

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI AZOT YÜKLEMELERİNİN ANAMMOX REAKTÖR BAŞLANGICI
ÜZERİNE ETKİLERİ

Akben SÖNMEZ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2011

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI AZOT YÜKLEMELERİNİN ANAMMOX REAKTÖR BAŞLANGICI
ÜZERİNE ETKİLERİ

Akben SÖNMEZ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2011

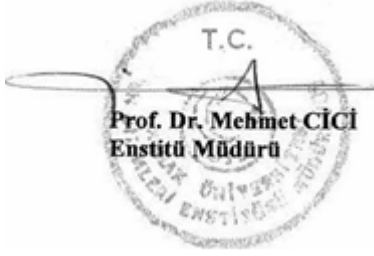
Doç. Dr. Sinan UYANIK danışmanlığında, Akben SÖNMEZ'in hazırladığı "Farklı Azot Yüklemelerinin ANAMMOX Reaktör Başlangıcı Üzerine Etkileri" konulu bu çalışma 11/02/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Sinan UYANIK

Üye: Doç. Dr. Erkan ŞAHİNKAYA

Üye: Doç. Dr. Özer ÇINAR

Bu Tezin Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.



Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No: 108Y271) tarafından desteklenmiştir.

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZ.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
1.GİRİŞ.....	7
1.1.Azot Bağlanması (Azot Fiksasyonu).....	8
1.2.Asimilasyon.....	8
1.3. Azot Mineralizasyonu(Amonifikasyon).....	9
1.4.Klasik Nitrifikasyon-Denitrifikasyon.....	9
2.MODERN AZOT GİDERME YÖNTEMLERİ.....	13
2.1.SHARON PROSESİ.....	13
2.2.CANON PROSESİ.....	15
2.3.OLAND PROSESİ.....	17
2.4.ANAMMOX PROSESİ.....	17
3.ARITMA TESİSLERİNDE ANAMMOX PROSESİNİ ETKİLEYEN ÇEVRESEL ÖZELLİKLER.....	21
Yüksek Lisans Tezi.....	ii
FARKLI AZOT YÜKLEMELERİNİN ANAMMOX REAKTÖR BAŞLANGICI ÜZERİNE ETKİLERİ.....	ii
Akben SÖNMEZ.....	ii
Harran Üniversitesi.....	ii
Fen Bilimleri Enstitüsü.....	ii
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı.....	ii
Danışman: Doç. Dr. Sinan UYANIK.....	ii
2011, Sayfa: 56.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
pH Ölçümü.....	34
Günlük.....	34
Gaz Hacmi Ölçümü.....	34
Günlük.....	34
6.2 Reaktörlerdeki pH Değişimi.....	42
10. ÖZET.....	55

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

**FARKLI AZOT YÜKLEMELERİNİN ANAMMOX REAKTÖR BAŞLANGICI ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Akben SÖNMEZ

**Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. Sinan UYANIK

2011, Sayfa: 56

Amonyum (51,43 mg/L) ve nitrit (164.29 mg/L) içeren sentetik atık suların, 35 ± 2 °C'de işletilen yukarı akışlı çamur battaniyeli (UASB) reaktörde arıtımı 113 gün boyunca çalışılmıştır. Anaerobik amonyum oksitleyen (ANAMMOX) bakteriler için karbon kaynağı olarak inorganik karbon (HCO_3^- 149,8 mg/L) kullanılmıştır. Besin içinde nitrat bulunmazken, zenginleştirme çalışmaları sonrası yapılan testlerde nitratla karşılaşmıştır. Ancak reaktörlerde karşılaşılan nitratın büyük bir kısmının ışık inhibisyonundan ve besindeki oksijen varlığından kaynaklandığı testler sonucu belirlenmiş, etkin bir ANAMMOX zenginleştirilmesi gerçekleştirilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Anaerobik amonyum oksidasyonu (ANAMMOX); Amonyum giderimi; Yukarı akışlı çamur battaniyeli reaktör.

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECTS OF DIFFERENT NITROGEN LOADING RATES ON ANAMMOX START-UP

Akben SÖNMEZ

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Environmental Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sinan UYANIK
2011, Page: 56

The treatment of ammonia and nitrite containing wastewater was studied in an **Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor (UASB)** at 35 ± 2 °C for 113 days. Hydrogen bicarbonate was supplemented (HCO_3^- 149,8 mg/L) as carbon source and nitrite was supplemented as electron source for ANAMMOX bacteria. Although there was no nitrate in the synthetic media, nitrate was detected in the ANAMMOX enrichment tests. The amount of nitrate in the reactors detected may come from light inhibition and presence of oxygen in the synthetic media. At the end of the study, no expected ANAMMOX enrichment detected.

Keywords: Anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX); Ammonium removal; **Upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB)**.

TEŐEKKÖR

Tez çalıőmam sűresince bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danıőmanım Sayın Doç. Dr. Sinan UYANIK'a, laboratuvar çalıőmalarım ve tez yazım sűrecimde yardıma ihtiyaım olduğu her anımda yanımda olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Sevgi DEMİREL'le değerli meslektaőlarım ve arkadaőlarım Zeynep YÜCESOY, Ertunç URAL, İhsan Nur AKYÜZ ile benden maddi manevi hiçbir yardımı esirgemeyen kıymetli aileme teőekkűrű bir borç bilirim. Ayrıca, yapılan çalıőmaya maddi destek verdiği için TÖBİTAK'a (Proje no: 108Y271) teőekkűr ederim.

Akben SÖNMEZ, 2011

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 5.1. Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan 3 UASB reaktörü için işletim koşulları	30
Çizelge 5.2. Zenginleştirme Çalışmalarında Kullanılacak Sentetik Atıksu İçeriği	32
Çizelge 5.3.1 Deneysel İzleme Çizelgesi	34
Çizelge 6.1.1 ANAMMOX Aktivite Testi 1 (AAT-1) NH ₄ -N Konsantrasyonu	37
Çizelge 6.1.2 Test tüplerinde tüketilen amonyum miktarı	38
Çizelge 6.1.3 Test tüplerindeki NO ₂ Konsantrasyonu	39
Çizelge 6.1.4 Test tüplerinde üretilen nitrit miktarı	40
Çizelge 6.1.5 Test tüplerinde üretilen nitrat miktarı	41
Çizelge 6.1.6 ANAMMOX aktivitesi	42

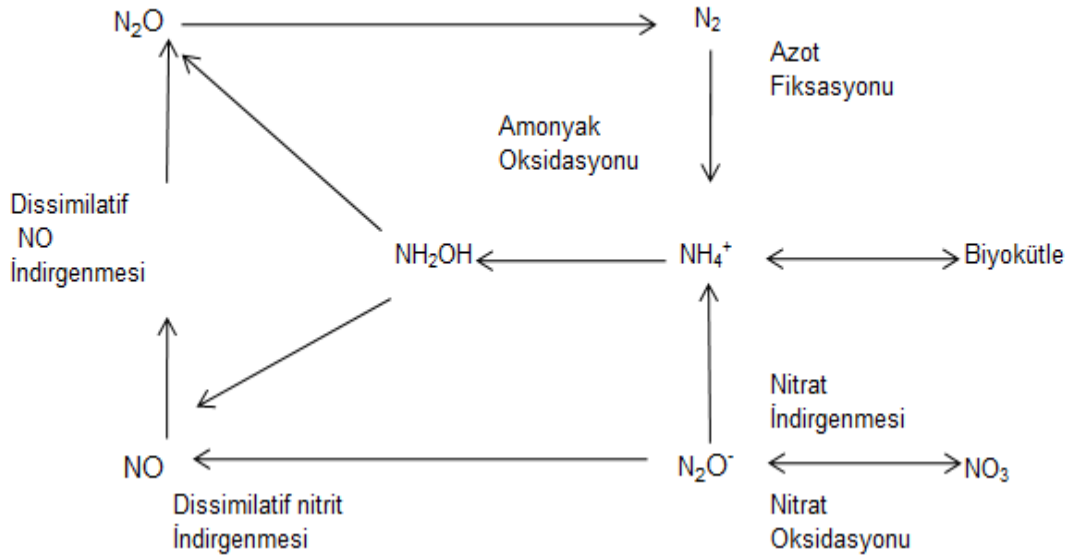
ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Mikrobial Azot Döngüsü	7
Şekil 2.1. SHARON Prosesi	13
Şekil 2.2. CANON Prosesi	15
Şekil 2.3. OLAND Prosesi	17
Şekil 2.4. ANAMMOX prosesi	17
Şekil 4.1 MBR de 60 gün boyunca azot giderim profili	24
Şekil 5.1. Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan UASB reaktörün şematik çizimi	29
Şekil 6.1.1 Test tüplerindeki Amonyum Konsantrasyonu	37
Şekil 6.1.2 Beklenen ANAMMOX Aktivitesi	38
Şekil 6.1.3 Test tüplerindeki NO ₂ Konsantrasyonu	39
Şekil 6.1.4 Beklenen ANAMMOX aktivitesi	40
Şekil 6.1.5 Test tüplerinde beklenen NO ₃ Konsantrasyonu	41
Şekil 6.1.6 Test tüplerindeki NO ₃ Konsantrasyonu	42
Şekil 6.2.1 R-1 Çıkış pH değerleri	43
Şekil 6.2.2. R-2 Çıkış pH değerleri	43
Şekil 6.2.3 R-2 Çıkış pH değerleri	44
Şekil 6.3.1 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için toplam karbon (IC) değerleri.	44
Şekil 6.3.2 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için toplam organik karbon (TOC) değerleri	45
Şekil 6.4.1 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için toplam azot (TN) değerleri	46
Şekil 6.4.2 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için amonyum azotu (NH ₄ -N) değerleri	46
Şekil 6.4.3 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için nitrit azotu (NO ₂ -N) değerleri	47
Şekil 6.4.4 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için nitrat azotu (NO ₃ -N) değerleri	48

1.GİRİŞ

Tüm canlıların yapıtaşını oluşturan aminoasit, proteinler ile nükleik asit, hormon ve vitaminlerin yapısına giren azot, canlı yaşamı için temel elementlerdendir. Doğadaki temel azot kaynağı (N_2 , N_2O) atmosfer olup, azot atmosferdeki gazların %78'ini oluşturmaktadır. Fakat sucul ortamlarda ve toprakta azot sınırlı nütrienttir. Gelişmekte olan ülkelerde milyonlarca insan topraktaki azot eksikliğinden dolayı yeterli miktarda ürün elde edememekte ve sonuç olarak yetersiz beslenmektedirler. Bunun nedeni ise, azot gazının birçok organizma tarafından doğrudan kullanılamaması ve bir ön hazırlık olarak azotun bazı mikroorganizmalar tarafından amonyağa dönüştürülmesidir. Bu dönüşüm dört adımdan meydana gelmektedir;

1. Azot bağlanması (azot fiksasyonu),
2. Asimilasyon,
3. Azot Mineralizasyonu,
4. Nitrifikasyon, Denitrifikasyon.



Şekil 1.1.Mikrobiai Azot Döngüsü

1.1.Azot Bağlanması (Azot Fiksasyonu)

Azot gazının çeşitli şekillerde bağlanarak kullanılabilir bileşikler haline dönüşmesi olayına fiksasyon denir. Fiksasyon sonucu elde edilen inorganik form genellikle amonyak ve nitrattır. Dünyadaki azot fiksasyonu, bazı canlılar tarafından (Rhizobium, Azotobacter, Oscillatoria, Anabeana) biyolojik süreçlerle gerçekleştirilebildiği gibi, fizikokimyasal (şimşek, yıldırım gibi etkenlerle azotun nitrata dönüşümü) ve endüstriyel süreçlerle (sentetik nitrattı gübre üretimi) de gerçekleşmektedir. Biyolojik fiksasyon yapan Rhizobium cinsi bakteriler, bazı baklagillerin kökünde simbiyotik olarak yaşamaktadır. Sucul ekosistemlerdeki biyolojik azot fiksasyonunun çok önemli bir kısmı Anabeana ve Oscillatoria cinsi mavi-yeşil algler tarafından gerçekleştirilmektedir. Toprakta ise Azotobacter ve Clostridium cinsi bakteriler önemli derecede biyolojik fiksasyonu gerçekleştiren canlılardır.

Fiksasyona uğramış olan azotun, diğer canlılar tarafından kullanılabilmesi için öncelikle bitkiler tarafından alınarak özümlemesi (organik bünyeye katılması) zorunludur. Her ne şekilde olursa olsun, fiksasyona uğrayarak toprağa ve suya karışan nitrat formundaki inorganik azot (NO_3), suda erimek suretiyle bitkiler tarafından alınabilir. Bitkiler tarafından emilen nitrat, protein ve nükleik asit gibi biyomoleküllerin üretiminde kullanılır. Böylece azot, abiyotik çevreden biyotik unsurlara geçmiş olur. Bitkilerden beslenme yoluyla tüm canlılara ulaşır. Azot, bitkiler ve hayvanlar atık ürettiklerinde ya da öldüklerinde, ayrışma ile tekrar toprağa döner. Toprakta bulunan denitrifikasyon bakterileri de nitrit ya da nitrattı tekrar azot gazına dönüştürür. Böylece azot tekrar atmosfere karışır.

1.2.Asimilasyon

Heterotrofik ve ototrofik organizmalar NH_4^+ ve NO_3^- olarak asimilasyon (hücre sentezi) için kullanır. Mikroorganizmalar her ne kadar nitrattı asimilasyon için kullansa da, nitrattı önce amonyuma dönüştürür, daha sonra hücre sentezi (protein sentezi) için kullanırlar. Bu nedenle atıksu arıtım tesislerinde hücre sentezi için azotun kullanılması nedeniyle bir miktar azot giderimi gerçekleşmektedir.

Bitki ve alg hücreleri azotu amonyum şeklinde yapılarına katmaktadırlar. Bu nedenle NH_4^+ bazlı gübreler NO_3^- bazlı gübrelere kıyasla daha fazla tercih edilmektedir (Şahinkaya, E. 2009. Çevre Mikrobiyolojisi 2 Ders Notları. Harran Üniversitesi, Sayfa:4-5, Şanlıurfa.)

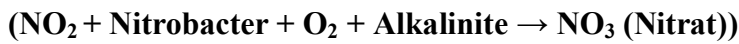
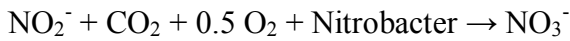
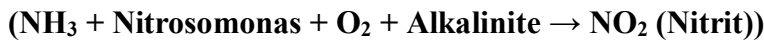
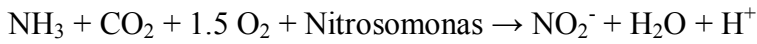
1.3. Azot Mineralizasyonu(Amonifikasyon)

Biyolojik azot bileşiklerinin amonyağa çevrilmesine amonifikasyon denir. Amonifikasyon toprak ve sulara amonifikasyon bakterileri tarafından gerçekleştirilir. Amonifikasyonla azot döngüsüne katılan amonyak azotu tekrar nitrifikasyon ve asimilasyon için hazır duruma gelir.

1.4. Klasik Nitrifikasyon-Denitrifikasyon

Klasik mikrobiyal azot gidermenin temeli ototrofik nitrifikasyon ve heterotrofik denitrifikasyondur. Prosesi kısaca açıklamak gerekirse; Aerobik nitrifikasyonla (NH_4 'ün NO_2 'ye ve daha ileri olarak NO_3 'e dönüştürülmesi) azot giderme de elektron alıcı molekül oksijendir. Nitrifikasyon reaksiyonu sonucu oluşan nitrattaki bağlı oksijen, anoksik bir ortamda çözünmüş oksijen yerine denitrifikasyon mikroorganizmaları tarafından kullanılmakta ve ortamdaki azotlu bileşikler uçucu azot haline getirilmektedir ve bu süreç ise denitrifikasyon olarak adlandırılmaktadır.

Nitrifikasyon

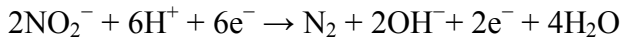
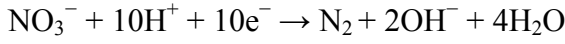


e^- Transferi



Anoksik denitrifikasyonda(NO_3 ve NO_2 'nin N_2 'ye dönüştürülmesi) ise reaksiyonlar metanol, asetat, etanol, laktat, glukoz gibi farklı elektron vericiler ile tamamlanmaktadır. Anoksik denitrifikasyon reaksiyonları ise;

Denitrifikasyon



NO_3 + Denitrifikasyon Bakterisi + Organik Karbon → Azot Gazı + Su + Alkalinite

Uzun zamandır bilinen nitrifikasyon – denitrifikasyon reaksiyonları üzerinde yapılan çalışmalar gösteriyor ki; nitrifikasyon ve denitrifikasyon reaksiyonlarının farklı şartlar ve farklı mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu yüzden oluşan reaksiyonlarda maksimum kazancı elde etmek için zaman ve ortam şartlarının da ayrılmasını zorunlu hale gelmiştir.

