

**HİDROJENE VE OKSİJENE DAYALI MEMBRAN
BİYOFİLM REAKTÖRLERİNDE KLORTETRASİKLİN
GİDERİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ekrem AYDIN**

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ERDEM

KASIM- 2015

**TC.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİDROJENE VE OKSİJENE DAYALI MEMBRAN BİYOFİLM
REAKTÖRLERİNDE KLORTETRASİKLİN GİDERİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ekrem AYDIN

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

Programı: Çevre Bilimleri

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ERDEM

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 10.11.2015

KASIM- 2015

**TC.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİDROJENE VE OKSİJENE DAYALI MEMBRAN BİYOFİLM
REAKTÖRLERİNDE KLORTETRASİKLİN GİDERİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ekrem AYDIN

(121112101)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 10.11.2015

Tezin Savunulduğu Tarih: 27.11.2015

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet ERDEM (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Halil HASAR (F.Ü)

Y.Doç.Dr. Hilal ARSLANOĞLU IŞIK (Tunceli Üniv.)

KASIM-2015

ÖNSÖZ

Tezimin her aşamasında beni bilgi ve tecrübeleriyle destekleyen, benim için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, hoşgörüsünü, bilgisini ve sevgisini benden esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın **Prof. Dr. Mehmet ERDEM**'e, tez çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam **Prof. Dr. Halil HASAR**'a içtenlik ile teşekkür ederim.

Laboratuvar uygulamalarımda bildiklerini benimle paylaşan hocalarım, Yrd. Doç. Dr. M. Sara TUNÇ ve Yrd. Doç. Dr. Ergin TAŞKAN'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarımda desteklerini gördüğüm Arş. Gör. Banu TAŞKAN, Arş. Gör. Burçin YILDIZ ve Uz. Mehmet ŞAHİN'e teşekkür ederim. Birlikte çıktığımız bu zorlu yolda her türlü sıkıntıyı birlikte göğüslediğimiz arkadaşım Arş. Gör. Aytekin ÇELİK'e en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini ne sebeple olursa olsun esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Tez çalışmam **TÜBİTAK 111Y261** no'lu proje kapsamında yürütülmüştür. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET	V
SUMMARY.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR	XII
1. GİRİŞ	1
2. ANTİBİYOTİKLER.....	3
2.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	3
2.2. Tetrasiklin Antibiyotik Grubu Klortetrasiklin ve Yan Ürünleri.....	4
2.2.1. Klortetrasiklinler	4
2.2.2. Yan Ürünleri.....	5
2.3. Antibakteriyel İlaçların Çevresel Kaynakları.....	6
2.3.1. Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsü.....	6
2.3.1.1. Abiyotik (Biyolojik Olmayan) Bozunma	9
2.3.1.2. Biyolojik Bozunma	9
2.3.1.3. Sorpsiyon.....	10
2.3.2. Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsünü Etkileyen Faktörler	12
2.4. Antibiyotiklerin Etkileri	12
2.5. Antibakteriyel İlaçlara Karşı Bakterilerin Geliştirdiği Direnç	14
2.6. Antibiyotiklerin Sucul Ortamda Bulunuşu.....	15
2.6.1. Yüzey Sularında Antibiyotiklerin Varlığı	15
2.6.2. Yeraltı Sularında Antibiyotiklerin Varlığı	16
2.7. Sulu Ortamlardan Antibiyotik Giderim Yöntemleri.....	17
2.7.1. İleri Arıtma Prosesleri	18
2.7.1.1. Ozonizasyon	18
2.7.1.2. Adsorpsiyon.....	20
2.7.1.3. UV/H ₂ O ₂	20
2.7.1.4. Fenton ve UV/Fenton.....	21
2.7.1.5. Fotokatalitik Prosesler.....	22

2.7.2.	Biyolojik Prosesler.....	23
2.7.2.1.	Membran Biyoreaktörler	23
3.	İLERİ BİYOLOJİK ARITMA PROSESİ MEMBRAN BİYOFİLM REAKTÖRLERİ (MBfR).....	25
3.1.	MBfR İle Yapılmış Çalışmalar.....	26
3.1.1.	MBfR da Nitrat ve Perklorat Giderimi.....	26
3.1.2.	MBfR da Selanat ve Nitrat Giderimi	27
3.1.3.	MBfR da KOİ ve Nitrat Giderimi.....	28
3.1.4.	MBfR da Arsenat Giderimi	29
3.1.5.	MBfR da Krom(+6) Giderimi.....	30
4.	MATERYAL VE METOT	32
4.1.	Membran Biyofilm Reaktörler (MBfR)	32
4.2.	Membran Biyofilm Reaktörlerin İşletime Alınması	33
4.3.	İşletim Şartları	33
4.4.	Sentetik Besleme Suyu.....	34
4.5.	Analitik Metotlar.....	35
4.6.	Moleküler Çalışmalar.....	37
4.6.1.	DNA Ekstraksiyonu	37
4.6.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	39
4.6.3.	Agaroz Jel Elektroföresi.....	40
4.6.4.	Denatüre Gradyan Jel Elektroföresi (DGGE)	41
4.7.	Akı Hesapları.....	42
5.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	44
5.1.	Hidrojene Dayalı Membran Biyofilm Reaktör Sonuçları	44
5.1.1.	Birincil Elektron Alıcı Nitrat (NO ₃ -N) Giderimi.....	44
5.1.2.	İkincil Elektron Alıcı CTC Giderimi	50
5.1.3.	Parçalanma Ürünleri	53
5.2.	Oksijene Dayalı Membran Biyofilm Reaktör Sonuçları.....	53
5.2.1.	Birincil Elektron Verici (NH ₄ -N) Giderimi.....	53
5.2.2.	İkincil Elektron Verici CTC Giderimi	62
5.2.3.	Nihai Parçalanma Ürünleri.....	68
5.3.	Moleküler Sonuçlar.....	68
5.3.1.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	70

5.3.2.	MBfR Reaktörlerindeki Baskın Türler.....	71
5.4.	MBfR İle CTC Giderim Mekanizması.....	72
	KAYNAKLAR.....	80
	ÖZGEÇMİŞ	94

ÖZET

Antibiyotikler, insan ve hayvanlarda tedavi edici amacıyla kullanılan farmasotik grubu kimyasallardır. Yaygın kullanımları nedeniyle atıksular da ve alıcı ortamda yaygın olarak bulunan önemli bir mikrokirletici grubunu oluşturmaktadır. Mikro seviyelerdeki varlıklarıyla bile sucul ortamlarda olumsuz etkiye sahip olan bu kimyasal grubunun sulardan giderilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, hidrojene ve oksijene dayalı membran biyofilm reaktör (MBfR) sisteminde eş zamanlı klortetrasiklin (CTC) ve azotlu bileşiklerin giderimi incelenmiştir. Bu amaçla; MBfR sistemde CTC ve azotlu bileşiklerin giderimi üzerine, hidrolik bekleme süresi, H_2/O_2 kısmi basıncın etkisi incelenmiş ve araştırılan şartlar altında ECTC, ACTC ve EACTC gibi CTC parçalanma ürünlerinin varlığı takip edilmiştir. Ayrıca, sistemde kullanılan membran yüzey alanları dikkate alınarak her iki reaktör için kirletici yüzey akıları ve giderim akıları hesaplanmıştır. H_2 -MBfR da biyolojik indirgenme mekanizmasını anlamak için elektron verici olarak H_2 , birinci elektron alıcı olarak nitrat ve ikincil elektron alıcı olarak da CTC kullanılırken, O_2 -MBfR da biyolojik oksidasyon için birincil elektron alıcısı olarak O_2 kullanılırken, birincil elektron verici olarak NH_4-N ve ikincil elektron verici olarak da CTC kullanılmıştır.

Çalışma süresince H_2 -MBfR sistemi, 0.4-0.5 ppm CTC, 20-25 ppm NO_3-N , 2 – 6 psi H_2 gaz basıncı ve 1-15 saat hidrolik bekleme sürelerinde (HRT) işletilirken, O_2 -MBfR sistemi ise 0.1-0.4 ppm CTC, 20-25 ppm NH_4-N , 2 – 6 psi O_2 gaz basıncı ve 2.5 - 18 saat arası HRT’de işletilmiştir. H_2 -MBfR da, eş zamanlı giderilen maksimum CTC ve NO_3-N verimleri % 96 ve % 99, O_2 -MBfR da ise eş zamanlı giderimi gerçekleştirilen CTC ve NH_4-N verimleri % 70 ve % 100 olduğu belirlenmiştir. H_2 -MBfR da CTC ve NO_3-N maksimum kirletici yüzeysel yükleri ve giderim akıları sırasıyla 185.04, 8280 $mg/m^2.g$ ve 71.64, 2520 $mg/m^2.g$ olarak belirlenmiştir. O_2 -MBfR sisteminde ise, CTC ve NH_4-N kirletici yüzeysel yükleri ve giderim akıları sırasıyla 14.51, 1612,8 $mg/m^2.g$ ve 3,72, 1566 $mg/m^2.g$ olduğu hesaplanmıştır. Ayrıca her iki sistemde kirletici-gaz eşdeğeri akıları da hesaplanmış olup, herbir NO_3-N akısının 0.357 katı H_2 eşdeğeri, NH_4-N akısının 4.57 katı O_2 eşdeğeri yine azotlu kirleticiler ile eş zamanlı giderilen H_2 -MBfR’nde herbir CTC akısının 0.178 katı oranında H_2 eşdeğer akısı ve O_2 -MBfR’nde CTC akısının 1.86 katı oranında O_2 eşdeğer akısı hesaplanmıştır. İncelenen şartlar altında, H_2 -MBfR sisteminde

ECTC, ACTC ve EACTC konsantrasyonlarının 28, 6, 1 ppb, O₂-MBfR da ise 7, 4 ve 1 ppb olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: MBfR, CTC, Ak₁, Parçalanma Ürünleri, Nitrifikasyon, Denitrifikasyon

SUMMARY

Removal of Chlortetracycline in Membrane Biofilm Reactor

Based on Hydrogen and Oxygen

Antibiotics are pharmaceutical chemical group used in human and animal therapeutic purposes. Because of the widespread use of the antibiotics, they are an important micropollutant group. Commonly found in wastewater and receiving environment. They should be removed from the water because of their negative impact on the aquatic environments even at micro levels.

In this study, simultaneous removal of chlortetracycline (CTC) and nitrate in membrane biofilm reactors (MBfRs) based on hydrogen (H_2 -MBfR) and oxygen (O_2 -MBfR) have been studied. For this purpose; effects of the hydraulic retention time (HRT) and partial pressure of H_2 and O_2 on the removal were investigated and under these conditions the degradation products such as (ECTC, ACTC and EACTC) were monitored. In addition, surface loadings and removal fluxes of pollutants were calculated for both reactors by considering the surface area of the membrane used in the system. H_2 as an electron donor and NO_3 -N as a primary and CTC as a secondary electron acceptors were used in H_2 -MBfR, while O_2 as an electron acceptor, NH_4 -N as a primary and CTC as a secondary electron donors were used in O_2 -MBfR. H_2 -MBfR receiving approximately 20-25 mg-N/l as NO_3 -N and 0.4-0.5 mg-CTC/l were operated under different HRTs, and H_2 pressures. O_2 -MBfR receiving approximately 20-25 mg-N/l as NH_4 -N and 0.1-0.4 mg-CTC/l were operated under different HRTs in the range of 2.5-18 h, and O_2 pressures in the range of 2-6 psi. The results showed that H_2 -MBfR accomplished successfully the degradation of CTC and it reached to CTC removal of 96 % at 5 h of HRT and 2 psi of H_2 gas pressure, while 70 % CTC could be removed at 18 h of HRT and 6 psi of O_2 gas pressure in O_2 -MBfR. In addition, polluting gas equivalent flux in both systems is also calculated. 0.357 solid H_2 equivalent of each NO_3 -N flux, NH_4 -N flux of 4.57 times the O_2 equivalent again addressed concurrently with nitrogen pollutants CTC the gas equivalent flux determined and in H_2 MBfR CTC flow rate of 0.178 times each equivalent flux of H_2 and O_2 flux 1.86 times the rate of CTC - MBfR O_2 equivalent is calculated flux. Concentrations of the ECTC, ACTC and EACTC under the investigated conditions were found to be 28, 6 and 1 ppb for H_2 -MBfR and 7, 4 and 1 ppb for O_2 -MBfR. Surface fluxes and removal fluxes of CTC and NO_3 -N in H_2 -MBfR were calculated to be 185.04, 8280

and 71.64, 2520 mg/m².g, respectively. Same fluxes of CTC and NH₄-N in O₂-MBfR were found to be 14.51, 1612.8 and 3.72, 1566 mg/m².g, respectively.

Keywords: MBfR, CTC, Flux, Degradation Products, Nitrification, Denitrification

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Klortetrasiklin kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2.2.	Klortetrasiklin yan ürünleri	5
Şekil 2.3.	İnsan ve veterinerlik kaynaklı antibiyotiklerin çevreye taşınımı.....	7
Şekil 2.4.	Farmasotiklerin kaynakları ve taşınımı.....	8
Şekil 4.1.	Membran biyofilm reaktör (MBfR) düzeneği	32
Şekil 4.2.	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve CTC kromatogramları.....	36
Şekil 4.3.	CTC ve parçalanma ürünleri analizinde kullanılan LC-MS/MS cihazı	37
Şekil 4.4.	PCR işleminde kullanılan TECHNE /TC-512 marka cihazın görünümü.....	39
Şekil 4.5.	Thermo marka agaroz jel elektroforezinde DNA kontrolü	41
Şekil 4.6.	DGGE cihazının genel görünümü	42
Şekil 5.1.	İşletim süresi boyunca H ₂ -MBfR sisteminde nitrat azotu (NO ₃ -N) giderimi	48
Şekil 5.2.	İşletim süreci boyunca H ₂ -MBfR’de, farklı HRT ve H ₂ -gaz basınçlarında ortalama nitrat azotu (NO ₃ -N) giderimi	48
Şekil 5.3.	İşletim süresi boyunca H ₂ -MBfR sisteminde farklı HRT ve H ₂ kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan NO ₃ -N akıları	49
Şekil 5.4.	İşletim süresi boyunca H ₂ -MBfR sisteminde farklı HRT ve H ₂ kısmi basıncına bağlı olarak, NO ₃ -N- H ₂ eşdeğer akısı	49
Şekil 5.5.	İşletim süresince H ₂ -MBfR sisteminde CTC gideriminin değişimi.....	54
Şekil 5.6.	İşletim süresince H ₂ -MBfR’de farklı HRT ve H ₂ -gaz basınçlarında ortalama CTC gideriminin değişimi.....	54
Şekil 5.7.	İşletim süresi boyunca H ₂ -MBfR sisteminde farklı HRT ve H ₂ kısmi basıncına bağlı olarak oluşan ortalama akılar	55
Şekil 5.8.	İşletim süresi boyunca H ₂ -MBfR sisteminde farklı HRT ve H ₂ kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan CTC-H ₂ eşdeğer akıları.....	55
Şekil 5.9.	İşletim süresi boyunca H ₂ -MBfR sisteminde HRT ve H ₂ kısmi basıncına bağlı olarak oluşan parçalanma ürünlerinin değişimi.....	56
Şekil 5.10.	İşletim süresi boyunca O ₂ -MBfR sisteminde NH ₄ -N gideriminin değişimi.....	60
Şekil 5.11.	İşletim süresince O ₂ -MBfR’de, farklı HRT ve O ₂ -gaz basınçlarında ortalama NH ₄ -N gideriminin değişimi	61
Şekil 5.12.	İşletim süresi boyunca O ₂ -MBfR sisteminde farklı HRT ve O ₂ kısmi basıncına bağlı olarak oluşan NH ₄ -N akısının değişimi	61
Şekil 5.13.	İşletim süresi boyunca O ₂ -MBfR sisteminde farklı HRT ve O ₂ kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan NH ₄ -N O ₂ eşdeğer akısı	62
Şekil 5.14.	İşletim süresi boyunca O ₂ -MBfR sisteminde CTC gideriminin değişimi	63

Şekil 5.15.	İşletim süreci boyunca O_2 -MBfR’de farklı HRT ve O_2 -gaz basınçlarında CTC giderimin değişimi	66
Şekil 5.16.	İşletim süresi boyunca O_2 -MBfR sisteminde farklı HRT ve O_2 kısmi basıncına bağlı olarak oluşan ortalama CTC akısının değişimi	67
Şekil 5.17.	İşletim süresi boyunca O_2 -MBfR sisteminde farklı HRT ve O_2 kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan ortalama CTC- O_2 eşdeğer akıları.....	67
Şekil 5.18.	İşletim süresi boyunca O_2 -MBfR sisteminde HRT ve O_2 basıncına bağlı olarak oluşan parçalanma ürünlerinin değişimi	69
Şekil 5.19.	PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü	71
Şekil 5.20.	DGGE bantları kesildikten sonra uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü.....	71
Şekil 5.21.	H_2 -MBfR sisteminde HRT 15 ve 2.5 saat şartlarını temsil eden mikroorganizma sınıfları	73
Şekil 5.22.	O_2 -MBfR sisteminde HRT 15 ve 2.5 saat şartlarını temsil eden mikroorganizma sınıfları	74
Şekil 5.23.	CTC giderimi için H_2 ’ ye dayalı olarak işletilen MBfR’ların giriş-çıkış akımlarında ve kontrol reaktörlerinin çıkış akımlarında bulunan bileşenlere ait toplam iyon kromatogramlarının karşılaştırılması.....	76
Şekil 5.24.	CTC giderimi için O_2 ’ ye dayalı olarak işletilen MBfR’ların giriş-çıkış akımlarında ve kontrol reaktörlerinin çıkış akımlarında bulunan bileşenlere ait toplam iyon kromatogramlarının karşılaştırılması.....	77

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Bazı antibakteriyel ilaç gruplarının etki mekanizmaları ve mikroorganizmaların direnç şekilleri	15
Tablo 4.1. Membran biyofilm reaktör modülünün fiziksel özellikleri	33
Tablo 4.2. Sentetik besleme suyu içeriği	34
Tablo 4.3. Eser mineral çözelti bileşimi	35
Tablo 4.4. PCR analizi için kullanılan malzemeler ve karışım oranları	39
Tablo 4.5. PCR çalışmasında kullanılan primerlerin baz dizilimleri	40
Tablo 4.6. PCR analizinin işlem basamakları	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

(NH₄)H₂PO₄	: Amonyum dihidrojen fosfat
ACTC	: Anhidroklortetrasiklin
ATC	: Anhidrotetrasiklin
BOİ	: Biyolojik oksijen ihtiyacı
CTC	: Klortetrasiklin
DGGE	: Denatüre gradyan jel elektroforezi
EACTC	: 4-Epi- Anhidroklortetrasiklin
EATC	: 4-Epi anhidrotetrasiklin
ECTC	: 4-Epi- Klortetrasiklin
H₂-MBfR	: Hidrojen esaslı membran biyofilm reaktör
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HRT	: Hidrolik bekleme süresi
K_d	: Kimyasal denge sabiti
K_{oc}	: Bir maddenin toprak/su dağılım katsayısı
KOİ	: Kimyasal oksijen ihtiyacı
K_{ow}	: Oktanol fazındaki konsantrasyon / su fazındaki konsantrasyon
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografi-kütle kromatografisi
MABR	: Gazlı membran-biyoreaktör
MBfR	: Membran biyofilm reaktör
MBR	: Membran biyoreaktör
MSBR	: Membran destekli biyofilm reaktör
ng	: Nanogram
NH₄-N	: Amonyum azotu
NO₂-N	: Nitrit azotu
NO₃-N	: Nitrat azotu
O₂-MBfR	: Oksijen esaslı membran biyofilm reaktör
OTC	: Oksitetrasiklin
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
ppb	: Milyarda bir ölçü birimi
ppm	: Milyonda bir ölçü birimi
psi	: İnç kareye pound olarak uygulanan basınç (1psi = 0.068 atm)
SDZ	: Sulphadiazine
st	: saat
TC	: Tetrasiklin
TIC	: Toplam iyon kromatografisi
USEPA	: ABD çevre koruma ajansı
WHO	: Dünya sağlık örgütü
µg	: Mikrogram

1. GİRİŞ

İnsan ve hayvanlar için bulaşıcı hastalıkları tedavi amaçlı etkili bir ilaç grubu olan antibiyotikler tüm dünya da kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin yaygın kullanılması, bu kirleticilerin çevresel döngüye bulaşma riskini arttırmaktadır. Sucul ortamlarda farmasotiklerin miktarı düşük olmasına rağmen, sürekli su ortamlarına girişleri nedeniyle uzun dönemde sucul ve karasal organizmalar için potansiyel bir risk oluşturmaktadır. Doksanların başından itibaren endokrin sistem ilaçları ve lipid düşürücü ilaçlar gündeme gelmiştir (EPA; Daughton ve Ternes, 1999). Bu tarihten sonra hormonlar ve diğer farmasotikler için A.B.D. ve Avrupa'da pek çok çalışma yapılmıştır.

İlaç aktif maddelerinin çevreye girişi çeşitli yollarla olmaktadır. İnsanlar ve hayvanlardan başlayan bu çevrimde ilaç aktif maddeleri atıksulara, toprağa, yeraltı sularına ve yeterli arıtım yapılmadığı takdirde içme sularına kadar ulaşırlar (Halling-Sorensen ve diğ., 1998; Ternes, 1998; Daughton ve Ternes, 1999). İnsan kaynaklı ilaçların çevreye girişi kullanılan ilaçların dozu ve miktarına, vücuttan atılma sıklığına, ilacın katılara tutulma eğilimine ve atıksu arıtma tesisindeki/depo alanındaki mikroorganizmaların metabolik dönüştürme yeteneklerine bağlıdır (Daughton ve Ternes, 1999). İlaçların çoğu insan vücudundan sadece çok az dönüştürülmüş veya hiç değişmeden atılır. Bu maddeler atıksu arıtımı esnasında uzaklaştırılamazlar ve böylece bazı farmasotik aktif bileşikler hemen hemen hiç değişmeden atıksu arıtma tesislerinden alıcı ortamlara geçerler (Reddersen ve diğ., 2002; Dietrich ve diğ., 2002; Mersmann, 2003).

İlaç atıklarının sadece atıksularda değil sedimentlerde de biriktiği görülmüştür. Arıtma tesisi çıkış suları ve çamurları tarım alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu kullanımlar sonucu bu tür mikrokirleticiler toprağa, oradan da yeraltı sularına ulaşabilir. Ayrıca bitkiler üzerinde de birikim gözlenebilir. Atıksularda bulunan tıbbi madde atıkları ve dezenfektanlar mikrobiyal dengeyi de etkilemektedir. Bu kompleks organikler sentetik ve inhibe edici özelliklerinden dolayı doğal mikroorganizmalar tarafından parçalanamamakta yada kısmen parçalanmakta (metabolit oluşumu) ve de kimyasal kararlılıklarından dolayı onlarca yıl doğada değişik fazlarda yer alabilmektedirler (Roefér ve diğ., 2000; USEPA, 1998). Konuya ilişkin çok sayıda araştırma olmasına rağmen, özellikle hastaneler ve evlerden kanalizasyon sistemine ulaşan bu maddeler hakkındaki bilgiler hala yeterli değildir (Henschel ve diğ., 1997).

Gelecekteki sürdürülebilir su döngüsü yönetimi için en uygun çözüm arıtılmış suyun tekrar kullanımı olarak görülmektedir. Atıksuların tekrar kullanımında, ilaçlar, hormonlar, parfüm ve kişisel bakım ürünleri olan mikrokirleticilerin varlığı önemli sorun teşkil etmektedir.

Antibiyotikler, dirençli bakterilerin yeni suşlarının ortaya çıkmasına ve buna bağlı olarak da tedavi edilemeyen hayvan hastalıklarına neden olabilir. Potansiyel olarak daha da tehlikelisi tedavi edilemez insan hastalıklarına da neden olabilir (Martinez, 2008). Yüzey suları, genellikle şehir nüfusu artan bölgelerde içme suyu kaynağı olarak kullanılabilir. Bu nedenle, sulardan antibiotik giderimi için ekin arıtım yöntemleri geliştirilmelidir. Antibiyotiklerin bozunması ve giderimi üzerine kapsamlı araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmalar daha çok ileri oksidasyon prosesleri (Li ve diğ., 2015), fotokataliz (Zhu ve diğ., 2014; Ai ve diğ., 2015), sono-kataliz (Hoseini ve diğ., 2013), klorlama (Li ve Zhang, 2013), sorpsiyon (Shi ve diğ., 2011) ve membran biyoreaktörleri (MBRs) içerir. Araştırılan bu yöntemler arasında MBR'lar yüksek kalitede arıtılmış su verdiğinden dolayı ayrı bir önem kazanmıştır. Özellikle, hidrojen bazlı hollow fiber membran biyofilm reaktörler (H_2 -MBfR) su içerisindeki oksitlenmiş kirleticilerin biyolojik olarak indirgenmesi için yeni bir teknoloji olarak görünmektedir. H_2 -MBfR, birçok oksitlenmiş kirleticilerin eş zamanlı giderimi için elektron vericisi olarak H_2 'yi kullanır. H_2 -MBfR'da H_2 , bakteriyel büyüme için neden olabilen, kalıntı bırakmayan, nispeten ucuz ve pek çok oksitlenebilen kirleticinin biyo-indirgenmesinde elektron verici olarak hareket eder (Ergas ve Reuss, 2001; Nerenberg ve diğ., 2002; Nerenberg ve Rittmann, 2004; Rittmann ve diğ., 2004; Chung ve diğ., 2007; Xia ve diğ., 2009; Zhang ve diğ., 2009). H_2 - MBfR ile bugüne kadar perklorat, selenat, kromat, arsenat ve klorlu solventler gibi birçok biyolojik parçalanmaya dirençli bileşiklerin giderilmesinde denenmiştir (Chung ve diğ., 2006; Chung ve diğ., 2007a; Chung ve diğ., 2007b; Chung ve Rittmann, 2007; Hasar ve diğ., 2008). Ayrıca sulardan antibiyotik ve oksitlenmiş birçok kirleticinin giderimi için de etkili bir mekanizma olduğu kanıtlanmıştır. Ancak, H_2 ve O_2 bazlı MBfR'larla çok yaygın kullanım alanına sahip olan klortetrasiklin giderimine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu noktadan hareketle yapılan bu tez çalışmasında ise, hidrojen ve oksijene dayalı MBfR'da farklı H_2 ve O_2 gaz basınçları ve farklı HRT'de azotlu kirleticilerin (NH_4 -N ve NO_3 -N) ve bir farmasotik üyesi olan klortetrasiklinin eş zamanlı giderimi denenmiştir. Ayrıca, klortetrasiklinin baskın parçalanma ürünleri ve biyo giderimde etkin olan mikrobiyal kütlenin türleri belirlenmiştir.

2. ANTİBİYOTİKLER

Antibiyotikler / antibakteriyel ilaçlar, ağrı kesiciler ve ateş düşürücü ilaçlar, antiepileptik ilaçlar, sitostatik ilaçlar, beta - blokerler, kandaki yağı düzenleyici ilaçlar ve sentetik steroidler çeşitli araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Yaygın kullanımları nedeniyle ağrı kesiciler/ateş düşürücüler ve antibiyotikler çevrede bulunuşları burada ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

Çeşitli endüstrilerde ilaç sektörü için kimyasal ham madde üretilmektedir. İlaç endüstrisi tarafından oluşturulan atıksuların ana kaynakları; kimyasal atıksular (formülasyon tesisi), tesis içi temizlik, laboratuvar atıkları ve dökülmelerdir. Formülasyon tesisi atıksuları düşük ve orta derecede BOİ₅, KOİ ve toplam askıda katı madde içermelerine rağmen içerdikleri refrakter (kararlı) yapıli kimyasallardan dolayı biyolojik olarak bozunurlukları düşüktür (Alaton ve Gürses, 2003). Biyolojik olarak bozunmayan, madde konsantrasyonu yüksek olan antibiyotik formülasyon atıksuları doğrudan biyolojik arıtmaya verildiğinde iyi bir arıtma verimi elde edilemez. Tam olarak arıtılamayan bu atıksular kanalizasyon sistemine verilmekte oradan da alıcı ortama ulaşmaktadırlar. Hastanelerde tedavi ve sterilizasyon amacıyla pek çok kimyasal madde kullanılmaktadır. Ayrıca laboratuvarlarda araştırma ve tahliller için de değişik kimyasallar kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra röntgen filmi çekimlerinde ve bazı özel hastalıkların tedavilerinde de radyoaktif maddelerin kullanıldığı bilinmektedir (Kümmerer ve Al-Ahmad, 1997; Kümmerer ve diğ., 1998; Kümmerer ve Al-Ahmad, 2000).

2.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotikler genel olarak 9 ana başlık altında sınıflandırılmaktadır (Demirden, 2005).

- β -Laktamlar: Penisilin (amoksisilin), sefalofosporin, monobaktam.
- Tetrasiklinler: Oksitetrasiklin ve tetrasiklinler.
- Makrolid antibiyotikler: Eritromisin
- Aminoglikozidler: Gentamisin, tobramisin, amikasin
- Kinolonlar: Siprofsaksin
- Linkosamidler: Klindamisin

- Oksazolidler: Linezolid
- Sülfamantibiyotikler: Sülfisozazol
- Sasilik peptidler: Vankomisin, polimiksinler

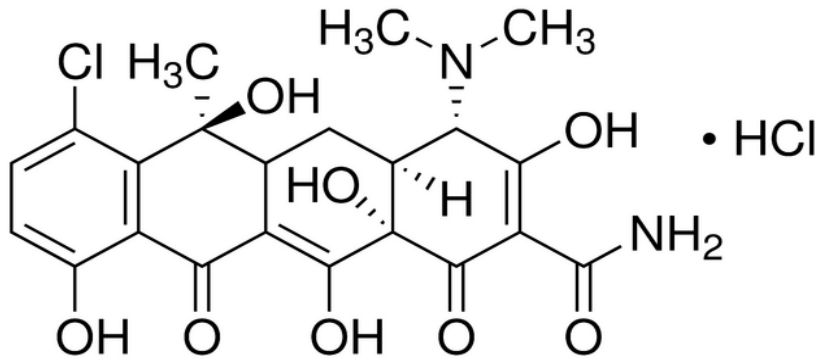
β -Laktam antibiyotikler geniş spektrumlu olup, gram pozitif ve negatif organizmalardan kaynaklanan enfeksiyonların tedavisinde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Cass ve diğ., 2003). Makrolid antibiyotikler önemli bir sınıfı temsil etmektedirler ve genellikle tarımsal faaliyetlerde Tilosin ve Eritromisin uygulanmaktadır (Donlon ve diğ., 2005). Eritromisin, fermentasyon sırasında *S. Erythreas* tarafından üretilen kompleks bir antibiyotiktir (Kim ve diğ., 2007). Tetrasiklinler insan ve veterinerlikte tedavi amaçlı kullanılmakta olup özellikle çiftlik hayvanlarının gelişimi ile sağlıkları için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Sanderson, ve diğ., 2005).

Antibiyotikler, doğada, bakteriler ya da mantarlar tarafından üretilir. Bu canlıların antibiyotik üretilip bulundukları ortama salma nedenleri, diğer türlerle besin yarışı içinde olmalarıdır. Bu yüzden, bulundukları ortamda, kendilerinden başka organizmaların yok olmalarını ya da daha fazla büyümelerini engelleyen antibiyotik maddeleri üretirler. Antibiyotikler etki mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Etki mekanizmalarına göre: Hücre duvarı sentezini engelleyenler, protein sentezini engelleyenler ve nükleik asitlere etki edenler şeklinde sıralanmaktadır.

2.2. Tetrasiklin Antibiyotik Grubu Klortetrasiklin ve Yan Ürünleri

2.2.1. Klortetrasiklinler

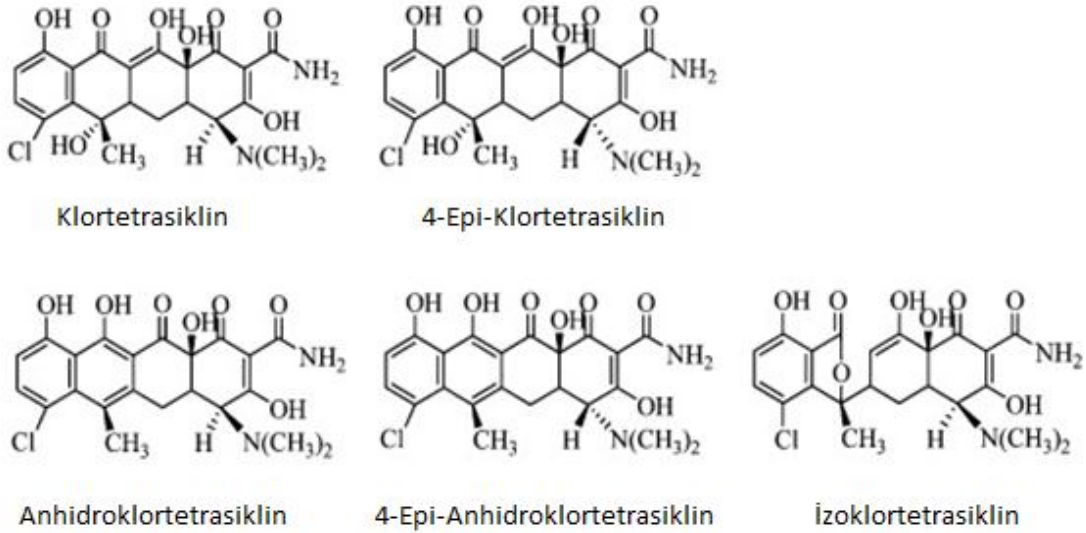
Bazı *Streptococcus aureofacines* suşlarının fermentasyon ürünüdür. Gram pozitif mikroorganizmaların dışında pek çok bakteriye karşı etkinliği diğer tetrasiklinlerden daha azdır (Kayaalp, 1998). Klortetrasiklinin kimyasal formülizasyonu Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Klortetrasiklin kimyasal yapısı (Søeborg ve diğ., 2004)

2.2.2. Yan Ürünleri

Antibakteriyel ilaç metabolitlerinin antibakteriyel etkinliği ana bileşiğe göre düşük olmakla birlikte önemli düzeyde olabilmektedir (Halling-Sorensen ve diğ., 2002). Tetrasiklin molekülünün C-1, C-2, C-3, C-4, C-10, C-11, C-12 ve C-12a pozisyonundaki herhangi bir değişiklik antibakteriyel etkinliğin azalmasına neden olabilir. Bu nedenle, teorik olarak ETC, EATC, ECTC, EACTC ve EOTC gibi 4-epitetrasiklin grubu metabolitler (C-4 pozisyonları değişmiş), iso-CTC (C-11 pozisyonu değişmiş) ve ter-OTC'nin (C-4 pozisyonu değişmiş) ana bileşiğe göre daha az antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu kabul edilmektedir. Ancak, ATC, α - ve β -Apo-OTC gibi bozunma ürünlerinde meydana gelen herhangi bir değişiklik antibakteriyel etkiyi değiştirmez. Bazı bozunma ürünlerinin (ATC, EATC, ACTC ve ECTC) tüm dirençli bakteri ve *bacillus* türlerine karşı toksik etkisi gözlenir. Bu toksik etkinin nedeni, tetrasiklinlerin atipik formu olan bozunma ürünlerinin ana bileşikten farklı olarak bakteriyostatik değil, bakterisid bir etki oluşturmalarıdır (Halling-Sorensen ve diğ., 2002). Bu nedenle antibakteriyel ilaçlar, geçtiği toprağın mikrobiyal yapısını değiştirebilir ve bu etki uzun sürebilir (Thiele-Bruhn S., 2003). Klortetrasiklin molekülü yan ürünlerinin kimyasal yapıları Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Klortetrasiklin yan ürünleri (Søeborg ve diğ., 2004)

2.3. Antibakteriyel İlaçların Çevresel Kaynakları

Antibiyotikler indirgenmediklerinden dolayı eninde sonunda sucul ortama girerler. Antibiyotikler, ortamdaki bakterileri etkileyebilir ve bunun neticesinde doğal döngüyü bozarlar. Bu nedenle bu maddelerin çevreye olan etkilerine dikkat edilmesi gerekir. Bugüne kadar yapılan çalışmalara bakıldığında antibiyotiklerin çevreye etkisi konusunda çok az bilgi elde edilmektedir. Antibiyotiklerin mikroorganizmalar üstünde ters etkiye sahip olması yönünde tasarlanmasından ötürü bu maddelerin bakteri nüfusu üstündeki etkisinin test edilmesi zorunludur (Alexy ve diğ., 2004).

