*, 95(3), 327-330.
- Mendez-Vilas, A.** (2015). Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Chee, J-Y., Yoga, S-S., Lau, N-S., Ling, S-C., Abed, R.M.M., Sudesh, K., Bacterially Produced Polyhydroxyalkanoate (PHA): Converting Renewable Resources into Bioplastics, 1395-1404, Formatex Research Center, Spain.
- Montiel-Jarillo, G., Carrera, J., & Suárez-Ojeda, M. E.** (2017). Enrichment of a mixed microbial culture for polyhydroxyalkanoates production: Effect of pH and N and P concentrations, *Science of the Total Environment*, 583, 300-307.
- Morgan-Sagastume, F., Valentino, F., Hjort, M., Cirne, D., Karabegović, L., Gerardin, F., Johansson, P., Karlsson, A., Magnusson, P., Alexandersson, T., Bengtsson, S., Majone, M., Werker, A.** (2014). Polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sludge and municipal wastewater treatment, *Water Science & Technology*, 69.1, 177-184. IWA Publishing.
- Nielsen, C., Rahman, A., Rehman, A.U., Walsh, M.K., Miller, C.D.** (2017). Food waste conversion to microbial polyhydroxyalkanoates, *Microbial Biotechnology*, 10(6), 1338–1352.
- Pandey, A., Negi, S., Soccol, C.** (2016). Current Developments in Biotechnology and Bioengineering, Tan, D., Yin, J., Chen, G.-Q., Production of Polyhydroxyalkanoates (1st ed., 29, 655-692). Elsevier.
- Paul, E., Liu, Y.** (2012). Biological Sludge Minimization and Biomaterials/ Bioenergy Recovery Technologies, Biodegradable Bioplastics from Fermented Sludge, Wastes, and Effluents, 1st edition, Chapter 15, 465-498. John Wiley & Sons, Inc.
- Pittman, T., Steinmetz, H.** (2016). Potential for polyhydroxyalkanoate production on German or European municipal waste water treatment plants, *Bioresource Technology*, 214, 9–15.
- Regional Activity Centre for Cleaner Production (RAC/CP).** (2002). Prevention of pollution in the dairy industry, Mediterranean Action Plan, Barcelona-Ispanya.

- Rhu, D.H., Lee, W.H., Kim, J.Y., Choi, E.** (2003). Polyhydroxyalkanoate (PHA) production from waste, *Water Science and Technology*, 48(8), 221–228.
- Rodriguez-Perez, S., Serrano, A., Pantion, A.A., Alonso-Farinas, B.** (2018). Challenges of scaling-up PHA production from waste streams. A review, *Journal of Environmental Management*, 205, 215-230.
- Rubin, B.S.** (2011). Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects, *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 127(1-2), 27-34.
- Saharan, B.S., Grewal, A., Kumar, P.** (2014). Biotechnological Production of Polyhydroxyalkanoates: A Review on Trends and Latest Developments, *Chinese Journal of Biology*, Article ID 802984, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/802984>.
- Salehizadeh, H., Loosdrecht, M.C.M.** (2004). Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance, *Biotechnology Advances* 22, 261–279.
- Serafim, L.S.** (2006). Biodegradable polymers produced by mixed cultures from renewable sources, *European Conference on Biorefinery Research*, Helsinki.
- Shete, B.S., Shinkar, N.P.** (2013). Dairy Industry Wastewater Sources, Characteristics & its Effects on Environment, *International Journal of Current Engineering and Technology*, 3(5).
- Stackebrandt E., Scheuner C., Göker M., Schumann P.** (2014) The Family Intrasporangiaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Stevens, E. S.** (2002). *Green Plastics An Introduction to the New Science of Biodegradable Plastics*, Princeton University Press. New Jersey.
- Szabó, E., Liébana, R., Hermansson, M., Modin, O., Persson, F., & Wilén, B. M.** (2017). Microbial population dynamics and ecosystem functions of anoxic/aerobic granular sludge in sequencing batch reactors operated at different organic loading rates, *Frontiers in microbiology*, 8, 770.
- T.C Çevre ve Şehircilik Bakanlığı.** (2016). *Ulusal Atık Yönetimi ve Eylem Planı (2016-2023)*.
- Vea, E.B., Romeo, D., Thomsen, M.** (2018). Biowaste valorisation in a future circular bioeconomy, *Procedia CIRP*, 69, 591 – 596.
- Wang, L.K., Hung, Y-T., Lo, H.H., Yapijakis, C.** (2004). *Handbook of Industrial and Hazardous Wastes Treatment*, Britz, T.J., Schalkwyk, C., Hung, Y-T., *Treatment of Dairy Processing Wastewaters*, (2nd ed., Chapter 13, 661-694). Marcel Dekker, Inc. New York.
- Wang, K., Yin, J., Shen, D., Li, N.** (2014). Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: Effect of pH, *Bioresource Technology*, 161, 395–401.

Yang, S. (2007). Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources, Yu, J., Microbial Production of Bioplastics from Renewable Resources (1st ed., Chapter 23, 585-610). Elsevier.

Yeşil, H. (2013). Anaerobic Fermentation of Organic Solid Wastes: Volatile Fatty Acid Production and Separation, (Yüksek Lisans Tezi), Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Yu, H.-Q., Fang, H.H.P. (2002). Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels, *Water Science and Technology*, 45 (10), 201–206.

Url-1 <www.fao.org>, erişim tarihi 04.11.2018.

Url-2 <www.tuik.gov.tr>, erişim tarihi 31.10.2018.

Url-3 <www.european-bioplastics.org>, erişim tarihi 09.11.2018.





ÖZGEÇMİŞ



Ad-Soyad : Selin KARACA
Doğum Tarihi ve Yeri : 11.09.1991 / İstanbul
E-posta : slnkaraca@gmail.com
karacasel@itu.edu.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2014, Yıldız Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, Çevre Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- Yıldız Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği bölüm 2.'si ödülünü aldı.
- 2014-2016 yılları arasında AKAD Uluslararası Altyapı Mühendislik İnş. San. Ve Tic. A.Ş firmasında altyapı proje mühendisi olarak çalıştı.