Nitrifikasyon reaksiyonları yüksek oranda oksijen gerektiren reaksiyonlardır. Reaksiyon süresince her 1gr amonyum azotunu nitrifiye etmek için 4.2 gr oksijen gerekmektedir. Denitrifikasyon reaksiyonlarında ise organik karbon gereksinimi görülmekte, bu sistemlerin kullanıldığı arıtma tesislerinde işletim masraflarının önemli ölçüde yüksek olmasına sebep olmaktadır. Ayrıca, bu proseslerin düşük karbon/azot (C/N) oranlı endüstriyel atıksular için olan uygulamalarında ise denitrifikasyon prosesinin karbon ihtiyacı (yaklaşık 2.47 g metanol/g $\text{NO}_3\text{-N}$) dışarıdan karbon ilavesini gerektirmekte ve buna bağlı olarak kimyasal sarfiyatını ve oluşacak çamur miktarını arttırmaktadır. Örneğin 1gr nitrat azotunu tamamen denitrifiye etmek için 2.47 gr metanol'e ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak tam ölçekli bir denitrifikasyonda metanol gibi elektron vericilerin kullanımı oldukça pahalı olmakla beraber denitrifikasyon hızını yükselttiğinden, anoksik tank hacmi küçülür ve tesisin ilk yatırım masrafları düşer.

Her ne kadar ilk yatırım masraflarını düşürse de, oksijen varlığında ki denitrifikasyonda etanol'e göre kısmen daha ucuz olan metanın daha geniş bir

kullanım alanı vardır. Atıksu arıtımında metan genellikle anaerobik çamur çürütme reaksiyonları sonucu oldukça kolay ve büyük miktarlarda elde edilebilmektedir. Metan ile denitrifikasyon, metanootrofikler ve metilotrofiklerin iş birliği ile gerçekleşmektedir. Metanoototroflar kuvvetli aerobiktirler ve sadece metan varlığında gelişebilmektedirler. Metanoototroflar metilotroflarla yaptıkları iş birliğinde metanı karbondioksit ve suya kadar oksitlerler. Bu proses kendiliğinden azotu gideremez ancak uygun çevre koşulları altında organik ara bileşikler üretirler. Oluşan bu organik ara bileşikler de aerobik ve anaerobik denitrifikasyon bakterileri için karbon kaynağını oluşturur. Metanol, formaldehit ve format metanoototrofların metanı okside ederken kullandıkları en temel substratlardandır. Oluşan diğer karbonlu ara bileşikler yine metanoototroflar tarafından oluşturulmakta ya da sistemden uzaklaştırılmaktadır. Bu ara ürünlerin yapısında aynı zamanda sitrat, metan polisakkaritler ve asetat da bulunmaktadır. Ancak tüm avantajlarına rağmen metan ile denitrifikasyonun en büyük dezavantajı proseslerin oldukça yavaş ilerlemesidir.

Açıklanan azot formları dışında günümüzde özellikle atıksularda bulunan azot bileşiklerinin doğal sularda bulunması çeşitli problemlere neden olmaktadır. Bu bileşikler ve neden oldukları problemleri kısaca özetleyecek olursak;

Amonyak (NH₃):

Amonyak doğal sularda genellikle amonyum azotu (NH₄-N) şeklinde bulunur ki buna serbest veya tuz halindeki amonyak denir. Sularda amonyak, kimyasal ve fiziksel olaylar veya mikroorganizma faaliyetleri sonucunda oluşmaktadır. Kimyasal ve fiziksel olaylar sonucunda oluşan amonyağın sağlığa zararı yoktur. Ancak mikroorganizma faaliyetleri sonucunda oluşan amonyak organik madde kaynaklı olma ihtimali bakımından tehlikelidir. 0.5 ppm'den büyük değerlerde amonyak kirliliğin belirtisidir.

Nitrit (NO₂) :

İçme suyunda kesinlikle istenmez. Güneş ışığı ve bazı bakteriler nitratları nitrite dönüştürür.

Nitrat (NO₃) :

Azotlu organik bileşiklerin son yükseltgenme ürünleridir. Kuyu sularında nitrat genelde daha fazla bulunur. Özellikle bebeklerde mavi bebek (blue-baby) hastalığına neden olmaktadır. Vücudu morarmaya başlayan bebeklerde bu hastalık ölüme dahi neden olabilir. Nitratlar suya topraktan geçmiş olabilir. Fakat amonyak ve nitritten kaynaklıysa tedbir alınmalıdır. Çünkü nitritlerin mevcudiyeti suda kirlenmeyi ifade etmektedir. Nitritler yüksek miktarda organik madde ile bulunursa daha büyük bir kirlenme söz konusudur. Ayrıca amonyak bazı bakteri türlerinin çoğalmalarına sebep olur ki bunlar suya kötü koku verirler. Bu azot türleri alıcı ortama aşırı miktarlarda verildiklerinde organizmalar tarafından kullanılırlar ve ortam içerisinde ötrifikasyona (alg patlaması sonucu oksijen azlığı) sebep olurlar.

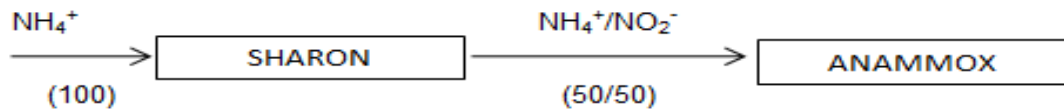
Yukarıda sıralanan tüm bu sebeplerden dolayı atıksuların alıcı ortama deşarjında, özellikle azot bileşenleri için getirilen sıkı deşarj standartları, mevcut arıtma sistemlerine göre daha verimli alternatif arıtma yöntemlerinin araştırılıp geliştirilmesine neden olmuştur.

2.MODERN AZOT GİDERME YÖNTEMLERİ

Günümüzde atıksu arıtma tesislerinde, atıksulardan azot bileşiklerinin uzaklaştırılması için kullanılan en yaygın yöntem, biyolojik nitrifikasyon/denitrifikasyon prosesidir. Ancak bu prosesin işletim maliyetinin yüksekliği nedeniyle, son yıllarda klasik nitrifikasyon/denitrifikasyon prosesinin aksine oksijen ve organik karbon tasarrufu sağlayan ve sera etkisi yaratan gaz emisyonları oluşturmayan yeni biyolojik azot giderim teknolojilerinin (örn: kısmi nitrifikasyon-nitrit üzerinden denitrifikasyon, SHARON, CANON, ANAMMOX, OLAND) geliştirilmesine yönelik pek çok çalışma yürütülmektedir. Araştırılmakta olan bu yeni teknolojilerin tümü öncesinde kısmi nitrifikasyon/nitrifikasyon prosesini gerekli kılmaktadır. Bu nedenle yukarıda anlatılan yeni biyolojik azot giderme proseslerinin uygulanabilirliği, nitrifikasyon prosesinde nitritin nitrata oksitlenmesinin inhibe edilerek, stabil kısmi nitrifikasyon sağlanması ile mümkün olacaktır.

2.1.SHARON Prosesi

SHARON prosesi (Single reactor system for **H**igh **A**mmonia **R**emoval **O**ver **N**itrite process) stabil şartlar altında nitritin ara ürün olarak oluştuğu ve nitrifikasyon/denitrifikasyon prosesinin uygulandığı ilk başarılı uygulamadır (van Kempen ve ark., 2001). Proses tek bir reaktör içerisinde nitrit üzerinden yüksek miktarda amonyum giderimini hedeflemektedir. Proses sırasıyla yüksek sıcaklık (35 °C) ve yüksek pH'ya (7'nin üzerinde) sahip havalandırılan ve biyokütlenin bekletilmediği tek bir reaktörde gerçekleştirilmektedir (Brouwer ve ark., 1996; Hellinga ve ark., 1997). Ayrıca prosesde amonyumun nitrite kısmi nitrifikasyonu gerçekleştiği için havalandırma maliyeti ciddi ölçüde azaltmaktadır.



Şekil 2.1. SHARON Prosesi

SHARON prosesinin sorunsuz bir şekilde işletilmesi uygun pH ve sıcaklık aralığında çalışmasına bağlıdır. Prosesin işletimi sırasında sıcaklık 15 °C'nin üzerinde olmalıdır, özellikle 30 – 40 °C en çok istenilen sıcaklık aralığıdır. Çünkü bu sıcaklık aralığında Amonyum oksitleyen bakterilerin büyüme hızı nitrit oksitleyen bakterilerden daha yüksektir (Brouwer ve ark., 1996). Ayrıca bu şartlar altında denitrifikasyon bakterileri nitriti azot gazına anoksik olarak dönüştürebilmektedir. Proses için diğer önemli parametre ise, NH₃ ve NH₄ konsantrasyonları arasındaki dengedir. Çünkü nitrifikasyon asitleşme prosesidir ve pH 6.5 in altına düştüğünde, amonyum oksidasyonu devam edemez (van Kempen ve ark., 2001). Bunun nedeni pH 6.5 in altında amonyum oksitleyen bakterilerin büyümesi için gerekli olan serbest amonyak miktarının çok düşük olmasıdır. Bu yüzden SHARON prosesi için yüksek pH değerleri tercih edilir. Ancak pH'ın 8 olduğu durumlarda ise nitrifikasyon gerçekleşmez. Çünkü ortamda çok fazla serbest amonyak (NH₃) olması, nitrat oksitleyen bakteriler için toksik etki yaratmaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı SHARON prosesinde istenilen pH aralığı 6.5 - 7.5 arası bir değerdir (van Dongen ve ark., 2001).

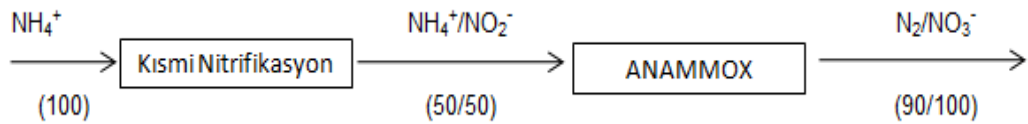
Ayrıca proses tasarım sıcaklığında (30–40 °C) bakteri türlerinin farklı büyüme oranlarına sahip olmaları nedeniyle, nitrat oksitleyen bakteriler sistemden yıkanırken denitrifikasyon bakterileriyle birlikte amonyak oksitleyici bakteriler sistemde alıkonulabilir (Hellings ve ark., 1998).

Nitrit oksitleyen bakteriler, amonyum oksitleyen bakterilere göre oksijene daha az ilgiye, afiniteye, sahiptirler (Hunik, 1993; Picioreanu ve ark., 1997). Bu yüzden düşük çözünmüş oksijen konsantrasyonları nitrit oksitleyen bakteriler için sınırlayıcı bir etki olmaktadır (Truk ve ark., 1989; Hanaki ve ark., 1990; Laanbroek ve Gerards, 1993). Aerobik bekleme zamanına bağlı olarak, çıkış sularında farklı amonyum konsantrasyonları da elde edilebilir (van Kempen ve ark., 2001). Amonyum oksitleyen bakteriler ise amonyum için düşük bir ilgiye sahiptirler (afinite sabiti 20-40 mg NH₄⁺ /L). Ek olarak HNO₂ amonyum oksitleyen bakterileri inhibe etmektedir, ancak bu bakteriler pH 7'de nitritin yüksek konsantrasyonlarını tolere edebilmektedir (>0.5 g NO₂- N/L) (Jetten ve ark., 1997; van Dongen ve ark., 2001).

Sonuç olarak birçok proses içerisinde SHARON prosesinin yüksek konsantrasyonlarda amonyum içeren atıksuların arıtılmasında diğer proseslere kıyasla büyük ölçüde daha kullanışlı bir proses olduğu söylenebilir. Proses işletimindeki toplam azot giderimi %90 civarındadır (van Kempen ve ark., 2001). Öte yandan prosesin ilk tasarım maliyeti, çamur bekletme süresi gerektirmediğinden, uygun ölçülerde basit bir tam karışimli reaktör maliyeti ile eş değer olarak, düşük bir maliyet gerektirmektedir. Proses kimyasal çamur üretmezken biyolojik çamur miktarı da kısmen daha azdır. Klasik nitrifikasyon ve nitrat ile denitrifikasyon sistemleriyle kıyaslandığında ise SHARON prosesi %25 daha az havalandırma enerjisi ve %40 daha az karbon eklemesine ihtiyaç duymaktadır.

2.2.CANON PROSESİ

CANON prosesi (Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite) nitrit azotu üzerinden, tamamen ototrofik olarak, düşük organik madde içeren atıksulardan azot giderimi sağlayan bir procestir. Proses temelde kısmi nitrifikasyon ve amonyağın anoksik ortamda oksidasyonu üzerine kuruludur. CANON tek bir reaktör içerisinde ya da oksijenin limitli şartlar altında, bir biyofilm içerisinde gerçekleşmektedir (Dijkman ve Strous,1999).

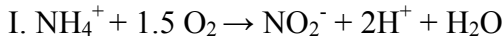


Şekil 2.2. CANON Prosesi

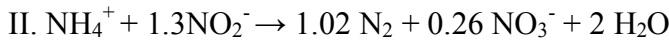
Oksijenin limitli olduğu şartlar altında (hava doygunluğu $< 0,5\%$), aerobik ve anaerobik amonyum oksitleyen bakterilerden oluşan karışık bir bakteri kültürü belirlenip, reaktördeki CANON aktivitesinden sorumlu tutulmuştur (Strous, 2000). Prosesin atıksularda uygulanması sonucu, ototrofik bakterilerle tek bir reaktörde amonyağın tamamen uzaklaştırılması sağlanabilmiştir. Burada çözülmüş oksijen konsantrasyonu 0.5 mg/L kadar amonyak oksidasyonunu etkilenmezken, askıda büyümenin gözlemlendiği reaktörlerde (suspended growth reactors) nitrit oksidasyonu

önemli ölçüde inhibe olmaktadır (Hanaki ve ark.,1990). Çünkü oksijenin sınırlayıcı olduğu şartlarda, nitrit oksitleyenler aerobik amonyum bakterileri ile oksijen için; anaerobik amonyak oksitleyicilerle de nitrit için yarışmaktadırlar. Burada ortamdaki serbest amonyak tarafından nitrit oksitleyen bakterilerin inhibe olabileceği bilinmektedir (Abeling ve Seyfried, 1992). Bu şartlar düşünüldüğünde CANON prosesinden farklı olarak ANAMMOX prosesi de düşük oksijen konsantrasyonlarında uygulanabilir bir proses olarak karşımıza çıkmaktadır (Strous ve ark., 1997b).

Öte yandan CANON prosesi tamamen popülasyondaki iki grup ototrofik bakterinin arasındaki stabil etkileşime bağlıdır (Third ve ark., 2001). Bu ototrofik kültürler nitriti ara ürün olarak oluştururken, amonyağı doğrudan azot gazına (N₂) dönüştüren iki basamaklı bir reaksiyonu gerçekleştirmektedirler.



I. Nitrosomonas ve Nitrososira gibi aerobik nitrifikasyon bakterileri (Hanaki ve ark., 1990)



II. Planctomycete ANAMMOX bakterisi gibi anaerobik amonyum oksitleyen bakteriler (Strous, 2000).

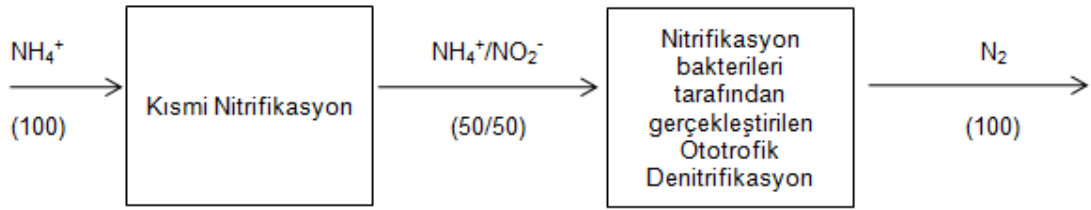
CANON sisteminde amonyumun kısıtlayıcı etkisi, iki farklı reaktör tipinde (sequencing batch reactor ve chemostat) laboratuvar ölçekte araştırılmıştır. Atıksudan azotun, azot gazı olarak uzaklaştırılması için en alt etkin ve kararlı değer 0.1 kg-N/gün olarak belirlenmiştir. Ancak sistemdeki toplam azot giderme oranı %92 iken giriş debisindeki amonyum miktarı sınır değerlerin altına düştüğünde %92'lik azot giderimi %57 ye gerilemektedir.

Sonuç olarak, CANON prosesi amonyum bakımından zengin ancak organik madde bakımından fakir atıksuların arıtımı için oldukça ekonomik bir proses olduğu gözlenmektedir. Çünkü proses tamamen ototrofik olarak gerçekleşip, dışarıdan herhangi bir KOİ (Kimyasal Oksijen İhtiyacı) kaynağına ihtiyaç duymamaktadır. Ek olarak tek bir reaktör içerisinde gerçekleştirilen toplam azot giderimi çok az bir

havalandırma ile gerçekleştirilmektedir. Bu da enerji ve alan açısından oldukça büyük bir kazanç sağlamaktadır. Çünkü ototrofik CANON prosesi klasik azot uzaklaştırma proseslerine oranla %63 daha az enerji ve %100 daha az indirgeyici madde (reducing agents) tüketmektedir (Kuai ve Verstraete, 1998).