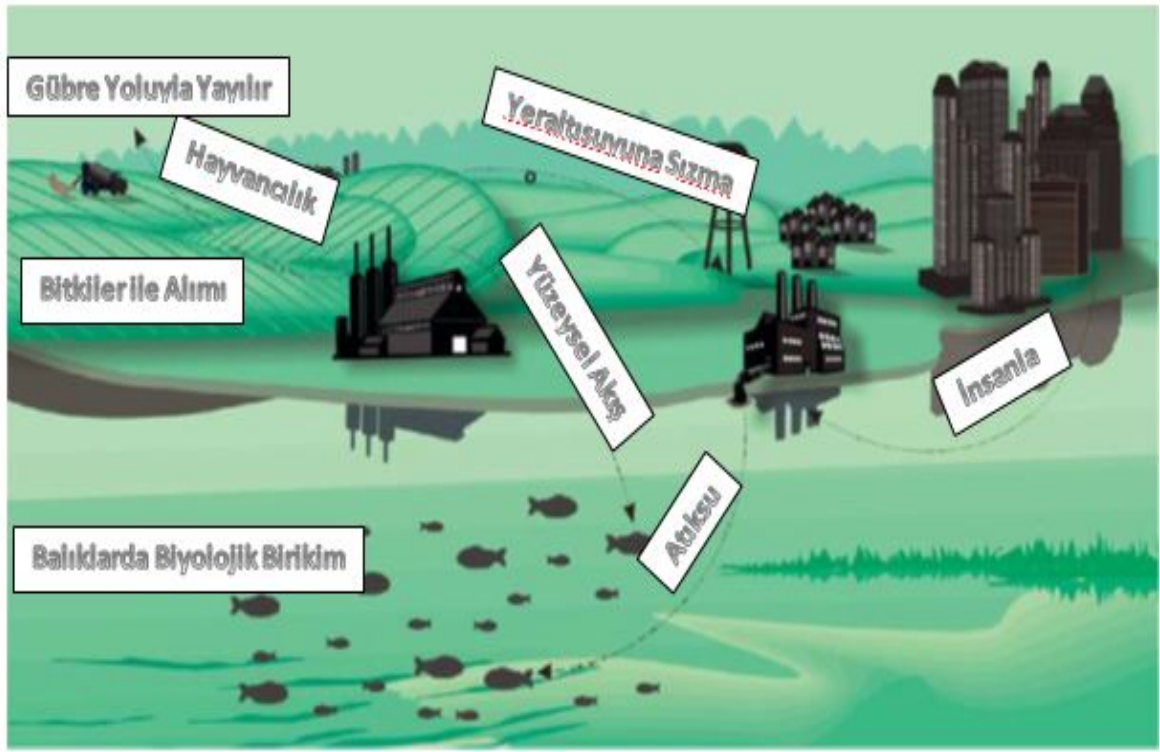
Antibiyotiklerin insan vücudu tarafından az miktarda emilmesi ve bunun sonucunda hiç değişmeden ya da dönüşerek idrar ve dışkı yoluyla vücuttan atıldığı bilinmektedir. Birçok çalışma eczacılık ürünlerinin yerel satışı ile evsel atıksu arıtma tesislerine akışlarını ve bunların konsantrasyonu arasındaki bağlantıyı göstermektedir. Bu da su ile ilgili çevrede evsel atıksu arıtma sistemlerine gelen atıksuyun ciddi olarak insan antibiyotiklerinin kaynağı olabileceği anlamına gelmektedir. Antibiyotiklerin özellikle biyolojik olarak aktif olmak için dizayn edilmelerinden ötürü istenmeyen kronik maruziyet sonucu diğer kimyasallardan daha düşük konsantrasyonlarda dahi olumsuz etki oluşturabildiği bilinmektedir. Buna ek olarak tek bir kimyasala nazaran, farklı etken maddeli antibiyotikler daha düşük konsantrasyonlarda dahi ciddi biçimde olumsuz etkiye sahiptirler (Gulkowska ve diğ., 2008).

Antibiyotikler, ekosisteme devamlı girişlerinden dolayı “sözde kalıcı (pseudo persistent)” kirletici olarak değerlendirilirler (Gulkowska ve diğ., 2008). Yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin düşük dozlarda maruz bırakılmış olmasına rağmen farklı organizmalara (bakteri, alg, daphnia manga vs.) toksik etki yaptığı bulunmuştur (Çağlayan ve diğ., 2006). Antibiyotiklerin çevreye taşınımı Şekil 2.3’de verilmiştir.

2.3.1. Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsü

Bir antibakteriyel ilacın çevreye ulaşmasından sonra maruz kalacağı dört farklı durum vardır. Bu nedenle bir ilaç çevrede;

1. Çevrenin herhangi bir bileşenine tutunabilir,
2. Bir matris içinde veya matrisler arasında hareket edebilir,
3. Biyolojik bir yapı üzerinde birikebilir,
4. Biyolojik ve abiyotik bozunma veya reaktivasyon gibi dönüşüm reaksiyonlarına maruz kalabilir.



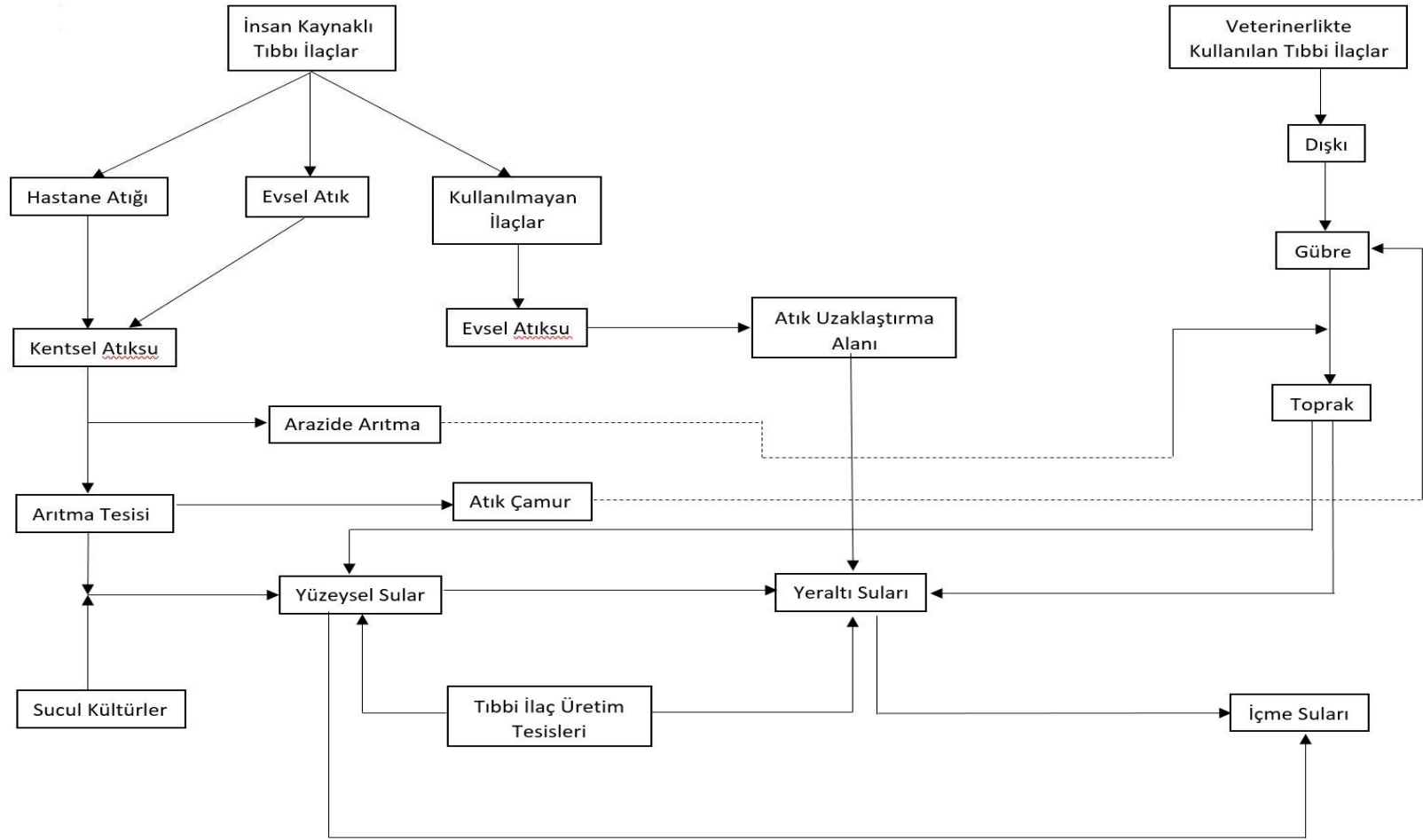
Şekil 2.3. İnsan ve veterinerlik kaynaklı antibiyotiklerin çevreye taşınımı (E-Re Mojica ve diğ., 2011)

Bir ilacın, çevrenin herhangi bir bileşenine tutunması ve bir matris içinde veya matrisler arası hareketi, ilaç (moleküler yapı, büyüklük, biçim ve çözünürlük gibi) ile çevre matrisinin yapısal özelliklerine bağlıdır. Sulfonamidler, çevrede matrisler arası kolay taşınıp suda daha yüksek miktarda bulunurken, tetrasiklin grubu ilaçlar toprak bileşenlerine güçlü bir şekilde bağlanır ve bu nedenle toprakta daha yüksek miktarda bulunurlar.

Veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçların biyolojik birikimleri hakkında kesin verilere ulaşmak güçtür. Ancak, Kow (oktanol/su dağılım katsayısı) değerlerine bakılarak yüksek birikim potansiyeli olan bazı ilaçların balık gibi su canlılarındaki birikimleri hakkında tahminler yapılabilmektedir (Halling-Sorensen ve diğ., 2002).

Antibakteriyel ilaçların her matriste, tüm bozunma mekanizmaları hakkında verilere ulaşmak mümkün olmadığından, baskın olanlar açıklanmıştır.

Antibiyotiklerin çevredeki döngüsü Şekil 2.4’de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Farmasotiklerin kaynakları ve taşınımı (Heberer ve diğ., 2002)

2.3.1.1. Abiyotik (Biyolojik Olmayan) Bozunma

Abiyotik bozunma, fotoliz ve hidroliz reaksiyonlarını kapsayan antibakteriyel ilaçların suda maruz kaldığı bozunma şeklidir. Bu bozunma sürecinin çevredeki ilaçlar bakımından önemi tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen, furazolidon gibi bazı ilaçların ışığa duyarlı olduğu bilinmektedir. Ayrıca, OTC'nin sulu bir çözelti içinde ve ışıksız bir ortamda iki ay boyunca yapısal bütünlüğünü koruyabildiği halde, ışığın etkisiyle yapısı önemli düzeyde değişmektedir. Bu nedenle, ışığın yoğun olarak bulunduğu bir ortamda OTC'nin yarılanma süresinin, içme sularında (pH 7) 30 gün ve deniz sularında 30 saate kadar kısaldığı kaydedilmiştir. Işığın etkisiyle OTC'nin yarılanma süresinin kısaldığı yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Samuelson, 1989). Benzer bir çalışmada, doğal koşulların sağlandığı bir havuzda tetrasiklinin ışığın etkisiyle bozunmaya maruz kaldığı ve bunun sonucunda bu ilacın yedi farklı metabolitinın şekillendiği belirlenmiştir (Oka ve diğ., 1989).

Ancak, ışıkla bozunma toprakta bulunan antibakteriyel ilaçları önemli düzeyde etkilemez. Hidroliz ise, toprakta bulunan tetrasiklin grubu bazı bileşiklerin bozunma sürecinde kısmen etkilidir (Thiele-Bruhn, 2003).

2.3.1.2. Biyolojik Bozunma

Antibakteriyel ilaçlar, suda abiyotik bozunmaya maruz kalırken, hayvan gübresi, toprak ve sedimentte biyolojik bozunma mekanizmaları baskındır. Bu bozunma, mikrobiyal faaliyet sonucu gerçekleşir (Halling-Sorensen ve diğ., 2002). Geniş spektrumlu bir sefalosporin olan seftiofur sodyum, toprakta bozunarak çevrede yapısını çok iyi koruyabilen metabolitlere dönüşür. Ancak, gübre kaynağı olan sığır dışkısının sterilize edilmesi sonucu bozunmanın baskılandığı görülür. Farklı yapıdaki topraklarda seftiofur sodyumun maruz kaldığı aerobik bozunma sürecindeki yarılanma süresi 22–49 gün olarak saptanmış ve pH değerinin yükselmesiyle bu sürenin kısaldığı bildirilmiştir (Gilbertson ve diğ., 1990). Tetrasiklin grubu ilaçların yarılanma süreleri ve bozunma oranları hakkındaki farklı veriler, bu süreci etkileyen çok çeşitli faktörlerin olduğunu göstermektedir. Su ortamında bir ilacın bozunma ve/veya hareketini, ortamdaki sıcaklık, akıntı hızı, balık yetiştirme çiftliklerinde kafes ile sediment arası uzaklık, bakterilerin etkinliği, sedimentin derinliği ve kimyasal yapısı gibi faktörler etkiler. OTC'nin yarılanma süresinin, oksijenin bulunmadığı su tabanındaki sedimentte uzun olduğu (10 hafta) ve ilacın yapısını koruduğu

saptanmış (Jacobsen ve Berglind, 1988), benzer koşullarda yapılan başka bir araştırmanın sonucuna göre ise OTC'nin yarılanma süresinin (13–16 gün) kısa olduğu görülmüştür (Coyne ve diğ., 1984). Biyolojik bozunmada, bakterilerin faaliyeti önemlidir. Bu nedenle, benzer koşullarda yapılan çalışmalarda OTC için farklı yarılanma sürelerinin belirlenmesi, bakteri etkinlik düzeyinin değişken olmasından ileri gelebilir. Tetrasiklinler, sedimentte bozunmadığı halde, Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi iyonlarla oluşturduğu kompleksler nedeniyle inaktive olur. Bu nedenle, ortamda bulunan bakterilere etkileri sınırlıdır. Kinolon grubu antibiyotiklerin döngüsü, tetrasiklinlere benzerdir ve kinolonların sedimente bağlanabildikleri belirlenmiştir. Ancak, SDZ ve trimetoprimin sedimente karşı ilgisi kinolonlara göre daha azdır. Florfenikol, sedimentte hızlı bozunur (florfenikol amin metaboliti oluşur) ve yarılanma süresi 4–5 gündür (Hektoen ve diğ., 1995). Genel bir görüş olarak sedimentte birçok ilacın yapısında önemli değişim olmadığı, özellikle sedimentin alt katmanlarında bozunmanın oluşması için geçen süre (6 ay) ve yarılanma süresinin (10 ay) uzun olduğu saptanmıştır (Halling-Sorensen ve diğ., 2002).

2.3.1.3. Sorpsiyon

Sorpsiyon, toprak veya su matrisi (sorbent) ile genelde organik yapıda olan bir kirleticinin (sorbat) etkileşmesi olup, dağılım katsayısıyla (K_d) ifade edilir. Başka bir ifadeyle, bir maddenin katı fazdaki miktarının solüsyondaki miktarına oranıdır ve K_{ow} ile özdeşdir. K_d , su ile toprak veya organik madde arasında meydana gelen sorpsiyon sürecinin kolay anlaşılmasını sağlar. Koc ise bir maddenin toprak/su dağılım katsayısıdır ve toprak veya sedimentin sorpsiyon katsayısının, sorbentin karbon miktarına oranıyla hesaplanır.

$$Koc = K_d / C$$

$$K_{ow} = \text{Oktanöl fazındaki konsantrasyon} / \text{Su fazındaki konsantrasyon}$$

Antibiyotiklerin çevredeki sorpsiyonu kimyasal yapılarına bağlı olarak değişir.

Tetrasiklinler, toprakta bulunan mineral maddelerle üç farklı şekilde etkileşir (Sarmah ve diğ., 2006). Bu mekanizmalar:

1. Tetrasiklinlerin protonlanmış amin grupları ile kil yüzey arasındaki iyon değişimi
2. Kildeki divalent katyonlarla etkileşim
3. Kilin kenar bölümlerindeki alüminyum iyonlarıyla etkileşim

Matris ile tetrasiklin grubu ilaç arasındaki etkileşim yüzeyinin az olması meydana gelecek reaksiyonları önemli düzeyde etkilemez. Katyon değiştirme, kildeki mineral maddelerle kompleks oluşturma ve hidrojen bağlama gibi reaksiyonlar ilaca bağlı olmayan

ve etkileşimi belirleyen faktörlerdir (Tolls., 2001). Tetrasiklinlerin, zengin organik madde içerikli toprak veya hayvan gübresine bağlanmasını, pH ve çözücü iyonik yapı etkiler (Sithole ve Guy, 1987). Tetrasiklinlerin toprağa güçlü bir şekilde bağlanmaları, yapılarında bir değişiklik olmadan çevrede uzun süre kalabilmelerine neden olur. Buna bağlı olarak tarım arazilerinde birçok kez hayvan gübresinin kullanılması sonucu tetrasiklinlerin çevredeki miktarları yükselir (Sengelov ve diğ., 2003). OTC, düşük pH değerlerinde pozitif yüklenir ve katyon değişimine ilgi duyar. Ancak, yüksüz form (pH 5) ve hidrofobik mekanizmaların baskın olduğu hallerde katyon değişimine ilgisiz kalabilir (Kulshrestha ve diğ., 2004). Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin topraktaki sorpsiyonunu birçok faktörün etkilemesi nedeniyle bu konuda yapılan araştırmaların birbirinden farklı sonuçları olabilmektedir (Sarmah ve diğ., 2006). Bu nedenle, bu verilerden genel bir görüş elde etmek güçtür. Toprakta sulfonamid grubu antibakteriyel ilaçların sorpsiyon ve taşınma mekanizmaları benzerlik gösterir. Bazik bir ortamda, SCP, STZ ve sulfametazinin Kd değerleri birbirine yakın ve diğer ilaçlara göre düşüktür. Bu değerlerin düşük olması, çevrede SCP ve diğer sulfonamidlerin kolay hareket edebilmesinin nedenini açıklar. pH değerinin bilinmesi, sulfonamidlerin sorpsiyon mekanizmalarını tam olarak açıklamaya ve yorumlamaya yetmez. Çünkü bu ilaçlar bazı pH değerlerinde her zaman beklendiği gibi davranmazlar. SCP'nin Kd değerinin, pH 6–7.5 aralığında yükselmesi buna örnek olarak gösterilebilir. Bu bulgu, sulfonamidler için Kd sabitinin pH değerine bağlı bir faktör olmadığını gösterir. Bu nedenle, sulfonamid grubu antibiyotiklerin her biri için farklı bir sorpsiyon karakterinin olabileceği vurgulanmaktadır (Boxall ve diğ., 2002). Sulfonamidlerin toprak ve fraksiyonlarına sorpsiyonu etkileyen genel faktörler şunlardır:

1. Sulfonamidlerin pH değerlerindeki değişikliklerden etkilenen fiziko-kimyasal özellikleri ve moleküler yapısı,
2. Organik ve mineral yüzeylerdeki bağlanabilir fonksiyonel gruplar,
3. Toprağın organik maddesinin üç boyutlu yapısındaki bağlanabilir boşlukların mineral maddelerle kompleks oluşturmak üzere yaptığı kombinasyonlar (Thiele-Bruhn ve diğ., 2004).

Tüm organik kimyasal maddelerde olduğu gibi, antibakteriyel ilaçların çevredeki hareketini birçok faktör etkiler. Bir antibakteriyel ilacın kimyasal özelliği, toprağın nem ve sıcaklığı, gübrenin uygulanma zamanı ve iklim koşulları önemli olan faktörlerdir. Ayrıca, ilacın sudaki çözünürlüğü, ayrışma katsayısı, sorpsiyon-desorpsiyon süreci, farklı pH

değerlerindeki dağılım katsayısı, toprağa bağlanması ve stabilitesi çevredeki hareket şeklini belirler (Sarmah ve diğ., 2006).

2.3.2. Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsünü Etkileyen Faktörler

Antibakteriyel ilaçların çevredeki döngüsünü esas olarak, pH, organik madde ve mineraller etkiler. pH artarken, hem asidik hem de bazik bileşikler toprağa daha az bağlanır. Asidik bileşikler, yüksek pH değerlerinde negatif yüklenir ve bu nedenle negatif yüke sahip toprağa bağlanamazlar. Bazik bileşikler ise düşük pH değerlerinde pozitif yüklenir ve negatif yüklü toprağa bağlanabilirler. Hayvan gübresinin toprağa ilave edilmesi, uygulamadan birkaç hafta sonra toprağın pH düzeyinin yükselmesine neden olur (Kay ve diğ., 2005). Toprağın özellikle yüzey katmanlarında pH düzeylerinde meydana gelen değişim, farklı pKa değerlerine sahip antibakteriyel ilaçların toprakla etkileşimini ve çevredeki hareketini etkiler. Ayrıca, çevredeki antibakteriyel ilaç miktarı arttıkça bozunma daha hızlı gerçekleşir (Liguoro ve diğ., 2007).

2.4. Antibiyotiklerin Etkileri

Son yıllarda ilaç sektörüne ait ürünler ve özellikle antibiyotik kullanımı, çevre açısından kaygı verici duruma gelmiştir. Bu sektöre ait ürünler genel olarak insanların mikrobiyal enfeksiyonlardan korunması ve iyileştirilmesi amacı ile kullanılmaktadır. Bu ürünler kullanımının ardından metabolizma tarafından dışarı atılmakta ve evsel atıksulara karışmaktadır. Dolayısıyla evsel atıksu arıtma tesislerinde, özellikle bilinçsiz kullanım sonucu giderek artan miktarlarda gözlenmektedir. Söz konusu arıtma tesisleri bu tür maddeleri gidermek için tasarlanmadığından çeşitli sorunları beraberinde getirmektedir. Atıksuyun içerisinde antibiyotiğin bulunması, suyun yeniden kullanılması ve su kaynak planlanması için mücadele edilmesi gereken bir problemdir (Gulkowska ve diğ., 2008).

Antibiyotik kirliliği bakımından temel sorun çevredeki canlılar üzerinde oluşan toksik etki ve antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların geliştirdiği dirençtir. Antibiyotiklerin çevrede tespit edilen miktarları genellikle su ortamında μgL^{-1} ve ngL^{-1} toprakta mgkg^{-1} konsantrasyonlarında olmasından dolayı olağan koşullarda canlılar üzerinde toksik bir etki görülmeyebilir. Ancak ilaç kalıntılarının düşük konsantrasyonlarda veya “ilaç kokteyli” olarak uzun vadede oluşturabileceği negatif etkiler göz ardı edilmemelidir. Organizmanın kalıntıya verdiği yanıt, kaşıntı gibi hafif reaksiyondan anafilaktik şok (kaşıntı, boğaz şişmesi, kan basıncı düşmesi vs. gibi) ve ölüme kadar

değişebilmektedir. En sık bildirilen reaksiyonlar alerjik reaksiyonlardır. β -laktam antibiyotikler, aminoglikozidler, sülfonamidler ve birkaç olguda tetrasiklinler, duyarlı insanlarda alerjik reaksiyonlara neden olabilirler. Hedef organizması bakteriler olan antibiyotikler düşük derişimlerde, bakterilerdeki dayanıklılığı artırır ve direnç gelişimi söz konusu olur. Dolayısıyla ekolojik direncin oluşması kolay karşılaşılabilecek önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Direnç, duyarlı mikroorganizmaların zaman içinde etkilendikleri antibiyotiklerden etkilenmemesi veya daha az etkilenmesi demektir ve aynı zamanda mikroorganizmalar için doğal bir savunma mekanizmasıdır. Direnç gelişimi iki türlü olur. Doğal direnç, mikroorganizmanın, antibiyotiğin yeterli konsantrasyonunda bile ondan kalıtsal olarak etkilenmemesidir. Kazanılmış direnç ise genetik kökenli olup, kromozomal mutasyon veya genetik maddenin mikroorganizmalar arasında aktarılması ile kazanılmaktadır (Karaalp, 2010).

Antibiyotiklerin neden olduğu kirliliğin izlenmesi sonucu elde edilen veriler mikroorganizmalar arasında direncin yaygınlaştığını göstermektedir. Hirsch ve arkadaşları evsel atıksu arıtma tesisinde yaptıkları çalışmada, bakterilerin %70 den fazlasının en azından bir antibiyotikten etkilenmediğini göstermişlerdir. Bakterilerin % 6'sı ise birden fazla antibiyotiğe karşı dayanıklılık göstermiştir. Direncin yaygınlaşmasına bağlı olarak enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek güçleşir, ve böylece toplum sağlığı olumsuz yönde etkilenir. Ayrıca, direncin patojen olmayan mikroorganizmalardan patojenlere aktarılması hastalıkların salgın haline dönüşmesine neden olabilir (Karaalp, 2010).

Evsel atıksularda ve yüzey sularında antibiyotiklerin yüksek orandaki konsantrasyonlarda bulunduğunu görülmektedir. Böyle bir bilgi olmasına rağmen antibiyotiklerin doğada dağılımları, su sistemlerindeki hareketleri hakkında çok fazla şey bilinmemektedir. Sucul ortamda antibiyotiğin varlığı problem yaratabilir. Bu maddeler mikrobiyal ekolojiyi etkileyebilir ki antibiyotiklere dayanıklı patojenlerin üremesini artırması insan sağlığı üzerinde olumsuz etki yaratır. Dezenfektanlar ve antibiyotiklerin hem atık su arıtma işlemini hem de yüzeysel sulardaki mikrobiyal ekolojiyi olumsuz etkilediği düşünülmektedir (Gautam ve diğ., 2007).

Antibiyotiklerin tüketimlerinin artmasının yanı sıra hassas analitik ölçüm metotlarının da gelişimi, şehir şebekelerinde, atıksu arıtma tesislerinde ve arıtma çamurlarında bulunan antibiyotiklerin tanınmasını artırmıştır. Antibiyotikler ve diğer ilaçlar doğaya sadece arıtma sonrası çıkış sularıyla değil, deponi sahalarından sızıntı suyu vasıtasıyla da toprağa ve yeraltı sularına ve yüzeysel sulara ulaşmaktadır. Çoğu antibiyotik

etken maddesi tamamı ile bozunmadığından ve insan vücudu tarafından emilmeyen kısmı atıldığından, evsel nitelikli atıksu arıtma tesislerinin hemen hepsinde bu tip bileşiklere rastlanmaktadır (Heberer, 2002). Dolayısıyla evsel nitelikli atıksu arıtma tesisleri ortama antibiyotik etken maddesi veren ciddi birer işletme haline gelmektedir (Brun ve diğ., 2006). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda 100 kadar ilaç ve bunların etken maddesine arıtma tesisi çıkış sularında ve yüzeysel sularda rastlanmıştır (Blaise ve diğ., 2006; Brun ve diğ., 2006; Fent ve diğ., 2006). Bu tip alıcı ortamdaki canlılara toksik etki yapabilecek bileşiklerin potansiyel toksik etkileri üzerine pek fazla çalışma yapılmamış olması da dikkat çekicidir (Quinn ve diğ., 2008).

2.5. Antibakteriyel İlaçlara Karşı Bakterilerin Geliştirdiği Direnç

Antibiyotik üreten mikroorganizmalar, bu ürünlerin etkilerine karşı kendilerini korurlar. Mikroorganizmalar bunun için üç temel mekanizma kullanır. Bu mekanizmalar:

1. Antibakteriyel ilacın etkinsizleştirilmesi,
2. Bakteri hücrelerine giren ilacın geri çıkartılması,
3. Duyarlı moleküler hedefin değiştirilmesi.

Direnç, bir mikroorganizmanın özel koşullarda uygulanan özel bir ilaca karşı göreceli olarak duyarsızlaşmasıdır ve aynı zamanda doğal bir savunma mekanizmasıdır. Bu nedenle, direncin gelişmesi tek başına herhangi bir antibakteriyel ilacın kullanılmasına bağlı değildir. Ancak, ilaçların kullanılması duyarlı bakterilerin gelişmesini önler, ilaca duyarsız olanlar yaşamlarını sürdürür ve buna bağlı olarak doğal bir seçicilik meydana gelir (Adams, 2001; Kummerer, 2004).

Kazanılmış direncin oluşmasını kolaylaştıran iki önemli etmen, antibakteriyel ilacın etkisi olmaksızın dirençli mikroorganizmaların vücut veya çevrede bulunması ve aynı yapıdaki mikroorganizmaların, direnci kendi aralarında aktarmalarıdır. Kazanılmış direncin oluşmasına neden olan kromozomal mutasyon, duyarlı hücrede bir takım yapısal değişimlere neden olur. Oysa aktarılabilir direnç olgusunda ilacı metabolize eden enzimler sentezlenir. Ayrıca, kromozomal direnç aşamalı olarak oluşurken, aktarılabilir dirençten ya söz edilemez ya da ileri düzeyde bir direnç gözlenir. Aktarılabilir direnç bakımından ekstrakromozomal DNA'nın kendi başına çoğalabilmesi ve farklı mekanizmalarla aktarılabilmesi önemlidir. Direnç belirleyicileri, kromozomlar sayesinde bakterinin kendi genetik yapısı içinde taşınabileceği gibi bakteriyofaj, plazmid veya transpozon gibi taşıyıcılar aracılığıyla toplulukta bulunan diğer mikroorganizmalara aktarılabilir.

Aktarılabilen genler duyarlı mikroorganizmalar tarafından alındığında, direncin yaygınlığı artar (Adams, 2001).

Bazı antibakteriyel ilaç gruplarının etki mekanizmaları ve mikroorganizmaların direnç şekilleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Bazı antibakteriyel ilaç gruplarının etki mekanizmaları ve mikroorganizmaların direnç şekilleri (Mateu ve Martin, 2001)

Antimikrobiyal srup	Etki mekanizması	Direne mekanizması	Direne tipi
Tetrasiklinler	Protein sentezinin inhibisyonu (30S ribozomal birimlere bağlanarak)	Gen çıkartım mekanizması İlacın etkinsizleştirilmesi, Hedefin değiştirilmesi	Aktarılabılır Kromozomal
Sulfonamidler	PABA'nın yarışmalı olarak inhibisyonu	Azaltılmış gen alım, Değiştirilmiş metabolik enzimler PABA üretiminin artırılması	Aktarılabılır Kromozomal
Aminoglikozidler	Protein sentezinin inhibisyonu (30S ribozomal birimlere bağlanarak)	Ribozomal hedeflerin metilasyonu enzim değişimi	Aktarılabılır Kromozomal
β -laktamlar	Bakteri hücre duvarının sentezinin önlenmesi	β -laktamazlar azaltılmış geçirgenlik, Hedef değişikliği	Aktarılabılır Kromozomal
Makrolidler	Protein sentezinin inhibisyonu (50S ribozomal birimlere bağlanarak)	23S RNA'nın metilasyonu	Aktarılabılır Kromozomal

2.6. Antibiyotiklerin Sucul Ortamda Bulunuşu

2.6.1. Yüzey Sularında Antibiyotiklerin Varlığı

Bazı araştırmacılar tarafından, çeşitli yüzey suları örnekleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda yüzey sularında genellikle $\mu\text{g/L}$ veya ng/L düzeyinde antibiyotik etken maddelerinin bulunduğu rapor edilmiştir.

Yüzey sularında ilk antibiyotik kontaminasyonu 1982 yılında İngiltere’de Watts ve arkadaşları tarafından rapor edilmiş olup, Watts ve arkadaşları nehir sularında yaptıkları bu çalışma sonucunda 1 $\mu\text{g/L}$ düzeyinde makrolide, sulfonamid, tetrasiklin grubu

antibiyotiklerden en az bir bileşik tespit edilmiştir. Bunu takip eden süreçte (1985) yüzey sularında yaptıkları çalışma sonucu 25 ng/L değerinde antibiyotik kalıntısı tespit ettiklerini belirtmişlerdir (Karaalp, 2010).

Makrolid, sülfonamid, tetrasiklin grubu antibiyotikler başta olmak üzere antibiyotik kalıntılarının ng/L seviyelerinde tespit edildiğinin rapor edildiği birçok çalışma mevcuttur. Yüzey suları örnekleri ile yaptıkları çalışmalarda bir çok araştırmacı (Boxall ve diğ., 2005; Daughton ve Ternes, 1999; Kolpin ve diğ., 2002) farklı miktarlarda, çeşitli antibiyotik kalıntılarını raporlamışlardır (Karaalp, 2010).