2.3. OLAND PROSESİ

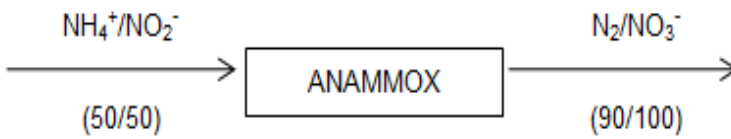
OLAND (Oxygen Limited Autotrophic Nitrification–Denitrification) prosesi konvansiyonel aerobik, ototrofik nitrifikasyon bakterilerinden bazılarının kısıtlı oksijen altında denitrifikasyon yapabilme özelliğini kullanmaktadır. Bu proseste nitrifikasyon bakterileri öncelikle amonyumu %50 oranında nitrite çevirmekte ve bunu takiben aynı bakteriler sistemde kalan amonyumu nitriti elektron alıcısı olarak kullanmak suretiyle azot gazına dönüştürmektedir (Verstraete, W., Philips, S., 1998 ve Ahn, Y.H., 2006)



Şekil 2.3. OLAND Prosesi

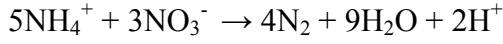
2.4. ANAMMOX PROSESİ

ANAMMOX prosesi atıksulardan azot uzaklaştırma da uygulanabilecek umut verici yeni bir prosestir (Jetten ve ark., 1997; Strous ve ark., 1997a,b). Prosesin azot giderme mekanizmasını kısaca özetleyecek olursak; anaerobik ortamda, karbon kaynağı olarak inorganik karbon ve elektron alıcısı olarak nitrit kullanılarak, amonyum azotu azot gazına dönüştürülmektedir.

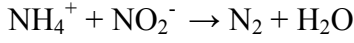


Şekil 2.4. ANAMMOX prosesi

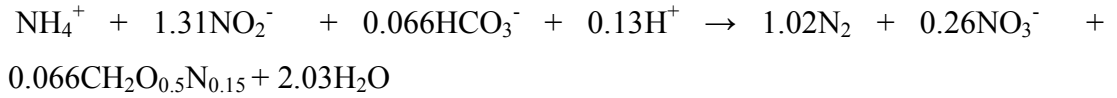
Sistemin kimyasal denklemleri ilk olarak 1995 yılında Mulder ve arkadaşları tarafından elde edilmiştir. Burada metanojenik reaktör çıkış suyu arıtımında kullanılan, akışkan yataklı denitrifikasyon sisteminde, anaerobik ortamda amonyumun oksitlendiği gözlemlenmiştir. Buna göre nitratın e⁻ alıcı, amonyumun ise e⁻ verici olarak belirlendiği aşağıdaki kimyasal denklem elde edilmiştir.



İlerleyen zamanlarda ise van de Graaf ve arkadaşları ile Bock ve arkadaşları (1995) aynı proses için nitritinde elektron alıcı olarak amonyum azotu gideriminde kullanılabilirliğini aşağıdaki eşitlikle göstermişlerdir (van de Graaf ve ark.,1995 ve Bock ve ark., 1995)



Yapılan çalışmalar sonucunda ise Strous ve ark.,1998, anaerobik amonyum oksidasyonunda nitriti elektron alıcı olarak kullanan aşağıdaki eşitlikte kütle dengesini açıklamış ve reaksiyonun bu eşitlik çerçevesinde gerçekleştiğini göstermişlerdir (Strous ve ark.,1998).



Proses temelde anaerobik amonyum oksidasyonunda dışarıdan herhangi bir karbon kaynağı eklemeyen nitritin e⁻ alıcı olarak kullanılmasıyla enerji kazanımı üzerine kurulmuştur (Jetten ve ark., 1999). Burada ANAMMOX bakterilerinin büyümesi için gerekli olan temel karbon kaynağı CO₂'dir (van de Graaf ve ark., 1996).

Öte yandan uygulamada ANAMMOX reaksiyonlarını gerçekleştiren iki tür bakteri bulunmaktadır. Bunlar “*Brocadia Anammoxidans*” (Strous ve ark., 1999a) ve “*Kuenenia stuttgartiensis*”dır (Schmid ve ark., 2000). Her iki bakteri türü birbirine çok yakın yapıya sahip ve ara ürün olarak hidrazin üretmektedirler. Bakterilerde gözlenen en yüksek ANAMMOX aktivitesi pH 6.4-8.3 ve sıcaklık 20-43 °C arasındadır (Strous ve ark., 1999b; Egli ve ark., 2001). Her iki organizma için optimum sıcaklık ve pH aralığı da birbirine oldukça yakındır. Bu aralıklar *K.stuttgartiensis* için pH 8 ve sıcaklık 37 °C (Egli ve ark., 2001) iken

B.Anammoxidans için pH 8 ve 40 °C olarak belirlenmiştir (Jetten ve ark., 1999). Bununla beraber K.stuttgartiensis, B. Anammoxidans'larla kıyaslandığında, nitrite karşı çok yüksek bir tolerans, hücre yoğunluğu düşük kültürlerde daha aktif ve fosfattan daha az inhibe olmak gibi özelliklere sahiptir (Egli ve ark., 2001). Son olarak her iki bakterinin kendini eşleme süresi oldukça fazla (11 gün) ve büyüme verimi (0.11 g VSS/g NH₄-N) oldukça düşüktür. Amonyumun anoksik şartlar altında oksitlenirken, nitritin e⁻ alıcı olarak kullanıldığı durumlarda ANAMMOX bakterisi, nitrifikasyon bakterisi aktivitesinde 25 kat daha büyüktür (Jetten ve ark., 1999). Anaerobik amonyum oksidasyonu ise aerobik amonyum oksidasyonundan yedi kat daha yavaş bir reaksiyondur (Strous ve ark., 1998). Ayrıca ANAMMOX aktivitesini geri çevrilebilir olarak inhibe eden inhibitörler asetilen, fosfat ve oksijen olarak belirlenmiştir (van de Graaf ve ark., 1996).

Proses çamur çürütme suyu sularından amonyum gidermek için oldukça iyi bir prosesdir. Ayrıca sabit yataklı ve akışkan yataklı reaktörler de ANAMMOX prosesi için oldukça uygun reaktör tipleridir (Strous ve ark., 1997a). ANAMMOX prosesi aynı zamanda gas lift reaktörler içinde de kolay bir şekilde işletilebilmektedir. Burada günlük azot giderimi 8.9 kg N/m³.gün'e kadar ulaşabilmektedir ki, bu değer daha önceki laboratuvar çalışmalarının yaklaşık 20 katı kadardır (Sliekers ve ark., 2003). Öte yandan Jetten ve ark. yaptıkları çalışmalar neticesinde ANAMMOX prosesi için FBR ve SBR reaktörleri uygun bulmuş ve bu reaktörleri seçerken göz önünde bulundurdıkları kriterleri şu şekilde sıralamışlardır;

- Askıda Maddelerin Bekleme Süresi: Buradaki temel amaç reaktör içindeki çok yavaş büyüyen/bölünen/artan ANAMMOX bakterilerinin reaktör içinde tutulmasını sağlamaktır. Çünkü bekleme süresindeki azalma sistemde asılı halde bulunan ANAMMOX biyokütlesinin kaybına neden olabilir.
- Karıştırma Şiddeti: Reaktör yüksek nitrit konsantrasyonu ile beslendiğinde reaktördeki ANAMMOX bakterileri inhibe olur. Bu durumda giren besinin hemen seyreltilmesi gerekmektedir. Bu nedenle Engelli Akışlı (Plug-Flow) akışlı reaktörler ANAMMOX bakterilerinin zenginleştirme çalışmalarında tercih edilmez.

- Yüksek Oranlarda Azot Dönüştürme Oranları: Bunun için asılı sistemlerde yüksek biyokütle konsantrasyonuna ya da biyofilm sistemlerde geniş yüzey alanlarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Açıklanan bu kriterlere bağlı kalınarak ANAMMOX prosesi için aşağıdaki reaktör tiplerinin uygun olduğu düşünülebilir.

1.Hareketli Yataklı Reaktörler: Ortalama biyofilm yüzeyi $350 \text{ m}^2/\text{m}^3$

2.Granül Çamur Sistemleri (İçsel Döngü): Ortalama biyofilm yüzeyi $2000 \text{ m}^2/\text{m}^3$.
Reaktör hacmi ise $50\text{-}100 \text{ kg TSS}/\text{m}^3$.

3.Membran Biyoreaktörler: Bu reaktör tipi giriş suyunda biyolojik olarak parçalanamayan katı parçacıkların çıkış suyunda verilmesi mümkün olmadığında ya da reaktör içinde biriktirilmesi gerektiğinde tercih edilir.

ANAMMOX prosesi, kendisinden önce nitrifikasyon prosesi ile birleştirilirse, ortamdaki amonyumun sadece bir kısmı nitrite dönüştürülür, kalan amonyum ve nitrit de ANAMMOX reaksiyonları sonucu azot gazına dönüştürülür. Bu da nitrifikasyon reaktöründeki oksijen ihtiyacını ve maliyeti düşürür. Böylece sırasıyla biyokütle verimi ve çamur oluşumu azalır.

ANAMMOX prosesinin diğer sistemlerden bir diğer farkı ise işletim maliyetinin klasik nitrifikasyon sistemlerine kıyasla oldukça düşük olmasıdır. Ancak düşük biyokütle verimi yeterli biyokütle konsantrasyonunu elde edebilmek için aynı zamanda yeterli çamur bekletme zamanı ve uzun bir başlangıç (start-up) süresine ihtiyaç duymaktadır (Jetten ve ark., 1997).

3.ARITMA TESİSLERİNDE ANAMMOX PROSESİNİ ETKİLEYEN ÇEVRESEL ÖZELLİKLER

Yapılan çalışmalarda ANAMMOX prosesinin maksimum spesifik substrat (nitrit ve amonyum) değişim hızı farklı sıcaklık ve pH değerlerinde ölçülmüştür. Her bir deneydeki substratın lineer azalışı, her sıcaklık ve pH değerinde substrat değişim hızının sabit olduğunu göstermiştir. Çalışmalarda ANAMMOX aktivitesinin en yüksek olduğu sıcaklık aralığının 20-43 °C olduğu bulunmuştur. ANAMMOX biyokütlesi için optimum sıcaklık 40±3 °C, pH aralığı 6,4-8,3'dür ve optimum pH 8 olarak kabul edilmiştir. ANAMMOX prosesi ürün olarak oluşan nitrat ile inhibe olmaz. Fakat 0,1 g NO₂-N/L'den daha fazla konsantrasyonlarda nitrit, inhibisyona neden olur. ANAMMOX bakterileri nitrite duyarlıdır. Nitrit konsantrasyonu 5- 10 mM olduğu zaman faaliyet geri dönüşümlü olarak tamamen durur. İz miktarda ANAMMOX ara ürünlerini ilave etmek (1,4 mg N/L hidrazin veya 0,7 mg N/L hidroksilamin) aktiviteyi tamamen iyileştirir. ANAMMOX bakterilerinden K.stuttgartiensis türünün nitrite toleransı daha yüksektir. Bunun yanında B. Anammoxidans ile karşılaştırıldığında, fosfat K. Stuttgartiensis türünü daha az inhibe eder. Asetilen, fosfat ve oksijen ANAMMOX bakterilerinin aktivasyonunu inhibe eden maddelerdir. Pilot ölçekli çalışmalarda asetilen, 2,4-dinitrofenol, karbonil siyanür, HgCl₂, gibi maddelerin amonyum oksidasyonunun inhibe ettiği görülmüştür. Oksijenin ANAMMOX prosesi üzerine etkisi, kesikli ve sürekli sistemlerle yapılan deneysel çalışmalarda denenmiştir. Yapılan ilk kesikli deneylerde, zenginleştirilmiş kültürler oksijenli ortama verildiği zaman ANAMMOX aktivitesinin tamamen inhibe olduğu görülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarda 20 saat boyunca oksijen inhibisyonunun geri dönüşümü incelenmiştir. Aralıklı olarak oksik ve anoksik (2'şer saat) reaktör sistemi kullanılmıştır. Bu çalışmalardan, amonyumun oksik periyotta oksitlenmediği gözlenmiştir, fakat deney boyunca anoksik periyotlarda ANAMMOX aktivitesi sabit kalmıştır. Böylece oksijenin inhibisyonunun geri dönüşümlü olduğu gösterilmiştir. ANAMMOX bakterileri oksijen ve nitrite karşı oldukça duyarlıdır. Oksijen konsantrasyonu 2 µM'den daha düşük ve nitrit konsantrasyonu 5-10 mM arasında olduğu zaman ANAMMOX aktivitesi tamamen inhibe olur, fakat bu inhibisyon geri dönüşümlüdür. Zenginleştirilmiş ANAMMOX kültürlerinin oksijene

3.ARITMA TESİSLERİNDE ANAMMOX PROSESİNİ ETKİLEYEN ÇEVRESEL ÖZELLİKLER Akben SÖNMEZ

karsı duyarlılığı mikroaerobik şartlarda yapılmıştır. Farklı O₂ konsantrasyonlarında (hava doygunlukları sırasıyla %2, %1, %0,5 ve %0) yapılan kesikli deneylerde, sadece %0'lık hava doygunluğunda amonyumun ve nitritin tüketildiği görülmüştür. Yapılan bu deneysel çalışmalarda da açıkça görüldüğü gibi ANAMMOX aktivitesi sadece mutlak anoksik şartlarda gerçekleşmektedir

Tüm bu açıklamalar doğrultusunda yapılan bu çalışmada laboratuvar ölçekli yukarı akışlı çamur battaniyeli reaktörler kullanılarak organik madde içeriği düşük, azot miktarı yüksek ve birbirinden farklı SRT' ye sahip, sentetik atıksu ile beslenen 3 adet UASB reaktör ile ANAMMOX bakterilerinin zenginleştirme performansının incelenmesi sonucu elde edilen sonuçlar açıklanmaktadır.

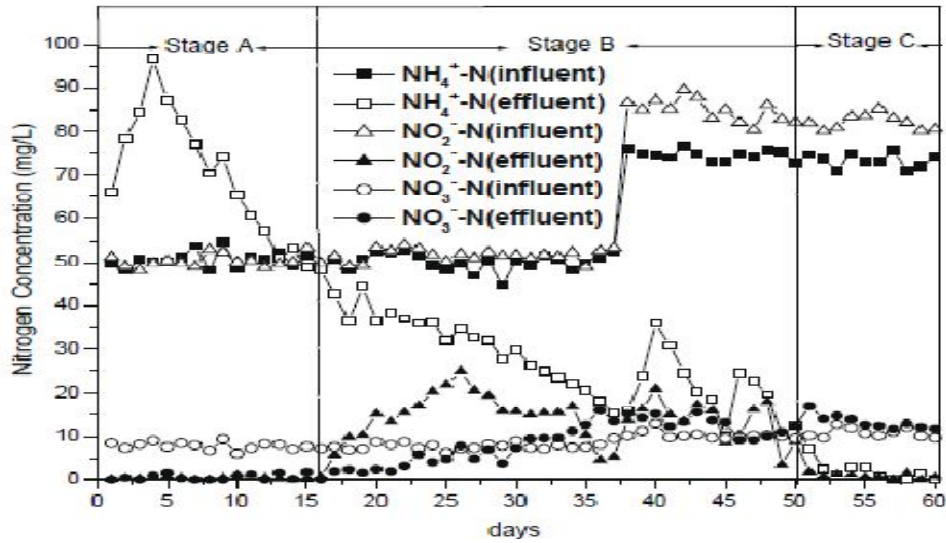
4.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Klasik azot giderme yöntemlerinin yüksek maliyet ve uzun zaman gereksinimleri gibi dezavantajları nedeniyle araştırmacılar daha az maliyetli, zamandan ve yerden tasarruf sağlayan ve işletimi klasik sistemlere kıyasla daha kolay arıtma teknolojileri üzerindeki çalışmıştır. Son on yıllık süreç içerisinde yayımlanan bazı yayınlar ile işletilen sistemlerde, sedimentlerde, ya da zenginleştirilmiş kültürlerde ANAMMOX bakterilerinin aktivitesi gözlenmiştir (Mulder ve ark., 1995, van de Graaf ve ark., 1995). Sonuçta ANAMMOX bakterilerinin varlığının kanıtlanması yeni azot giderme yöntemlerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur (Strous, 1999 ve Kuenen, 2001). Bununla beraber ANAMMOX bakterileri kullanarak atıksulardan azot uzaklaştırmanın en büyük dezavantajı bakterilerin büyüme oranlarının oldukça düşük olması ve uzun inkübasyon zamanını gerektirmesidir (Strous, 1998). Bazı araştırmacıların biyofilm sistemlerde ANAMMOX bakterilerini belirlemelerine rağmen geriye kalan birçok araştırmacı için ANAMMOX bakterilerini elde etmek ve zenginleştirmek çok büyük bir engel teşkil etmiştir. Bu yüzden bu tarz bakterilerin özellikle klasik mikrobiyal tekniklerle kültürasyonu sonucu bol miktarda bulunamaması hiç de şaşırtıcı bir sonuç değildir (Strous, 2001)

ANAMMOX bakterilerini zenginleştirmek için yapılan daha önceki çalışmalar düşünüldüğünde ANAMMOX bakterilerinin varlığı işletilen sistemde nitrifikasyon-denitrifikasyon proseslerinin varlığıyla birlikte tercih edilen ortam şartları ya da bunlarla birlikte uzun SRT' ye bağlı olmaktadır. Çalışılan reaktörlerde granül-çamurların olması ANAMMOX bakterilerinin zenginleştirilmesi için olumlu bir etken olarak düşünülebilir, çünkü bakterilerin düşük büyüme oranları onların sistemde ayırt edilmesini sağlayabilir. Bu amaçla bakterilerin zenginleştirilmesi için akışkan yataklı, sabit yataklı, SBR ve daha birçok çeşit reaktör kullanılmıştır. Bu reaktörlerle yapılan çalışmalar sonucu ANAMMOX bakterilerinin zenginleştirilmesi için gerekli şartları sağlayan ve çalışılan en uygun reaktör UASB reaktörler olarak belirlenmiştir (Mulder, 1992, Strous, 1998 ve Kuenen, 2001). Bu bağlamda ANAMMOX bakterilerinin zenginleştirilmesine yönelik çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Wang ve ark. (2008) çalışmalarında MBR reaktörler kullanılarak ANAMMOX başlangıç süresini kısaltılması amaçlamışlardır. Tüm bu amaçlar doğrultusunda MBR sürekli olarak Van de Graaf ve ark.(1996) geliştirdiği sentetik atıksu ile sürekli olarak sabit akımla 100 rpm de, 35 °C ve pH 7.8–8.2 arasında 2 ay boyunca tam karışım sağlanarak işletilmiştir.

Sonuçlar açıklanırken de iki aylık süre gün bazında 3 ayrı bölüme ayrılarak incelenmiştir.



Şekil 4.1. MBR de 60 gün boyunca azot giderim profili

Bölüm A (1-16.günler)

Oksijensiz ortamda nitrit varlığı nedeniyle denitrifikasyon gözlemlenmiştir. ANAMMOX aktivitesine rastlanmamıştır. Çıkış suyundaki amonyum konsantrasyonu giriş suyundaki konsantrasyondan daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Bunun nedenini ise ortamdaki aerobik bakterilerin oksijensiz şartlara uyum sağlayamayıp hücrelerinin parçalanmasına bağlamışlardır burada çıkıştaki maksimum amonyum konsantrasyonu 4.günde 96 mg/L ye ulaşmıştır. Ayrıca aerobik bakterilerin parçalanması sonucu ortamda KOİ gözlenmiştir. Ortamda var olan KOİ karışık kültür içerisindeki denitrifikasyon bakterileri tarafından karbon kaynağı ve elektro verici olarak kullanılmış böylece besindeki nitritinde tamamı ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Bu bölümde yukarıdaki açıklamalardan yola çıkılarak

anaerobik heterotrofik denitrifikasyon bakterilerinin ANAMMOX bakterilerinden daha baskın olduğu sonucu çıkarılabilir.

Öte yandan üzerinde durulması gereken diğer bir önemli nokta ise Jetten ve ark. (1999) yaptıkları çalışmadan yola çıkılarak ortamda var olan KOİ'nin ANAMMOX bakterileri üzerindeki inhibisyon etkisini ortadan kaldırmak için 4.günde reaktördeki üst suyun boşaltılması gerektiğidir. Üst suyun boşaltılmasının ardından MBR'deki KOİ konsantrasyonu azalırken çıkış suyundaki yüksek amonyum konsantrasyonunda da önemli bir azalma gözlenmiştir. Gözlenen bu azalışı ise iki farklı varsayımla açıklayabiliriz. Bunlardan ilki reaktörde hücre parçalanmasından kaynaklanan yüksek miktardaki inorganik amonyum birikimi reaktörden uzaklaştırılan üst su ile birlikte reaktörden atılmıştır. İkinci varsayım olarak ise ortamdaki KOİ'nin azalması ile çamurda var olan ANAMMOX aktivitesi iyileşmiş ve ortamdaki amonyum ANAMMOX aktivitesi için kullanılmıştır.

Bölüm B (16-50.Günler)

Bu bölümde reaktör içerisinde amonyumun ve nitritin birlikte kullanılmasından yola çıkılarak ANAMMOX aktivitesi gözlemlenmiştir. Gözlenen diğer bir durum ise çıkış suyundaki nitrit konsantrasyonundaki artıştır. Bu artışın sebebi ise ortamdaki organik karbonun çoğunun bölüm A da ortamdan uzaklaştırılması sonucu hala var olan denitrifikasyon bakterilerinin aktivitelerinin azalması yani artık dominant popülasyon olmamaları olarak belirlenmiştir. Bu yüzden bu bölümde uzaklaştırılan tüm amonyum ANAMMOX aktivitesi ile nitrit ise ANAMMOX ve denitrifikasyon sonucu ortamdan uzaklaştırılmıştır. Giriş suyundaki amonyum ve nitrit konsantrasyonu 37.günde 50 mg/L den 75 ve 85 mg/L ye arttırıldığı zaman çıkış suyundaki amonyum ve nitrit dalgalanmasının yanı sıra reaktördeki amonyak ve nitrit tüketimi arasındaki korelasyon reaktörde ANAMMOX aktivitesin güzel bir göstergesidir.

Bölüm C (50-60.Günler)

Bu bölümde etkin bir ANAMMOX aktivitesi gözlenmiştir. Reaktördeki ortalama amonyum ve nitrit giderme verimi %90 civarındadır. Ortalama nitrit

tüketimine karşılık amonyum tüketimi 1.15:1 olarak belirlenmiştir. Geçmişte yapılan çalışmalarda nitrit tüketimine karşılık amonyum tüketimi 1.32:1 (Strous ve ark.,1999) ve 1.37:1 (Helmer ve ark.,1999) olarak belirtilmiştir. Buradaki fazladan nitrit tüketimini ise ortamdaki eser miktardaki muhtemel oksijen varlığında diğer bakteri türlerinin yaptığı aktivitelerde kullanıldığı üzerinde durulmaktadır. Ayrıca Şekil 1 de nitrat oluşumu gözlenmekte, ancak oluşan nitrat miktarı Strous ve ark.'nın 1998 yılında belirledikleri ANAMMOX stokiyometrisine oranla oldukça az ortaya çıkmaktadır. Burada ANAMMOX bakterilerinin büyümesi ve çoğalması için bir nitrat üretiminden bahsedilmekte, ancak bununla beraber reaktörde az da olsa hayatta kalmayı başarabilmiş denitrifikasyon bakterileri ANAMMOX aktivitesi sonucu üretilen nitratı kısmen kullanmış olabilir.

Tüm sonuçlar çerçevesinde MBR de ANAMMOX prosesi 2 aylık bir süre içerisinde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Reaktördeki başlangıç süresi ise literatürdeki diğer başlangıç süreleriyle kıyaslandığında oldukça düşüktür. Çünkü literatürdeki ortalama ANAMMOX başlangıç süreleri 4 ay ya da daha uzun bir süreyi kapsamaktadır. MBR deki başlangıç süresinin bu denli kısa olmasını ise aşılama sonrasında var olan tüm biyokütlenin başarılı bir şekilde reaktörde alkonmasına bağlayabiliriz. Li ve ark.(2008) yaptıkları çalışmalarda Pekin evsel atıksu arıtma tesisinden alınan çamur ile aşılama reaktörlerle çalışılmıştır. Çalışmanın temel amacı reaktör performanslarını daha iyi inceleyebilmek için belirlenen 5 farklı komünite (*Candidatus Kuenenia*,*C. Scalindua*,*C. anammoxoglobus* ve *C.Jettenia*) ile diğer bakteri türlerinin etkileşimlerini incelenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen sonuçlarda ise ANAMMOX bakterileri ile birlikte *Nitrosomonas Eutropha* ve *Nitrosomonas Europea* gibi ototrofik aerobik amonyum oksitleyen bakterilerin birlikte bulunabileceği belirlenmiştir. Belirtilen bu bakteri türleri azot dioksiti e^- alıcı olarak kullanıp düşük anaerobik şartlarda amonyuma oksitleyebiliyorlar. Çalışmadan çıkan diğer bir sonuç ise ototrofik büyüme için gerekli CO_2 'nin indirgenmesi sonucu NO_2-N bir kısmı NO_3-N 'e dönüşmektedir.

Jin ve ark.'nın 2007 yılında yaptıkları çalışmada ise SBR ve UBF reaktörlerde ANAMMOX reaksiyonları incelenip kıyaslanmıştır. Buna göre ANAMMOX reaksiyonları için reaktör seçimindeki en temel şart bakteri biyokütlelerinin reaktörde

tutulma kapasitesi göz önünde bulundurulmuştur. Öte yandan çalışmaların bu iki reaktörle yapılmasındaki nedenler ise UBF reaktörlerin destek maddeler ile bakterileri daha uzun alıkoyabilmesi, SBR reaktörlerde ise etkin çamur çökmesidir. Bilinen bu nedenler doğrultusunda çalışma hacmi 1.2L olan her iki reaktör, evsel atıksu arıtma tesisinin aktif çamur ünitesinden alınan çamur ile aşılanmıştır. Reaktörler ışığın olumsuz etkilerinden korunmak için ışık geçirmeyecek şekilde kaplanmış, 30 °C’de ve pH 7.5-8 aralığında işletilmiştir. Reaktörlerden UBF reaktör, düzenli olarak, içinde üç farklı ölçüye sahip medya ile etkin biyokütle alıkonması sağlanarak çalıştırılmıştır. SBR reaktör ise 12 saatlik döngüler halinde çalışırken, çalışmalarda tam bir anaerobik ortam sağlanması için 3L/dk oranında argon gazı ile yıkanmıştır. Çalışma sonuçlarının eldesi için yapılan deneyler ise ya anlık alınan numunelerle ya da testler yapılana kadar alınan numunelerin 4 °C’de buzdolabında saklanması ile yapılmıştır. Alınan numunelerden yapılan testler ise NO₃-N,NO₂-N,NH₄-N,pH, askıda katı madde(SS) ve uçucu askıda katı maddedir (VSS). Sonuçta 30 mg VSS/L içeren atık çamurlarla yapılan aşılama başarılı sonuçlar vermiştir. Reaktörler kademeli olarak 265 mg NH₄-N azot miktarına kadar %90’ın üzerinde arıtma verimi göstermişlerdir. 280 mg/L’nin üzerinde ise daha önce Strous ve arkadaşlarının da belirttiği gibi ANAMMOX bakterileri inhibe olmuşlardır. Yapılan bu çalışmayla elde edilen diğer önemli sonuçlar ise;

Azot Yükleme Miktarı; Sistemlerin maksimum arıtma kapasitesini ölçebilmek için NLR periyodik olarak arttırılmış ve HRT ve TN’in reaktörle üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuçta belirli bir noktaya kadar TN arıtımı devam etmiş, HRT 4.6 saatin üzerinde iken, NH₄-N giderimi %89’un üzerinde olmuştur.

Stabilite; Reaktörler 1 ay süresince pseudo-steady-state olarak işletilmiş ve reaktörlerin şok substrat konsantrasyonları karşısındaki toleransları 2 günde bir reaktör giriş ve çıkışlarından numune alınarak incelenmiştir. Burada UBF reaktörlerde toplam NLR 2367’den 3559 mg/L ye artmış, HRT 8.69 ±0.58 h, toplam giderim başlangıçta %77.3 iken %41.1’e gerilemiştir. SBR reaktörde ise HRT 21.8±0.5 h sabit tutularak, NLR 879mg/L’den1294 mg/L’ye kadar yükseltilmiş, toplam giderimin başlangıçta %92 iken,%41’lere düştüğü gözlemlenmiştir.

Hidrolik Şoka Gösterilen Tolerans: UBF reaktörde HRT 7.1–4.9 saat olduğunda nitrit ve amonyum giderme yüzdeleri %80–85 iken, bu süre 3.7 saate düşünce giderme yüzdeleri HRT ile orantılı olarak %67–71'e kadar gerilemektedir.

SBR reaktörde ise HRT 10.1–16.4 aralığındayken değerler %81-95'i gösteriyorken, HRT 6.2 saate gerilediğinde giderim yüzdesi tıpkı UBF de olduğu gibi gerileyerek %69-81'lere kadar düşmüştür. Bu sonuçlara bakarak elde edilen diğer önemli bir sonuç ise kısa tutulan HRT'nin SBR reaktör yerine UBF reaktöre daha uygun bir yöntem olduğudur.

Biyokütle Üretimi: Strous ve ark. yaptıkları çalışmalar ışığında ANAMMOX reaksiyonlarının sitokiyometrisi dikkate alınarak 3.1 mg nitrat ve 280 mg amonyum kullanılarak 26 mg kuru hücre üretilmektedir. Hücrelerin üretiminde ise en uygun reaktör olarak SBR reaktörler belirlenmiştir.

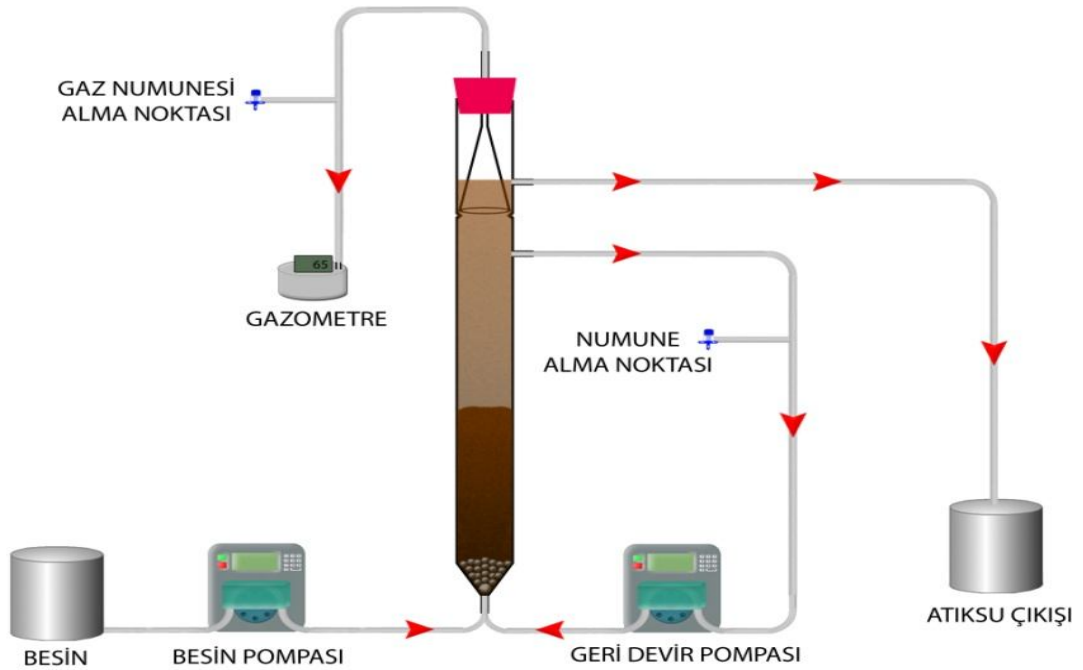
Sonuç olarak ANAMMOX reaksiyonları başlangıç evresi için en uygun reaktörler UBF reaktörler olarak belirlenirken biyokütlenin reaktör içinde tutulması için en uygun reaktör de SBR reaktörler olarak belirlenmiştir.

5.MATERYAL ve METOT

Önerilen bu çalışmada laboratuvar ölçekli yukarı akışlı çamur battaniyeli reaktörler kullanılarak organik madde içeriği düşük, azot miktarı yüksek ve birbirinden farklı çamur bekletme zamanına (SRT) sahip, sentetik atıksu ile beslenen 3 adet UASB reaktör ile ANAMMOX bakterilerinin zenginleştirme performansının incelenmiştir.

5.1.Zenginleştirme çalışmaları

Çalışmalar oldukça yavaş üreyen ANAMMOX bakterilerinin zenginleştirilmesi amacıyla İstanbul Paşaköy İleri Atıksu Arıtma Tesisinden arıtma çamuru getirilmiş ve bu çamurlarla ısı kontrollü odada (35 ± 2 °C) üç adet UASB sistem kurularak zenginleştirme çalışmalarına başlanmıştır (Şekil 5.1). Sistemlere ait bilgiler Çizelge 5.1 de özetlenmiştir.