Yüzey suları ile yapılan bir çalışmaya göre klortetrasiklin yoğun olarak domuz ve kümes hayvanı yetiştiriciliği ile alakalı alanların yüzey sularında 0.5 µg/L olarak analizlenmiştir (Meyer ve diğ., 2000). Alman araştırmacılar tarafından ise 0,06-0,56 µg/L düzeyinde kloramfenikol yüzey sularında tespit edilmiştir (Hirsch ve diğ., 1999). Kolpin ve arkadaşlarının (2002) yaptıkları bir başka çalışmaya göre ise ABD’de yüzey sularında eritromisin kalıntıları tespit edildiği ve maksimum 1.7 mg/L konsantrasyonunda bulunduğu raporlanmıştır (Karaalp, 2010).

Hirsch ve arkadaşları (1999), yüzey sularında klaritromisin, eritromisin, roksitromisin, kloramfenikol, sulfadimidin, sülfametoksazol (SMZ) ve trimetoprimi 0.06–1.70 µg/L düzeyinde tespit etmiş, aynı antibiyotiklerin evsel atık su arıtma birimlerinin deşarjlarındaki düzeylerini 0.24–6.00 µg/L olarak belirlemiştir (Karaalp, 2010).

Hamscher ve arkadaşları (2002) çeşitli su örnekleri ile yaptıkları çalışmada tetrasiklinlere rastlamamışlar ve bu bulgular Lindsey ve arkadaşları (2001), Zhu ve arkadaşları (2001) tarafından da desteklenmiştir. Buna karşılık Kolpin ve arkadaşları (2002) 340 ng/L oksitetrasiklin, 690 ng/L klortetrasiklin, Calamari (2003) 19.2 ng/L oksitetrasiklin tespit ettiklerini raporladıkları çalışmalar tetrasiklin grubu antibiyotiklerin yüzey sularında düşük konsantrasyonlarda bulunduğunu kanıtlamaktadır. Bunlara ek olarak Kay ve arkadaşları tarafından 2005’de yapılan bir çalışmada, oksitetrasiklin ve tetrasiklin yüzey sularında (32000 ng/L) daha yüksek düzeyde tespit edildiği belirtilmiştir (Karaalp, 2010).

2.6.2. Yeraltı Sularında Antibiyotiklerin Varlığı

Yapılan çeşitli araştırmalar antibiyotik kalıntılarının yer altı sularında da bulunduğunu göstermiştir. Çeşitli sınıf antibiyotiklerin yer altı sularında ng/L düzeyinde bulunduğu bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Yer altı sularında antibiyotik

kontaminasyonu genellikle antibiyotiklerin zirai kullanımlarının ve tarım arazilerine hayvan gübresi uygulamalarının bir sonucu olarak tespit edilmektedir. Sülfadimidin ile tedavi edilen (6-10 mg/kg dozda) hayvanların gübresinde önemli miktarda (1 mg/kg) ilaç saptanmıştır. Antibiyotik içeren hayvan gübresinin kullanıldığı tarım arazilerinin yeraltı sularında düşük düzeyde SMZ ve sulfametazin (0.16–0.47 ng/L) tespit edilmiş ve gübre önemli bir kirlilik kaynağı olarak gösterilmiştir (Karaalp, 2010).

Yaptıkları çalışmalarda Hamscher ve arkadaşları (2005) 240 ng/L sülfamethazin; Sarcher ve arkadaşları (2001) 410 ng/L sülfamethazol, Boxall ve arkadaşları (2005) 200 ng/L trimetoprim, Kolpin ve arkadaşları (2002) 120 ng/L norfloksasin; Faber ve arkadaşları (2002) 2 ng/L makrolid, 20 ng/L sülfonamid; Sacher ve arkadaşları (2002) 49 ng/L eritromisin, 26 ng/L roksitromisin, 410 ng/L sülfametoksazol, 17 ng/L sulfadizin, 23 ng/L sulfadimidin 10 ng/L ronidazol; Hirsch ve arkadaşları (1999) 470 ng/L sülfametoksazol, 20 ng/L trimetoprim tespit ettiklerini raporlamışlardır. Krapac ve arkadaşları (2005) yer altı sularında yaptıkları çalışmada 400 ng/L tetrasiklin (TC) tespit etmişlerdir (Karaalp, 2010).

2.7. Sulu Ortamlardan Antibiyotik Giderim Yöntemleri

Biyolojik prosesler, filtrasyon, koagülasyon, çökeltme gibi prosesler konvansiyonel AAT de çok fazla kullanılan yöntemlerdendir. Biyolojik sistemde aktif çamur teknikleri çok fazla kullanılmaktadır. Özellikle endüstriyel arıtmada birçok uygulaması görülebilir. Bu metot aerobik ve anaerobik sistem olarak aktif çamur proseslerinde organik bileşiklerin parçalanmasına dayalıdır. Toksisitesi yüksek olan bu bileşikler bu prosesler ile ortama girişi önlenir. Çünkü mikroorganizmalar için toksik birer bileşiklerdir. Ayrıca bu metodolojiler debisi yüksek olan sulara da uygulanabilir. Filtrasyon katı madde giderim prosesidir. Özellikle askıda katı madde gideriminde etkilidir. Atık suyun granülleri arasında geçmesi esasına göre teşkil edilirler.

Kuagülasyon, flokülasyon ve çökeltme işlemleri ile büyük miktarda katı maddelere kimyasal bir etki yapar. Kirleticiler çökeltir ve kolloid formundakiler giderilir. En çok kullanılan kimyasallar kireç, alum, demir tuzları ve polimerlerdir. Bu teknikler, çıkış sularında giderilen kirleticilerin sıralı bir şekilde arıtımına ihtiyaç duyar. 10 yılı aşkın süredir gerçekleştirilen sistemlerde antibiyotiklerin giderimi test edilmiştir. Biyolojik sistemler mikroorganizmalara karşı kirletici toksisitesi düşük olduğu zaman bu metot uygulamada en iyi yaklaşım olur. Anaerobik proseste tetrasiklin ve makrolit giderimi çalışılmıştır. Bu iki aşamada makrolitin %90 nı giderilirken tetrasiklinin ise %75 giderimi

sağlanmıştır. Yukarı da bahsedilen konularda ki çalışma sürekli olmamıştır (Adams ve diğ., 2002). Göbel, AAT deki birincil ve ikincil arıtmada matrolit, sülfonamid ve trimetrofiril giderimini denemiştir. Bu safada bu kirleticilerin %20 sinin giderilebildiğini göstermiştir (Adams ve diğ., 2002). Çökeltme, kuagülasyon, flokülasyon, sedimentasyon ve filtrasyon gibi birkaç fizikokimyasal giderimi araştırmışlardır. Bunlar makrolit, sülfonamid, quilonoes, quioxaline, trimetrofilm giderimini çalışmışlar ve düşük giderim olduğunu göstermişlerdir (en fazla % 30). Bu metotojilerin düşük verimi yüzünden yeni metotojiler doğmuştur.

2.7.1. İleri Arıtma Prosesleri

Tıbbi ilaçların birçoğu biyolojik ayrışmaya karşı dirençli olup, bu bileşikler geleneksel atıksu arıtma tesislerinde kısmen ya da hiç arıtılmadan alıcı ortamlara verilmektedir. Mevcut atıksu arıtma tesisleri büyük oranda ve tesise düzenli gelen organik maddelerin, azot fosfor gibi nutrientlerin giderimi üzerine projelendirilmiştir. Kullanılan birçok tıbbi ilaç ise atıksu arıtma tesislerinde metabolitleri ve farklı kimyasal yapılarından dolayı farklı oranlarda arıtılmakta veya hiç arıtılamamaktadır. Arıtma tesislerindeki ilaçların giderim oranları üzerindeki çalışmalar çoğunlukla giriş ve çıkış suyu konsantrasyonlarının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Araştırmalar bu kimyasalların çoğunun uygulanan atıksu arıtma tesislerinde tamamıyla giderilmediğini bu nedenle çıkış suyunda bulunduklarını belirtmiştir (Ternes, 1998; Boyd ve diğ., 2003; Gagné ve diğ., 2006). Çıkış suyunda bulunan bu kirleticilerin alıcı ortama deşarjıyla yüzey sularına, içme sularına ve yeraltı sularına bulaştığı belirlenmiştir (Sacher ve diğ., 2001; Heberer, 2002; Kolphin ve diğ., 2002). Sudan kirleticilerin giderimine etki eden en önemli faktör doğal (kil, sediment, mikroorganizmalar) veya ortama eklenen (aktif karbon, koagülant) katı partiküllerin birbirini etkileyerek fizikokimyasal (çökme, flotasyon) veya biyolojik proseslerle (biyodegradasyon) giderimidir. Gelişmiş ülkelerde kullanılan tıbbi kimyasalların arıtılması amacıyla ileri arıtma teknolojileri uygulanmaktadır. Bunlar; ozonizasyon, ultrafiltrasyon, ters osmoz gibi yüksek basınçlı membran sistemleri ve adsorpsiyondur.

2.7.1.1. Ozonizasyon

Ozonizasyon; atıksu arıtma tesisi çıkış sularının arıtımında yeni bir son arıtma teknolojisidir. Ancak yüksek enerji gerektiren bir teknoloji ve pahalı bir yöntem olması

kullanımını sınırlandırmaktadır. Ozonizasyon arıtma tesisinin normal enerji ihtiyacını % 40-50 arttırır (yaklaşık olarak 0.1 kWhm³ kadar). Avantajı, kanserojen kimyasal madde oluşumunun olmayışdır. Aktif çamur arıtma tesisi çıkış sularındaki ilaç kalıntılarının ve diğer polar organiklerin giderilmesi için ozonizasyon gibi diğer arıtma yöntemleri araştırılmaktadır.

Bu teknik, akış hızı ve / veya atık bileşimi, dalgalı olduğunda uygulanma avantajına sahiptir. Ancak, yüksek ekipman ve bakım maliyeti, hem de işlemi sağlamak için gerekli olan enerji, bazı dezavantajları oluşturmaktadır. Kütle transfer sınırlamaları da ozon ile oksitleme işleminde dikkate alınması gereken ilgili bir faktördür. Bu sistemler, organik moleküller üzerine etki etmesi için, sıvı faz, gaz fazından ozon moleküllerinin transferi gerektirmektedir. Buna ek olarak, ozonlama performans organik maddenin mevcudiyetinde, süspanse edilmiş katı maddelerin, karbonat, bikarbonat ve klor iyonlarının ve pH ve sıcaklıktan etkilenir (Andreozzi ve diğ., 1999).

Ozonlamayla β -laktam bozulması incelenmiştir. Burada yüksek giderim verimleri (KOİ giderimleri > % 50) elde edilmesine rağmen, mineralizasyon derecesinin uzun arıtım süreleri için bile ($\approx$ % 20) düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan bir çalışmada, 10 dakikalık ozonlama ile tetrasiklinin parçalandığını, toplam organik karbon değerlerinde ve ortam toksisitesindeki azalma için ise daha uzun süre ozonlamaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Gomez-Pacheco ve diğ., 2011). Tüm yazarlar pH etkisi sürecinde araştırmalarını yapmışlardır. Bu araştırmacıların hepsi kirleticilerin yok olma hızları, kütle transferi oranlarını geliştirmek, serbest radikaller halinde geliştirilmiş ozon ayrışma hızlarının bir sonucu olarak, pH artışı ile birlikte arttığı sonucuna varmışlardır. Bu, ozonlama sürecinde kritik bir noktadır. pH değeri kontrolü iyi değilse, işlem sırasında bir pH azalması nedeniyle karboksilik asitlerin birikmesine neden olur. Bu reaksiyon hızını ve mekanizmasını ve de ozon emilimini etkileyecektir. Aynı çalışma, linkozamidlere gibi diğer antibiyotik sınıfları için gerçekleştirilmiştir (Qiang ve diğ., 2004), makrolidler (Ternes ve diğ., 2003), kinolonlar (Balçioğlu ve Ötke, 2003), sülfonamidler (Ternes ve diğ., 2003; Dantas ve diğ., 2008) ve tetrasiklinler (Li ve diğ., 2008a). Genel olarak, düşük bir toplam organik karbon giderme ve atık sular, biyolojik olarak hafif bir artış ile birlikte, bütün bu sınıflar için çalışılan bozunma % 76 üzerinde meydana geldiği bulunmuştur. Az bozunma, β -laktam antibiyotikler için elde edilmiştir. Arıtım atıklarının ekotoksositeye gelen sonuçları uygun değildir. Bu nedenle, bu genelleştirilmiş ve okside edilecek bileşiğe

bağlı edilemez bir konudur. Arıtım performansını artırmak için, UV ışınlaması, hidrojen peroksit veya ozon katalizörleri ile birleştirmek mümkün olabilir.

2.7.1.2. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, bir fazda bulunan iyon ya da moleküllerin, bir diğer fazın yüzeyinde yoğunlaşması ve konsantre olması işlemi olarak tanımlanmaktadır.

Değişik endüstriyel tesislerin tehlikeli atıklarının arıtımı için, klasik arıtım teknolojilerinin uygulanması yanında, alternatif arıtım teknolojilerinin geliştirilmesi amacıyla çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Endüstriyel tesislerden alıcı ortamlara deşarj edilen kirleticilerin önemli bir bölümünü toksik organik bileşikler oluşturmaktadır. Bu toksik maddelerin alıcı ortamlara verdiği zararların yanında arıtma tesislerinin performansını da olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Kumar ve diğ., 1987).

Adsorpsiyon toksik ve biyolojik parçalanmaya dayanıklı maddelerin gideriminde önemli bir yere sahiptir (Metcalf ve Eddy, 2003). Adsorpsiyon işlemi özellikle biyokimyasal süreçler yardımı ile arıtımı ya hiç gerçekleşmeyen ya da çok zor gerçekleşen kirletici parametrelerin arıtımında alternatif bir işlem olarak değer kazanmaya başlamıştır. Yapılan bir çalışmada, OTC ve TC gideriminde, nano boyutta sıfır değerlikli demir (nZVI) adsorbent olarak kullanılmış ve pH 5-6 aralığında, 60 dk temas sürecinde, % 99 OTC giderimi gözlenirken % 70 dolaylarında TC giderimi gözlenmiştir (Hanay ve Turk, 2015).

2.7.1.3. UV/H₂O₂

UV/H₂O₂ prosesinin 190-200 nm kadar yeterli ışık şiddetinin sağlandığı şartlarda tüm H₂O₂'i 1:2 oranında fotolitik olarak OH* radikaline dönüştürme potansiyeli vardır. Bu proses ozonlamaya kıyasla giderilmesi istenen türlere ve derişime daha az hassas olduğu için tercih edilmektedir. 9.32 kJ/m² UV (orta düzeyde basınçlı lamba), 7.8 mg/L H₂O₂ ve 3.0 x 10⁻⁶-120 x 10⁻⁶ mg/L arası ilaç derişimleri ile bir çalışmada ilaçların büyük çoğunluğu % 90'lar seviyesinde giderilmiştir (Kim ve diğ., 2009). Düşük basınçta çalışan halojen lamba kullanımı 254 nm de H₂O₂'in daha düşük ışın absorplama kapasitesi yüzünden daha düşük verimlere neden olmuştur (Pereira ve diğ., 2007). H₂O₂ derişimlerin aşırı artırılmasının reaksiyonların artmasına katkısının olmadığı da bir çalışmada belirtilmiştir (Ravina ve diğ., 2002).

Gomez-Pacheco ve diğ. (2012) tetrasiklin grubundan olan tetrasiklin, klortetrasiklin ve oksitetrasiklinin UV radyasyonu ile giderim mekanizmasını incelemiştir. Çalışmada

başlangıç konsantrasyonu, çözelti pH'ı, doğal organik maddelerin mevcudiyeti, suyun kimyasal içeriği gibi farklı işletme parametrelerinde tetrasiklinlerin giderimleri araştırılmıştır. Tetrasiklinler için fotodegradasyonda pH'nın önemli bir rol oynadığı ve başlangıç konsantrasyonuna bağlı olmadan pH:10'da yüksek giderim verimlerine ulaşıldığını belirtmişlerdir.

2.7.1.4. Fenton ve UV/Fenton

Fenton oksidasyonu detoksifikasyon ve biyolojik parçalanabilirliği artırılması açısından ilaç fabrikası atık sularının arıtılmasında en etkili yöntem olarak bilinir (Sebastian ve diğ., 2003; Badawy ve diğ., 2009). Fe^{+2} 'nin homojen katalizör olarak rol aldığı asidik koşullarda fenton (Fe^{+2} / H_2O_2) reaktifinden OH^* üretimine dayanır. Fenton prosesinin önemli bir avantajı oksidasyon reaksiyonlarından sonra askıdaki maddelerin koagülasyonunu teşvik eden demir (III) hidroksit komplekslerinin oluşumudur (Kulik ve diğ., 2008). Birincil çöktürmeyi takiben ardışık kesikli reaktör olarak işletilen aktif çamur prosesi çıkış suyuna fentonun uygulandığı tam ölçekli ilaç fabrikası atık suyunda % 98 KOI ve % 98 BOI₅ giderimi sağlanmıştır (Tekin ve diğ., 2006).

UV radyasyonu ile Fenton oksidasyonunun birleşik foto-fenton prosesi ismi ile kullanımı daha fazla OH^* radikali oluşumunu sağlar ve bu yönü ile ışısız fenton prosesinden daha etkilidir. Parabolik kolektör şeklinde solar pilot bir tesis de gerçekleşen foto-fenton prosesi ($30W/m^2$) pH da önemli bir azalma ile DCF ilacının kısmi parçalanması, mineralizasyonu ve çökmesini sağlamıştır (Benitez ve diğ., 2009; Peiraz-Estrada ve diğ., 2005). Artan asidite ile çökmenin artışı ilacın zayıf asidik karakteri ve hidrojenlenmiş formunun çözünürlüğünün düşmesi ile açıklanabilir. DCF'nin mineralize olması reaksiyondan (çözünür ara ürünlerin oluşması) sonra, çözünmüş organik karbon derişimindeki artıştan anlaşılacağı gibi onun çözünürlük dengesi ile ilişkilidir (Peiraz-Estrada ve diğ., 2005). Yapılan diğer bir çalışmada 400 W düşük derişimli Hg lambası (254 nm) ve 16 kJ/mol'lük aktivasyon enerjisi kullanarak ilacın tam olarak parçalanması mümkün olmuştur. Parçalama proseslerinde enerji gerektiren reaksiyonların radikal zincir reaksiyonlarından daha önemli olduğunun da altı çizilmiştir (Ravina ve diğ., 2002).

Oksitleme işlemi etkinliğini artırmanı bir yolu UV radyasyonu ile konjigasyonudur. Doğrudan H ile hidroksil köklerinin üretim $2O_2 / UV$ fotoliz (yavaş reaksiyonu) da mümkündür. Önemli ölçüde arıtım ve genel maliyetinin azaltması yanı sıra güneş radyasyonunun da kullanılması avantajlı bir durumdur. Bu işlemlerin performansı pH,

sıcaklık, katalizör, hidrojen peroksit ve hedef bileşiğin konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. Aslında, pH değeri fenton verimliliği ve foto-fenton işlemlerinde son derece önemli bir değişkendir. pH 3'ün altında ki değerleri için, Fenton reaksiyonu, çözelti içinde hidroksil radikallerinin ciddi azalmasına neden olur. Bu işlemde dar pH aralığı, bir dezavantaj olup, çözünmüş olan katalizörün geri kazanılması için ortak bir zorunluluk teşkil etmektedir. Katalizör heterojen bir matris içinde hareketsiz olduğu için, heterojen sistem, tüm pH aralığı içinde çalışmak için ve muamele edilen atığın ikinci katalizörünün toparlanması için izin verilmesi, bu eksiklikleri giderebilir. Genellikle sıcaklık artışının olumlu etkileri Fenton ve kinetik enerjisinde bir artış meydana gelir ve buna bağlı olarak, reaksiyon hızı da artar. Hidrojen peroksit, fazla kullanılırsa, işlem verimliliğinde azalma da olabilir (Vera Homem ve diğ., 2011).

2.7.1.5. Fotokatalitik Prosesler

Yarı iletken (Ti, Cu, Zn Vd) hollerde oluşturulan ışınların varlığında fotokatalitik reaksiyonlar özellikle su içerisinde bulunan rekalsitrant maddelerin giderimi için son yıllarda araştırılmıştır. Proses kristaller üzerinde aktif oksijen türlerini üretmek için UV radyasyonla yarı iletken metal yüzeyin uyarılması esasına dayanmaktadır.

Yahiat ve diğ. (2011) yaptıkları çalışma neticesinde, iki saatlik bir fotokatalizden sonra biyolojik arıtım için kalıntı organik madde miktarında ve tetrasiklinin toksisitesinde de azalma olduğunu gözlemişlerdir. Fotokataliz ve biyolojik arıtımın birlikte kullanılarak tetrasiklin giderimi üzerine yapılan bu çalışmada, KOİ'deki azalma ile nitrat, amonyum ve organik karboksilik asitin ortamda açığa çıkmasının tetrasiklinin mineralizasyonu için bir gösterge olacağı belirtilmiştir.

Daghrir ve diğ. (2012) tarafından yapılan çalışmada, Ti/TiO₂ nanoyapılı elektrodu kullanılarak klorotetrasiklinin fotoelektrokatalitik parçalanması incelenmiş ve klasik elektrokimyasal oksidasyon, direkt fofoliz ve fotokataliz proseslerine göre yüksek verim elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu amaçla, akım yoğunluğu, UV lamba konumu, temas süresi ve klorotetrasiklin konsantrasyonu göz önünde tutulmuştur. Bu parametrelerden akım yoğunluğunun ve temas süresinin sistem performansını etkileyen ana parametreler olduğu tespit edilmiştir. En yüksek performansın 120 dakikalık temas süresinde 0.5 A akım yoğunluğunda elde edildiğini rapor etmişlerdir.

İlaçların fotokatalitik parçalanması üzerine araştırmaların çoğunluğu TiO_2 ile ilgilidir ve ilaç derişiminin etkisi, yarıiletken dozu, pH ve işletme sıcaklığının etkisi üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır (Calza ve diğ., 2006; Zhang ve diğ., 2008).

2.7.2. Biyolojik Prosesler

Antibiyotik ve benzeri bileşikler içeren atıksuların arıtımında istenilen çıkış suyu standartlarına ulaşmak, ilaç üretim tesislerinde oluşan çok fazla türdeki ilaç içeriğinden dolayı oldukça güçtür. Bu atıksularının biyolojik parçalanmaya dirençlerinden dolayı klasik biyolojik arıtma teknikleri ile arıtılmaları da oldukça zordur. Bu nedenle, tetrasiklin grubunda başlangıç moleküllerini kırmak bu bileşiklerin sulu ortamlardan uzaklaştırılması açısından oldukça önemlidir. Yapılan bir çalışmada, klasik atıksu arıtma tesislerinde yapmış oldukları çalışmada bu bileşiklerin biyolojik olarak etkili bir biçimde giderilemediğini tespit etmişlerdir (Zhang ve Li, 2011). Yapılan çalışmalar neticesinde, sadece aktif çamur gibi klasik biyolojik bir prosesi kullanmanın yeterli olmadığı, biyolojik arıtımın öncesi ve sonrasında ileri oksidasyon proseslerinin kullanılması gerektiği vurgulanmıştır.

Tetrasiklin ve doksisisiklin gibi tetrasiklinler biyolojik olarak parçalanmaya karşı oldukça dirençli bileşikler olduğundan daha ziyade arıtma çamurlarına absorplanırlar. Ayrıca, yüksek konsantrasyonlarda bu bileşiklerin arıtma mekanizmasına katkıda bulunan mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon etkisinin olduğu da bilinmektedir. Örneğin 10 mg/l üzerindeki antibiyotik konsantrasyonları nitrit oksitleyici mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon etkisi açıkça belirlenmiştir (Fountoulakis ve diğ., 2008). Literatür incelemesinde açıkça görülmektedir ki özellikle son iki yıl içerisinde tetrasiklinlerin enzimatik (Wen ve diğ., 2010) ve biyolojik parçalanma (Shi ve diğ., 2011) potansiyelleri üzerinde araştırmalara yeni başlanmıştır.

İleri biyolojik giderim prosesi olan MBR ve MBfR sistemleri bu tür kirleticilerin arıtımına alternatif sağlamaktadır.

2.7.2.1. Membran Biyoreaktörler

MBR'nin önemli bir özelliği; çamurun bekletme süresinin ikincil arıtım yöntemiyle elde edilenin çok daha üzerinde seviyelere çıkarılmasıdır. Bir çok kaynakta membran biyoreaktörlerinin yüksek çamur yaşı ile spesifik bileşiklerin büyük çoğunluğunun gideriminin gerçekleştiği gösterilmektedir (Wettstein, 2004; Göbel ve diğ., 2007). Sucul

evre için membranların önemi kanalizasyondan tehlikeli maddelerin gideriminin geliştirilmesi için potansiyel olarak uygulanan bir sistem olmasdır. Bunun en önemli nedeni katıların tamamen bekletilmesidir. Hidrofobik organik maddeler çamur üzerine birikme eğilimindedir. Bu nedenle bütün bakteriler sistemde tutulur. İstenilen bileşiklerin giderimi bakterilerin adaptasyonu ile mümkündür (Ivashechkin ve diğ., 2004). Atık su arıtımında genellikle mikro ve ultra filtrasyon membranları kullanılır.

3. İLERİ BİYOLOJİK ARITMA PROSESİ MEMBRAN BİYOFİLM REAKTÖRLERİ (MBfR)

Hidrojene dayalı membran biyofilm reaktörü (MBfR), özellikle oksitlenmiş kirleticileri biyolojik olarak indirgeme yeteneğine sahiptir. Elektron verici olarak hidrojenin kullanılması nedeniyle birçok avantajı mevcuttur (Rittmann, 2007). Bu avantajlara kısaca değinirsek;

- H_2 oksitleyici bakteri, bütün okside olmuş kirleticileri indirgeyebildiğinden dolayı genel bir elektron verici olarak kullanılabilir niteliktedir.
- H_2 gazı, karbon kaynağı olarak inorganik karbonu kullanan ototrofik bakteri tarafından oksitlenmektedir. Organik karbona ihtiyaçları yoktur dolayısıyla aşırı bir biyokütle üretimi de söz konusu değildir.
- Çoğu durumda, H_2 gazı kirletici indirgenmesi için elektron eşdeğeri bakımından en düşük maliyete sahiptir.
- H_2 gazı endüstride yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Nakliyat ve depolanması oldukça kolay ve güvenilirdir.
- H_2 'nin insanlara toksik hiçbir etkisi yoktur ve elektron kaynağı olarak kullanılması durumunda atık oluşumu da söz konusu değildir.
- İstendiğinde, elektroliz ile H_2 'e ihtiyaç hissedilen yerde üretilebilir.

MBfR, biyolojik olarak indirgenme için H_2 'nin bütün avantajlarını sağlamaktadır. Membran biyofilm reaktörü geliştirilmeden önce H_2 'nin mikroorganizmalar için elektron verici olarak kullanılması iki nedenden dolayı pratik olmadığı için uygulanmamıştır. Birincisi; H_2 'nin sudaki çözünürlüğünün oldukça düşük olması, ikincisi ise; H_2 'nin kabarcıklı bir şekilde suya verilmesi durumunda düşük çözünürlükten dolayı yüksek miktarda H_2 'nin atmosfere kaçışı ve dolayısıyla oldukça düşük verim elde edilmesidir. MBfR bu iki olumsuzluğu ortadan kaldırmaktadır (Lee ve Rittmann, 2002; Hasar ve diğ., 2008).

MBfR, membranın dış yüzeyinde oluşan biofilme, membranlardan basınçlı gaz verilmesine dayanan, son zamanlarda su ve atıksu arıtımı için gelişmekte olan bir sistemdir. Bir basınçlı substrat gaz kaynağı ve membran dış yüzeyinde oluşan biyofilme dayanmaktadır. MBfR, oksijen kullanıldığında azot ve karbon giderimini, hidrojen

kullanıldığında oksitlenmiş kirleticilerin indirgenmesini kapsayan çok sayıda arıtım için uygunluğunu ortaya koymuştur. Yüksek gaz kullanım verimliliği, düşük enerji tüketimi ve düşük arazi ihtiyacı ile büyük faydalar sağlamaktadır. İlk ticari MBfR sistemleri son zamanlarda piyasaya çıktığı görülmektedir (Martin ve diğ., 2012).

Bazı çözünmüş gazlar, mikrobiyal giderim süreçleri için elektron vericisi veya alıcısı olarak kullanılmaktadır. Örneğin, çözünmüş oksijen, kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ile aktif çamur işleminde amonyum oksitlemek için aerobik mikroorganizmalar tarafından kullanılır; hidrojen, oksitlenmiş kirletici maddelerin ve halojenlenmiş organik kirleticilerde mikrobiyal azalma ve metan organik bileşiklerin geniş bir yelpazede cometabolic oksidasyonunu destekler. Birçok gaz substratların çok yönlülük ve verimlilik sağlamasına rağmen, sulu ortamlarda düşük çözünürlükleri pratik kullanımlarını sınırlar. Aktif çamur sürecinde, sürekli oksijen tüketilmesi sorunu hava kabarcıkları ile çözülür. Ne yazık ki gaz kabarcıkları büyük miktarda enerji gerektirir ve sudan sera gazları (örneğin, metan ve azot oksit gibi) ve uçucu organik bileşiklerin salınmasına yol açar. Ayrıca bu yaklaşım, hidrojen ya da metan gibi pahalı veya yanıcı gazlar için olanaksız olduğunu göstermektedir. Mikroorganizmalara çözünmüş gazlar temini için daha etkili bir yöntem gaz difüzyon membranlarıdır. Membranın dış yüzeyine bağlı bir biyofilm üzere membran duvarı boyunca yayılan gaz, basınçlı hale getirilebilir. Hava ya da oksijen sağlamak için kullanıldığında, bu işlem, genellikle, bir gazlı membran-biyoreaktör (MABR) olarak adlandırılır. Membran destekli biyofilm reaktör (MSBR) (Stricker ve diğ., 2011) ve membran biyofilm reaktör (MBfR) (Rittmann , 2006), daha genel terimlerdir (Martin ve diğ., 2012).

3.1. MBfR İle Yapılmış Çalışmalar

3.1.1. MBfR da Nitrat ve Perklorat Giderimi

Yapılan bir çalışmada, MBfR sistemde nitratın indirgenme kinetiği araştırılmıştır (Lee ve Rittmann, 2002). Çalışma sonunda, nitrat yüzey yükü ile gaz basıncının değişimi, denitrifikasyon sürecini etkilediğini göstermişlerdir. Nitrat yüzey yükünün artması H₂ basıncı için, yüksek nitrat ve nitrit konsantrasyonlarına sebep olurken, H₂ gaz basıncının artması nitrat ve nitritin tam olarak okside olabileceğini göstermiştir. Yapılan diğer bir çalışmada da uygun gaz basıncı ve yüzeysel yükleme ile iyi bir denitrifikasyon sağlanabildiğini gösterilmiştir (Lee ve Rittmann, 2002). Kinetik sonuçlarına bağlı olarak

denitrifikasyonu etkileyen 5 ana faktör belirlenmiştir. İlk olarak, H₂ gaz basıncının artmasıyla elektron alıcısı ve yüklemeler açısından giderim yüzdelерinin arttığı belirlenmiştir. İkinci olarak, elektron alıcısına verilen H₂ basıncına bağlı olarak elektron alıcının yükünün azalması düşük çıkış konsantrasyonuna ve giderim yüzdesinin artışına sebep olduğu görülmüştür. Üçüncü olarak yüksek nitrat yüklemesi ve düşük H₂ gaz basıncında, nitrat gideriminin düşük olması (%10 un altında), nitrit oluşumunu etkilememiştir. H₂ basıncının yüksek olması paralelinde nitrat yüklemesinin düşük olduğu durumlarda (örn. nitrat yükü 0.07mg-N/cm²-d ve H₂ basıncı 2.5 psi den büyük) nitrat giderimi % 99.9' dan daha fazla olmakta ve nitrit oluşumu ise ihmal edilebilir seviyede olduğu belirlenmiştir. H₂ gazı kısıtlanan substrat olarak kullanıldığında nitrit birikimi önemli bir parametre olarak gözükmeştir. Nitrat yüklemesi 0.16 mgN/cm²-d'den fazla, H₂ gaz basıncının ise 5.5 psi olduğu periyotta nitrat giderimi sınırlanmamış ve %90'dan fazla giderim verimi elde edilmiş olup az da olsa (5.5 mgN/cm²-d) nitrit birikimine rastlanılmıştır. Benzer şekilde nitrat yüklemesi 0.16 mgN/cm²-gün'den az ve H₂ gaz basıncı 2.5 psi den düşük olduğu durumda nitrat giderimi sınırlandırılmamış olup nitrit birikimi 1.5mgN/L dolaylarında olduğu görülmüştür. Dördüncü olarak iyi perklorat giderimi, iyi bir toplam azot giderimiyle başarılabilmektedir. Bu duruma tesadüfen 0.5 ppm'in altında nitrat, 0.1 ppm'in altında nitrit ve 2 ppm'in altında perkloratın mevcudiyetine rastlanılmıştır. MBfR'da toplam azot konsantrasyonunun çıkış değeri nin ölçümü, aynı zamanda perklorat ölçümünde pratik bir yöntem olduğu anlaşılmıştır, çünkü toplam azotun ölçülmesi perklorata göre daha kolaydır.