Şekil 5.1. Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan UASB reaktörün şematik çizimi

Çizelge 5.1. Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan 3 UASB reaktörü için işletim koşulları

	REAKTÖR 1	REAKTÖR 2	REAKTÖR 3
AZOT YÜKLEME HIZI (NLR) (mg N/L*gün)	200	100	50
HİDROLİK BEKLEME SÜRESİ (HRT)(gün)	0,45	0,90	1,80
DEBİ (L / gün)	1,78	0,89	0,5
REAKTÖR HACİMLERİ (L)	0,8	0,8	0,9
NO₂-N MİKTARI (mg/L)	50	50	50
NO₂ MİKTARI (mg/L)	164,29	164,29	164,29
NH₄-N MİKTARI (mg/L)	40	40	40
NH₄ MİKTARI (mg/L)	51,43	51,43	51,43
NO₂-N / NH₄-N Oranı	1,25	1,25	1,25
TOPLAM AZOT (TN) (mg / L)	90	90	90
İNORGANİK C- MİKTARI (IC) (mg / L)	149,82	149,82	149,82
NO₃ MİKTARI (mg/L)	0	0	0

Çalışmada kullanılan yukarı akışlı anaerobik çamur (upflow anaerobic sludge blanket, UASB) reaktörünün temel prensibi reaktörün altından beslenen atıksuyun, reaktörün alt bölümünde granül halinde bulunan ve kolay çökebilen çamur tabakası ile temasına dayanmaktadır. Atıksu daha sonra reaktörün içindeki separasyon (ayırma) sisteminden geçerek gaz, sıvı ve katı olarak ayrılmaktadır. Ayrıca Reaktörlerde mekanik karıştırma yoktur. Karışma, çamur tabakası ve atıksuyun teması ile üretilen biyogazın etkisiyle gerçekleşmektedir. Bu karışım şekli bizim için önemli olan çamur granüllerini desteklemektedir. Reaktörlerde oluşması beklenen çamur granüllerinin bizim için en önemli katkısı sistemimizde dengeli bir mikrobiyal komünite oluşturarak toksik şoklara daha dayanıklı bir ortam yaratmaktır.

Reaktörler zenginleştirme aşamasında Çizelge 5.2'de verilen besin hazırlanarak beslenmiştir.

Çizelge 5.2.Zenginleştirme Çalışmalarında Kullanılacak Sentetik Atıksu İçeriği

SENTETİK ATIKSU BESİN LİSTESİ

EDTA	6,25 mg/L	62,5 mg/10L
NaNO ₂	246,43 mg/L	2464,3 mg/10L
(NH ₄) ₂ SO ₄	188,78 mg/L	1887,8 mg/10L
KHCO ₃	1250 mg/L	12500 mg/10L
KH ₂ PO ₄	25 mg/L	250 mg/10L
MgSO ₄ .7H ₂ O	200 mg/L	2000 mg/10L
FeSO ₄	6,25 mg/L	62,5 mg/10L
İz Element	1,25 ml/L	12,5 ml/10L
CaCl ₂ .2H ₂ O	300 mg/L	3000 mg/10L

İZ ELEMENT BESİN LİSTESİ

EDTA	1500 mg/ 100 ml
ZnSO ₄ .7 H ₂ O	43 mg/ 100 ml
CoCl ₂ .6 H ₂ O	24 mg/ 100 ml
MnCl ₂ .4 H ₂ O	99 mg/ 100 ml
CuSO ₄ .5H ₂ O	25 mg/ 100 ml
NaMoO ₄ .2 H ₂ O	22 mg/ 100 ml
NiCl ₂ .6H ₂ O	19 mg/ 100 ml
H ₃ BO ₄	1,4 mg/ 100 ml
NaSeO ₄	21 mg/ 100 ml
NaWO ₄ .2H ₂ O	5 mg/ 100 ml

5.2.ANAMMOX Aktivitesinin Belirlenmesi

5.2.1 ANAMMOX Aktivite Testi 1 (AAT-1)

Dosta ve ark.(2008) yılında kesikli beslemeli reaktörde çalışan ANAMMOX bakteriler üzerinde sıcaklığın kısa süreli etkilerini incelemek için yaptıkları aktivite testinden esinlenerek, reaktörlerimizdeki ANAMMOX aktivitesini belirlemek için besindeki amonyum ve nitritin giderilme miktarının hesaplanması ile aktivite testi yapılması kararlaştırılmıştır.

Testte 20 mL vialler içerisine reaktörlerden alınan 5 mL çamur ve başlangıç konsantrasyonu 70 mg NH₄-N/L ve 70 mg NO₂-N/L olacak şekilde azot yüklemelerini kapsayan 15 mL mineral besin solüsyonu, örnekleme a ve örnekleme b şeklinde paralelleriyle birlikte anaerobik kabin içerisine verilmiştir. Bu arada bekleyen çamur/besi karışımlarında çökeltme olmuştur. Dipteki çamuru karıştırmadan, süpernatantın pH'ı ölçülmüştür. Bu şekilde tüm tüplerin pH'ı ölçüldükten sonra pH değeri 7,5 olmayanlara 500 µL'lik pipetle yeteri kadar fosforik asit veya NaOH eklenip tekrar pH'ı ölçülerek pH'ı 7,5'e getirilmiştir, Çamur besin karışım pH'ları bütün örnekler için eşitlenerek, testlere başlanmıştır. Anaerobik kabin dışına alınan vialler ısıtıcı karıştırıcılarda (35 °C) inkübe edilmiştir. Altışar saat arayla süpernatant alınarak toplam azot, amonyum azotu, nitrit ve nitrat ölçümleri yapılmış ve çamur içerisindeki bakterilerin günlük anaerobik amonyum oksitleme kapasiteleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada yapılan tüm prosedürler Dosta ve ark.,2008 yaptıkları aktivite testine paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

5.3.ANALİZLER

Sistemlerin kurulup zenginleştirme çalışmalarının başlamasıyla birlikte sistem performanslarını incelemek için aşağıdaki deneylerin yapılması ön görülmüştür.

Çizelge 5.3.1 Deneysel İzleme Çizelgesi

Analizin Adı	Yapılış Sıklığı
pH Ölçümü	Günlük
Gaz Hacmi Ölçümü	Günlük
Nitrit Azotu (NO ₂) Ölçümü	Üç kez/Hafta
Nitrat Azotu (NO ₃) Ölçümü	Üç kez/ Hafta
Amonyum Azotu (NH ₄) Ölçümleri	Üç kez/ Hafta
TOK ve TN Ölçümleri	Üç kez/ Hafta
Gaz Kompozisyonu Analizleri	Üç kez/ Hafta

5.3.1.Toplam İnorganik karbon (TİK) Analizi

Toplam inorganik karbon ölçümünün temel prensibi, organik maddenin yüksek sıcaklıkla (680–720 °C) katalitik dönüşümünün sağlanması ile CO₂'e dönüştürülmesi ve infrared gaz analizörlerinde gaz fazında CO₂ ölçülmesidir.

Toplam inorganik karbon (TİK), toplam organik karbon (TOK) cihazı (Shimadzu TOC-V_{CPH/CPN}) ile Standart Metotlar 5310B'ye göre tayin edilmiştir.

5.3.2 Gaz Kompozisyonu Analizleri

Gaz kompozisyonları Shimadzu GC–2010 gaz kromatografında He gazını taşıyıcı olarak kullanan termal iletkenlik detektörü (TCD) ve alev fotometrik detektörü (FPD) ile ölçülmektedir.

5.3.3 Gaz Hacmi

Reaktörlerden üretilen gaz miktarı hacimsel olarak Ritter MGC–1 V3.0 cihazı kullanılarak ölçülmektedir.

5.3.4.Nitrat (NO₃) ve Nitrit (NO₂) Ölçümler

Su örneklerinde incelenen nitrat ve nitrit HPLS–Shimadzu iyon kromatografı ile ölçülmektedir.

5.3.5.Amonyum Azotu (NH₄- N) Ölçümleri

Su örneklerindeki amonyum azotu EPA.350.1, APHA 4500-NH₃D ve İSO 7150/1 standart metotlarına göre Merck Spektrokuant test kitleri, Shimadzu UV-1601 spektrofotometre ile ölçülmektedir.

5.3.6.pH Ölçümleri

Su Örneklerinin pH değerleri Hach marka taşınabilir pH metre ile ölçülmektedir.

6.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

6.1. Aktivite Testi

Aktivite testi için yapılan çalışmanın kütle dengesi sonuçlarında NO_2 ve NO_3 toplamının arttığı görülmüştür. Buradan test tüpümüze oksijen girişi oluşunu anlaşılmıştır. Bu artış, reaktör testlerinde, aşı çamuru testinden daha fazla olduğu için "reaktörlerimizde de oksijen miktarının yeterince düşük olmayıp nitrifikasyon bakterilerinin zenginleştiği" sonucu çıkarılmıştır.

Yukarıdaki sorunun bir olası sebebi de şu olabilir. Gerek reaktörlerimiz, gerekse test tüplerimiz karanlıkta saklamamıştık. Bu doğrultuda Fotosentetik aktivite sonucu az miktarda olsa oksijenin açığa çıkabileceği düşünülmüştür.

İkinci bir önemli veri de, paralellerimizin örtüşme oranının düşük olmasıdır. Yıkama için çöktürme yaparken bazı test tüplerinin kırılması, ilk iki örnekleme sırasında bazı test tüplerinde sızma ve akma olması, örneklerin tekrar karıştırılması sırasında en fazla olanda %5'lik seyrelme yapacak şekilde pipetleme hataları yapmış olmamız bunun başlıca sebepleri olarak düşünülmüştür. Bu deneyden elde ettiğimiz tecrübe ile yapılacak başka bir çalışmada ya da aynı testin tekrar edilmesi durumunda paralellerin uyumlu olacağı diğer bir sonuç olarak belirlenmiştir

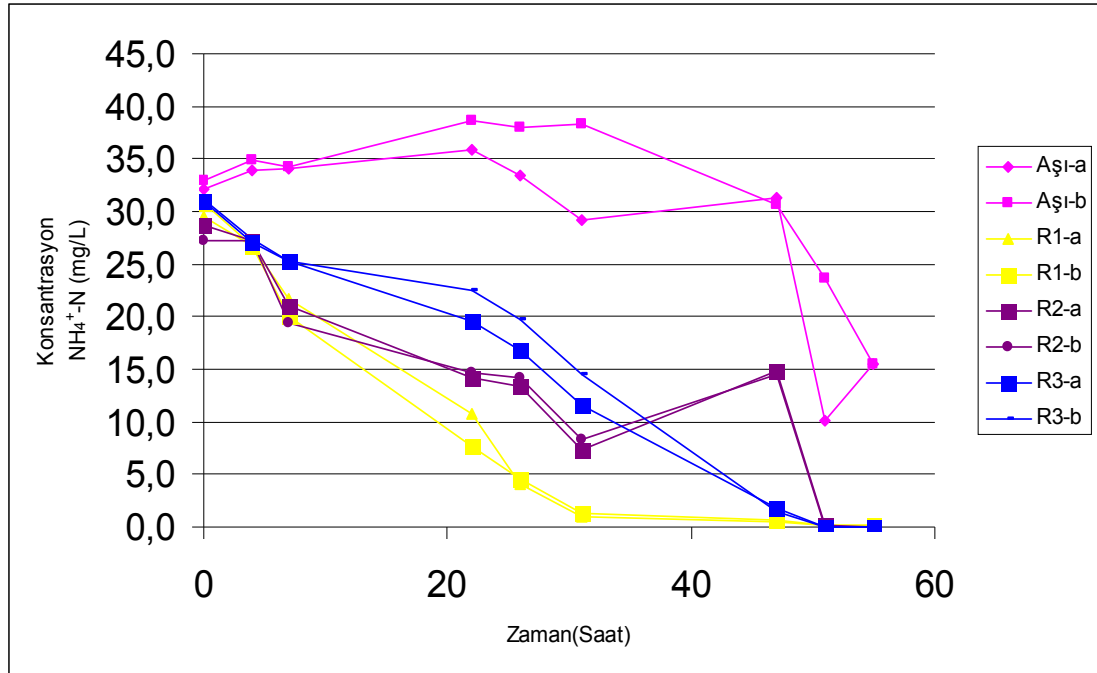
Reaksiyon dengesine baktığımızda, aşı ve R1'de ANAMMOX reaksiyonu olmadığını, R2'de küçük bir ihtimalle kısmi ANAMMOX olabileceğini, R3'te ise büyük bir ihtimalle kısmi ANAMMOX reaksiyonu olduğunu sonucuna ulaşılmıştır. Bu testin verileri yorumlana bilir veriler vermekten uzak olsa bile ANAMMOX aktivitesinin henüz hissedilir bir noktada olmadığını bize göstermiştir.

Farklı azot yüklemelerinin ANAMMOX reaktör başlangıcı üzerine etkilerini incelemek üzere kurulmuş olan azot yükleri farklı 3 adet UASB reaktör yaklaşık 7 ay süresince işletilmiştir. Bu bölümde azot yükleri farklı olan reaktörlerin azot giderme verimleri, ortam şartları ve biyokütle miktarındaki artış açıklanacaktır. Aynı zamanda sistemlerin birbirlerine göre giderim verimleri kıyaslanacaktır.

Aktivite testi çalışmaları sonucu aşağıda verilmiştir.

Çizelge 6.1.1ANAMMOX Aktivite Testi 1 (AAT-1) NH₄-N Konsantrasyonu

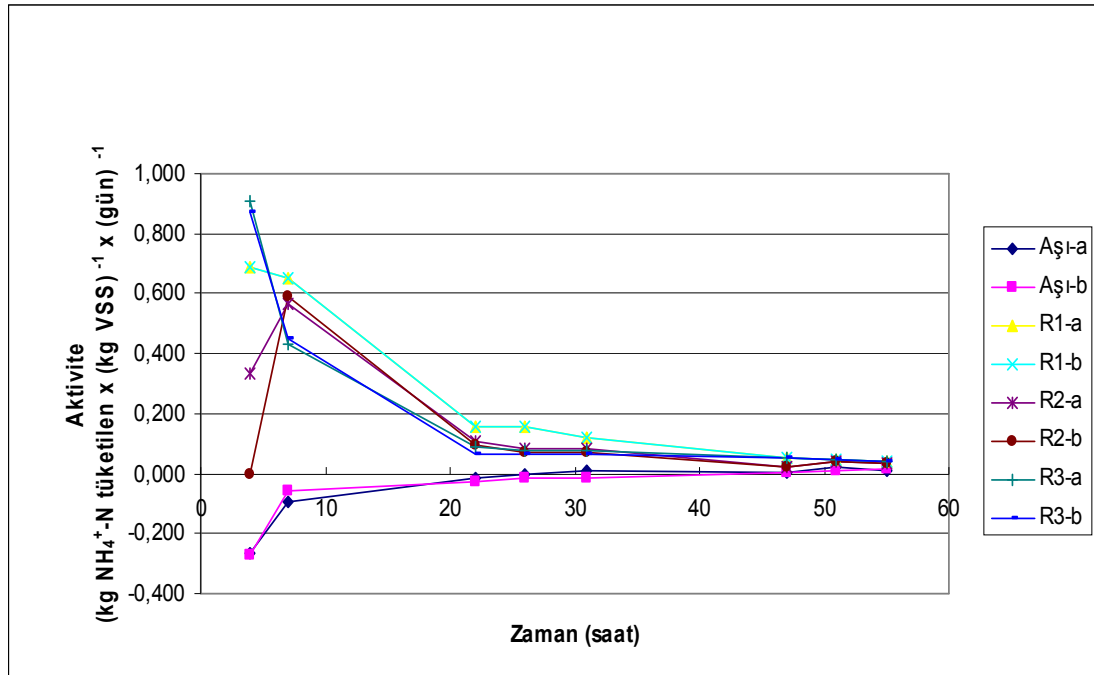
AAT-1 NH ₄ ⁺ (mg/L)									
Zaman(h)	0	4	7	22	26	31	47	51	55
Aşı-a	41,2025	43,6475	43,9122	46,0416	42,9879	37,4539	40,3374	13,0627	19,872
Aşı-b	42,2769	44,7812	43,9714	49,7266	48,9129	49,2407	39,3183	30,4822	19,836
R1-a	37,9082	34,4401	27,8791	13,9080	5,2575	1,2917	0,7268	0,1383	0,2568
R1-b	39,6027	34,3492	25,8449	9,7644	5,7670	1,6116	0,7742	0,1778	0,2252
R2-a	36,8772	34,9773	27,0101	18,2846	17,1035	9,5077	19,1220	0,1185	0,0000
R2-b	35,0879	35,1076	24,8692	18,9482	18,1700	10,6255	18,5769	0,0158	0,0000
R3-a	39,7449	34,8232	32,5757	25,2366	21,6342	14,8046	2,3226	0,0000	0,0000
R3-b	39,9582	35,2538	32,4651	29,0325	25,2998	18,6401	1,8486	0,0000	0,0000



Şekil 6.1.1 Test tüplerindeki Amonyum Konsantrasyonu

Çizelge 6.1.2 Test tüplerinde tüketilen amonyum miktarı

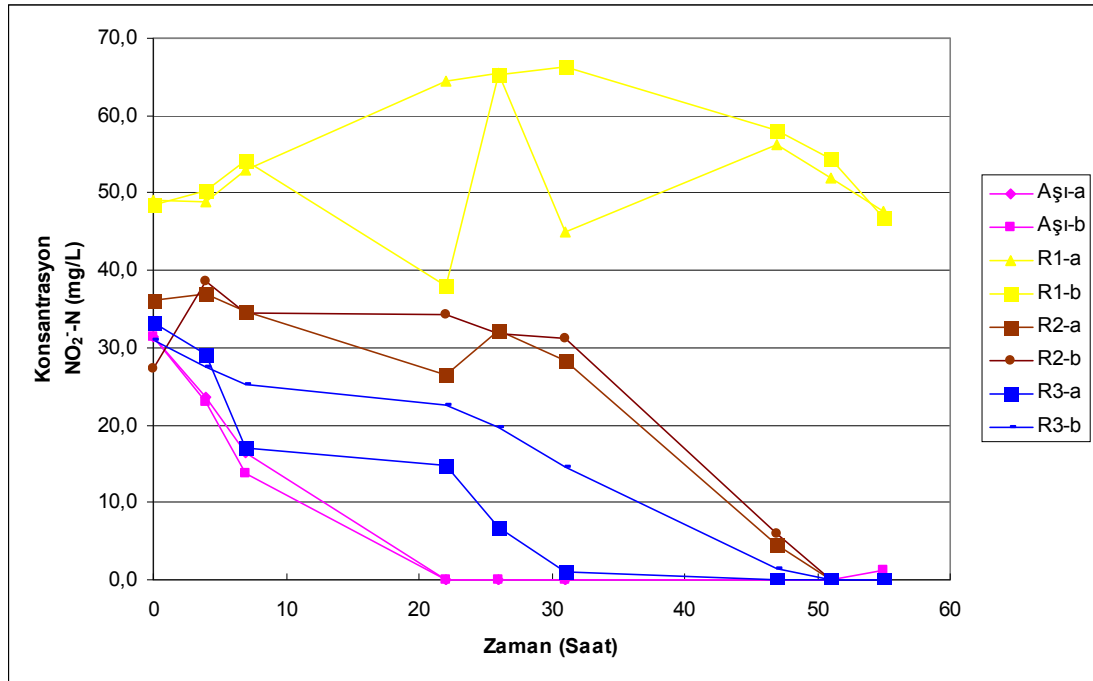
AAT-1 ANAMMOX Aktivitesi, NH_4^+ [(kg NH_4^+ -N tüketilen) x (kg VSS) ⁻¹ x (gün) ⁻¹]									
Time (h)	0	4	7	22	26	31	47	51	55
Aşı-a		-0,267	-0,097	-0,017	-0,005	0,007	0,001	0,019	0,012
Aşı-b		-0,274	-0,060	-0,027	-0,017	-0,013	0,002	0,008	0,013
R1-a		0,689	0,651	0,158	0,154	0,121	0,054	0,046	0,040
R1-b		1,044	0,893	0,196	0,159	0,126	0,056	0,048	0,041
R2-a		0,335	0,568	0,108	0,082	0,080	0,023	0,040	0,034
R2-b		-0,003	0,588	0,094	0,071	0,072	0,021	0,038	0,033
R3-a		0,910	0,433	0,089	0,079	0,077	0,050	0,045	0,039
R3-b		0,870	0,452	0,067	0,064	0,066	0,051	0,045	0,039



Şekil 6.1.2 Beklenen ANAMMOX Aktivitesi

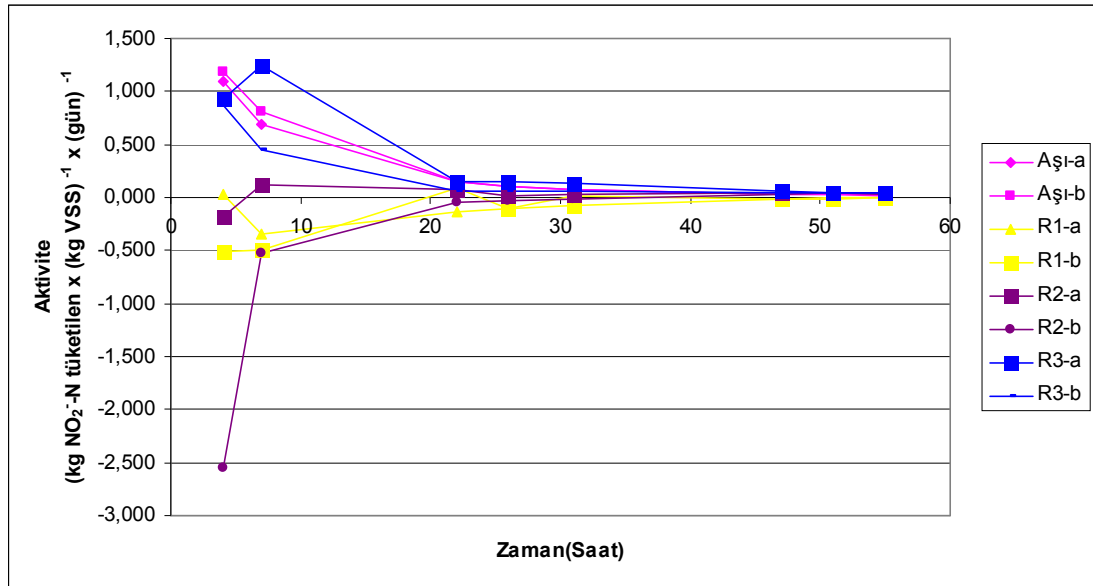
Çizelge 6.1.3 Test tüplerindeki NO_2 Konsantrasyonu

AAT-1 NO ₂ ⁻ (mg/L)									
Time (h)	0	4	7	22	26	31	47	51	55
Aşı-a	112,381	84,4031	58,3725						
Aşı-b	111,995	81,8394	48,8094						4,6818
R1-a	174,875	174,388	189,504	229,968	233,751	160,555	200,542	185,272	169,967
R1-b	172,707	179,898	193,729	135,870	233,231	236,602	207,17	194,41	167,16
R2-a	129,244	132,128	123,69	94,7951	114,881	101,538	16,180		
R2-b	97,3525	137,573	122,82	122,297	113,923	111,1525	21,0192		
R3-a	118,4922	104,4358	61,1945	52,6277	23,9989	3,3506			
R3-b	114,9958	108,7862	90,5284	56,9151	31,6695	9,1619			

Şekil 6.1.3 Test tüplerindeki NO₂ Konsantrasyonu

Çizelge 6.1.4 Test tüplerinde üretilen nitrit miktarı

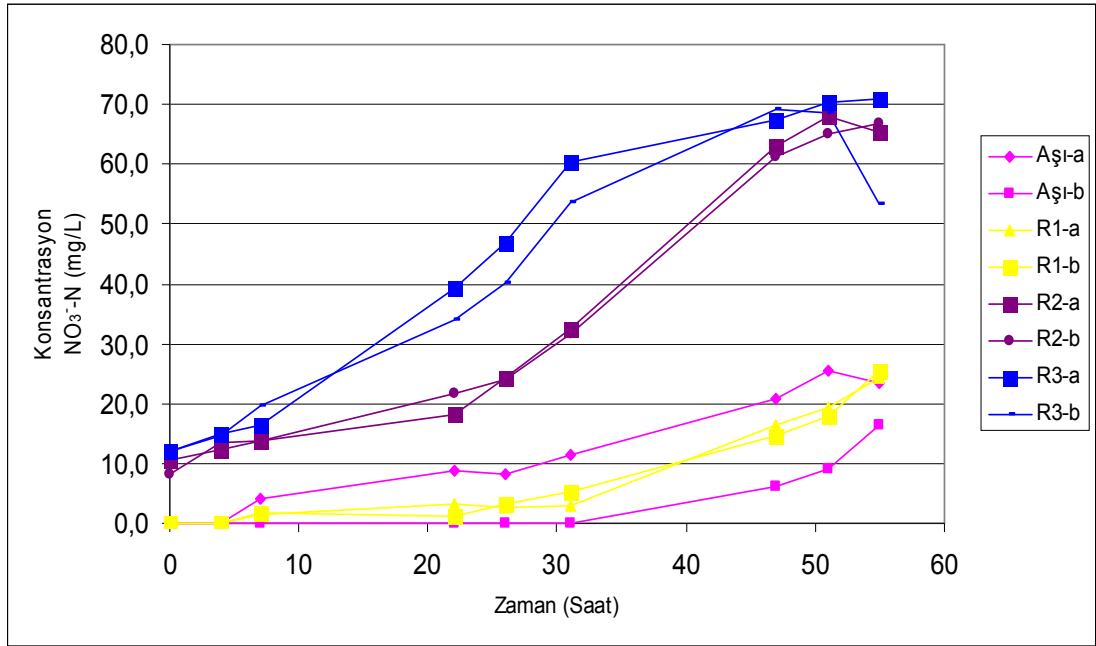
AAT-1 ANAMMOX Aktivitesi, NO_2^- [$(\text{kg NO}_2^-\text{-N tüketilen}) \times (\text{kg VSS})^{-1} \times (\text{gün})^{-1}$]									
Time (h)	0	4	7	22	26	31	47	51	55
Aşı-a		1,100	0,694	0,146	0,105	0,074	0,032	0,027	0,023
Aşı-b		1,186	0,811	0,146	0,104	0,073	0,032	0,027	0,022
R1-a		0,035	-0,342	-0,130	-0,100	0,017	-0,013	-0,005	0,002
R1-b		-0,515	-0,491	0,087	-0,102	-0,076	-0,018	-0,010	0,002
R2-a		-0,183	0,115	0,072	0,022	0,029	0,052	0,050	0,043
R2-b		-2,552	-0,528	-0,052	-0,025	-0,015	0,035	0,038	0,033
R3-a		0,936	1,245	0,145	0,149	0,128	0,057	0,049	0,042
R3-b		0,413	0,532	0,128	0,131	0,117	0,055	0,047	0,040



Şekil 6.1.4 Beklenen ANAMMOX aktivitesi

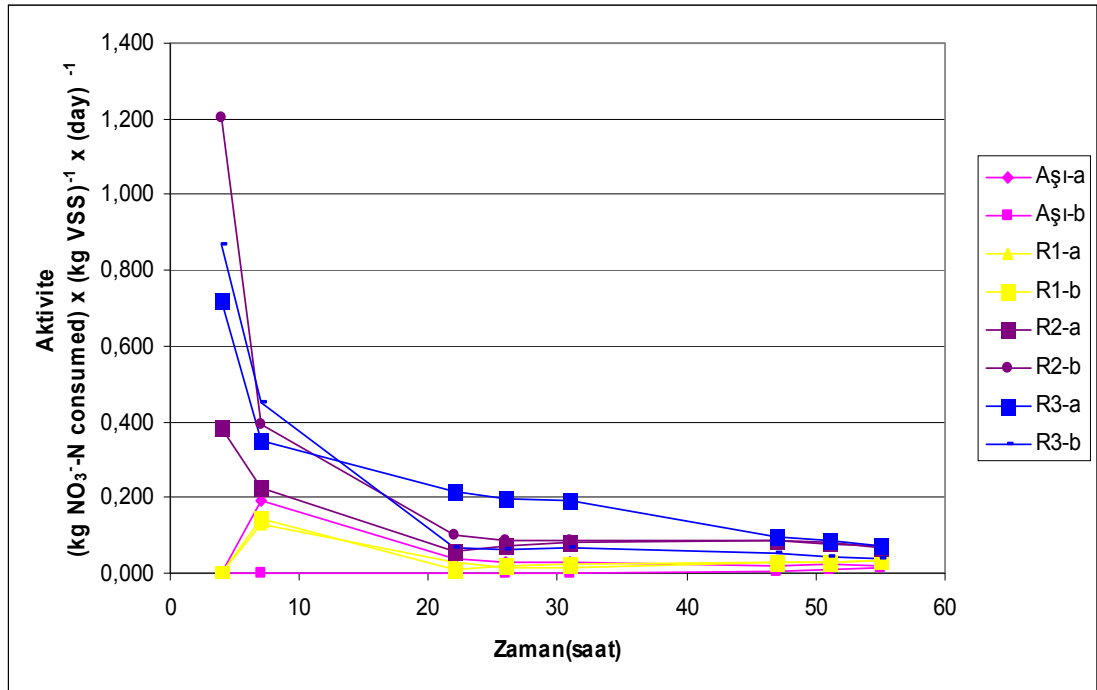
Çizelge 6.1.5 Test tüplerinde üretilen nitrat miktarı

AAT-1 NO ₃ ⁻ (mg/L)									
Time (h)	0	4	7	22	26	31	47	51	55
Aşı-a			20,4327	42,3607	40,5561	55,7495	101,3221	123,8014	113,157
Aşı-b							29,9281	44,7066	80,378
R1-a			7,6622	15,5239	12,9734	14,9092	79,2075	94,5161	118,629
R1-b			8,4122	5,5952	16,1967	25,6497	70,9883	87,3865	123,836
R2-a	51,9443	60,1869	66,7077	88,5894	118,7636	158,2996	305,7123	330,7947	317,766
R2-b	40,2587	66,0674	66,1903	105,3404	117,0902	154,3863	297,7582	315,9260	324,044
R3-a	58,0825	72,7659	79,8459	191,2809	228,1330	292,6259	328,0273	341,4822	344,931
R3-b	58,2161	70,7132	95,1300	165,7153	194,7046	260,1531	336,4557	332,5571	258,799

Şeki6.1.5 Test tüplerinde beklenen NO₃ Konsantrasyonu

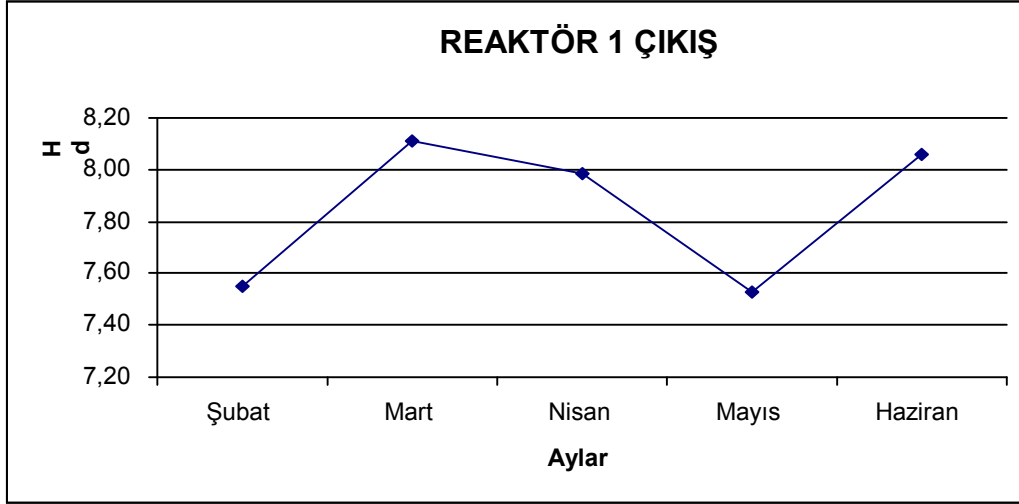
Çizelge 6.1.6 ANAMMOX aktivitesi

AAT-1 ANAMMOX		Aktivitesi							
[(kg NO ₃ ⁻ -N üretilen) x (kg VSS) ⁻¹ x (gün) ⁻¹]		NO ₃ ⁻							
Time (h)	0	4	7	22	26	31	47	51	55
Aşı-a		0,000	0,193	0,040	0,028	0,027	0,021	0,022	0,017
Aşı-b		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,008	0,012
R1-a		0,000	0,132	0,027	0,016	0,013	0,030	0,031	0,033
R1-b		0,000	0,145	0,010	0,020	0,022	0,027	0,028	0,034
R2-a		0,385	0,225	0,057	0,074	0,083	0,086	0,080	0,066
R2-b		1,204	0,395	0,100	0,085	0,089	0,087	0,079	0,070
R3-a		0,719	0,348	0,216	0,197	0,191	0,096	0,085	0,074
R3-b		0 612	0 590	0 174	0 158	0 165	0 099	0 083	0 052

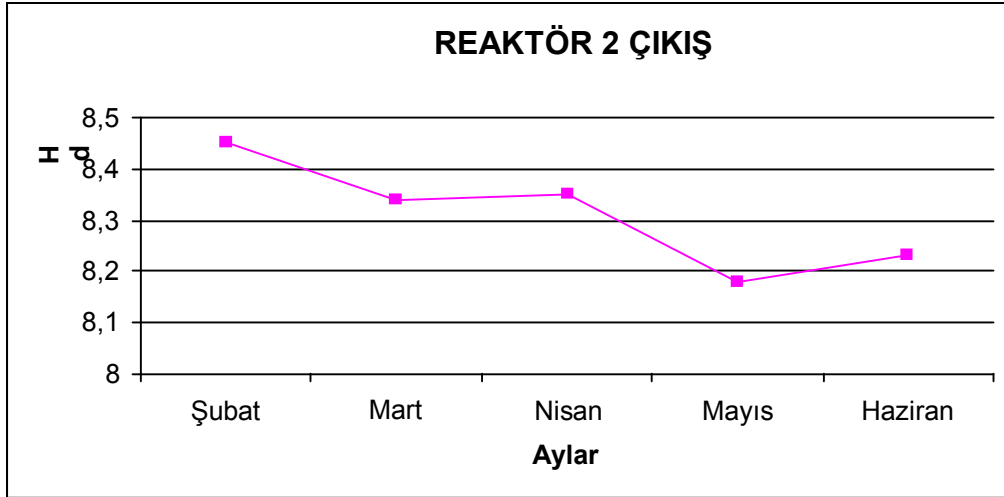
Şekil 6.1.6 Test tüplerindeki NO₃ Konsantrasyonu