3.1.2. MBfR da Selenat ve Nitrat Giderimi

Hava düzenlemelerinin artmasıyla kurulması zorunluluk haline gelen BGD (baca gazı desülfirizasyonu) sistemleri, kömürle çalışan güç tesislerinde baca gazı desülfirizasyonu sistemi fazla elektrik kullanmaktadır. Islak kireç taşı yıkayıcıları buna bir örnektir (Chu ve diğ., 2006). Bu sistemler yüksek konsantrasyonda nitrit, nitrat ve selenat üretmektedir. Bunların deşarj edilmeden giderilmesi zorunludur. BGD suyun da toplam inorganik azotu (nitrit ve nitrat azotu), selenattan daha fazla bulunmaktadır. Selenat, baca gazı desülfirizasyon suyunun klasik metodlarla giderimi çok zor iken, biyolojik olarak gideriminde nitrat, nitrit ile birlikte elektron alıcısı olarak kullanılabilir (Chung ve diğ., 2006). İndirgenmiş ürün olan N₂ gazı deniz suyundan yayılmakta ve elementer selenyum, kirletilmiş deniz suyundan çözünmeyen katı olarak ayrılabilir. Elektron

vericiler olarak organik asetat veya inorganik H_2 gazı kullanılabilir (Zhang ve diğ., 2008; Oremland ve diğ., 1989; Fujita ve diğ., 2002). H_2 ye dayalı membran biyofilm reaktörleri, kabarcıksız olarak adlandırılan gaz transfer membranları içermektedir. Bu membranlar H_2 gazının mikroorganizmalara direk olarak geçmesini sağlayarak, H_2 gazının indirgenmesini ve nitrat, nitrit, selenatın yükseltgenmesini sağlamaktadır. Daha öncede yapılan çalışmada da nitratın ve perkloratın indirgenmesi gösterilmiştir (Chung ve diğ., 2007; Van Ginkel ve diğ., 2008). Ayrıca nitrat ve selenatın eş zamanlı giderimleri de çalışmalarda mevcuttur (Van Ginkel ve diğ., 2010). Van Ginkel, baca gazı desülfirizasyonu suyunda, H_2 gazının kısıtlı olmaksızın eşzamanlı nitrat ve selenatın indirgenmesini çalışmış ve asid yıkamasından sonra 1. sistem tekrar çalıştırılmış ve BGD suyu 500 ppm nitrat azotu ve 36 ppm Se içermekte ve hidrolik yükleme hızı 0.016 ml/dk olarak belirlenmiştir. 40. günden sonra 1. evrede sırasıyla nitrat ve selenat %98 ve %99'dan fazla giderilmiştir. Sırasıyla nitrat ve selenat, 92 ve 83. günde %98 ve %99 olarak giderilmiştir. Yapılan bu çalışma göstermiştir ki eş zamanlı nitrat, nitrit ve selenat biyolojik olarak giderilebilmiştir. Çıkış Se miktarı 50 ppb nin altına düşmüş, buda Se' in deşarj standartlarının altında olduğunu göstermektedir. Selenat düşük konsantrasyonlara düşmeden, nitrat ve nitrit tam olarak giderilememiştir. Buda selenatın nitrit ve nitrattan sonra indirgeneceği anlamına gelmediğinin göstergesidir.

3.1.3. MBfR da KOİ ve Nitrat Giderimi

Aktif mikroorganizma tabakası olarak bilinen biyofilm, membran gibi geçirgen yüzey üzerine bağlı büyüme olarak tutunup arıtımı gerçekleştirir (Rittmann, 2007). Atıksu arıtımında gaz substratı olarak oksijen kullanılabilir. Elektron alıcı olarak oksijen, organik maddeleri ve amonyumu oksitlemektedir. Ayrıca MBfR sistemlerinde gaz substratı olarak hidrojen de kullanılabilir. Burdada hidrojen elektron verici olarak kullanılmakta ve denitrifikasyonda nitrit ve nitratı azot gazına dönüştürmektedir. Hidrofobik gaz transfer membranları, oksijen ve hidrojenin suya difüze olmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla bunlar kabarcıksız gaz transfer membranı olarak da tanımlanabilir. Bu sistemde gaz düzenli olarak (ne fazla ne de eksik) sisteme verilmektedir.

Hidrojeni inorganik elektron verici olarak kullanıp, içme suyunda bir veya birden fazla oksitlenmiş bileşiği indirgenme çalışmaları en önemli örneklerden biridir (Lee ve diğ., 2000, 2002, 2003; Ergas ve diğ., 2001; Rittmann ve diğ., 2004; Shin ve diğ., 2005a; Rittmann, 2006, 2007). Hidrojen elektron verici olarak kullanıldığından dolayı biyofilm

topluluğu, H₂ oksitleyen ötotroflar olarak baskın olmuşlardır. Bundan da anlaşılıyor ki artık elektron verici olarak organik maddenin kullanılmasına gerek yoktur. Bu avantajlardan dolayı membran biyofilm reaktörleri, sudaki nitrat, perklorat, selenat, kromat, arsenat, trikloreten, trikloretan ve kloroformu gidermek için kullanılmıştır (Nerenberg ve diğ., 2002; Chung ve diğ., 2006, 2007b; Rittmann, 2007; Hasar, 2009; Hasar ve diğ., 2011).

3.1.4. MBfR da Arsenat Giderimi

As (+5) değerlikli arsenat kanserojen olup, dünyanın büyük bir kısmında özellikle yeraltı sularında, önemli problemler oluşturmaktadır. +3 değerli arsenat +5 değerli arsenata oranla çok daha hareketli ve toksiktir. Bu yüzden klasik arıtım sistemlerinde +5 değerlikli arsenatın +3 değerlikli arsenata indirgenmesi yolunda bir hedef planlanmamaktadır. Ayrıca As(+5)'ı As(+3)'e indirmek, arsenatı arıtmak anlamına gelmemektedir. Çünkü +3 değerlikli arsenat Fe ile birlikte çamura adsorplanabilmektedir. Ayrıca arsenik in akut toksisitesi de çok iyi bilinmektedir. Örneğin 70-180 mg arsenatın yutulması halinde insanlar için ölümcül sonuçlar doğurmaktadır (Leonard, 1991). Bazı düşük miktardaki dozları solunumda, kardiyovasküler ve sinir sisteminde düşük akut etkileri gösterildiği bildirilmiştir (Jain ve Ali, 2000). Suda ki arseniğe maruz kalma ciddi dermatolojik etkilere sebep olduğu da çalışmalarda mevcuttur. Diyabet ve siyah ayak hastalıklarına kapı açtığı belirtilmiştir (Lu ve diğ., 1991; Smedley ve diğ., 2002). Epidemolojik çalışmalar, göstermiştir ki; arsenik deride, mesanede, akciğerde, karaciğerde ve böbreklerde kansere yol açtığı bildirilmiştir (Hindmarsh, 2000). Ayrıca arsenik insan vücuduna güçlü bir şekilde absorplanabilmektedir (Hindmarsh ve Mc Curdy, 1986). Arsenik kontaminasyonu genellikle insan faaliyetleri sonucunda oluşmaktadır. Bunlar madencilik atıklarından, arıtma çamurundan, petrol rafineri atıklarından, tarımsal kimyasallardan, uçucu küllerden kaynaklanmaktadır (Grossl ve diğ., 1997). Normal denitrifikasyon şartları altında özel bir aşı kullanılmadan, +5 değerlikli arseniğin +3 değerlikli arseniğe indirgenmesi hızlı bir şekilde gerçekleşmiştir. İndirgenen arseniğin çoğu çözünmüş halde bulunmuştur. Sülfat yüklemesi düzgün bir şekilde azaltıldığında, arseniğin ortalama giderim verimi artmıştır. Kısa süreli denemeler göstermiştir ki besleme suyunda arsenat, nitrat ve sülfat konsantrasyonları arsenik indirgenmesini önemli derecede etkilediği belirtilmiştir. Özellikle sülfat yüklemesinin azaltılmasıyla ya da denitrifikasyonda hidrojen için rekabet azaltılması arseniğin +5 değerlikten +3 değerliğe indirgenme hızını arttırmıştır. Sülfat rekabeti

olmadan +5 değerlikli arsenik indirgenmesi maksimum %68 dolaylarında olduğu belirlenmiştir. Buda gösteriyorki arseniğin indirgenmesinde sülfat, iyi bir rekabetçidir. Böylece sülfat yüklemesi arseniğin indirgenmesinde ve gideriminde önemli bir faktör olduğu anlaşılmaktadır.

3.1.5. MBfR da Krom(+6) Giderimi

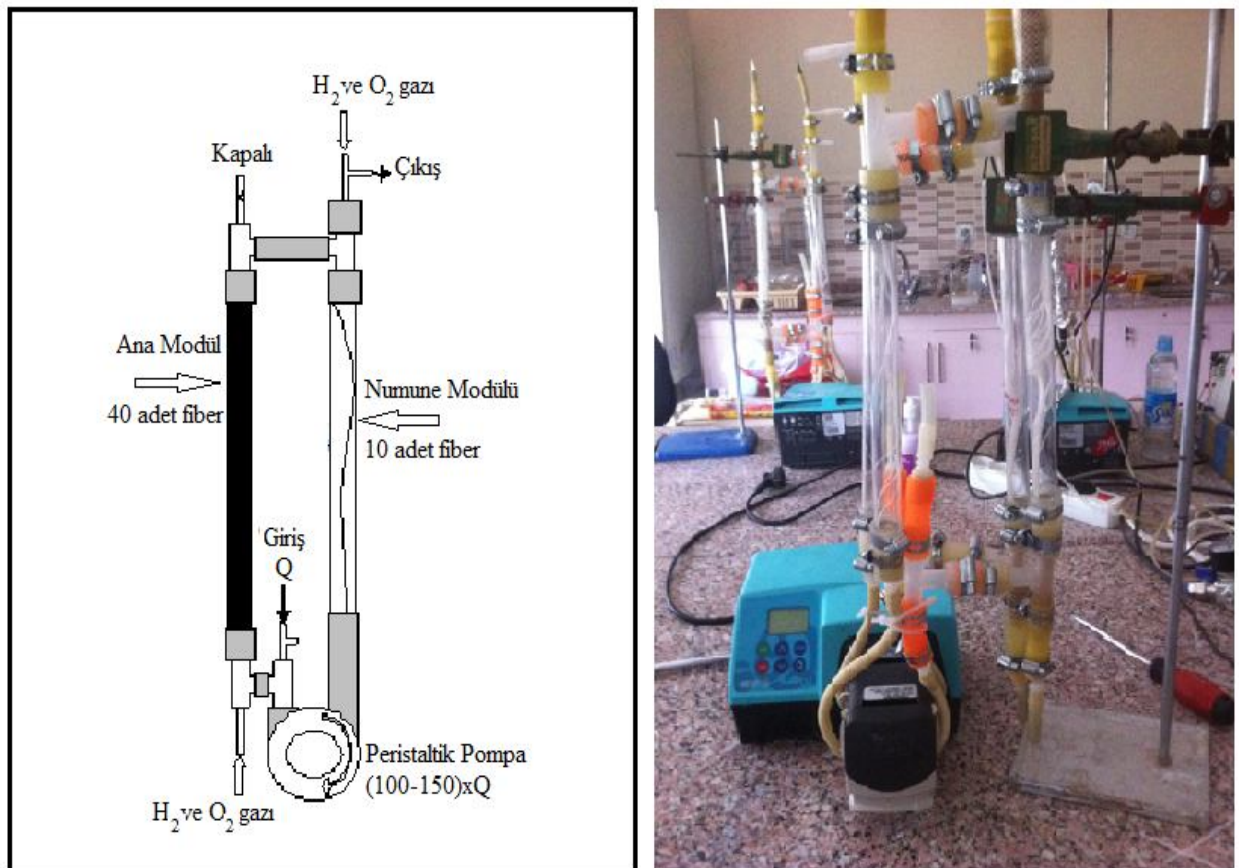
Krom (+6), içme suyunda ve atıksuda mutajen ve kanserojen özellik göstermektedir. Krom (+6) basit ve tehlikeli olmadan, krom (+3)' e biyolojik olarak indirgenmeli ve $\text{Cr}(\text{OH})_3$ olarak çökelmelidir. Kromat yaygın bi şekilde deri tabaklamada, metalürjide, elektrokaplama, petrol rafinerinde, tekstil üretiminde, kâğıt hamuru üretiminde kullanılıp çevreye deşarj edilmektedir (Barnhart, 1997). Krom doğada +6 ve +3 değerlikli olarak bulunmaktadır. Krom (+3), düşük toksisite etkisi olup, nötr pH da çözünmemiş şekilde hidroksit çökeleği oluşturmaya meyillidir (Palmer ve Wittbrodt, 1991). Krom (+6) ise suda çözünür halde olup, dolayısıyla hareketli olarak bulunmaktadır (Dragun, 1988). Yüksek konsantrasyondaki krom (+6), deride, gözde, mukoza zarında, mide ve bağırsakta kuvvetli tahriş etme özelliğine sahiptir. Kromatın konvensiyonel sistemlerle giderimi mümkün olmayıp ancak ileri arıtma prosesleri olan; ters osmoz, iyon değiştirme, membran filtrasyon ve elektrodializ ile giderimi söz konusudur. Ancak bu sistemlerin pahalı olması ve çamurdan arıtmak için tekrar bir arıtma ihtiyacı gerektirmesi bu sistemlerin uygulanışını kısıtlamaktadır (Komori ve diğ., 1990). Bundan dolayı krom(+6)'nın biyolojik olarak indirgemesi uygun görülmemektedir (Lovley ve Coates, 1997). Biyolojik indirgemede ilk olarak krom(+3) oluşmakta ve buda hidroksitlerle birleşerek $\text{Cr}(\text{OH})_3$ çökeleğini oluşturmaktadır. Oluşan çökelek basit filtrasyon üniteleriyle giderilebilmektedir. Organik karbon olarak hayvan samanı ve türevleri kullanıldığında, sülfitin yokluğu durumunda krom(+6) nitrat indirgeyici bakteriler tarafından direk indirgenebilmektedir (Vainshtein ve diğ., 2003). Melas ve nitrat ilavesi, pH, sıcaklık ve diğer elektron alıcılar gibi çevresel şartlar sağlandığında, anaeorobik şartlar kromat indirgenmesini teşvik etmektedir. Bakteriler krom(+6) indirgemede elektron verici olarak H_2 gazını da kullanabilmektedir (Marsh ve McInerney, 2001). H_2 ye dayalı membran biyofilm reaktörleri (MBfR) kromun indirgenmesinde ideal bir ototrofik biyolojik reaktördür (Lee ve Rittmann, 2000, 2002, 2003). H_2 insanlar için zararsız, organik elektron vericilere göre daha ucuz ve hiç kalıntısı olmayan, dolayısıyla bakteriyel büyümeyi teşvik eden, ilave oksijen ihtiyacına gerek duyulmayan ve MBfR da %100' e yakın kullanılan bir bileşiktir (Lee ve Rittmann, 2002).

+6 değerlikli kromun +3 değerlikli kroma indirgenmesi, çevresel bir aşı ile MBfR da denitrifikasyon şartları altında hızlı bir şekilde gerçekleşebildiği çalışmalarda mevcuttur. H₂ gaz basıncı veya yük arttırıldığında +6 değerlikli kromun indirgemesinin arttığı da yine çalışmalarda mevcuttur. Kısa süreli denemeler girişteki kromat yükünün, H₂ gaz basıncının ve nitrat konsantrasyonunun, krom indirgemedede önemli etkisi olduğunu bildirilmiştir. Özellikle H₂ gaz basıncı ve H₂ paydaşları arasındaki rekabet, indirgeme mekanizmasını etkilediği bildirilmiştir. Krom indirgenmesinde, etkin pH nötür civarlarındadır. +6 değerlikli krom, sülfat indirgenmesini inhibe etmektedir. Çökelme testleri, pH ayarıyla kromun +3 değerlikli hidroksit bileşiği olarak ökeltilebileceği gösterilmiş olup, bu çökeleklerin filtrasyon ile giderilebildiği de çalışmalarda mevcuttur. Bu alışmalar MBfR sistemlerinin, su ve atıksuda, krom gidermede öncü bir proses olduğunu göstermiştir.

4. MATERYAL VE METOT

4.1. Membran Biyofilm Reaktörler (MBfR)

Çalışmada biri hidrojene dayalı diğeri oksijene dayalı membran biyofilm reaktör olmak üzere toplam 2 adet laboratuvar ölçekli membran biyofilm reaktör (MBfR) kurulmuştur. Kurulmuş olan membran biyofilm reaktör Şekil 4.1’de görülmektedir. Her bir membran biyofilm reaktörü, birbirine sirkülasyon pompası ile bağlı 2 adet kolondan oluşmaktadır. MBfR’ın ana membran kolonu cam tüp içerisinde 40 adet hidrofobik hollow-fiber gaz transfer membranını içermektedir. Diğer kolon ise biyofilm numuneleri almak için kullanılan 10 adet hidrofobik gaz transfer membranını içermektedir. Membran biyofilm ana modülünün fiziksel özellikleri Tablo 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Membran biyofilm reaktör (MBfR) düzeneği

Tablo 4.1. Membran biyofilm reaktör modülünün fiziksel özellikleri

Özellik	Değeri
Tüp uzunluğu, cm	22
Tüp çapı, mm	17
Fiber dış çapı, μm	605
1. Kolon Fiber sayısı, adet	40
2. Kolon Fiber sayısı, adet	10
Fiber aktif uzunluğu, cm	28
Tek fiber yüzey alanı, cm^2	5,0
Toplam fiber yüzey alanı, cm^2	250
Geri devir hızı	150.Q
Hacim, ml	150

4.2. Membran Biyofilm Reaktörlerin İşletime Alınması

H₂ MBfR reaktörü 2 psi basınç ve diğer MBfR reaktörü de 2 psi O₂ basıncı altında 10 saatlik bekletme süresinde ve 150(Q) oranındaki sirkülasyon hızında çalıştırılmaya başlanmıştır. Bir haftalık ölü şartlarda çalıştırma ile gaz şartlandırması sağlandıktan sonra, H₂-MBfR çöktürülmüş anaerobik çamurun üst sıvısıyla ve O₂-MBfR reaktörü evsel atıksu arıtma tesisinden alınan çöktürülmüş aktif çamurun üst sıvısıyla aşılanmıştır. Elektron alıcı olarak H₂'ni ve elektron alıcı olarak O₂'ni kullanan biyofilm, hidrofobik membran üzerinde gelişmeye başladıktan sonra reaktörlere tetrasiklin beslemesi yapılmıştır. Olası fotokatalitik parçalanmaları önlemek amacıyla yani ışık etkisini önlemek için reaktörler alüminyum folyo ile kaplanmıştır.

4.3. İşletim Şartları

Kurulan reaktörler farklı O₂ ve H₂ gaz basınçları altında, farklı hidrolik bekletme sürelerinde (HRT) ve besleme debisinin 100-150 katı hızında geri devir ile işletilmiştir. Giriş debisinin 100-150 kat hızında ana ve numune modülü arasında yapılan sirkülasyon her iki modül işletim şartlarının tek reaktörü yansıtmaları için yapılmıştır. Geri devir Watson Marlow 323S marka peristaltik pompalarla sağlanmıştır. İlk 90 gün aklimasyon çalışmaları yürütülmüştür. İlk 30 gün hidrolik bekletme süresi 10 st ve H₂ gaz basıncı ise 2 psi'de tutulmuştur. Daha sonra HRT 24 st'e çıkarılarak aklimasyon çalışmalarına devam

edilmiştir. 90'ıncı günde 2 psi gaz basıncı altında HRT değeri 18 st'e düşürülerek çalışmalara devam edilmiştir. Bu süreçte de klortetrasiklin (CTC) konsantrasyonları 0.4-0.5 mg/L aralığında tutulmuştur.

4.4. Sentetik Besleme Suyu

H₂-MBfR reaktörleri nitrat+CTC içerikli sentetik su ile, O₂-MBfR reaktörü ise amonyum+CTC içerikli sentetik su ile beslenmiştir. CTC stok çözeltisi, Sigma marka %75 saflıkta chlortetracycline hydrochloride kimyasalı kullanılarak distile su ile hazırlanmıştır. Besleme suları Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'te gösterilen makro ve eser çözeltiler hazırlandıktan sonra 1 litrelik amber cam şişelerden Watson Marlow 205S marka peristaltik pompa ile reaktörlere beslenmiştir. CTC istenen konsantrasyonda günlük hazırlanıp diğer bir peristaltik pompa vasıtasıyla reaktör girişinde beslemeyle karıştırıldıktan sonra reaktörlere verilmiştir.

Tablo 4.2. Sentetik besleme suyu içeriği

H ₂ -MBfR reaktörü		O ₂ -MBfR reaktörü	
Kimyasal	Miktarı	Kimyasal	Miktarı
NaNO ₃ , g/L	0.122	(NH ₄) ₂ SO ₄ , g/L	0.095
KH ₂ PO ₄ , g/L	0.128	NaHCO ₃ , g/L	0.25
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O, g/L	1.1	KH ₂ PO ₄ , g/L	0.68
MgSO ₄ .7H ₂ O, g/L	0.2	MgSO ₄ .7H ₂ O, g/L	0.05
CaCl ₂ .2H ₂ O, g/L	0.001	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O, g/L	1.79
NaHCO ₃ , g/L	0.125	CH ₃ COO.3H ₂ O, g/L	0.024
FeSO ₄ .7H ₂ O, g/L	0.001	CTC, mg/L	0.1-0.4
CTC, mg/L	0.4-0.5	Eser mineral çözelti, ml	1
Eser mineral çözelti, ml	1		

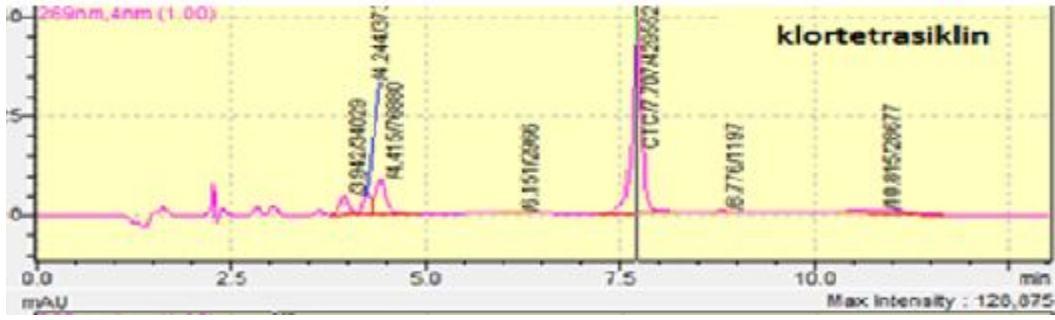
Tablo 4.3. Eser mineral çözelti bileşimi

Kimyasal	Miktar
ZnSO ₄ .7H ₂ O, µg/L	100
MnCl ₂ .4H ₂ O, µg/L	30
H ₃ BO ₃ , µg/L	300
CoCl ₂ .6H ₂ O, µg/L	200
CuCl ₂ .2H ₂ O, µg/L	10
NiCl ₂ .6H ₂ O, µg/L	10
Na ₂ SeO ₃ , µg/L	30

4.5. Analitik Metotlar

Membran biyofilm reaktörün performansını belirlemek için reaktörlerin girişinden anlık ve çıkışından ise iki saatlik kompozit numuneler alınmak suretiyle numunelerde; pH, amonyum azotu (NH₄-N), nitrit azotu (NO₂-N), nitrat azotu (NO₃-N), ve CTC ve CTC parçalanma ürünlerinin analizleri yapılmıştır. pH değerleri Thermo Scientific marka pH metre ile, NH₄-N, NO₂-N ve NO₃-N konsantrasyonları sırasıyla ölçüm aralığı 2-150 mg/L NH₄-N, 0.002-1 mg/L NO₂-N ve 0.1-25 mg/L NO₃-N olan Merck test kitleri kullanılarak Merck Spectroquant Nova 60 cihazı ile tayin edilmiştir. CTC analizleri Shimadzu marka yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) ile yapılmıştır (Şekil 4.2). Analizde mobil faz olarak pH'sı 2.45-2.55 aralığına ayarlanmış 20 mM (NH₄)H₂PO₄ ile HPLC saflığındaki asetonitril karışımı kullanılmış olup analize ait bazı şartlar aşağıda verilmiştir.

Akış hızı	: 1.2 mL/dk
Max. Basınç limiti	: 20 mPa
Dedeksiyon	: 269 nm
mFA	: 20 mM (NH ₄)H ₂ PO ₄ (pH: 2.45-2.55)
mFB	: HPLC saflığında asetonitril
Kolon	: RESTEK ALLURE Biph 150x4,6 mm
Kolon sıcaklığı	: 25°C
Analiz süresi	: 13 dk



Şekil 4.2. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve CTC kromotogramları

CTC ara ürünlerinin analizi ise bölümümüz laboratuvarında bulunan API 3200 Q TRAP marka LC-MS/MS cihazı (Şekil 4.3) kullanılarak tayin edilmiştir. Analize ilişkin bazı bilgiler aşağıda verilmiştir;

- Mobil faz A:** Su+ % 0,1 formik asit
- Mobil faz B:** Metanol+ % 0,1 formik asit
- Akış hızı:** 0,3 mL/dk
- Enjeksiyon süresi:** 15 dk
- Enjeksiyon hacmi:** 100 µL
- Kolon sıcaklığı:** 40°C,
- Kolon Tipi:** Venusil XBP C18, (3µm, 100Å, 2,1x50mm)



Şekil 4.3. CTC ve parçalanma ürünleri analizinde kullanılan LC-MS/MS cihazı

Biyofilmde tutunmuş olan moleküllerin tayini için katı faz ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Metotta katı faz ekstraksiyon kartuşları kullanılarak biyofilm üzerindeki CTC ve parçalanma ürünleri ekstrakte edildi ve ekstraksiyon çözeltilerinde bu moleküllerin analizi LCMSMS cihazıyla yapıldı.

4.6. Moleküler Çalışmalar

Reaktörlerin işletilmesi esnasında farklı işletme şartlarında MBfR reaktörlerinin numune alma modülünden 1 cm kesilerek muhafaza edilmiştir. Alınan numunelerdeki etkin mikrobiyal popülasyonu tespit etmek amacıyla sırasıyla DNA ekstraksiyon, polimeraz zincir reaksiyonu ve denature gradyan jel elektroforezi (DGGE) teknikleri uygulanmıştır.

4.6.1. DNA Ekstraksiyonu

Alınan örneklerin DNA ekstraksiyonu için UltraClean Soil DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi aşağıda detaylıca anlatılan protokole göre gerçekleştirilmiştir (Taskan, 2013);

1. DNA ekstraksiyon tüpü yavaşça vortekste karıştırılmıştır.
2. C1 çözeltisi kontrol edilmiş ve C1 çökelmiş ise kullanmadan önce 60 °C'ye kadar ısıtılmıştır.

3. 60 µL C1 çözeltisi DNA ekstraksiyon tüpüne ilave edilmiş ve birkaç kez ters düz edilip yavaşça vortekste karıştırılmıştır.
4. Vorteks için kullanılan Mo Bio vorteks adaptör tüp tutucunun yatay olarak kullanılmış DNA ekstraksiyon tüpü 10 dakika maksimum hızda vortekste karıştırılmış ve daha sonra oda sıcaklığında 30 saniye 10000 rpm'de santrifüjlenmiştir.
5. Tüp içerisindeki üst sıvı 400-500 µL olacak şekilde temiz bir tüpe aktarılmıştır.
6. 250 µL C2 çözeltisi tüplere ilave edilmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler 4 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir.
7. Tüpler oda sıcaklığında 10000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
8. Tüp içerisindeki üst sıvı 600 µL'yi aşmayacak şekilde alınarak 2 ml'lik temiz tüpe aktarılmıştır.
9. C3 çözeltisinden 200 µL alınarak bir tüpe ilave edilmiş ve kısa süre vortekslenmiştir.
10. Tüpler oda sıcaklığında 10000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir.
11. Tüp içerisindeki üst sıvı 750 µL'yi aşmayacak şekilde 2 ml'lik temiz tüpe aktarılmıştır.
12. C4 çözeltisi kullanılmadan önce karıştırılmış, 1200 µL C4 çözeltisi tüpe ilave edilmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir.
13. Tüp içerisinde 675 µL alınarak spin filtreye ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 dakika 10000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Spin filtreden geçen kısım uzaklaştırılarak işlem tekrarlanmıştır. Her örnek için yükleme yapılmıştır.
14. C5 çözeltisinden 500 µL spin filtreye ilave edilerek ve oda sıcaklığında 10000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve geçen kısım uzaklaştırılmıştır.
15. Spin filtre oda sıcaklığında 10000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
16. Spin filtre 2 ml'lik temiz bir tüpe yerleştirilmiştir. Bu esnada spin filtre üzerindeki C5 çözeltisinin sıçramasından kaçınılmalıdır.
17. C6 çözeltisinden 100 µL spin filtredeki beyaz membranın merkezine ilave edilmiştir.
18. Spin filtre oda sıcaklığında 10000 rpm'de 30 saniye santrifüjlenmiştir.
19. Spin filtre uzaklaştırılmış ve tüp içerisindeki DNA numunesi PCR işlemi için -20 °C'de saklanmıştır.

4.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

DNA ekstraksiyonu tamamlanan numuneler için PCR uygulaması yapılarak 16S rRNA bölgesi çoğaltılmıştır. Hedef genin çoğaltılması amacıyla TECHNE /TC-512 marka PCR cihazı kullanılmıştır (Şekil 4.4). PCR reaksiyonu Tablo 4.4’de gösterildiği miktarda PCR bileşenleri ilave edilerek toplamda 25 µL olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan primerlerin dizilimi Tablo 4.5’de verilmiştir. PCR işlemi Tablo 4.6’da gösterilen basamaklar uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Taskan, 2013).



Şekil 4.4. PCR işleminde kullanılan TECHNE /TC-512 marka cihazın görünümü

Tablo 4.4. PCR analizi için kullanılan malzemeler ve karışım oranları

Kimyasal Adı	Konsantrasyon	Miktar (µL)
Taq Buffer	10X	2.5
MgCl ₂	25 mM	0.5
dNTP	10 mM	0.5
Forward Primer	10 mM	0.5
Reverse Primer	10 mM	0.5
Taq polimeraz	—	0.125
DNA	—	1
Nükleaz free su	—	19.375
Toplam	—	25

Tablo 4.5. PCR çalışmasında kullanılan primerlerin baz dizilimleri

Primer	Baz Dizilimi
Forward	(5'-CGCCCGCCGCGCCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACG
Reverse	(5'-CCGTCAATTCMTTTGAGTTT -3')

Tablo 4.6. PCR analizinin işlem basamakları

İşlem Basamağı	Sıcaklık °C	Süre
İlk Denaturasyon	95	5 dk
Denaturasyon	95	30 sn
Tutunma	50	1 dk
Uzama	72	2 dk

4.6.3. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR işlemi tamamlandıktan sonra işlemin başarısını görmek amacıyla elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde koşturulmuştur (Şekil 4.5). Bu işlem için 10X konsantre TBE (Fermentas marka) tamponu kullanılmıştır. Mikrodalga fırında kaynatılarak agarozun TBE içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra 5 µL etidyum bromür ilave edilerek jel tepsisine dökülmüştür. 5 µL PCR ürünü ve 2 µL yükleme boyası ile karıştırılarak kuyulara yükleme yapılmıştır. PCR ürünleri 90 V'da 20 dakika yürütülmüştür. Yürütme işleminden sonra jel görüntüleme cihazı (Vilber Lourmat) ile hedeflenen genin çoğaltılıp çoğaltılmadığı belirlenmiştir. Çoğaltıldığı tespit edilen PCR ürünleri denature gradyent jel elektroforezinde kullanılmıştır (Taskan, 2013).



Şekil 4.5. Thermo marka agaroz jel elektroforezinde DNA kontrolü

4.6.4. Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE)

PCR işlemi ile karışık kültür içerisindeki saf DNA'ların hedef bölgeleri çoğaltıldıktan sonra DGGE işlemine tabi tutularak saf DNA'ların elde edilmesi sağlanmıştır. DGGE işlemi INGENY Phoru JL031 cihazı ile yapılmıştır (Şekil 4.6). Denatürant konsantrasyonu %40-%60 olacak şekilde jel gradyanı oluşturulmuştur. DGGE rezervuarı 1XTAE ile doldurulmuş ve DNA örnekleri 600C ve 85 V'da 16 saat süreyle yürütülmüştür. 16 saat süre sonunda jel 30 dk 1X sybr gold (İnvitrogen marka) boyası içerisinde bekletilmiştir. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra jel UV görüntüleme sistemine alınarak görüntüsü alınmıştır. Daha sonra karanlık odada UV ışığı altında her bir DNA bant steril bistüriler yardımıyla kesilerek PCR tüplerine alınmıştır. Her bir örnek üzerine 20 µl nükleaz içermeyen su ilave edilmiştir. Saf DNA örnekleri GC klampsiz primerler kullanılarak aynı PCR protokolü ile çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri DNA sekans analizine gönderilmiştir (Taskan, 2013).



Şekil 4.6. DGGE cihazının genel görünümü

4.7. Akı Hesapları

Hesaplanan her bir kirletici akısı, bize hedef kirleticinin biyofilm tarafından ne kadarının giderildiği hakkında sayısal bilgiler vermektedir.

$$J_s = Q \cdot (C_o - C) / A$$

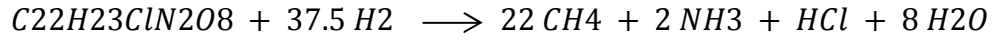
Burada; J_s kirletici akısı ($\text{mg}/\text{m}^2 \cdot \text{gün}$), Q akış hızı ($\text{ml}/\text{gün}$), C_o başlangıç kirletici konsantrasyonu (mg/l), C çıkış kirletici konsantrasyonunu (mg/l) ve A membran yüzey alanını (m^2) göstermektedir.

Yüzeysel yük hesaplarında ise şu formülden yararlanılmıştır;

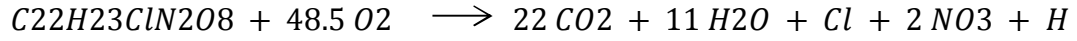
$$S_o = Q \cdot C_o / A$$

Burada; S_o yüzeysel yük ($\text{mg}/\text{m}^2 \cdot \text{gün}$), Q akış hızı (ml/st), C_o başlangıç kirletici konsantrasyonu (mg/l), A membran yüzey alanını (m^2) göstermektedir.

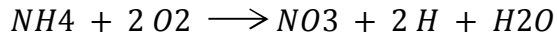
Ayrıca, herbir kirleticinin H₂ ve O₂ eşdeğer akılarına, aşağıda ki reaksiyonlar gereği hesaplanmıştır;



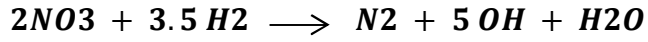
$$J_{H_2} = 0.178 J_{CTC}$$



$$J_{O_2} = 1.86 J_{CTC}$$



$$J_{O_2-NH_4} = 4.57 J_{NH_4}$$



$$J_{H_2-NO_3} = 0.357 J_{NO_3}$$

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Hidrojene Dayalı Membran Biyofilm Reaktör Sonuçları

5.1.1. Birincil Elektron Alıcı Nitrat ($\text{NO}_3\text{-N}$) Giderimi

CTC beslemeli H_2 'ne dayalı MBfR reaktöründe giriş nitrat konsantrasyonu çalışma boyunca yaklaşık olarak 20-25 mg/L seviyesinde tutulmuştur. H_2 -MBfR reaktörü çalışmanın ilk 30 günlük periyodunda 2 psi H_2 basıncı ve 10 saatlik hidrolik bekletme süresinde işletilmiştir. Bu işletim periyodunda denitrifikasyon süreci gözlenmeye başlanmış ve denitrifikasyon bakterilerinin büyümesini hızlandırmak için hidrolik bekletme süresi 24 saat'e kadar yükseltilmiştir.

İşletim süresinin 60. gününden sonra çıkış nitrat ve nitrit konsantrasyonları göz önünde tutulduğunda denitrifikasyon verimi genellikle % 98'in üzerinde gerçekleşmiştir. CTC beslemeli H_2 -MBfR reaktöründe nitrit birikmesi gözlenmemiş olup çıkış suyu nitrit konsantrasyonu genellikle 0.01 mg/L'nin altında ölçülmüştür. H_2 -MBfR reaktörü 30-90 gün aralığındaki periyotta hidrojen basıncı 2 psi ve HRT 24 saat tutularak kararlı bir biyofilm oluşumu sağlanmıştır. 90-125 gün aralığındaki periyotta hidrojen basıncı 2 psi basıncında sabit tutularak HRT değeri 18 saat'e düşürülmüş ve denitrifikasyon veriminde herhangi bir bozulma gözlenmemiştir. Şekil 5.1'de de görüldüğü gibi işletim süresinin 56 ve 92. günlerinde yapılan ölçümlerde nitrat konsantrasyonları çıkış suyunda biraz yükselmiş olsa da çalışma sürecinde yapılan diğer ölçümlerde başka hissedilebilir bir bozulma gözlenmediğinden bu durum dikkate alınmamıştır. Bu nedenle, çalışmanın 30. gününden sonra CTC ile beslenen H_2 -MBfR reaktöründe kararlı bir denitrifikasyon süreci gözlemlendiği söylenebilir.

Reaktör işletiminin 176. gününde H_2 gaz basıncı 2 psi'de tutularak HRT değeri 15 st'e düşürülmüştür. 50 gün (176-225 gün) süren bu işletim sürecinde denitrifikasyon verimi genellikle % 97 ve üzerinde gerçekleşmiştir. Daha sonra çalışmanın 226. gününde H_2 gaz basıncı, 4 psi'ye yükseltilmiştir. Bu süreç 25 gün (226-251 günler arası) devam etmiştir. Bu işletim periyodunda denitrifikasyon giderim verimi 100'e yakın gerçekleşmiştir. Ayrıca, CTC gideriminin de bir önceki şartlarda gözlenen % 98 gibi yüksek giderim verimleri bu şartta da gözlenmiştir. Çalışmanın 252. gününde benzer şekilde HRT 15 st'e tutularak H_2

gaz basıncı 6 psi'ye kadar yükseltilmiş ve yaklaşık 30 gün boyunca aynı şartlarda işletilmiştir. Bu periyotta denitrifikasyon sürecinin değişmediği ve denitrifikasyon veriminin % 100'e yakın değerlerde devam ettiği gözlenmiştir. Bu sonuçlardan denitrifikasyon için veya birincil elektron alıcı olan nitratın indirgenmesi için HRT 15 st'te ve 0.4-0.5 mg/L CTC beslemesinde 4 psi'lik H₂ basıncının yeterli olduğu belirlenmiştir. H₂ gaz basıncının 6 psi değerine yükseltilmesiyle ikinci elektron alıcı olan CTC'nin indirgenmesinin de çok değişmediği gözlenmiştir. Ayrıca Şekil 5.1'de gösterildiği gibi CTC giderimi detaylıca verilmiştir. 15 st'lik HRT'de farklı gaz basınçları altında reaktör işletimi yaklaşık olarak 110 günde sonuçlandırılmıştır. Çalışmanın 286. gününde gaz basıncı sabit tutularak (6 psi) H₂-MBfR reaktörünün HRT değeri 10 st'e düşürülmüş ve CTC beslemeli reaktör bu işletim şartlarında işletilmeye devam ettirilmiştir. Bu periyotta, HRT değeri düşürülerek nitrat yüklemesi 1.5 kat artırılmasına rağmen denitrifikasyon verimi benzer şekilde % 99'un üzerinde gerçekleşmiştir. Aynı şartlar 15 gün daha devam ettirildikten sonra (315. gün) H₂ gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüştür. Çalışmanın 318. gününde HRT sabit tutularak (10 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve 26 gün bu şartta reaktörler işletilmiştir. Bu periyotta denitrifikasyon sürecinin pek değişmediği ve denitrifikasyon veriminin % 97 ve üzerinde devam ettiği gözlenmiştir. Gaz basıncının 4 psi ye düşürülmesi ikinci elektron alıcı CTC giderimini pek fazla etkilememiştir. 344. günde HRT sabit tutularak (10 st) gaz basıncı 2 psi ye düşürülmüş ve yaklaşık 24 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu şartta da denitrifikasyon veriminde pek fazla değişim olamış ve yine % 97 dolaylarında bir giderim verimi gözlenmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılabileceği gibi denitrifikasyon için veya birinci elektron alıcı nitratın indirgenmesi için HRT 10 saatte ve 0.4 – 0.5 mg/l CTC beslemesinde 2 psi'lik gaz basıncının yeterli olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın 369. gününde gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve HRT 7.5 st'e düşürülmüştür. Bu periyotta HRT değeri düşürülerek nitrat yüklemesinin artmasına rağmen denitrifikasyon veriminin pek fazla değişmediği ve %95 dolaylarında gerçekleştiği gözlenmiştir. Yaklaşık 25 gün işletimden sonra çalışmanın 394. gününde HRT sabit tutularak (7.5 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüştür. Gaz basıncının düşürülmesiyle denitrifikasyon verimi göz ardı edilmeyecek kadar arttığı ve % 98 ler dolaylarında gerçekleştiği gözlenmiştir. 412. çalışma gününde tüm reaktörlerde biyofilm yoğunluğu tespit edilmiş ve sirkülasyon hızı artırılarak biyofilm yoğunluğu temizlenmiştir. Temizleme işleminden sonra reaktörler kısa süreli (5 gün) 24 st HRT ve 6 psi gaz basıncında işletilmiş ve 418. işletim gününde HRT 7.5 st ve gaz basıncı 2 psi'ye

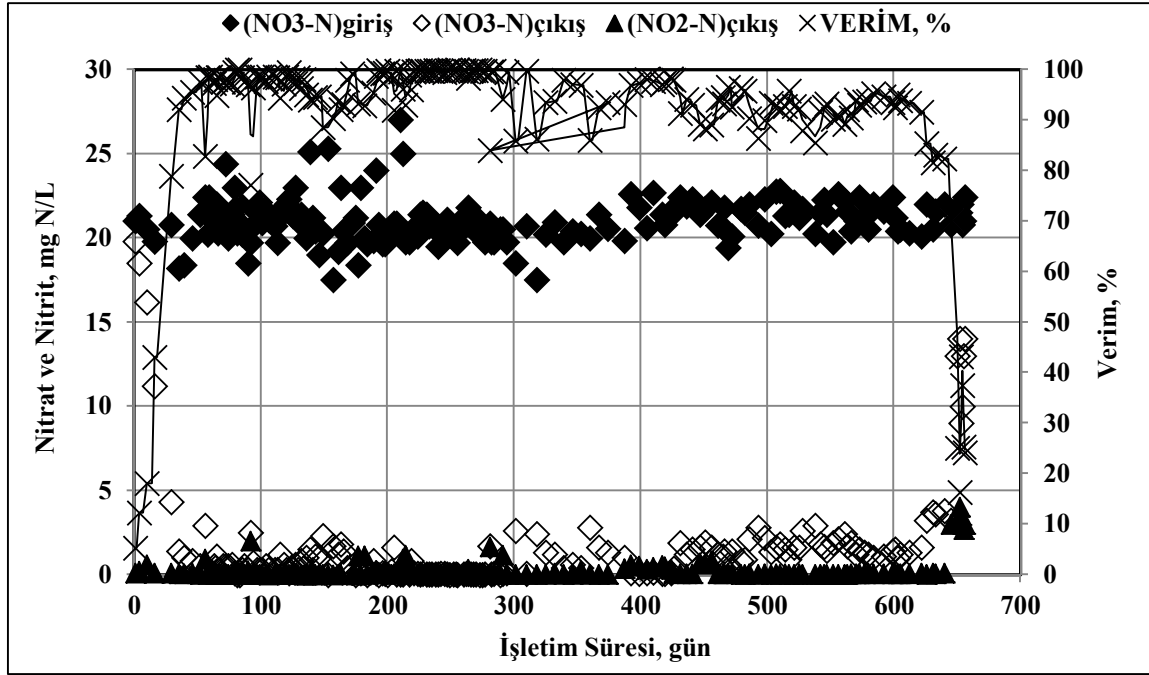
düşürülerek bu şart denenmiştir. Bu periyotta da denitrifikasyon veriminde pek fazla değişim olmamış olup % 95 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. 440. işletim gününde biyofilm temizleme işleminden dolayı HRT 7.5 st ve gaz basıncı 4 psi 14 gün (440-458 gün) ve 6 psi 21 gün (458-479 gün) tekrar denenmiş ve denitrifikasyon veriminde herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Çalışmanın 480. gününde HRT sabit tutularak (5 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 20 gün bu şartta reaktör işletilmiştir. Bu periyotta denitrifikasyon sürecinde hissedilebilir düşüş gözlenmiş ve denitrifikasyon veriminin yaklaşık % 90-92 dolaylarında devam ettiği belirlenmiştir. Sabit HRT de gaz basıncının 4 psi'ye düşürülmesi ikincil elektron alıcısı CTC giderimini pek fazla etkilememiştir. İşletim süresinin 510. gününde, HRT sabit tutularak (5 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 32 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu periyotta da denitrifikasyon veriminde pek fazla değişimin olmadığı gözlenmiş ve yine % 90-92 dolaylarında bir giderim veriminin olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılabileceği üzere düşük hidrolik alıkonma sürelerinde (HRT 5 st), denitrifikasyon verimi veya birinci elektron alıcı nitratın indirgenmesi için ve 0.4 – 0.5 mg/l CTC beslemesinde 6 psi'lik gaz basıncının etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın 542. gününde gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve HRT 2.5 st'e düşürülmüştür. Bu periyotta HRT değeri düşürülerek nitrat yüklemesinin artmasına rağmen denitrifikasyon veriminin pek fazla değişmediği ve % 92 dolaylarında gerçekleştiği gözlenmiştir. Yaklaşık 18 gün işletimden sonra çalışmanın 560. gününde HRT sabit tutularak (2.5 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüştür. Gaz basıncının düşürülmesiyle denitrifikasyon veriminin yine pek fazla değişmediği ve % 90-93 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışmanın 576. gününde HRT sabit tutularak (2.5 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 15 gün de bu şartta çalışmaya devam edilmiştir. Bu şartta da denitrifikasyon veriminde pek fazla değişim gözlenmemiş olup ortalama % 92 dolaylarında bir giderim veriminin gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu işletim süreci sonuçlarından da anlaşılabileceği üzere 2.5 st'lik hidrolik alıkonma süresinde 2 psi'lik gaz basıncının nitrat indirgenmesinde yeterli olacaktır. İşletim süresinin 592. gününde nitrat indirgenmesi eş zamanlı giderilen CTC verimi ile kıyaslanarak HRT 1 st'e düşürülmüş ve gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilerek çalışmaya devam edilmiştir. Yaklaşık 17 gün çalışılan bu şartta, denitrifikasyon veriminin % 93 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışmanın 610. gününde HRT sabit tutularak (1 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve 22 gün bu şartta çalışılmıştır. Gaz basıncının düşürülmesiyle nitrat indirgenmesi veriminde de önemli

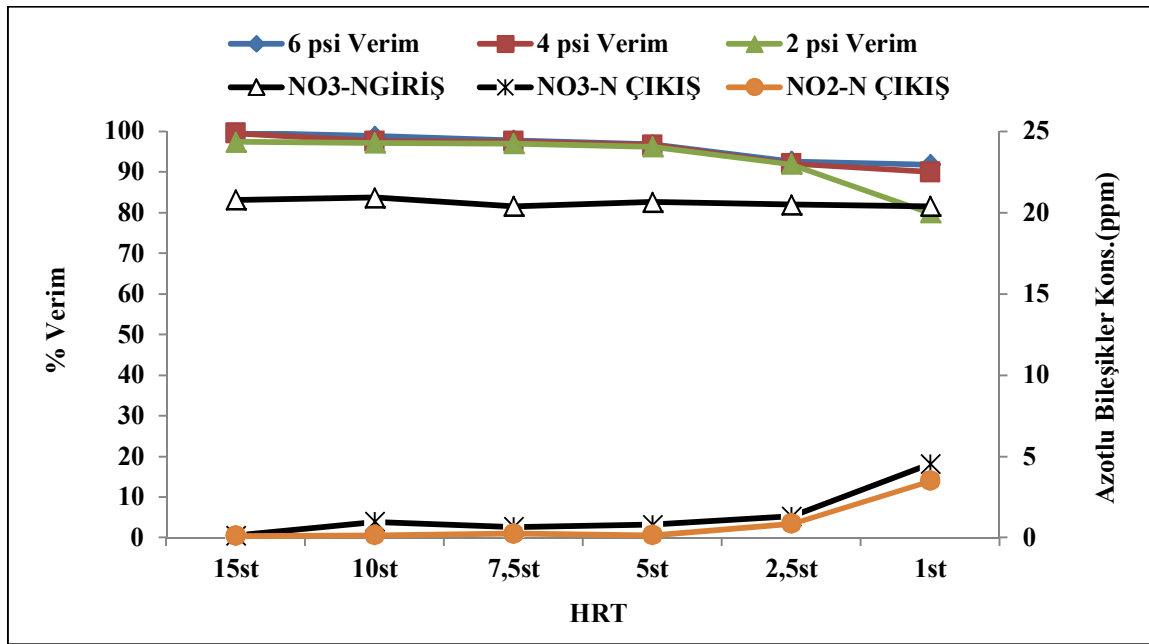
ölçüde düşüş gözlenmiş ve ortalama % 84 civarı bir gideriminin olduğu belirlenmiştir. Aynı şartlar altında CTC gideriminde de düşüşler olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçların çalışmanın hedeflerinden biri olan eş zamanlı CTC ve nitrat indirgenmesi hipotezini desteklediği açıktır. İşletim sürecinin 632. gününde yine HRT sabit tutularak (1st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 18 gün de bu periyotta çalışılmıştır. Bu şartta, sabit HRT de gaz basıncının düşürülmesiyle denitrifikasyon veriminde yine düşüş gözlenmiş ve % 70-75 civarında gerçekleştiği belirlenmiştir. 1 st'lik HRT de tatminkâr H_2 gaz basıncının 6 psi olduğu sonuçlardan anlaşılmıştır.

Tüm işletim süreci verileri dikkate alınarak nitrat akıları ve H_2 eşdeğeri akısı belirlenmiştir. Akı, hedef kirleticinin MBfR sisteminde birim zaman ve birim membran yüzey alanında ne kadar giderildiğinin bir göstergesi olarak hesaplanmıştır. Şekil 5.3'te de görüldüğü gibi HRT'nin düşmesiyle CTC giderimi paralelinde NO_3-N gideriminde de düşüşler olmuş ancak akı sürekli artmıştır. Bu durumun HRT'nin düşmesiyle debide ki artıştan kaynaklandığı söylenebilir. Ayrıca NO_3-N gideriminde harcanan H_2 gaz miktarı da eşdeğer gaz akısı ile belirlenmiştir. Hesaplanan herbir gaz eşdeğer akısı, kirletici gideriminde harcanan gaz miktarı olarak da tabir edilebilir. Bu yüzden uygulama alanları ve projelendirme safhalarında eşdeğer akılar önemli bir yer teşkil etmektedir. H_2 -MBfR sisteminde herbir NO_3-N akısının 0.357 katı H_2 eşdeğeri belirlenmiştir ve sonuçlar Şekil 5.4'de gösterilmiştir.

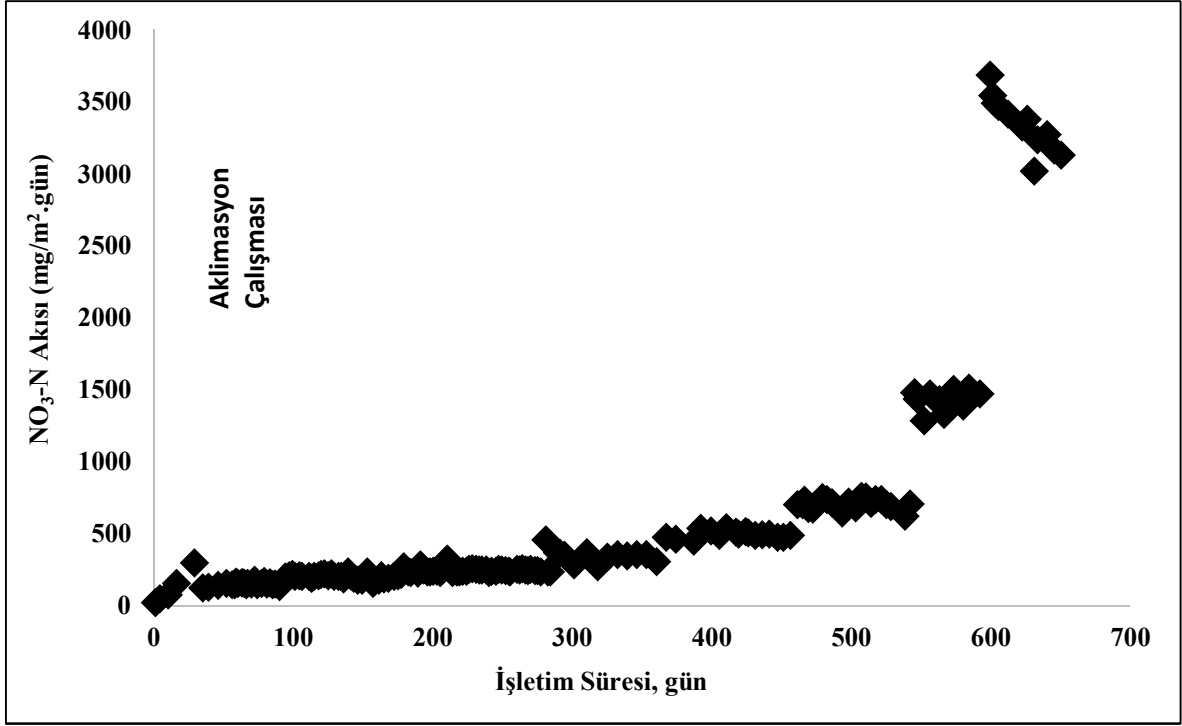
Çalışma süresince belirlenen, denitrifikasyon verimi Şekil 5.1'de, farklı HRT ve gaz basınçlarında giderilen ortalama NO_3-N sonuçları Şekil 5.2'de ve hesaplanan NO_3-N akısı ve H_2 eşdeğer akısı Şekil 5.3 ve 5.4'de verilmiştir.



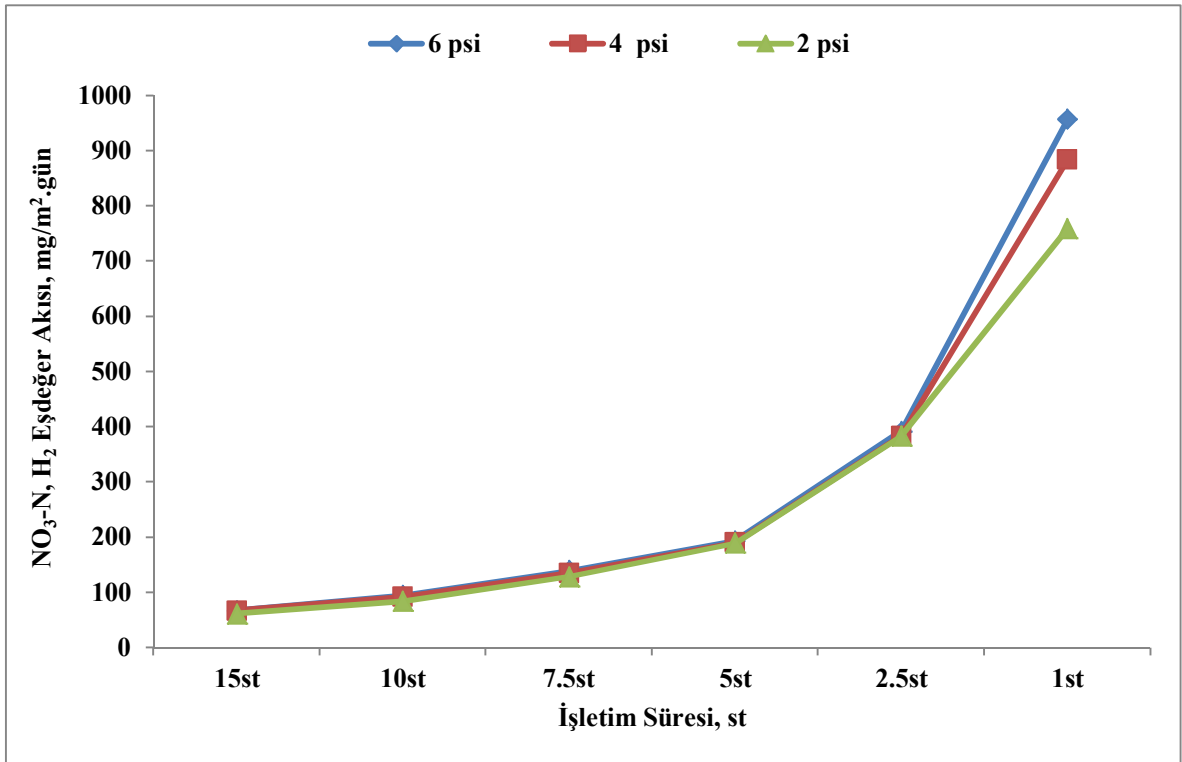
Şekil 5.1. İşletim süresi boyunca H₂-MBfR sisteminde nitrat azotu (NO₃-N) giderimi



Şekil 5.2. İşletim süreci boyunca H₂-MBfR'de, farklı HRT ve H₂-gaz basınçlarında ortalama nitrat azotu (NO₃-N) giderimi



Şekil 5.3. İşletim süresi boyunca H₂-MBfR sisteminde farklı HRT ve H₂ kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan NO₃-N akıları



Şekil 5.4. İşletim süresi boyunca H₂-MBfR sisteminde farklı HRT ve H₂ kısmi basıncına bağlı olarak, NO₃-N- H₂ eşdeğer akısı

5.1.2. İkincil Elektron Alıcı CTC Giderimi

Çalışmanın ilk 30 günlük sürecinde (HRT=10 saat ve H_2 basıncı=2 psi) giriş CTC konsantrasyonu genellikle 0.8-1.0 mg/L aralığında tutulmuştur. Bu süreç, denitrifikasyon veriminin düşük olduğu ve biyofilm oluşum sürecinin devam ettiği işletim sürecidir. CTC giderimi ortalama olarak % 42 düzeyinde gerçekleşmiştir. İşletimin 30. gününden sonra HRT 24 saat'e yükseltildiğinde CTC giriş konsantrasyonu da ortalama olarak 0.4-0.5 mg/L konsantrasyonun değerlerinde tutulmuştur. 2 aylık işletim sürecinde (HRT=24 saat ve $P(H_2)=2$ psi) CTC gideriminde ciddi bir iyileşme gözlenmiş ve CTC giderim verimi 49. işletim gününde yaklaşık % 100'e ulaşmış ve bu durum ilerleyen süreçte de devam etmiştir. İşletim süresinin 90. gününden sonra hidrojen basıncı sabit tutulup HRT 18 saat'e düşürüldüğünde CTC giderimi ortalama olarak % 94'e düşmüştür. İşletimin 90. gününden sonra CTC giderimindeki bu düşüş nedeniyle biyofilm adaptasyon sürecinde bozunma olmaması için giriş suyu CTC konsantrasyonu da ortalama 0.4 mg/L'nin altına indirilmiştir. Özellikle, HRT'nin 18 saat'e düşürüldüğü ilk günler CTC giderim veriminin % 60'a kadar düştüğü ve ilerleyen süreçte giderim veriminin tekrar düzelmeye başladığı belirlenmiştir. Çalışmanın 108. gününden sonra giderim verimi ortalama olarak % 96'ya kadar tekrar yükseldiği gözlenmiştir.

Reaktör işletiminin 176. gününde H_2 gaz basıncı 2 psi'de tutularak HRT değeri 15 st'e düşürüldüğünde CTC gideriminde çok az bir düşüş izlenmiştir. Bu periyodun ilk 25 gününde CTC giderimi ortalama % 95 seviyelerinde tespit edilmiştir. Fakat daha sonra % 100'e yakın CTC giderim verimleri elde edilmiştir. Çalışmanın 226. gününde HRT (15 st) sabit tutularak gaz basıncı 4 psi'ye yükseltilmiştir. Bu süreçte (226-251 günler arası) CTC gideriminde önemli değişiklikler olmayıp giderim verimi ortalama % 98 olarak belirlenmiştir. Çalışmanın 252. gününde benzer şekilde HRT 15 st'e tutularak H_2 gaz basıncı 6 psi'ye kadar yükseltilmiş ve yaklaşık 30 gün boyunca aynı şartlarda işletilmiştir. Bu periyotta CTC giderimi yine ortalama % 98 civarlarında olmuştur. Denitrifikasyon veriminin % 99.8'in üzerinde devam ettiği bu periyotta % 99.8'in üzerinde birinci elektron alıcı giderimi gerçekleşirken ikinci elektron alıcı olan CTCin de yaklaşık % 98 oranında giderildiği gözlenmiştir. Çalışmanın 286. gününde gaz basıncı sabit tutularak (6 psi) H_2 -MBfR reaktörünün HRT değeri 10 st'e düşürülmüş ve reaktör bu işletim şartlarında devam ettirilmiştir. Bu periyotta, HRT değeri 10 st'e düşürülmesi ile denitrifikasyon verimi benzer şekilde % 99.8'in üzerinde gerçekleşirken, CTC giderimi ortalama % 93 olarak

belirlenmiştir. Aynı şartlar 15 gün daha devam ettirildikten sonra (315 nci gün) H₂ gaz basıncı 4 psi'ye düşürülerek CTC giderimi ve denitrifikasyon süreci izlenmiştir.

Çalışmanın 318 nci gününde HRT sabit tutularak (10 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve 26 gün bu şartta reaktörler işletilmiştir. Bu periyotta CTC gideriminde pek fazla değişim olmamış ve % 95 dolaylarında gideriminin gerçekleştiği belirlenmiştir. Gaz basıncının 4 psi ye düşürülmesi ikinci elektron alıcı CTC giderimini pek fazla etkilememiştir. 344. günde HRT sabit tutularak (10 st) gaz basıncı 2 psi ye düşürülmüş ve yaklaşık 24 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu şartta da CTC giderim veriminde çok az bir düşüş olmuş ve % 90 dolaylarında bir giderimin olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi eş zamanlı denitrifikasyon için veya birinci elektron alıcı nitratın indirgenmesi için HRT 10 saatte ve 0.4 – 0.5 mg/l CTC beslemesinde 4 psi'lik gaz basıncının yeterli olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın 369. gününde gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve HRT 7.5 st'e düşürülmüştür. Bu periyotta HRT değeri düşürülerek CTC yüklemesinin arttırılmasıyla giderim veriminin önce şartlara göre düştüğü ve % 87 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Yaklaşık 25 gün işletimden sonra çalışmanın 394. gününde HRT sabit tutularak (7.5 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmesiyle kısa süreli gideriminin düştüğü gözlenmiş ve reaktör stabilitesi sağlandıktan sonra % 94 dolaylarında bir CTC gideriminin gerçekleştiği belirlenmiştir. 412. çalışma gününde reaktörde biyofilm yoğunluğu tespit edilmiş ve sirkülasyon hızı arttırılarak biyofilm yoğunluğu temizlenmiştir. Temizleme işleminden sonra reaktör kısa süreli (5 gün) 24 st HRT ve 6 psi gaz basıncında işletilmiş ve 417. işletim gününde HRT 7.5 st ve gaz basıncı 2 psi'ye düşürülerek bu şart denenmiştir. Bu periyotta CTC gideriminde yine kısa süreli bir düşüş gözlenmiş ve reaktör kısa sürede toparlanmıştır. Bu periyotta ortalama % 90 CTC giderimi belirlenmiştir. 440. işletim gününde biyofilm temizleme işleminden dolayı HRT 7.5 st ve gaz basıncı 4 psi 14 gün (440-458 gün) ve 6 psi 21 gün (458-480 gün) tekrar denenmiş ve CTC giderim veriminde değişim gözlenmemiştir. Denenmiş olan bu şartlarda eş zamanlı nitrat ve CTC giderimi başarılı bir şekilde gerçekleşmiştir. Çalışmanın 480. günü HRT 5 st'e ve gaz basıncı 6 psi'ye getirilerek işleme devam edilmiştir.

Çalışmanın 480. gününde HRT sabit tutularak (5 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve 20 gün bu şartta reaktörler işletilmiştir. Bu periyotta CTC gideriminde pek fazla değişim olmamış ve % 90 dolaylarında gideriminin gerçekleştiği belirlenmiştir. Gaz basıncının 4 psi'ye düşürülmesi ikinci elektron alıcı CTC giderimini pek fazla etkilememiştir. 510. günde HRT sabit tutularak (5 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve

yaklaşık 32 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu periyotta da CTC giderim veriminde çok fazla bir değişim gözlenmemiş ve % 88-92 dolaylarında bir gideriminin olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılabileceği gibi denitrifikasyon için veya birinci elektron alıcı nitratin indirgenmesi için HRT 5 saatte ve 0.4 – 0.5 mg/l CTC beslemesinde 2 psi'lik gaz basıncının yeterli olduğu söylenebilir. Çalışmanın 542. gününde gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve HRT 2.5 st'e düşürülmüştür. Bu periyotta HRT değeri düşürülerek CTC yüklemesinin arttırılmasıyla giderim veriminin önce ki şartlara oranla düştüğü ve % 84 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Yaklaşık 16 gün işletimden sonra çalışmanın 560. gününde HRT sabit tutularak (2.5 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve CTC giderim veriminde bir değişiklik gözlenmemiş olup % 80-82 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışmanın 575. gününde sabit hidrolik alıkonma süresinde (2.5 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 16 günde bu periyotta çalışılmıştır. Bu periyotta CTC gideriminde az da olsa bir düşüş gözlenmiş ve % 78-80 civarı bir giderim veriminin olduğu belirlenmiştir. İşletim süresinin 592. gününde giriş CTC yükü arttırılarak (HRT düşürülerek) işletilmeye aynı konsantrasyonda (0.4 - 0.5 mg/l) devam edilmiştir. Bu periyotta HRT 1 st ve gaz basıncının 6 psi olması şartı denenmiştir. Bu şartta CTC giderim veriminde önemli ölçüde düşüş olmuş ve ortalama % 57 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışmanın 610. gününde HRT sabit tutularak (1st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 22 gün bu periyotta çalışılmıştır. Bu süre zarfında CTC giderim verimi düşmeye devam etmiş ve yaklaşık % 45 olarak gözlenmiştir. Çalışmanın paralelinde nitrat indirgenmesinde de az da olsa düşüşler meydana gelmiştir. İşletim süresinin 633. gününde yine HRT sabit tutularak (1st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 17 günde bu şartta çalışılmıştır. Bir önceki şartta oranla az da olsa düşüş gözlenmiş olup giderim veriminin % 42 dolaylarında meydana geldiği belirlenmiştir.

Tüm işletim süreci verileri dikkate alınarak CTC akıları ve H₂ eşdeğeri akısı da belirlenmiştir. Şekil 5.6 ve 5.7'de görüldüğü gibi HRT'nin düşürülmesiyle CTC giderimi düşmüş ancak akı da sürekli bir artış gözlenmiştir. Bu durumun HRT değişimi ile debideki artıştan kaynaklandığı söylenebilir. Ayrıca CTC gideriminde harcanan H₂ gaz miktarında kirletici akı eşdeğeri reaksiyonları gereği belirlenmiştir. Hesaplanan gaz eşdeğer akıları, kirletici gideriminde harcanan gaz miktarı olarak da tabir edilebilir. Bu yüzden uygulama alanları ve projelendirme safhalarında eşdeğer akılar önemli bir yer teşkil etmektedir. H₂-MBfR sisteminde her bir CTC akısının 0.178 katı H₂ eşdeğer akısı belirlenmiş ve sonuçları Şekil 5.8'de gösterilmiştir.

Çalışma sonunda belirlenen, CTC giderimi Şekil 5.5’de, farklı HRT ve gaz basınçlarında giderilen ortalama CTC giderimleri Şekil 5.6’de ve farklı HRT ve gaz basınçlarında hesaplanan CTC akıları ve H₂ eşdeğer akıları da Şekil 5.7 ve 5.8’de gösterilmiştir.

5.1.3. Parçalanma Ürünleri

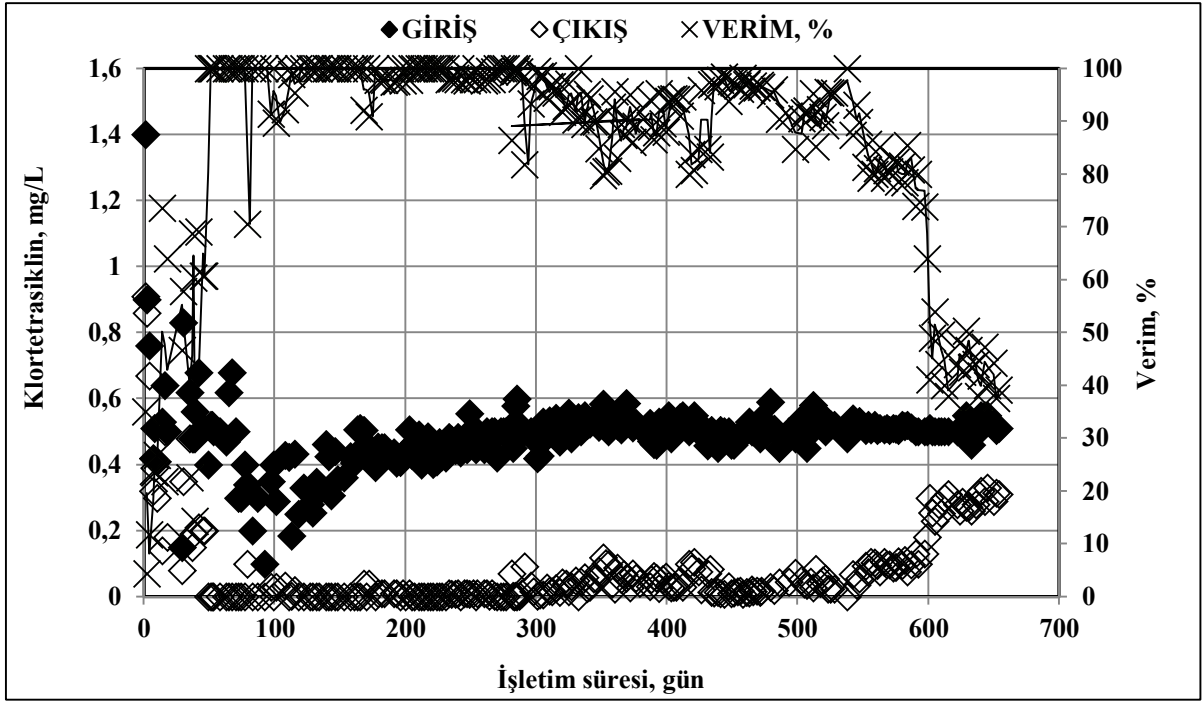
CTC molekülünün ortam şartlarına bağlı olarak değişmesiyle oluşan başlıca ara ürünleri, 4-epiCTC (ECTC), anhidroCTC (ACTC) ve 4-epianhidroCTC’dir (EACTC). Çalışma boyunca CTC molekülüyle birlikte şartlara bağlı olarak meydana gelecek olan ara ürünler de incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 5.9’de verilmiştir.