6.2 Reaktörlerdeki pH Değişimi

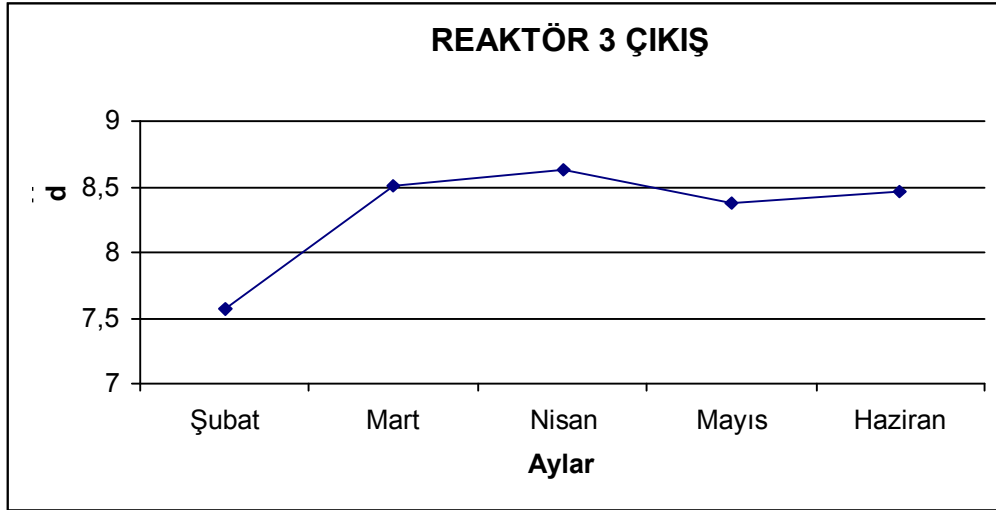
Reaktörlerdeki giriş atıksuyu pH değeri işletim süresi boyunca 7.4–8.3 civarında değişim göstermektedir. Bu değerler ANAMMOX zenginleştirmesi için literatürde istenilen değerlerle uyumludur.



Şekil 6.2.1 R-1 Çıkış pH değerleri



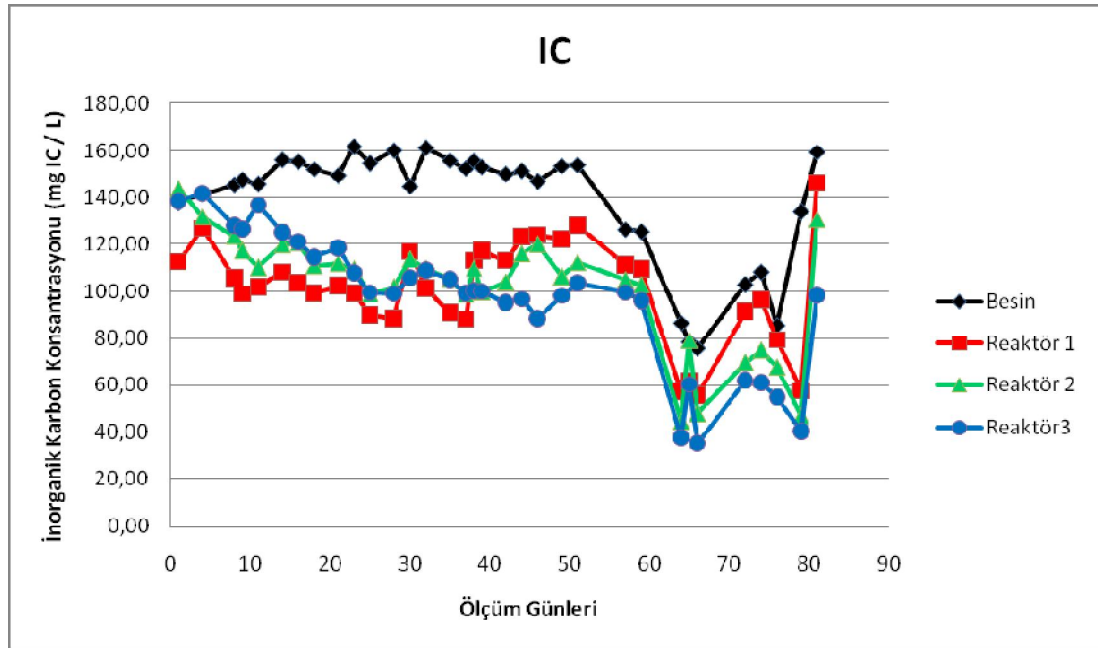
Şekil 6.2.2 R-2 Çıkış pH değerleri



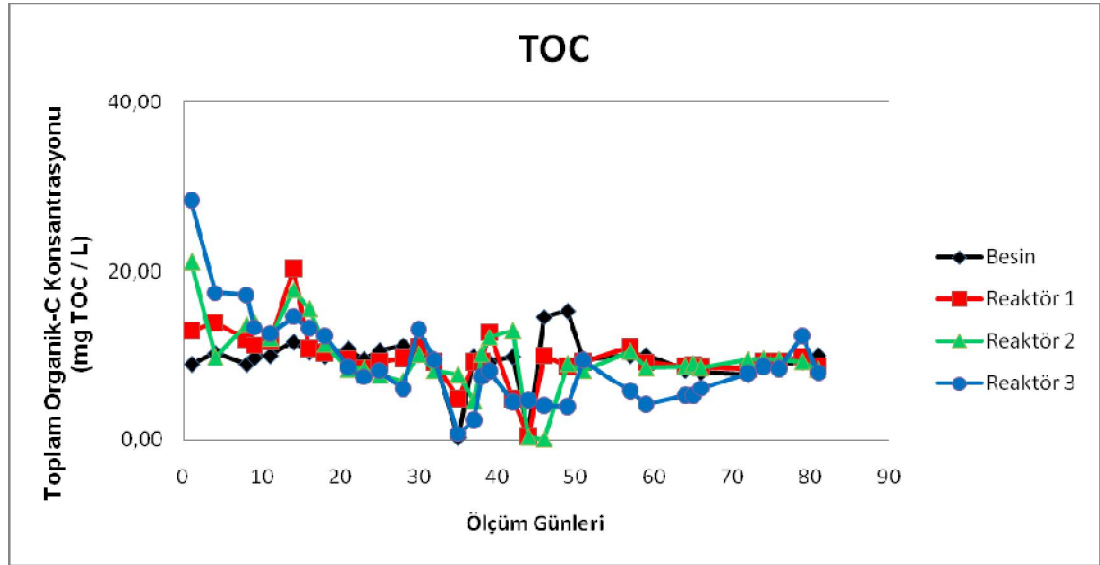
Şekil 6.2.3 R-2 Çıkış pH değerleri

6.3 Reaktörlerde karbon giderimi ile ilgili ilk bulgular:

Reaktör giriş ve çıkışlarında inorganik karbon (IC) ve toplam organik karbon (TOC) ölçümleri yapılmıştır. Bu parametrelere ait veriler Şekil 6.3.1 ve 6.3.2 de verilmiştir.



Şekil 6.3.1 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için inorganik karbon (IC) değerleri

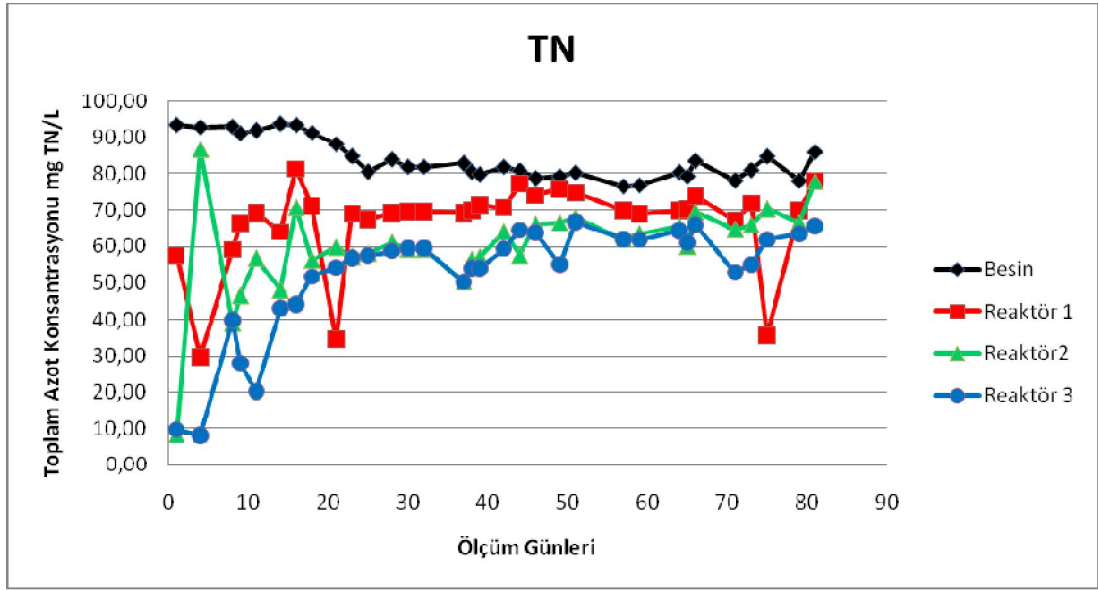


Şekil 6.3.2 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için toplam organik karbon (TOC) değerleri

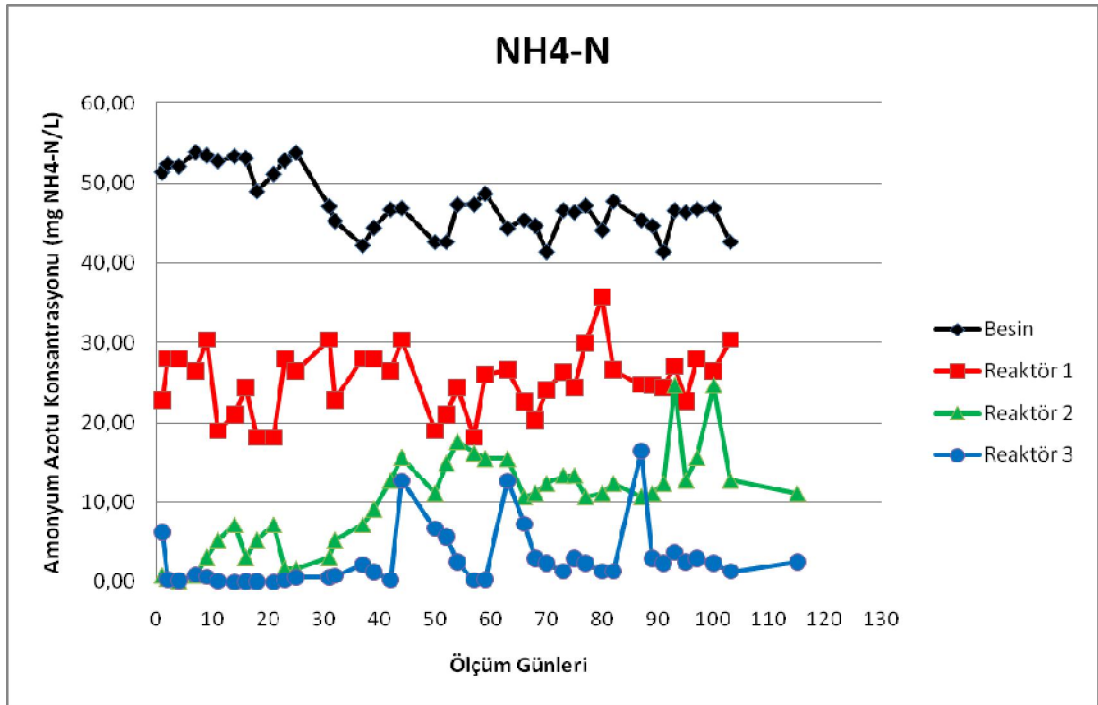
Elde edilen grafiklere göre reaktörlerde inorganik karbon değerlerinde kısmen azalmalar görülmüştür. ANAMMOX bakterilerinin ototrofik olmaları ve karbon kaynağı olarak besinde bulunan KHCO_3 dan kaynaklanan inorganik karbonu kullanmalarından dolayı bu azalış olumlu olarak değerlendirilmiştir. Reaktör giriş ve çıkış toplam organik karbon (TOC) değerleri kıyaslandığında ise çıkışta TOC değerlerinin artış gösterdiği görülmüştür. Burada organik karbon ototrofik bakterilerce tüketilemezken, çıkış sularında bulunan biyokütleden kaynaklı organik maddelerin varlığı TOC değerlerini arttırdığı Wang ve ark.(2008) yaptığı varsayımlar ışığında gözlenmiştir. Reaktörlerin ilk işletmeye alındıkları günlerde TOC değerleri daha fazla iken takip eden günlerde azalmalar görülmüştür. Bunun da nedeni, aşırı çamurunun ilk reaktöre konulmasını takiben çökelmelerin yeni yeni başlaması ve yoğunluğu az olan organik bileşenlerin reaktör yukarı akış hızı nedeniyle, kolayca çıkışa doğru hareket etmesi olarak belirlenmiştir.

6.4. Reaktörlerde azot döngüsü ile ilgili ilk bulgular:

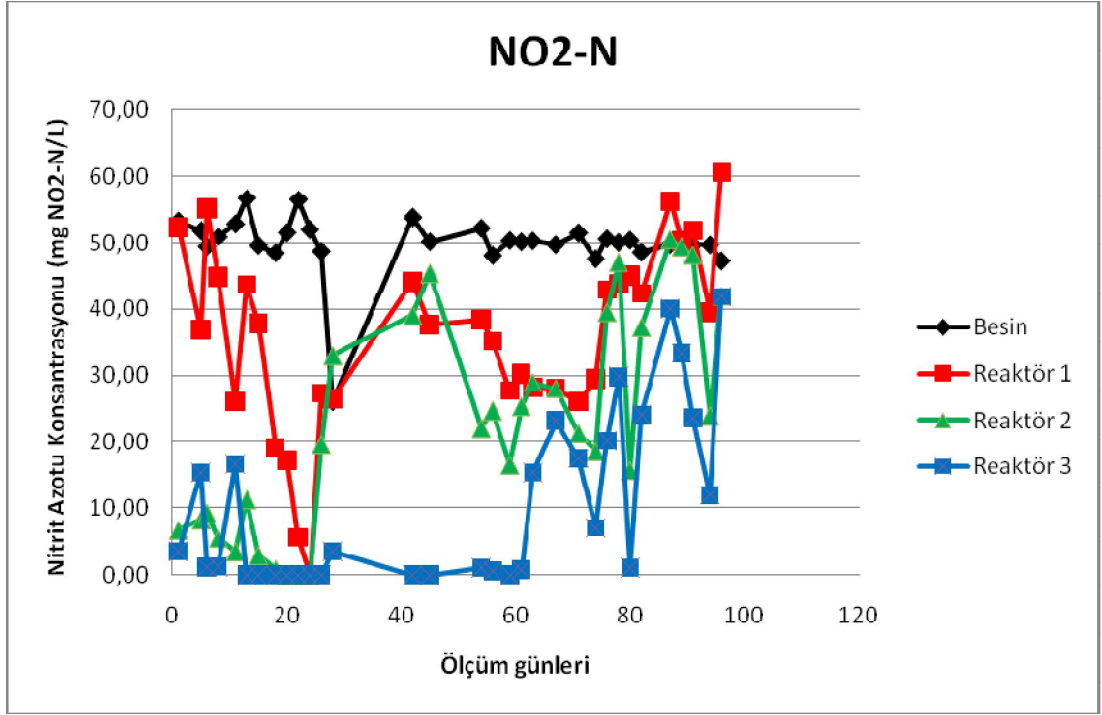
Üç reaktöre ait giriş ve çıkış toplam azot (TN), amonyum azotu ($\text{NH}_4\text{-N}$), nitrit azotu ($\text{NO}_2\text{-N}$) ve nitrat azotu ($\text{NO}_3\text{-N}$) değerleri Şekil 6.4.1, 6.4.2, 6.4.3 ve 6.4.5 te verilmiştir.



Şekil 6.4.1 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için toplam azot (TN) değerleri.