CTC ara ürünleri içerisinde her üç türün varlığı tespit edilmiş olmasına rağmen baskın olarak belirlenen ara ürünün ECTC olduğu ve konsantrasyonunun 4.25 ile 27.3 ppb aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Parçalanma ürünlerinin derişimi artan HRT’ye bağlı olarak azalışlar göstermiş, gaz kısmi basınçlarına bağlı olarak ise kayda değer değişiklikler göstermediği belirlenmiştir. Bu durum artan HRT ile biyokütlenin CTC molekülünü parçaladığı gibi tanımlı parçalanma ürünlerini de zamanla parçalayarak karbon kaynağı olarak kullandığı düşüncesini kuvvetlendirmektedir.

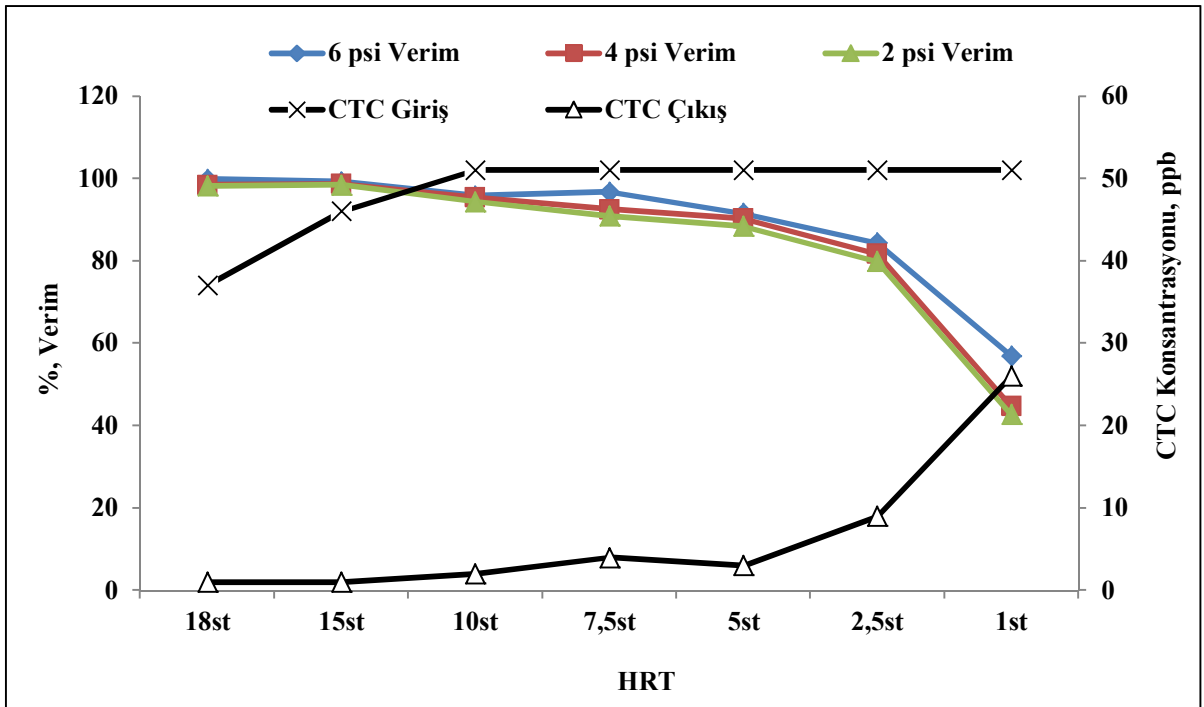
5.2. Oksijene Dayalı Membran Biyofilm Reaktör Sonuçları

5.2.1. Birincil Elektron Verici (NH₄-N) Giderimi

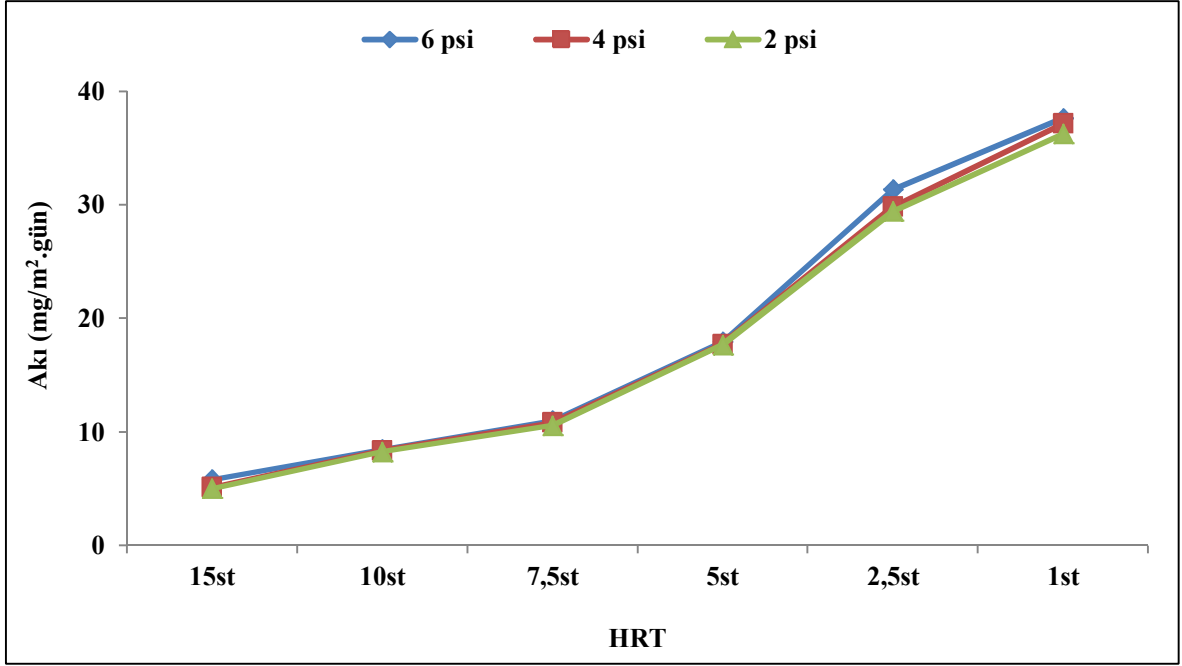
Hidrolik bekletme süresinin 10 saat olarak tutulduğu ilk 30 günlük işletim sürecinde, çıkış suyundaki amonyum konsantrasyonunda önemli bir azalma gerçekleşmemiştir. Bu süreçte çıkış suyu nitrat konsantrasyonu 1 mg/L değerinin altında ölçülmüştür. Çıkış suyu nitrit konsantrasyonu ise genellikle 0.02 mg/L seviyesinden düşük tespit edilmiştir. Sonraki aşamada reaktöre CTC beslenerek, O₂-MBfR reaktörü de membran içermeyen tam karışımli kesikli aktif çamur reaktöründen alınan çöktürülmüş su ile aşılanmıştır. İşletimin 30. gününden sonra, reaktörde O₂ basıncı 2 psi değerinde tutularak HRT değeri 24 saate yükseltilmiş ve CTC beslemesi de durdurulmuştur. İşletim şartlarının değiştirilmesinden sonra, çıkış suyunda nitrat konsantrasyonu artmaya başlamıştır.



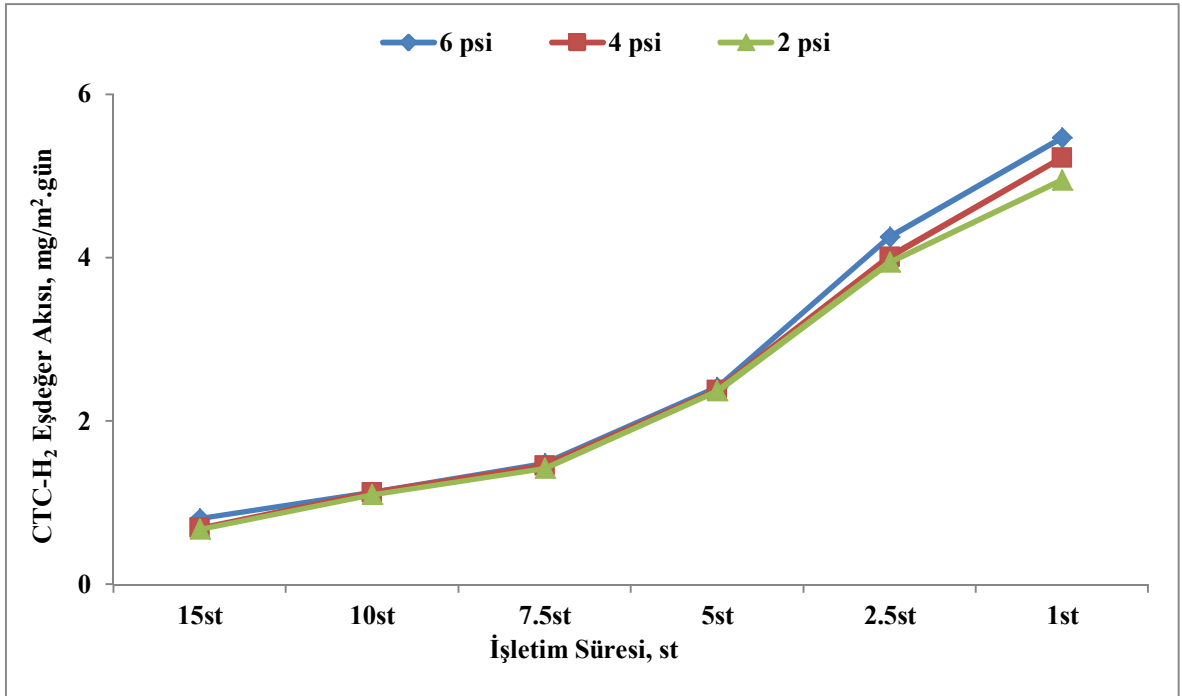
Şekil 5.5. İşletim süresince H₂-MBfR sisteminde CTC gideriminin değişimi



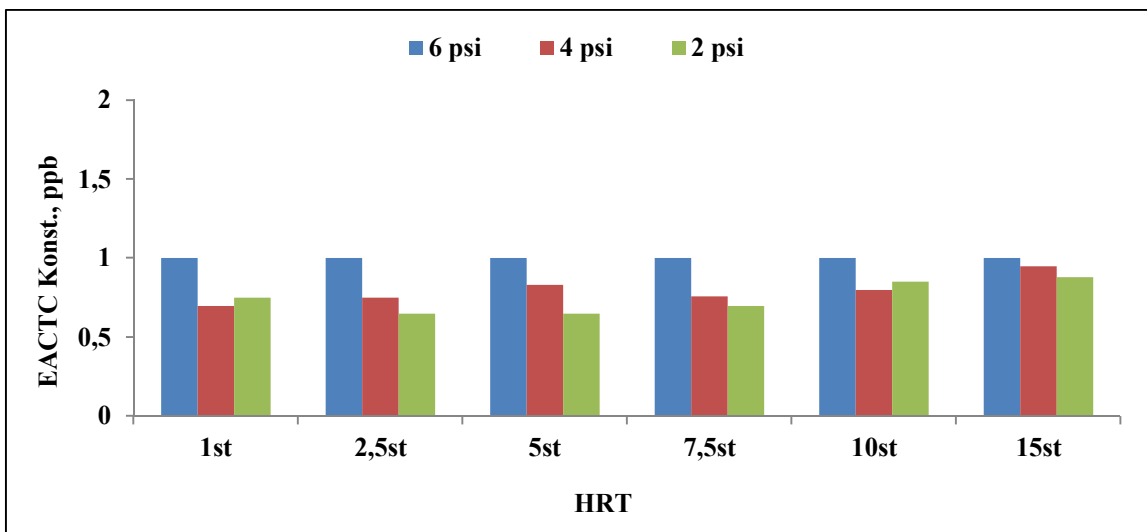
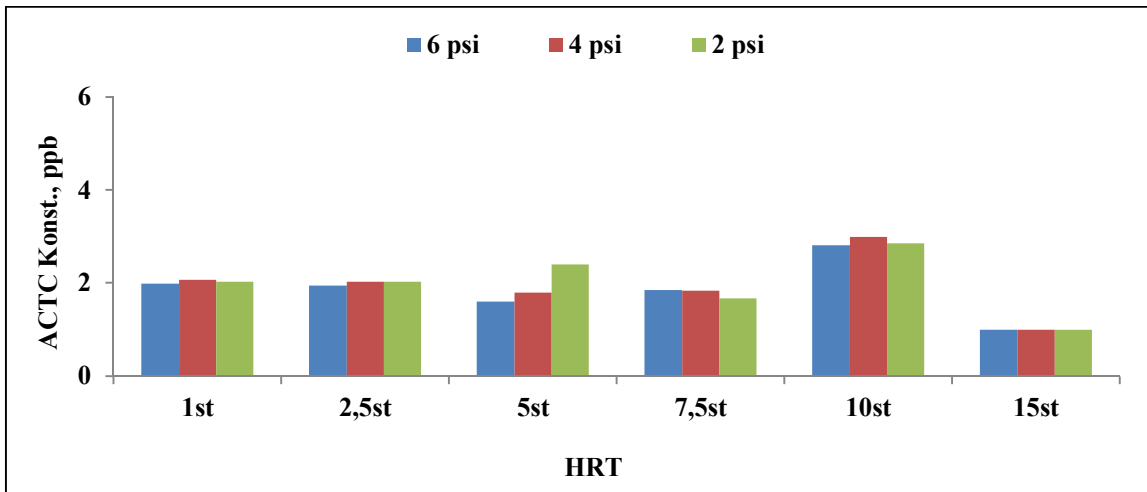
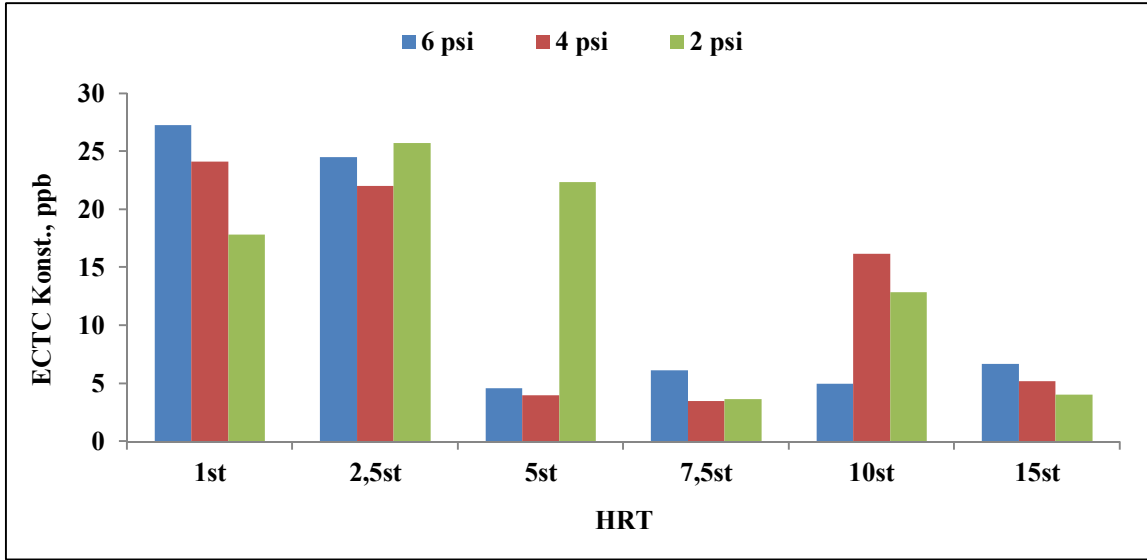
Şekil 5.6. İşletim süresince H₂-MBfR'de farklı HRT ve H₂-gaz basınçlarında ortalama CTC gideriminin değişimi



Şekil 5.7. İşletim süresi boyunca H₂-MBfR sisteminde farklı HRT ve H₂ kısmi basıncına bağlı olarak oluşan ortalama akılar



Şekil 5.8. İşletim süresi boyunca H₂-MBfR sisteminde farklı HRT ve H₂ kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan CTC-H₂ eşdeğer akıları



Şekil 5.9. İşletim süresi boyunca H₂-MBfR sisteminde HRT ve H₂ kısmi basıncına bağlı olarak oluşan parçalanma ürünlerinin değişimi

İşletme sürecinin 90. gününde reaktörün CTC ile beslenmesine karar verilmiş ve düşük konsantrasyonda CTC beslemesi yapılmaya başlanmıştır. Yaklaşık 85 gün süren bu süreçte, çıkış suyundaki nitrat konsantrasyonu da artmaya devam etmiş ve işletimin 132. günü çıkış suyu nitrat konsantrasyonu 20 mg/L iken çıkış suyu amonyum konsantrasyonu da azot olarak yaklaşık olarak 2.4 mg/L'e kadar düşmüştür.

Reaktör işletiminin 193. gününde O₂ gaz basıncı 1 psi'e düşürülerek HRT değeri 24 st'te tutulmuştur. Yaklaşık 5 gün süren bu süreçte nitrifikasyon verimi % 92 seviyelerinde gerçekleşmiştir. CTC giderim oranları da dikkate alınarak, gaz basınçlarının değiştirilmesine karar verilmiş ve O₂ gaz basıncı çalışmanın 200. gününde 2 psi'ye yükseltilmiştir. Bu süreç 26 gün (200-226 günler arası) sürdürülmüştür. Bu işletim sürecinde nitrifikasyon verimi % 90 civarında gerçekleşmiştir. Çalışmanın 228. gününde benzer şekilde HRT 24 st'e tutularak O₂ gaz basıncı 4 psi'ye yükseltilmiş ve yaklaşık 24 gün boyunca aynı şartlarda işletilmiştir. Bu periyotta nitrifikasyon sürecinin biraz daha iyileştiği ve nitrifikasyon veriminin % 95'e yükseldiği gözlenmiştir. Nitrifikasyon süreci bozulmadan, daha yüksek CTC giderim verimlerine ulaşmak amacıyla 254-287. günler arasında HRT sabit tutularak O₂ basıncı 6 psi'e yükseltilmiştir. Bu süreçte nitrifikasyon veriminde ciddi iyileşmeler gözlenmiş ve bu oranın % 98'lere kadar yükseldiği belirlenmiştir. 289.uncu günden itibaren nitrifikasyon sürecinin başarılı olarak ilerlemesi göz önüne alınarak reaktör CTC giriş konsantrasyon değeri 0.2 mg/L'den 0.4 mg/L'e yükseltilmiştir. Aynı şartlar 15 gün daha devam ettirildikten sonra (315. gün) O₂ gaz basıncı 4 psi'ye düşürülerek CTC giderimi ve nitrifikasyon süreci izlenmiştir.

Çalışmanın 318. gününde HRT 18 st ve gaz basıncı 4 psi olarak denenmiştir. Bu periyotta nitrifikasyon sürecinin pek fazla değişmediği gözlenmiş olup amonyum yükseltgenmesinin % 98 ve üzerinde olduğu belirlenmiştir. Gaz basıncının 4 psi ye düşürülmesi birinci elektron verici amonyum gideriminde pek fazla etkili olmaz iken ikinci elektron verici CTC gideriminde düşüşler olduğu ve % 55 dolaylarında seyir ettiği gözlenmiştir. Çalışma periyodunun 344. gününde HRT sabit tutularak (18 st) gaz basıncı 2 psi ye düşürülmüş ve yaklaşık 24 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu şartta da nitrifikasyon veriminde pek fazla değişim olamış ve yine % 99 dolaylarında bir amonyum giderimi ve % 55 ve üzeri değerlerinde ise CTC giderimi gözlenmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılabileceği gibi nitrifikasyon süreci için veya birinci elektron verici amonyum yükseltgenmesi ve ikinci elektron verici CTC giderimi için HRT 18 saatte ve 0.3– 0.4 mg/l CTC beslemesinde 2 psi'lik gaz basıncının yeterli olacağı belirlenmiştir.

Çalışmanın 369. gününde gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve HRT 15 st'e düşürülmüştür. Bu periyotta HRT değeri düşürülerek amonyum yüklemesinin artmasına rağmen nitrifikasyon veriminin pek fazla değişmediği ve % 97 ve üzeri dolaylarında gerçekleştiği gözlenmiştir. Yaklaşık 25 gün işletimden sonra çalışmanın 394. gününde HRT sabit tutularak (15 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüştür. Gaz basıncının düşürülmesiyle nitrifikasyon verimi göz ardı edilmeyecek kadar arttığı ve % 100'ye yakın değerlerde gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu şartta da yaklaşık 18 gün (394-412 g) çalışıldıktan sonra çalışmanın 412. gününde reaktörlerin toparlanması açısından 5 gün gibi kısa süreli (412-417 g) 24 st HRT ve 6 psi gaz basıncında işleme devam edilmiştir.

Çalışmanın 417. gününde HRT sabit tutularak (15 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüştür. Gaz basıncının düşürülmesi ile nitrifikasyon veriminde değişme olmamış ve % 98 ve üzeri değerlerde gerçekleşirken, ikinci elektron verici CTC gideriminde az bir düşüş gözlenmiştir. 15 st'lik HRT şartında izlenen sonuçlara göre, nitrifikasyon için 2 psi'lik gaz basıncının yeterli olacağı ancak eş zamanlı CTC giderimi için 4 psi'lik gaz basıncının etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın 441. gününde HRT 10 st'e düşürülerek gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiştir. HRT nin 10 saate düşürülmesiyle amonyum yüklemesinin artmasına rağmen ilk günlerde nitrifikasyonun gerçekleşmesi % 96-97 dolaylarında gerçekleşirken stabilite sonrası % 100'e yakın değerlerde gerçekleştiği belirlenmiştir. Yaklaşık 22 günlük işletim sonunda 463. gün HRT sabit tutularak gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve işleme devam edilmiştir. Bu periyotta birinci elektron verici amonyum gideriminde pek fazla değişiklik gözlenmez iken ikinci elektron verici CTC gideriminde düşüşler gözlenmiştir. Bu şartta nitrifikasyon süreci % 99 ve üzeri dolaylarında gerçekleşirken CTC giderimi % 35-40 civarında seyretmiştir. Yaklaşık 16 gün bu şartta çalışıldıktan sonra (463-479 g) 479. gün HRT sabit tutularak (10 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüştür. Çalışılmış tüm şartlarda reaktör çıkış suyunda nitrit birikimine rastlanmamıştır. Çalışmanın 480. günü HRT 10 st'e ve gaz basıncı 2 psi'ye getirilerek işleme devam edilmiştir.

Çalışmanın 480. gününde HRT 10 st ve gaz basıncı 2 psi olarak denenmiştir. Bu periyotda nitrifikasyon sürecinin pek fazla değişmediği gözlenmiş olup amonyum yükseltgenmesinin % 98 ve üzerinde olduğu belirlenmiştir. Gaz basıncının 2 psi ye düşürülmesi birinci elektron verici amonyum gideriminde pek fazla etkili olmaz iken ikinci elektron verici CTC gideriminde düşüşler olduğu ve % 21 dolaylarında seyir ettiği gözlenmiştir. Çalışma periyodunun 510. günün de HRT 7.5 st'e düşürülmüş olup gaz

basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve yaklaşık 12 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu şartta da hidrolik alıkonma süresinin düşürülmesiyle amonyum yüklemesinin artmasına rağmen, nitrifikasyon veriminde pek fazla değişim olmamış ve yine % 99 dolaylarında bir amonyum giderimi ve % 22 ve üzeri değerlerinde ise CTC giderimi gözlenmiştir.

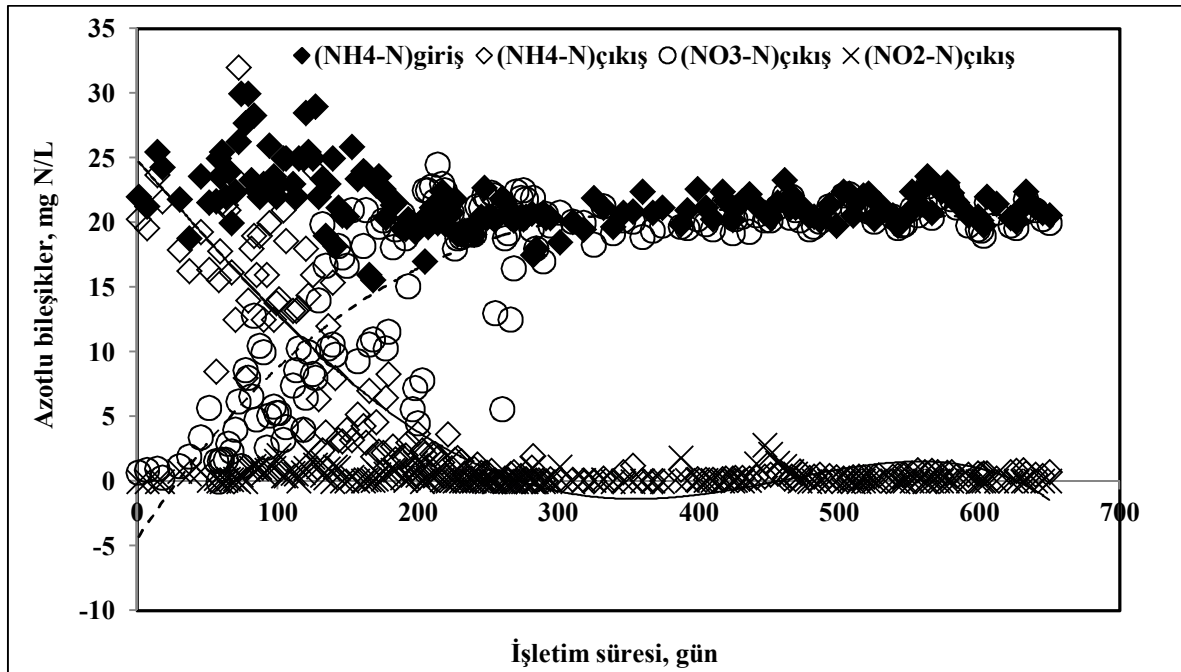
Çalışmanın 522. gününde HRT sabit tutularak (7.5 st), gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 14 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu periyotda gaz basıncının düşürülmesi, yine amonyum yükseltgenmesine etki etmemiş olup % 97 ve üzeri dolaylarında gerçekleştiği gözlenmiştir. Çalışma periyodunun 535. gününde yine HRT sabit tutularak (7.5 st) gaz basıncı değiştirilmiş ve 2 psi'ye düşürülmüştür. Yaklaşık 19 gün işletim günlerin de amonyum yükseltgenmesi % 97 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği belirlenmiştir.

Çalışmanın 556. gününde HRT 5 st'e düşürülmüş ve gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiştir. HRT'nin düşürülmesi ile nitrifikasyon veriminde pek fazla değişimin olmadığı ve % 96 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği gözlenirken ikinci elektron verici CTC gideriminde az bir düşüş olduğu belirlenmiştir.

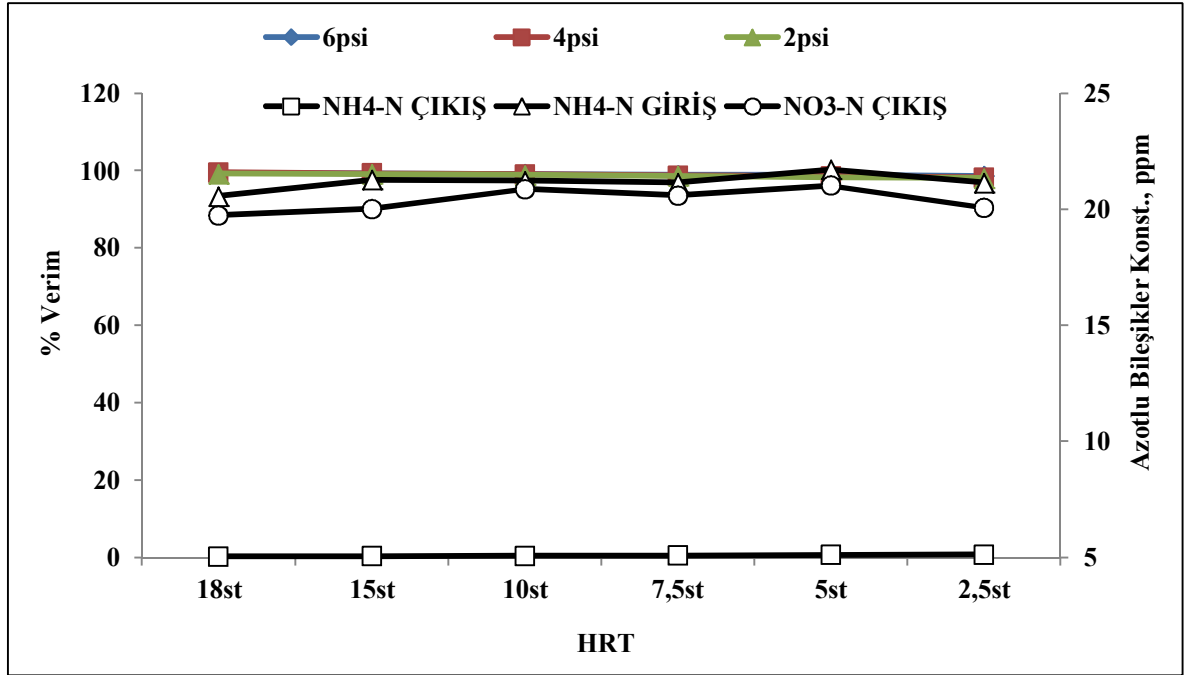
Çalışmanın 573. gününde HRT sabit tutularak (5 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüştür. Yaklaşık 19 günlük işletim günlerin yine amonyum yükseltgenmesinin % 97 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği belirlenmiştir. 595 nci gün HRT sabit tutularak gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve işleme devam edilmiştir. Bu periyotta birinci elektron verici amonyum ve ikinci elektron verici CTC gideriminde pek fazla değişiklik gözlenmemiştir. Bu da göstermiştir ki, 5 st'lik hidrolik alıkonma şartlarında 2 psi'lik gaz basıncının yeterli olacaktır. Çalışma süresinin 610. gününde HRT 2.5 st'düşürülmüş ve gaz basıncı 4 psi'ye alınmıştır. Yaklaşık 21 günlük işletim sürecinde, HRT'nin düşürülmesiyle amonyum yükü yine arttırılmış ancak gideriminde pek fazla değişim gözlenmemiştir ve % 97 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışma periyodunun 631. gününde HRT sabit tutularak (2.5 st) gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve yaklaşık 17 günde bu şartta çalışılmıştır. Gaz basıncının arttırılmasıyla amonyum yükseltgenmesinde bir değişim gözlenmezken (giderim verimi % 97 ve üzeri), ikincil elektron verici olarak kullanılan CTC gideriminde az da olsa artışlar gözlenmiştir. Çalışılmış tüm şartlarda reaktör çıkış suyunda nitrit birikimine rastlanmamış olup giderilen amonyum miktarı paralelinde nitrat oluştuğu gözlenmiştir.

Tüm işletim süreci verileri dikkate alınarak $\text{NH}_4\text{-N}$ akıları ve O_2 eşdeğeri akısı da belirlenmiştir. $\text{H}_2\text{-MBfR}$ sistemine bahsettiğim akı değişimi $\text{O}_2\text{-MBfR}$ sistemi içinde geçerli olup, Şekil 5.11 ve 5.12’de de görüldüğü gibi $\text{NH}_4\text{-N}$ giderimi değişmez iken akının sürekli artış göstermesi HRT düşürülmesiyle artan debi miktarından kaynaklandığı bu sistemde için de söylenebilir. Ayrıca $\text{NH}_4\text{-N}$ gideriminde harcanan O_2 gaz eşdeğeri miktarı da belirlenmiştir. Hesaplanan gaz eşdeğer akıları, kirletici gideriminde harcanan gaz miktarı olarak da tabir edilebilir. Bu yüzden uygulama alanları ve projelendirme safhalarında eşdeğer akılar önemli bir yer teşkil etmektedir. $\text{O}_2\text{-MBfR}$ sisteminde herbir $\text{NH}_4\text{-N}$ akısının 4.57 katı O_2 eşdeğer akısı belirlenmiş ve sonuçları Şekil 5.13’de gösterilmiştir.

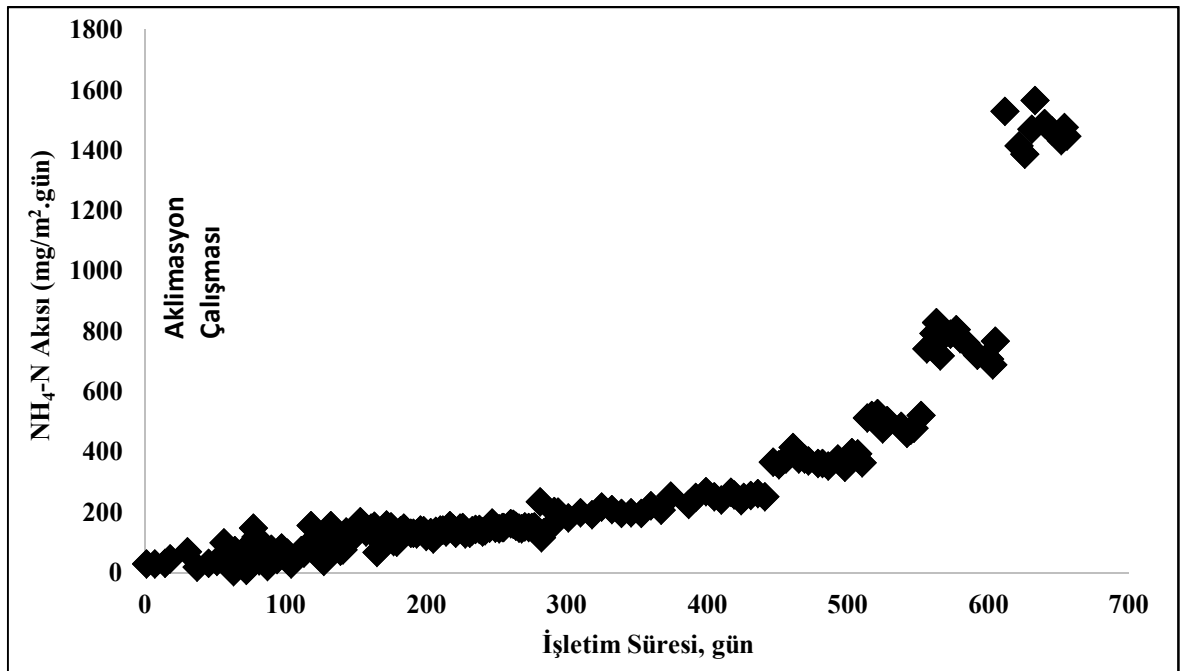
Çalışma süresi sonunda belirlenen, nitrifikasyon süreci sonuçları Şekil 5.10’da, farklı HRT ve gaz basınçlarında giderilen ortalama amonyum azotu ($\text{NH}_4\text{-N}$) değerleri Şekil 5.11’de ve işletim süresince hesaplanan $\text{NH}_4\text{-N}$ ve O_2 eşdeğer akıları da Şekil 5.12 ve 5.13’de verilmiştir.



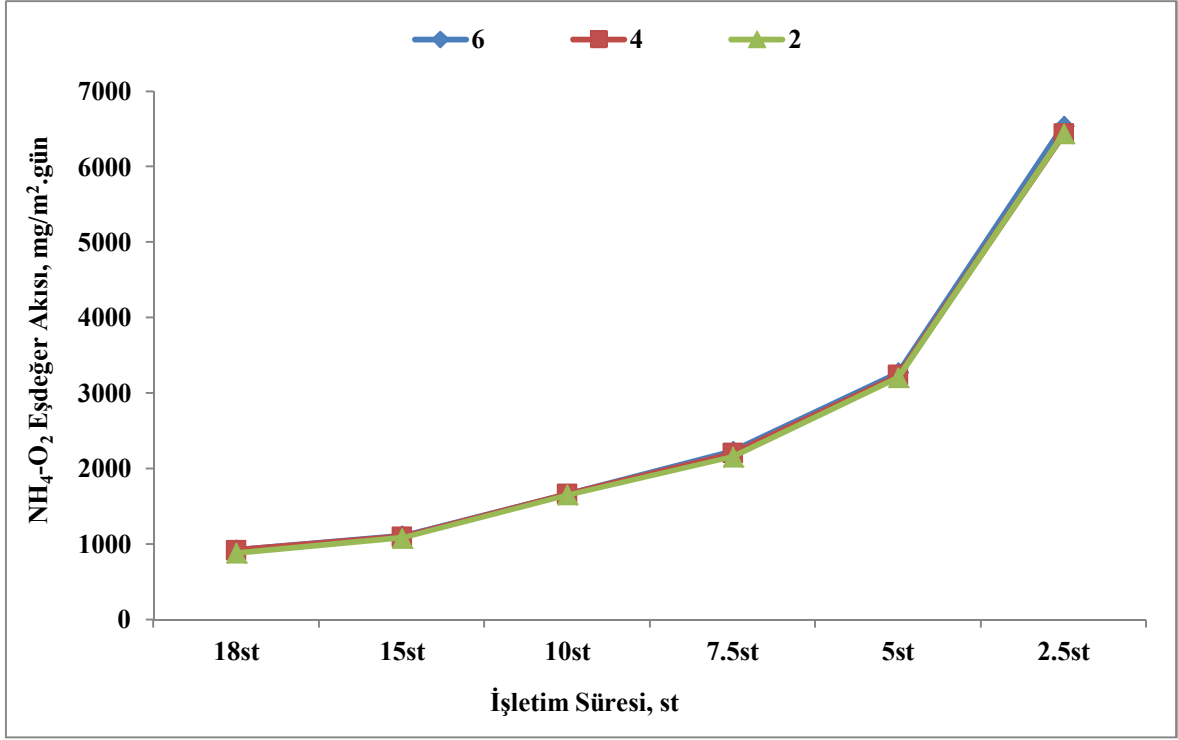
Şekil 5.10. İşletim süresi boyunca $\text{O}_2\text{-MBfR}$ sisteminde $\text{NH}_4\text{-N}$ gideriminin değişimi



Şekil 5.11. İşletim süresince O₂-MBfR’de, farklı HRT ve O₂-gaz basınçlarında ortalama NH₄-N gideriminin değişimi



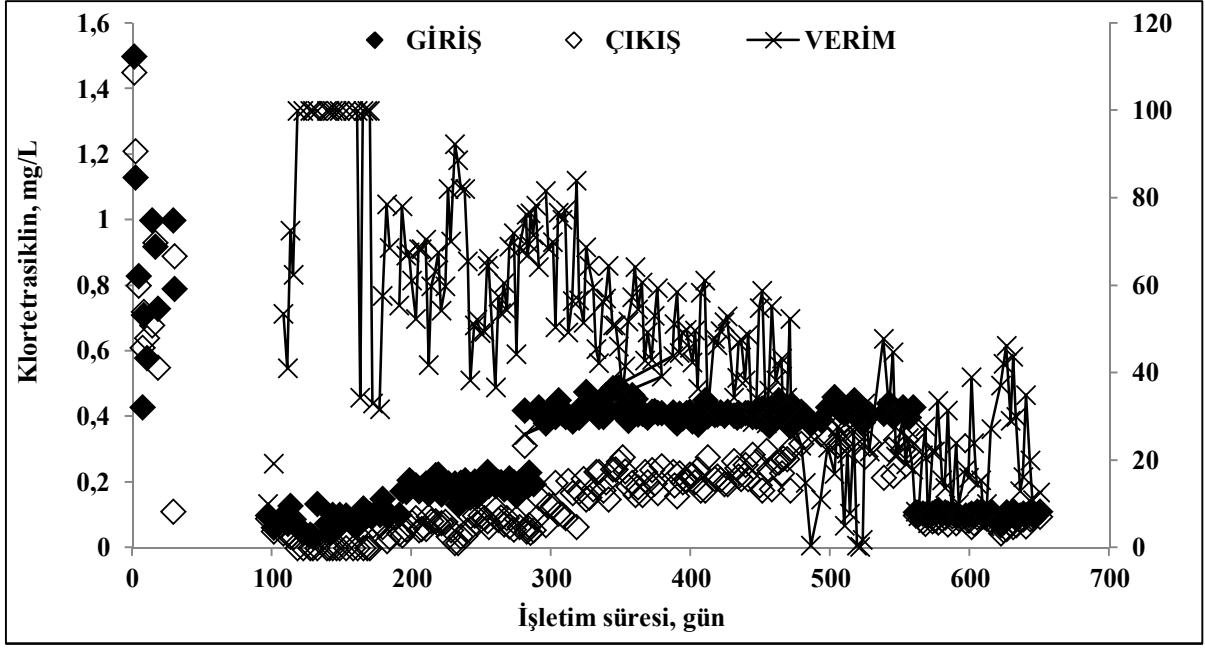
Şekil 5.12. İşletim süresi boyunca O₂-MBfR sisteminde farklı HRT ve O₂ kısmi basıncına bağlı olarak oluşan NH₄-N akısının değişimi



Şekil 5.13. İşletim süresi boyunca O₂-MBfR sisteminde farklı HRT ve O₂ kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan NH₄-N O₂ eşdeğer akısı

5.2.2. İkincil Elektron Verici CTC Giderimi

Şekil 5.14, oksijene dayalı MBfR’da CTC’nin değişimini göstermektedir. İşletim sürecinin ilk 30 günlük periyodunda (HRT=10 saat, O₂=2 psi) sistemde CTC gideriminin ortalama % 10’nun altında olduğu tespit edilmiştir. CTC beslemesinin yapılmadığı periyotta, hidrolik bekletme süresi 10 saatten 24 saat’e yükseltilmiştir. Sadece nitrifikasyon bakterilerinin membran fiberleri üzerine konumlanması planlandığından besleme suyunda herhangi bir organik içerik bulundurulmamıştır. Aklimasyon çalışmaları için işletimin 90. günü giriş CTC konsantrasyonu 100 µg/L’den düşük olacak şekilde besleme yapılmaya başlanmıştır. HRT’nin 24 st ve oksijen basıncının 2 psi olduğu 90-132 inci günler arasında reaktör giriş CTC konsantrasyon değerleri 0.1 mg/L seviyesinde tutulmuştur. Bu süreçte CTC giderim verimi % 69’larda gerçekleşmiştir. Aynı HRT ‘de O₂ gaz basıncının 1 psi’ye düşürüldüğü periyotta CTC gideriminin ortalama % 80’lere yükseldiği belirlenmiştir. İşletimin 193. gününden itibaren CTC giriş konsantrasyon değerleri 0.2 mg/L seviyelerinde tutularak reaktör işletimine devam edilmiştir. Çok kısa süreliğine (5 gün) oksijen basıncı 1 psi değerine düşürülerek CTC giderim verimi % 71, nitrifikasyon verimi ise % 92 civarında belirlenmiştir.



Şekil 5.14. İşletim süresi boyunca O₂-MBfR sisteminde CTC gideriminin değişimi

Aynı HRT ve aynı giriş konsantrasyon değerlerinde (0.2 mg/L CTC) fakat O₂ basıncının 1 psi'den 2 psi'e yükseltildiği işletimde CTC giderim veriminde biraz düşüşler gözlenmiş ve bu oran ortalama % 63 olarak belirlenmiştir. Bir diğer taraftan nitrifikasyon verimi de ortalama % 90 olarak belirlenmiştir. Bu nedenle oksijen basınç değerinin yükseltilmesine karar verilmiş ve 2 psi değerinden 4 psi değerine arttırılmıştır. Yaklaşık 24 gün süren bu işletimde CTC giderim veriminde iyileşmeler gözlenmiş ve bu oran ortalama % 67'e yükselmiştir. İşletimin 254. gününden itibaren oksijen basınç değerleri 6 psi'e çıkartılmasına rağmen CTC gideriminde ortalama % 65 olarak herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Çalışmanın 318. gününde HRT sabit tutularak (18 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve 26 gün bu şartta reaktörler işletilmiştir. Bu periyotta CTC gideriminde düşüş gözlenmiş olup % 60 dolaylarında gideriminin gerçekleştiği belirlenmiştir. Gaz basıncının 4 psi'ye düşürülmesi ikinci elektron alıcı CTC giderimini etkilemiştir ancak nitrifikasyon sürecine etki etmemiştir. 344. günde HRT sabit tutularak (18 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 24 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu şartta da CTC giderim veriminde çok fazla bir değişiklik gözlenmemiş ve %50-55 dolaylarında bir gideriminin olduğu gözlenmiştir. Yine bu periyotta da nitrifikasyon süreci etkilenmeden devam etmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi nitrifikasyon için veya birinci elektron verici

amonyum yükseltgenmesi için HRT 18 saatte ve 0.3 – 0.4 mg/l CTC beslemesinde 4 psi'lik gaz basıncının yeterli olacağı periyot sonunda belirlenmiştir.

Çalışmanın 369. gününde gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve HRT 15 st'e düşürülmüştür. Bu periyot da HRT değeri düşürülerek CTC yüklemesinin arttırılmasıyla giderim veriminin önce şartlara göre düştüğü ve % 40 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Buna rağmen eş zamanlı gerçekleştirilen nitrifikasyon veriminde bir değişim gözlenmemiştir. Yaklaşık 25 gün işletimden sonra çalışmanın 394. gününde HRT sabit tutularak (15 st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmesiyle ikinci elektron verici CTC gideriminde pek fazla değişim olmamış ve % 40-45 dolaylarında gideriminin gerçekleştiği belirlenmiştir. Yaklaşık 18 gün çalışma sonunda (394-412 g) 412. gün reaktör toparlanması açısından HRT 24 st ve gaz basıncı 6 psi'ye alınmıştır. Kısa süreli (5 g) bu periyot çalışmasından sonra 417. gün HRT sabit tutularak (15 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüştür. Bu periyot da CTC giderimi pek fazla etkilenmemiş olup % 45-50 dolaylarında gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu çalışma periyodun da 15 st'lik HRT çalışmasında 2 psi'lik gaz basıncının hem birinci elektron verici amonyum ve ikinci elektron verici CTC giderimi için yeterli olduğu anlaşılmıştır. Çalışmanın 441. gününde HRT 10 st'e düşürülerek gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiştir. HRT nin düşürülmesiyle amonyum ve CTC yükü artmasına rağmen % 99 dolaylarında nitrifikasyon ve % 45 dolaylarında CTC giderimi belirlenmiştir. Yaklaşık 22 gün çalışıldıktan sonra (441-463 g) HRT sabit tutularak 463. gün gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüştür. Bu şart da gaz basıncının düşürülmesi CTC ve amonyum yükseltgenmesini etkilememiş olup sırasıyla ikinci elektron verici CTC % 45 ve üzeri ve birinci elektron verici amonyumun % 99 ve üzeri giderildiği belirlenmiştir. Yaklaşık 16 gün (463-479 g) bu şart denendikten sonra HRT sabit tutularak (10 st) gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüştür.

Çalışmanın 480. gününde HRT 10 st ve gaz basıncı 2 psi olarak denenmiştir. Bu periyotda nitrifikasyon sürecinin pek fazla değişmediği gözlenmiş olup amonyum yükseltgenmesinin % 98 ve üzerinde olduğu belirlenmiştir. Gaz basıncının 2 psi ye düşürülmesi birinci elektron verici amonyum gideriminde pek fazla etkili olmaz iken ikinci elektron verici CTC CTC gideriminde düşüşler olduğu ve % 21 dolaylarında seyir ettiği gözlenmiştir. Çalışma periyodunun 510. günün de HRT 7.5 st'e düşürülmüş olup gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve yaklaşık 12 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu şartta da hidrolik alıkonma süresinin düşürülmesiyle amonyum yüklemesinin artmasına rağmen,

nitrifikasyon veriminde pek fazla değişim olmamış ve yine % 99 dolaylarında bir amonyum giderimi ve % 22 ve üzeri değerlerinde ise CTC giderimi gözlenmiştir.

Çalışmanın 522. gününde HRT sabit tutularak (7.5 st), gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüş ve yaklaşık 14 gün de bu şartta çalışılmıştır. Bu periyotda gaz basıncının düşürülmesi, yine amonyum yükseltgenmesine etki etmemiş olup % 97 ve üzeri dolaylarında gerçekleştiği gözlenmiştir. Çalışma periyodunun 535 nci gününde yine HRT sabit tutularak (7.5 st) gaz basıncı değiştirilmiş ve 2 psi'ye düşürülmüştür. Yaklaşık 19 gün işletim günlerin de amonyum yükseltgenmesi % 97 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği belirlenmiştir.

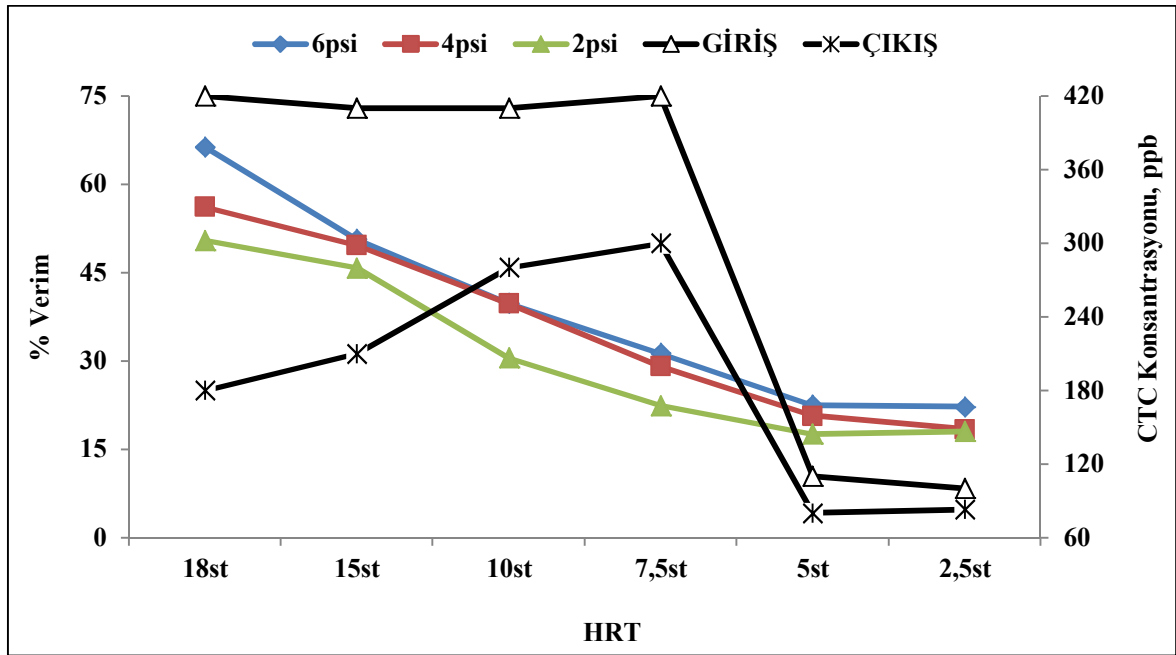
Çalışmanın 556. gününde HRT 5 st'e düşürülmüş ve gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiştir. HRT'nin düşürülmesi ile nitrifikasyon veriminde pek fazla değişimin olmadığı ve % 96 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği gözlenirken ikinci elektron verici CTC gideriminde az bir düşüş olduğu belirlenmiştir.

Çalışmanın 573. gününde HRT sabit tutularak (5st) gaz basıncı 4 psi'ye düşürülmüştür. Yaklaşık 19 günlük işletim günlerin yine amonyum yükseltgenmesinin % 97 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği belirlenmiştir. 595. gün HRT sabit tutularak gaz basıncı 2 psi'ye düşürülmüş ve işleme devam edilmiştir. Bu periyotta birinci elektron verici amonyum ve ikinci elektron verici CTC gideriminde pek fazla değişiklik gözlenmemiştir. Bu da göstermiştir ki 5 st'lik hidrolik alıkonma şartlarında 2 psi'lik gaz basıncı yeterli olacaktır. Çalışma süresinin 610. gününde HRT 2.5 st'düşürülmüş ve gaz basıncı 4 psi'ye alınmıştır. Yaklaşık 21 günlük işletim sürecinde, HRT'nin düşürülmesiyle amonyum yükü yine arttırılmış ancak gideriminde pek fazla değişim gözlenmemiştir ve % 97 ve üzeri değerlerde gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışma periyodunun 631. gününde HRT sabit tutularak (2.5 st) gaz basıncı 6 psi'ye yükseltilmiş ve yaklaşık 17 günde bu şartta çalışılmıştır. Gaz basıncının arttırılmasıyla amonyum yükseltgenmesinde bir değişim gözlenmezken (giderim verimi % 97 ve üzeri), ikincil elektron verici olarak kullanılan CTC gideriminde artışlar gözlenmiştir. Çalışılmış tüm şartlarda reaktör çıkış suyunda nitrit birikimine rastlanmamış olup giderilen amonyum miktarı paralelinde nitrat oluştugu gözlenmiştir.

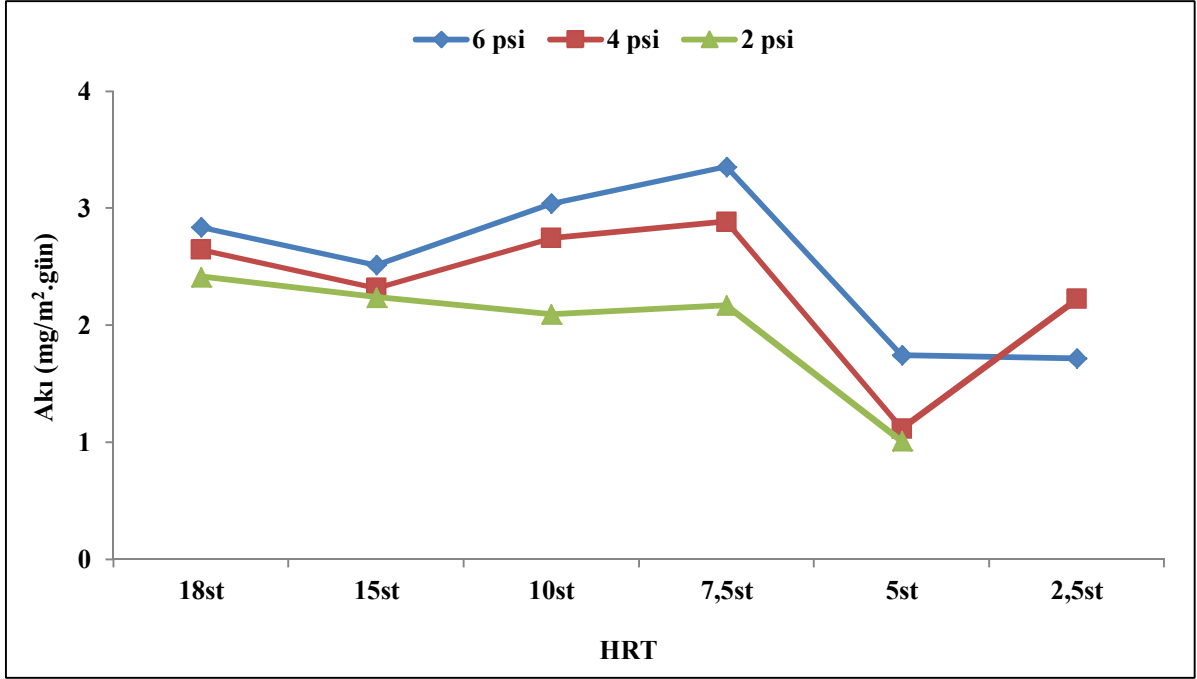
Tüm işletim süreci verileri dikkate alınarak CTC akıları ve O₂ eşdeğeri akısı da belirlenmiştir. Akı miktarında ki dalgalanmalar hatta CTC gideriminin düştüğü durumlarda bile akı da ki artış debi artışından kaynaklanmaktadır. Ayrıca sisteme verilen H₂ gazının ne kadarı CTC giderimi için ne kadarı eş zamanlı giderilen NH₄-N için harcandığının

belirlenmesi amacıyla gaz eşdeğer akılarıda hesaplanmıştır. Hesaplanan gaz eşdeğer akıları, kirletici gideriminde harcanan gaz miktarı olarak da tabir edilebilir. Bu yüzden uygulama alanları ve projelendirme safhalarında eşdeğer akılar önemli bir yer teşkil etmektedir. O₂-MBfR sisteminde her bir CTC akısının 1.86 katı O₂ eşdeğer akısı belirlenmiş ve sonuçları Şekil 5.17’de gösterilmiştir.

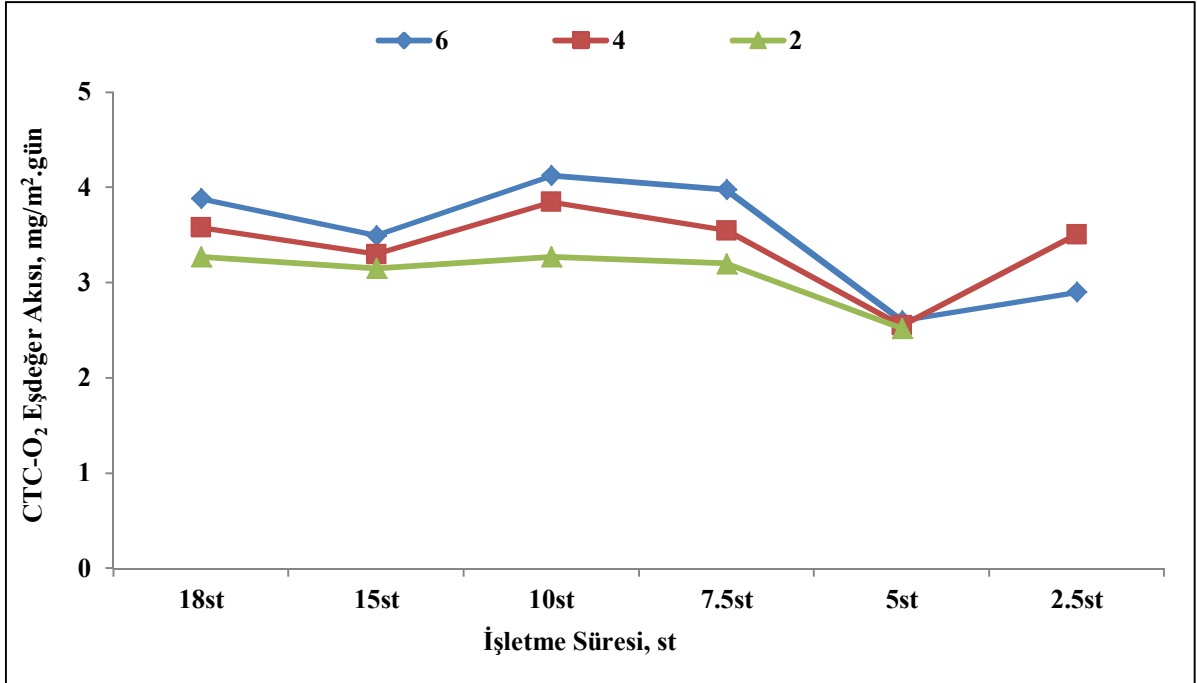
Çalışma sonunda belirlenen, farklı HRT ve gaz basınçlarında giderilen ortalama CTC sonuçları Şekil 5.15’de ve yine farklı HRT ve gaz basınçlarında hesaplanan ortalama CTC akıları ve CTC-O₂ eşdeğer akıları Şekil 5.16 ve 5.17’de verilmiştir.



Şekil 5.15. İşletim süreci boyunca O₂-MBfR’de farklı HRT ve O₂-gaz basınçlarında CTC giderimin değişimi



Şekil 5.16. İşletim süresi boyunca O_2 -MBfR sisteminde farklı HRT ve O_2 kısmi basıncına bağlı olarak oluşan ortalama CTC akısının değişimi



Şekil 5.17. İşletim süresi boyunca O_2 -MBfR sisteminde farklı HRT ve O_2 kısmi basıncına bağlı olarak hesaplanan ortalama CTC- O_2 eşdeğer akıları

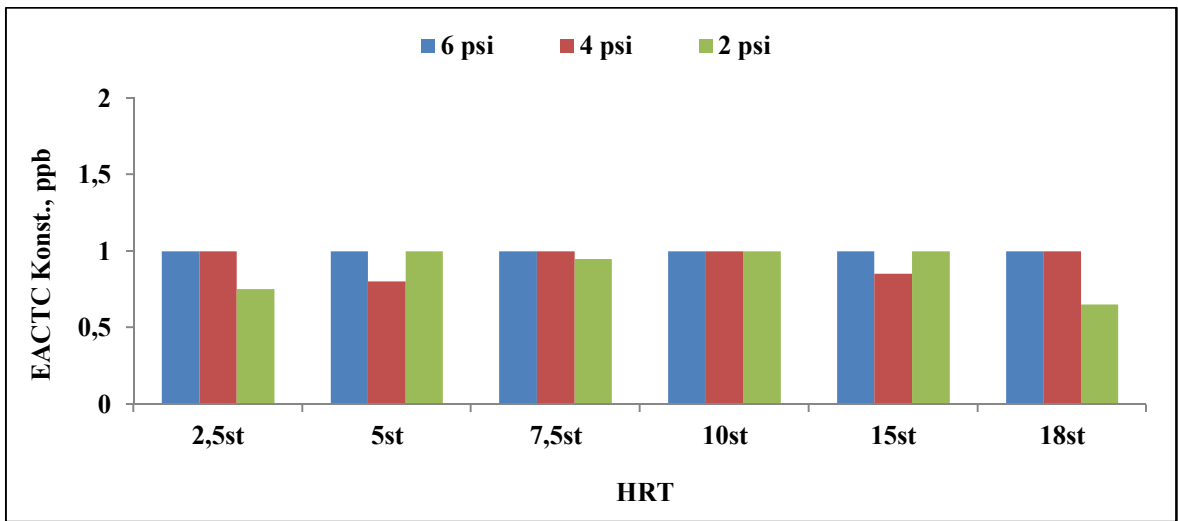
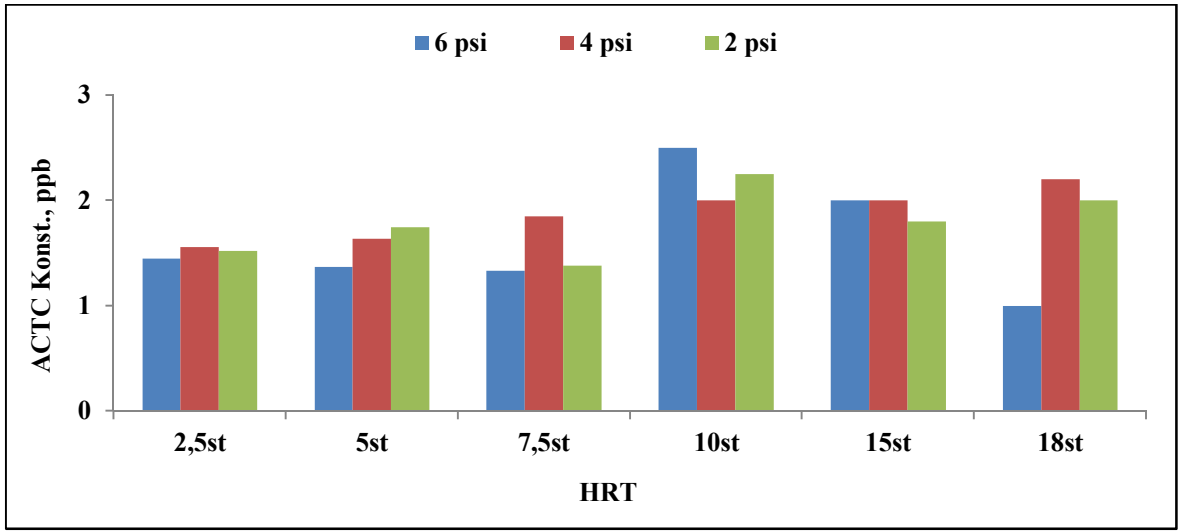
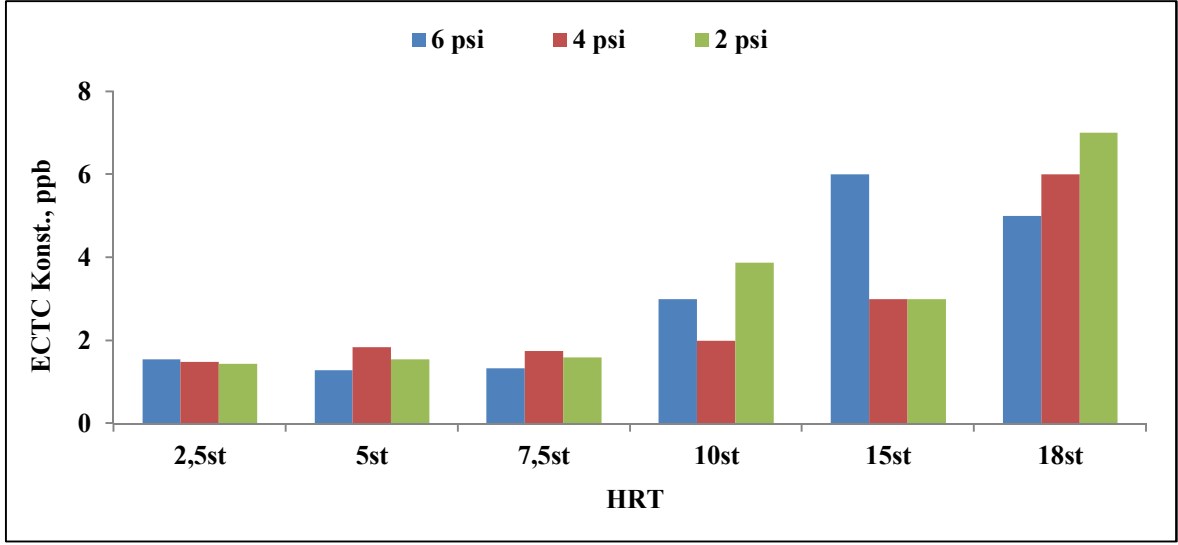
5.2.3. Nihai Parçalanma Ürünleri

Şekil 5.18, oksijene dayalı membran biyofilm reaktörü ile farklı işletim günlerinde CTC için belirlenen ara ürün konsantrasyon değerlerini göstermektedir. Hidrojene dayalı membran biyofilm ile elde edilen sonuçlara benzer olarak CTC için de konsantrasyon bakımından en önemli ara ürün EACTC'dir. Bu ara ürünün 0.001 ile 0.048 mg /L arasındaki konsantrasyon değerlerinde olduğu tespit edilmiştir.

Giderim mekanizmasını belirlemek için reaktör çıkış akımlarında parçalanma ürünleri incelenmiştir. Şekil 5.18'de farklı HRT'lerde işletilen MBfR'larda CTC'nin parçalanma ürünlerinin O₂ kısmi basıncına bağlı olarak değişimi görülmektedir. Şekillerden de görüldüğü gibi incelenen şartlarda parçalanma ürünlerinin derişimi azalan HRT'ye bağlı olarak azalışlar göstermiş, gaz kısmi basınçlarına bağlı olarak ise kayda değer değişiklikler göstermediği belirlenmiştir. İncelenen HRT'lerdeki azalışa bağlı olarak türlerin miktarındaki azalma, bu şartlarda CTC giderim verimleriyle karşılaştırıldığında, gideriminde farklı ürünlere parçalanmanın söz konusu olabileceğini göstermektedir. Giderim verimleri dikkate alındığında, CTC gideriminde düşük konsantrasyonlu ECTC, ACTC ve EACTC gibi yan ürünlere parçalanmanın yanı sıra önemli oranda diğer moleküllere de dönüşümün etkin olduğu söylenebilir.