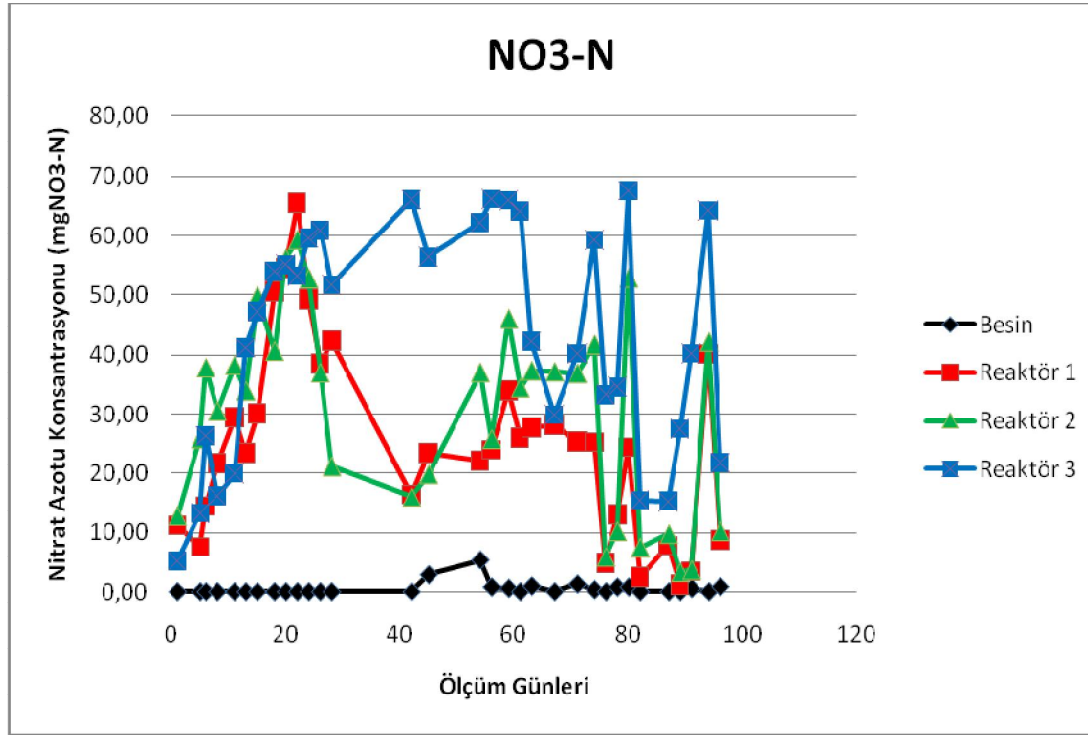


Şekil 6.4.2 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için amonyum azotu (NH₄-N) değerleri



Şekil 6.4.3 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için nitrit azotu (NO₂-N) değerleri

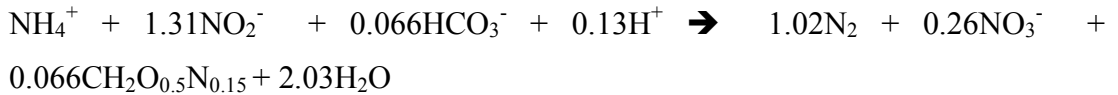
Toplam azot, amonyum azotu ve nitrit değerlerinde kısmi azalışlar gözlemlenmiştir (Şekil 7.3, 7.3.1 ve 7.3.2). Bu ANAMMOX bakterilerinin varlığını göstermektedir.



Şekil 6.4.4 Zenginleştirme çalışmalarında kullanılan besin ve 3 farklı işletim koşullarına sahip UASB reaktörler için nitrat azotu (NO₃-N) değerleri

Besin içerisinde nitrat bulunmazken, reaktör çıkışlarında nitrat değerleri gözlenmiştir (Şekil 7.3.3). Bu artışların nedeni ise aşağıdaki reaksiyonlarla açıklanmıştır.

ANAMMOX tam reaksiyonunun aşağıdaki şekilde gerçekleştiği bilinmektedir. Bu reaksiyona göre giderilen 1 mol NH₄ için 0.26 mol NO₃ oluşmaktadır.



Nitrat oluşumu biyolojik olarak ya nitrifikasyon ya da ANAMMOX reaksiyonları sonucu oluşmaktadır. Bu çalışmada, oluşan nitrat ANAMMOX reaksiyonlarının ortaya çıkarabileceği konsantrasyonlardan fazla olduğu için reaktörde anoksik koşulların tam sağlanamaması nedeniyle nitrifikasyon oluşumu şüphesi ortaya çıkmıştır.

7.SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Modern azot giderme yöntemleri içerisinde en çok kullanılan yöntem olan ANAMMOX reaksiyonları, ANAMMOX bakterilerinin üreme hızlarının yavaş olması ve çevresel koşullardan sıklıkla etkilenmeleri nedeniyle bazı dezavantajlara sahiptir. Yapılan 113 günlük reaktör işletimi neticesinde ANAMMOX bakterilerin zenginleştirilmesi sağlanamamıştır. Bunun nedeni, çıkış suyundaki nitrat tan anlaşılacağı üzere reaktörde anoksik ortam sağlanamamıştır. Nitrifikasyon bakterileri ve ANAMMOX bakterileri ototrofik bakteriler olup, her ikisi de enerji kaynağı olarak inorganik karbonu kullanabilmektedir. Reaktörün ışık geçirimsizliği sağlanmadığından, fotoototrof bakterilerce reaktör içerisinde çözünmüş oksijen oluşturulmuştur. Bu oluşan çözünmüş oksijen ve giriş besininde var olabilecek oksijen reaktörde anoksik koşulun oluşmasını engellemiş ve bu durum ANAMMOX bakterilerinin zenginleşmesini olumsuz etkilemiştir.

Bu nedenle yapılacak ANAMMOX zenginleştirme çalışmalarında reaktörlerin ışık geçirmeyecek şekilde dizayn edilmesi ve giriş besininden oksijen uzaklaştırıcı kimyasal ve fiziksel önlemlerin alınması gerekmektedir.

8. KAYNAKLAR

- ABELING U, SEYFRIED CF. Anaerobic - aerobic treatment of high strength ammonium wastewater nitrogen removal via nitrite. *Water Sci Technol* 1992;26:1007– 15.
- BOCK E, SCHMIDT I, STUVEN R, ZART D. Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonia or hydrogen as electron donors and nitrite as electron acceptor. *Arch Microbiol* 1995;163:16–20.
- BROUWER M, VAN LOOSDRECHT MCM, HEIJNEN JJ. One reactor system for ammonium removal via nitrite. STOWA Report. 96-01. Utrecht (The Netherlands): STOWA, 1996 (ISBN 90 74476 55 4).
- DIJKMAN H, STROUS M. Process for ammonia removal from wastewater. Patent 1999; PCT/NL99/00446.
- EGLI K, FANGER U, ALVAREZZ PJJ, SIEGRIST H, VAN DER MEER JR, ZEHNDER AJB. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium rich leachate. *Arch Microbiol* 2001;175:198– 207.
- HANAKI K, WANTAWIN C, OHGAKI S. Nitrification at low level of DO with and without organic loading in a suspended growth reactor. *Water Res* 1990;24:297– 302.
- HELLINGA C, SCHELLEN AAJC, MULDER JW, VAN LOOSDRECHT MCM, HEIJNEN JJ. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium rich wastewater. *Water Sci Technol* 1998;37:135– 42.
- HELLINGA C, VAN LOOSDRECHT MCM, HEIJNEN JJ. Model based design of a novel process for ammonia removal from concentrated flows. Proc 2nd Mathmod Symposium, Technical University of Vienna, Austria, February 5– 7, 1997; 865–70.
- HUNIK, JH. Engineering aspects of nitrification with immobilized cells. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands; 1993.
- JETTEN MSM, HORN SJ, VAN LOOSDRECHT MCM. Towards a more sustainable municipal wastewater treatment system. *Water Sci Technol* 1997;35:171– 80.
- JETTEN MSM, STROUS M, VAN DE PAS-SCHOONEN KT, SCHALK J, VAN DONGEN UGJM, VAN DE GRAAF AA, et al. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiol Rev* 1999;22:421– 37.
- JIN R, ZHENG P, HU A, MAHMOOD Q, HU B, JILANI G. Performance comparison of two anammox reactors: SBR and UBF, , [Bioresource Technology](#) 2007; 138 : 224-230 .
- KUAI L, VERSTRAETE W. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification–denitrification system. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:4500– 6.
- LAANBROCK HJ, GERARDS S. Competition for limiting amounts of oxygen between *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradsky* grown in mixed continuous cultures. *Arch Microbiol* 1993;159:453–9.
- MULDER A, VAN DE GRAAF AA, ROBERTSON LA, KUENEN JG. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiol Ecol* 1995;16:177– 84.

- PÎCÎOREANU C, VAN LOOSDRECHT MCM, HEIJNEN JJ. Modelling of the effect of oxygen concentration on nitrite accumulation in a biofilm airlift suspension reactor. *Water Sci. Technol* 1997;36:147–56.
- SCHMID M, TWACHTMANN U, KLEIN M, STROUS M, JURETSCHKO S, JETTEN MSM, et al. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonia oxidation. *Syst Appl Microbiol* .2000;23:93– 106.
- SLIEKERS AO, DERWORT N, GOMEZ JLC, STROUS M, KUENEN JG, JETTEN MSM. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. *Water Res* 2002;36:2475– 82.
- SLIEKERS AO, THIRD KA, ABMA W, KUENEN JG, JETTEN MSM. CANON and Anammox in a gas lift reactor. *FEMS Microbiol Lett* 2003;218:339–44.
- STROUS M, FUERST JA, KRAMER EHM, LOGEMANN S, MUYZER G, VAN DE PAS-SCHOONEN KT, et al. Missing lithotroph identified as new Planctomycete. *Nature* 1999a;400:446– 9.
- STROUS M, HEIJNEN JJ, KUENEN JG, JETTEN MSM. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998;50: 589–96.
- STROUS M, KUENEN JG, JETTEN MSM. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Appl Environ Microbiol*. 1999b;65:3248– 50.
- STROUS M, VAN GERVEN E, KUENEN JG, JETTEN MSM. Effects of aerobic and micro-aerobic conditions on anaerobic ammonium oxidizing (anammox) sludge. *Appl Environ Microbiol* 1997b;63:2446 – 8.
- STROUS M, VAN GERVEN E, KUENEN JG, JETTEN MSM. Effects of aerobic and micro-aerobic conditions on anaerobic ammonium oxidizing (anammox) sludge. *Appl Environ Microbiol* 1997b;63:2446 – 8.
- STROUS, M, Microbiology of anaerobic ammonium oxidation. PhD Thesis, Kluyver Laboratory, TU Delft University, Delft, The Netherlands, 2000.
- ŞAHİNKAYA, E. Çevre Mikrobiyolojisi 2 Ders Notları. Harran Üniversitesi, Şanlıurfa; 2009, 4-5s.
- THIRD K, SLIEKERS OA, KUENEN JG, JETTEN MSM. The CANON system (completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor) under ammonium limitation: interaction and competition between three groups of bacteria. *Syst Appl Microbiol* 2001;24:588– 96.
- TRUK O, MAVINIC DS. Maintaining nitrite build up in a system acclimated to free ammonia. *Water Res* 1989; 23:1383–8.
- VAN DE GRAAF AA, DE BRUIJN P, ROBERTSON LA, JETTEN MSM, KUENEN JG. Autotrophic growth of anaerobic ammonium oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology* 1996;142:2187 – 96.
- VAN DE GRAAF AA, MULDER A, DE BRUIJN P, JETTEN MSM, ROBERTSON LA, KUENEN JG. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:1246– 51.
- VAN DE GRAAF AA, MULDER A, DE BRUIJN P, JETTEN MSM, ROBERTSON LA, KUENEN JG. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:1246– 51.

- VAN DONGEN U, JETTEN MSM, VAN LOOSDRECHT MCM. The SHARON-ANAMMOX process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Sci Technol* 2001;44:153– 60.
- VAN KEMPEN R, MULDER JW, UIJTERLLNDE CA, VAN LOOSDRECHT MCM. Overview: full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Sci Technol* 2001; 44:145–52.
- VAN KEMPEN R, MULDER JW, UIJTERLLNDE CA, VAN LOOSDRECHT MCM. Overview: full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Sci Technol* 2001;44:145–52.
- WANG T, ZHANG H , YANG F, LIU S, FU Z, CHEN H, Start-up of the Anammox process from the Conventional activated sludge in a membrane bioreactor , [Bioresource Technology](#) 2009; 9 : 2501-2506 .

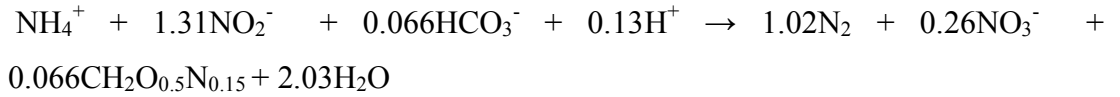
9. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında SİVAS'ta doğdu. 2003 yılında Seyhan Danişment Gazi Anadolu Lisesinden mezun olduktan sonra 2004 yılında Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünü kazandı ve 2008–2009 güz yarısında bu bölümden mezun oldu. 2008–2009 Bahar Dönemi Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümünde yüksek lisansa başladı. Halen yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.

10. ÖZET

ANAMMOX prosesi atıksulardan azot uzaklaştırma da uygulanabilecek umut verici yeni bir prosestir (Jetten ve ark., 1997; Strous ve ark., 1997a,b). Prosesin azot giderme mekanizmasını kısaca özetleyecek olursak; anaerobik ortamda, karbon kaynağı olarak inorganik karbon ve elektron alıcısı olarak nitrit kullanılarak, amonyum azotu azot gazına dönüştürülmektedir.

Yapılan çalışmalar sonucunda Strous ve ark,1998, anaerobik amonyum oksidasyonunda nitriti elektron alıcı olarak kullanan aşağıdaki eşitlikte kütle dengesini açıklamış ve reaksiyonun bu eşitlik çerçevesinde gerçekleştiğini göstermişlerdir (Strous ve ark.,1998).



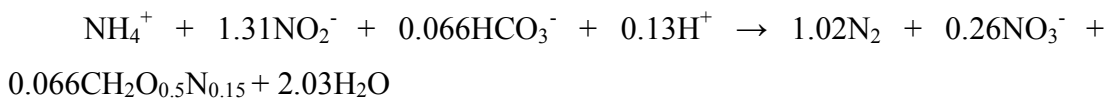
ANAMMOX prosesinin diğer sistemlerden bir diğer farkı ise işletim maliyetinin klasik nitrifikasyon sistemlerine kıyasla oldukça düşük olmasıdır. Ancak düşük biyokütle verimi yeterli biyokütle konsantrasyonunu elde edebilmek için aynı zamanda yeterli çamur bekletme zamanı ve uzun bir başlangıç (start-up) süresine ihtiyaç duymaktadır

Yapılan 113 günlük reaktör işletimi neticesinde ANAMMOX bakterilerin zenginleştirilmesi sağlanamamıştır. Bunun nedeni, çıkış suyundaki nitrattan anlaşılacağı üzere reaktörde anoksik ortam sağlanamamıştır. Nitrifikasyon bakterileri ve ANAMMOX bakterileri ototrofik bakteriler olup, her ikisi de enerji kaynağı olarak inorganik karbonu kullanabilmektedir. Reaktörün ışık geçirimsizliği sağlanmadığından, fotoototrof bakterilerce reaktör içerisinde çözünmüş oksijen oluşturulmuştur. Bu oluşan çözünmüş oksijen ve giriş besininde var olabilecek oksijen reaktörde anoksik koşulun oluşmasını engellemiş ve bu durum ANAMMOX bakterilerinin zenginleşmesini olumsuz etkilemiştir.

Bu nedenle yapılacak ANAMMOX zenginleştirme çalışmalarında reaktörlerin ışık geçirmeyecek şekilde dizayn edilmesi ve giriş besininden oksijen uzaklaştırıcı kimyasal ve fiziksel önlemlerin alınması gerekmektedir.

11. SUMMARY

The ANAMMOX process is a promising new way of removing nitrogen from wastewater. Under anoxic conditions, NH_4^+ is oxidized to gaseous N_2 using nitrite (NO_2^-) as electron acceptor and inorganic carbon as carbon source. Strous et al. (1998) estimated the ANAMMOX stoichiometry based on mass balance over ANAMMOX enrichment cultures, as presented in Eq.



This is another factor that contributes to a substantially lower operation cost of ANAMMOX compared to the conventional denitrification process. However, the low biomass yield also necessitates an efficient system for sludge retention, and long start-up times are required to obtain a sufficient biomass concentration as understand from the nitrate concentration, anoxic media couldn't be obtained in the reactor.

Both of nitrification and ANAMMOX are autotrophic bacterias and using inorganic carbon as an energy source. Day light couldn't be preventing from reactors. Cause of that reason dissolved oxygen produced in the reactor by photoautotroph bacteria. Dissolved oxygen that may be in reactors and nutrients negatively affected the enrichment of ANAMMOX bacteria.

Therefore the enrichment of Anammox reactors must be designed for prevents light and oxygen inhibition and before dosing nutrient it must be taken chemical and physical acouse.