5.3. Moleküler Sonuçlar

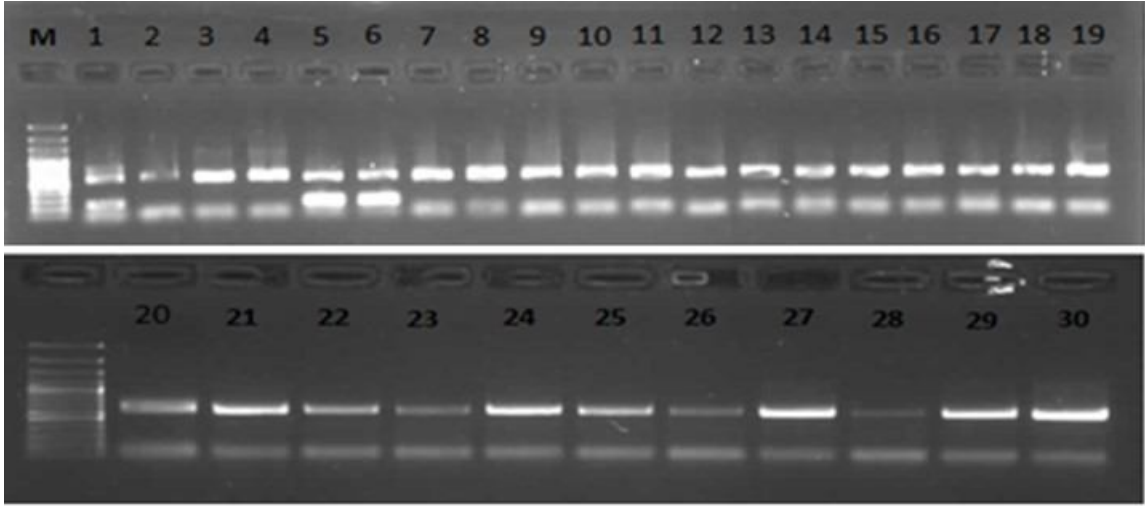
Çalışmada kullanılan MBfR reaktörlerinde membran yüzeyinde etkin olan mikrobiyal türleri tespit etmek amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve denature gradyan jel elektroforezi (DGGE) yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmada her bir işletme şartında etkin olan mikrobiyal türleri belirlemek amacıyla farklı işletme şartlarında MBfR reaktörlerinden biyofilm numunesi alınmış DNA ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından PCR işlemi yapılarak izole edilmiş olan DNA'ların hedeflenen genleri çoğaltılmıştır. Bu işlemden sonra DGGE analizi yapılarak numuneler içerisindeki her bir türe ait DNA'ların ayrılması sağlanmıştır. DGGE analizinde akrilamid jeldeki bantlar kesilerek tekrar PCR işlemi yapılmış ve PCR ürünlerine dizi analizi uygulanarak türler tespit edilmiştir.



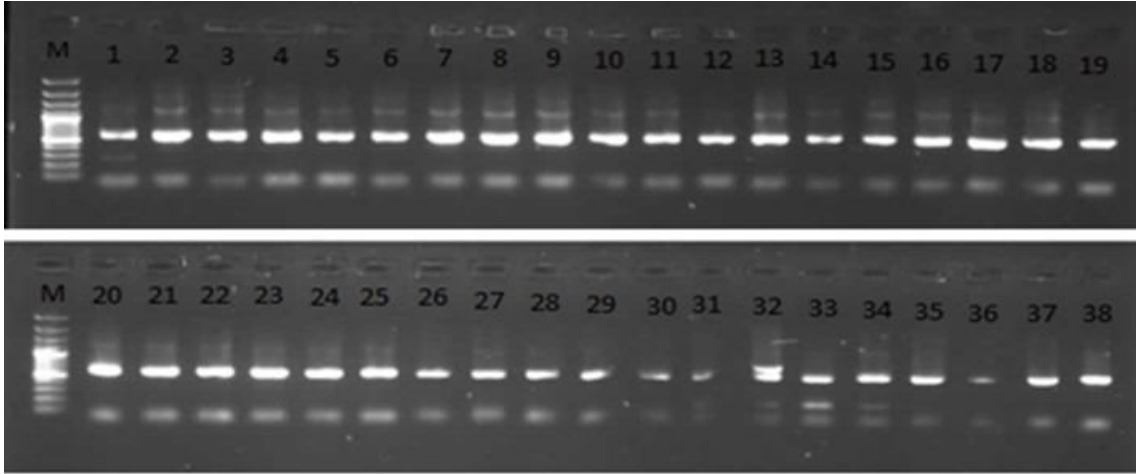
Şekil 5.18. İşletim süresi boyunca O₂-MBfR sisteminde HRT ve O₂ basıncına bağlı olarak oluşan parçalanma ürünlerinin değişimi

5.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Ekstraksiyonu yapılan numuneler hedeflenen gen bölgelerinin çoğaltılması amacıyla PCR işlemine tabi tutulmuştur. PCR işleminden sonra işlemin başarısını tespit etmek amacıyla PCR ürünleri agaroz jel içerisinde koşturulmuş ve ardından UV ışığı altında bakılarak çoğaltılmış olan PCR ürünleri tespit edilmiştir. Şekil 5.19’da nükleik asit ekstraksiyonu sonrasında yapılan PCR işlemine ait agaroz jel görüntüsü verilmiştir. Elde edilen agaroz jel görüntüsünde yapılan PCR işleminde hedeflenen genlerin tüm numunelerde çoğaldığı görülmektedir. Bu işlemde sonra elde edilen PCR ürünleri DGGE sisteminde akrilamid jel içerisine yüklenmiş ve elektrik akımı altında karışık DNA fragmentlerinin denatürant jel içerisinde ayrılması sağlanmıştır. Her bir türe özgü DNA parçalarının sahip olduğu G ve C bazlarının özelliğine bağlı olarak bu genlerin jel içerisinde ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen bu ayrılma sonrasında her bir kesilen numune için yapılan PCR ile çoğaltma işlemi Şekil 5.20’de kontrol edilmiştir.



Şekil 5.19. PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü



Şekil 5.20. DGGE bantları kesildikten sonra uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü

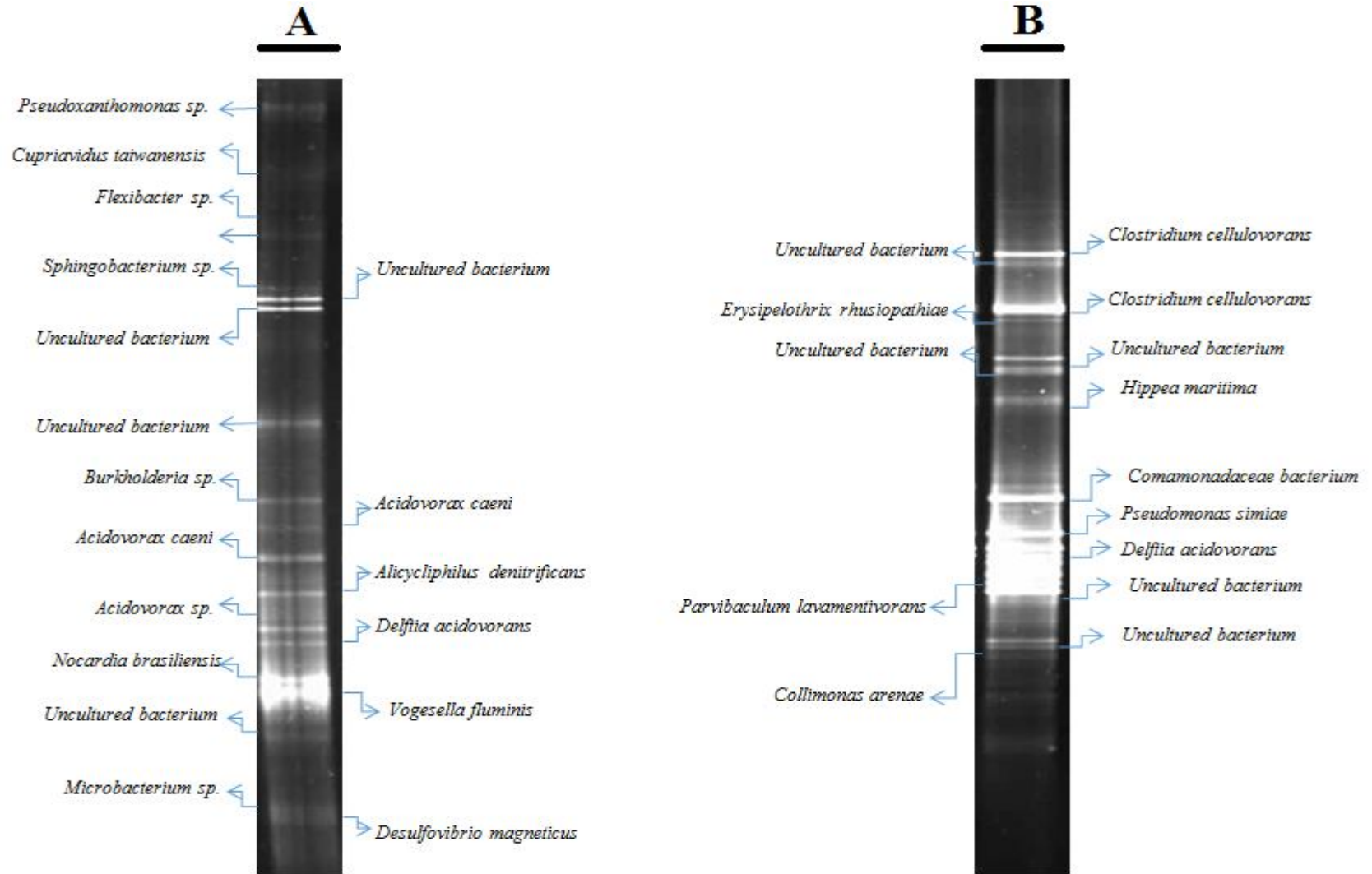
5.3.2. MBfR Reaktörlerindeki Baskın Türler

H₂-MBfR ve O₂-MBfR sistemlerinde DGGE bantların kesimi yapıldıktan sonra yapılan dizi analizi sonuçları, sekans dizilimlerinin gen bankası erişim numaraları ile eşleştirilmiştir. A ve B bandı H₂-MBfR sisteminde HRT 15 ve 2.5 st şartını temsil ederken, C ve D bantları O₂-MBfR sistemi için HRT 18 ve 5 st şartlarını temsil etmektedir. Bantları temsil eden organizma sınıfları Şekil 5.21 ve 5.22’de verilmiştir.

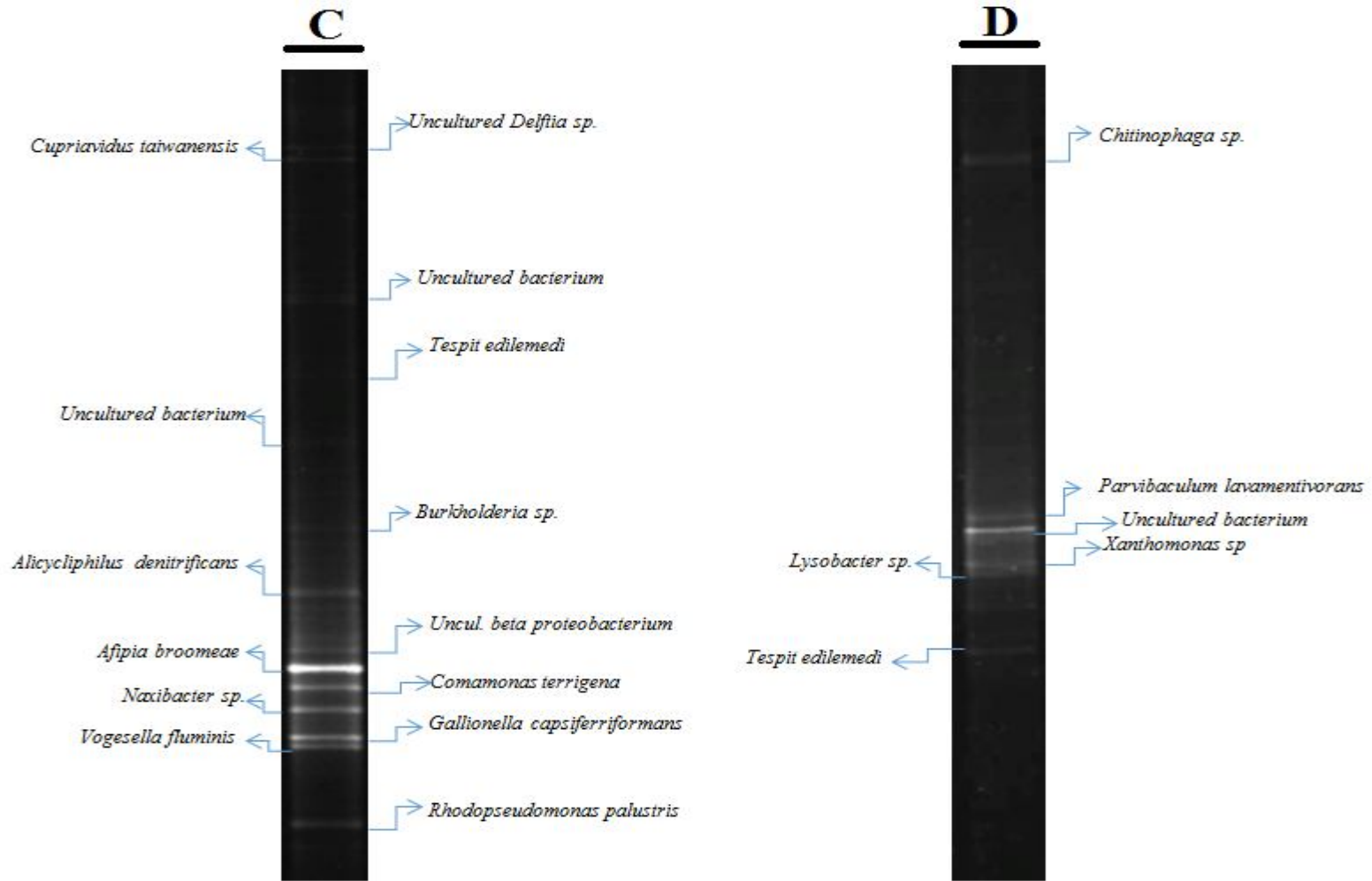
5.4. MBfR İle CTC Giderim Mekanizması

Optimize edilen şartlar altında H_2 ve O_2 gazı beslemeli MBfR'da CTC'nin sırasıyla % 89 ve % 67 oranında giderildiği tespit edilmiştir. Organik bileşikler biyolojik arıtma sistemlerinde ortam şartlarına bağlı olarak, oksidasyon ve redüksiyonla farklı yapılara dönüşebilmekte, karbon kaynağı olarak kullanılmakta veya adsorplanarak biyokütle bünyesine geçebilmektedir. Her iki ortamda MBfR ile CTC gideriminde bu mekanizmalardan hangisinin etkin olduğunu ortaya koymak yani giderim mekanizmasını açıklayabilmek amacıyla, sistematik deneylere ilaveten tez kapsamında bazı ek çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda;

1. H_2 ve O_2 etkisini yani redüksiyon/oksidasyon etkisini ortaya koymak amacıyla biyofilm içermeyen boş reaktörler kuruldu ve en yüksek verimlerinin elde edildiği gaz başınçlarında CTC ve parçalanma ürünlerinin takibi yapıldı. Yapılan bu çalışmada ana



Şekil 5.21. H₂-MBfR sisteminde HRT 15 ve 2.5 saat şartlarını temsil eden mikroorganizma sınıfları



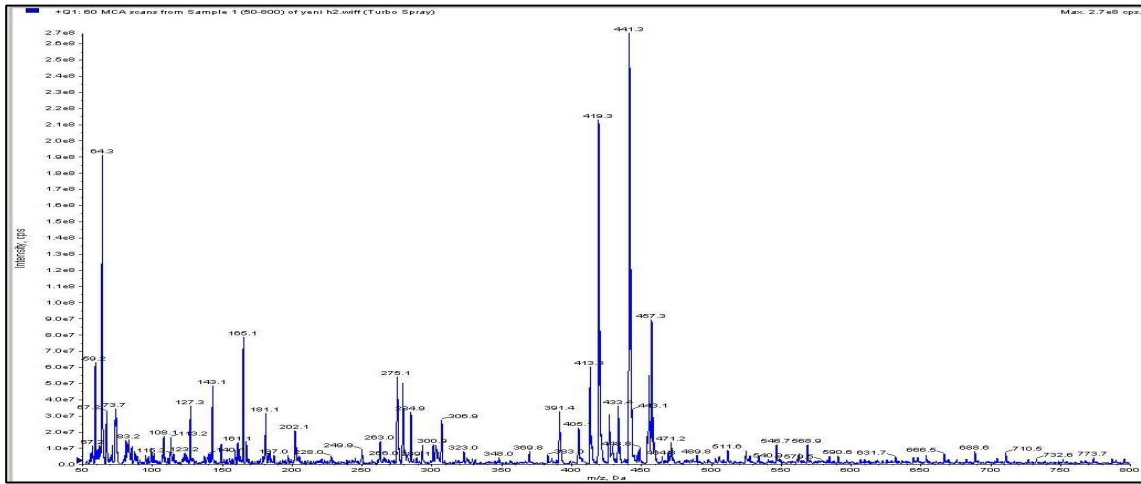
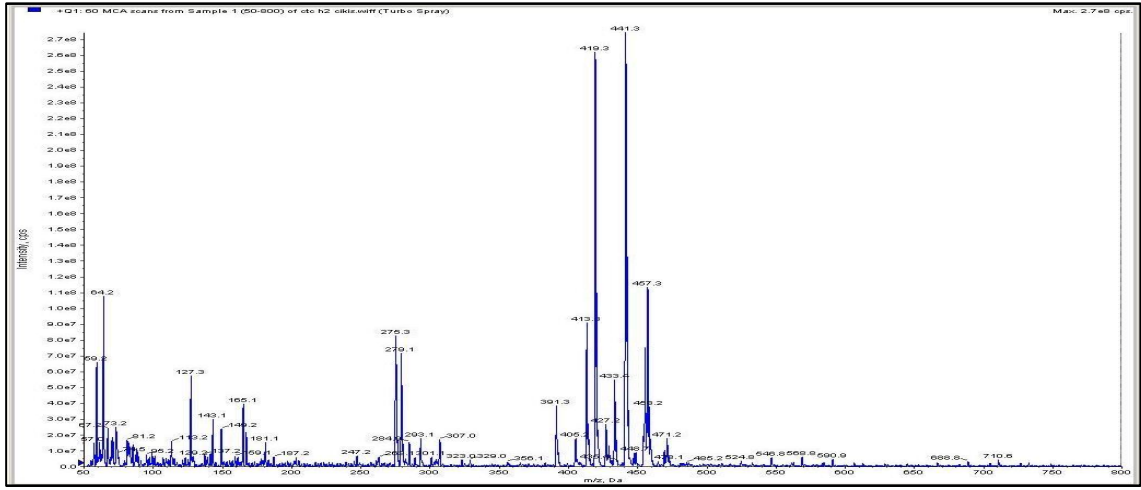
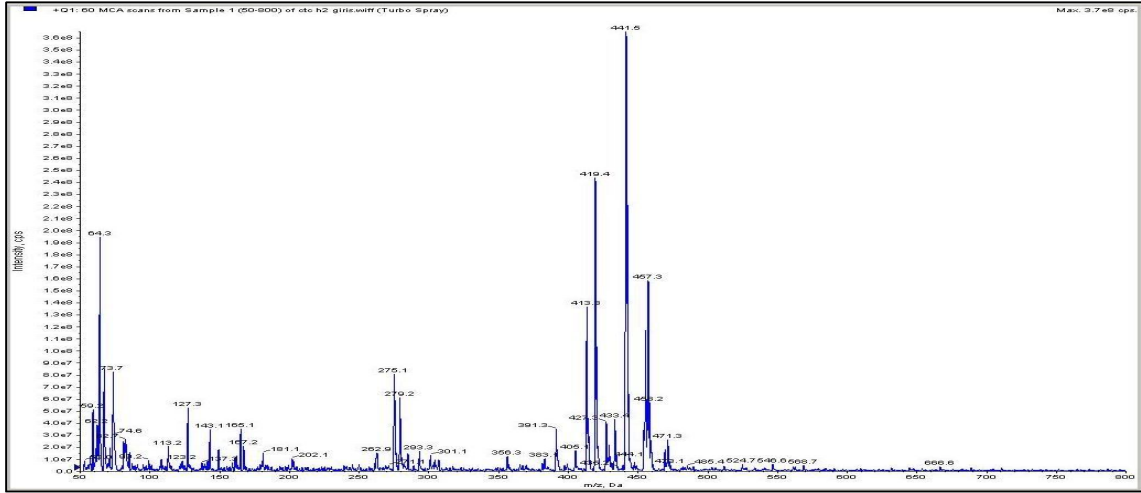
Şekil 5.22. O₂-MBfR sisteminde HRT 15 ve 2.5 saat şartlarını temsil eden mikroorganizma sınıfları

molekül CTC'nin ortam şartlarına bağlı olarak kısmen ECTC'ye dönüştüğü ve artan HRT ile konsantrasyonunun düştüğü tespit edildi. Bu sonuç, giderimin ortamdaki gazların türüne ve varlığına bağlı olmadığını ve giderimin farklı bir mekanizma üzerinden gerçekleştiği sonucunu doğurmuştur. İşletilen MBfR'larda gaz basıncına bağlı olarak CTC giderim verimlerinin değişmemesi de bu sonucu doğrulamaktadır.

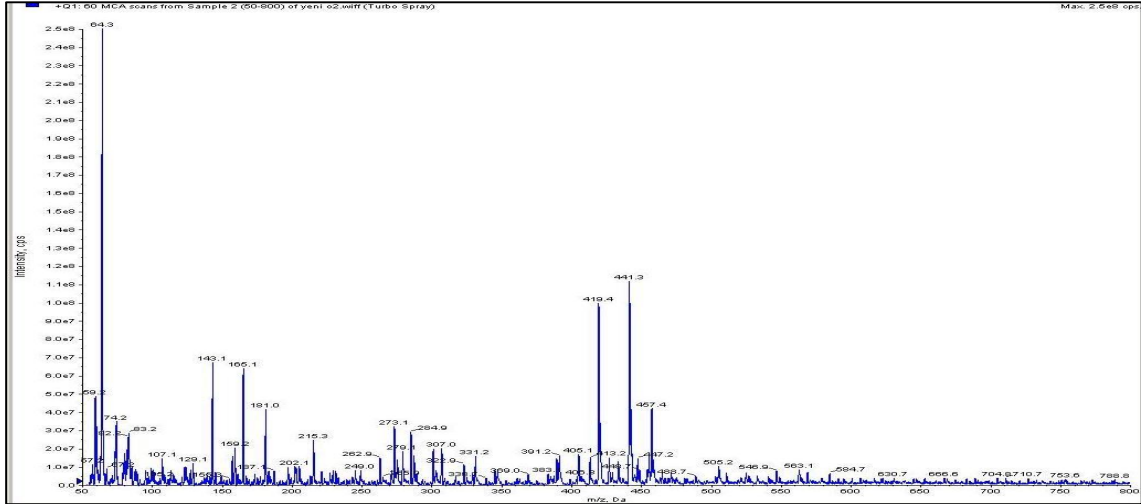
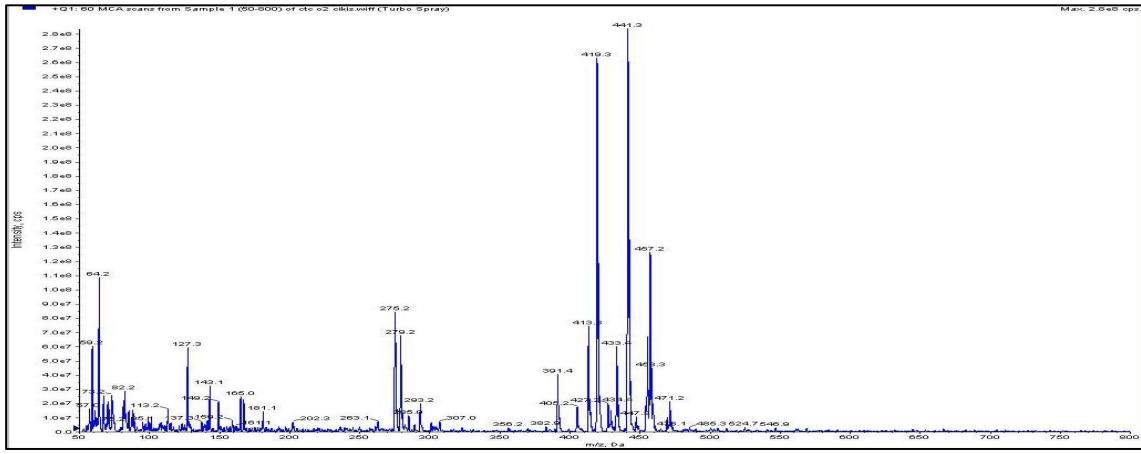
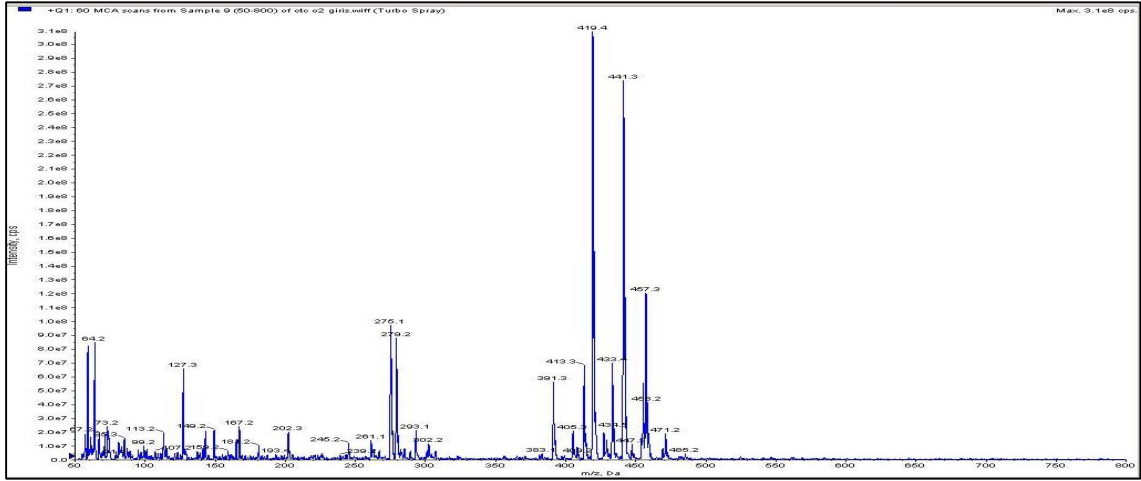
2. İşletilen MBfR'larda ortam şartlarına bağlı olarak CTC'nin biyolojik olarak parçalanıp parçalanmadığını ortaya koymak amacıyla da CTC beslenmeyen bir kontrol reaktörü kuruldu ve bu reaktör çıkışından alınan örneklerde mevcut biyokütlenin enzimatik faaliyetleri sonucunda ortama geçen moleküllerin m/z oranı 50-800 arası toplam iyon kromatogramları (TIC) LC-MS/MS ile alındı. Aynı işlem araştırmaların yapıldığı H₂ ve O₂'ye dayalı çalışılan MBfR'ların çıkış akımları için de alındı ve herbir ortam için CTC molekülündeki değişim ortaya koyulmaya çalışıldı. Alınan TIC'ler karşılaştırılmalı olarak Şekil 5.23 ve 5.24.'da görülmektedir. Biyofilmdeki enzimatik faaliyetler sonucunda ortama çok sayıda farklı molekül ağırlığına sahip bileşenlerin geçtiği tespit edilmiştir. Üst üste çakışan pikler ayrıldığında ise 479 molekül ağırlığına sahip CTC pikinin kaybolduğu yani giderildiği görülebilir (Şekil 5.23-5.24). Bu durum CTC'nin muhtemelen daha düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklere parçalandığı, biyokütle tarafından karbon kaynağı olarak kullanıldığı veya biyokütleyle adsorbe olduğunu düşündürmektedir. Yani kalitatif olarak tespit edilen bu durum, CTC giderim mekanizmasında biyolojik etkinin varlığını ortaya koymaktadır. İndirgen ve yükseltgen yani H₂ ve O₂ ortamlarında bir farkın görünmemesi ise biyolojik etkinin daha yüksek olduğu düşüncesini desteklemektedir.

3. Biyofilmin adsorptif etkisini ortaya koymak için de, her iki reaktörün biyofilminden örnekler alındı ve katı faz ekstraksiyon yöntemiyle CTC ekstraksiyonu yapıldı. Ekstrakte edilen örneklerde yapılan CTC ve parçalanma ürünleri analizleri sonrasında konsantrasyonlarının cihaz dedeksiyon limitlerinin altında, hatta yok denecek kadar düşük olduğu tespit edildi. Başlangıç CTC konsantrasyonu dikkate alındığında, biyofilme olan adsorpsiyonun olmadığı söylenebilir.

MBfR ile CTC giderim mekanizmasını ortaya koymak amacıyla yapılan bu çalışmalarla; biyokütlenin CTC molekülünü daha çok bir karbon kaynağı olarak kullandığı, başlangıçta farklı moleküllere dönüştürerek biyolojik olarak parçaladığı söylenebilir



Şekil 5.23. CTC giderimi için H_2 ' ye dayalı olarak işletilen MBfR'ların giriş-çıkış akımlarında ve kontrol reaktörlerinin çıkış akımlarında bulunan bileşenlere ait toplam iyon kromatogramlarının karşılaştırılması



Şekil 5.24. CTC giderimi için O_2 ' ye dayalı olarak işletilen MBfR'ların giriş-çıkış akımlarında ve kontrol reaktörlerinin çıkış akımlarında bulunan bileşenlere ait toplam iyon kromatogramlarının karşılaştırılması

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada hem hidrojen hem de oksijen temelli toplam 4 adet membran biyofilm reaktörü denitrifikasyon ve nitrifikasyon özelinde tetrasiklin grubu CTC antibiyotiğini gidermek için kullanılmıştır. CTC antibiyotiğinin elektron alıcı ve verici potansiyeli veya bir başka deyişle oksidasyon veya redüksiyon potansiyelleri kıyaslanmıştır.

CTC beslemeli H₂-MBfR sisteminde; % 100' e yakın nitrat, % 100' e yakın CTC giderim verimleri elde edilirken, maksimum nitrat ve CTC akılarının sırasıyla 5760 mg/m².gün ve 78.12 mg/m².gün olarak belirlenmiştir. CTC beslemeli O₂-MBfR sisteminde ise; %100' e yakın amonyum, % 60-70 arasında CTC giderim verimleri ve paralelinde sırasıyla maximum, 1563 mg/m².gün, 4.7 mg/m².gün olarak çalışma sonunda belirlenmiştir.

MBfR'nde, eş zamanlı CTC ve azotlu kirleticilerin indirgenmesinde ve yükseltgenmesinde, doğrudan HRT' nin etkili olduğu çalışma sürecinde ve sonunda belirlenmiştir.

NO₃-N ve NH₄-N giderimi; uygulanan şartlardan ve eş zamanlı giderimi sağlanan CTC yükleme oranından pek fazla etkilenmediği çalışma sürecinde ve sonunda gözlenmiştir.

Çalışmanın sonunda optimize edilen şartlar; H₂-MBfR'ü için 5 st alıkonma süresi ve 2 psi H₂ gaz basıncı, O₂-MBfR'ü için ise 18 st alıkonma süresi ve 6 psi O₂ gaz basıncı olarak çalışma sonunda belirlenmiştir.

CTC biyo-indirgenmesi ve yükseltgenmesi sırasında oluşabilecek dominant parçalanma ürünleride incelenmiş olup, bunlar sırasıyla; 4-EpiCTC (ECTC), AnhidroCTC (ACTC) ve 4-EpianhidroCTC (EACTC) şeklinde belirlenmiştir. Her iki ortamda da en fazla ECTC molekülü oluşurken, en az EACTC molekülü oluşmuştur.

H₂- MBfR sisteminde CTC antibiyotiği varlığında yapılan çalışmalardan elde edilen süreçte reaktörlerde mikrobiyal türleri temsi eden mikroorganizma sınıflarının önemli bir yüzdesinin *Uncultured bacterium* olduğu belirlenmiştir.

O₂-MBfR sistemi için ise *Betaproteobacteria ve environmental samples* grubundaki bakterilerilerin baskın olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, H₂ esaslı MBfR ve O₂ esaslı MBfR sistemleri kıyaslandığında, H₂ temelli MBfR sistemlerinin O₂ temelli MBfR sistemlerine nazaran tetrasiklin grubu antibiyotik bileşiklerinin gideriminde daha etkin olduğu görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

- Adams Hr.**, 2001. Veterinary pharmacology and therapeutics, 8th Edition, Iowa State University Press, South State Avenue, Ames, Iowa
- Adams, C., Asce, M., Wang, Y., Loftin, K. and Meyer, M.**, 2002, Removal of antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes, J. Environ.Eng., 128, 253–260 pp.
- Ai, C., Zhou, D., Wang, Q., Shao, X., Lei, Y.**, 2015. Optimization of operating parameters for photocatalytic degradation of tetracycline using In₂S₃ under natural solar radiation, Solar Energy. 113, 34-42.
- Alaton, A.İ., Gürses, F.**, 2003. Antibiyotik Formülasyonu Atıksularının Kimyasal Oksidasyon Yöntemleriyle Arıtılabilirliği II : Fenton ve Foto-fenton Oksidasyonu, Üniversite Öğrencileri Çevre Sorunları Konferansı, 14-16 Nisan, İstanbul, Türkiye.
- Alaton, A.İ., Gürses, F.**, 2004b. Penisilin Prokain G Antibiyotik Formülasyon Atıksuyunun Fenton- Benzeri ve Foto-Fenton-Benzeri İleri Oksidasyon Prosesleri ile Arıtılabilirliğinin İncelenmesi. SKKD. 14, 11-16.
- Alexy, R., Kümpel T., Kümmerer, K.**, 2004 Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test, Chemosphere 57, 505–512.
- Andreozzi, R., Canterino, M., Marotta, R., Paxeus, N.**, 2005. Antibiotic removal from wastewaters: the ozonation of amoxicillin. J. Hazard. Mater. 122, 243e250.
- Andreozzi, R., Caprio, V., Insola, A., Marotta, R.**, 1999. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. Catal. Today 53, 51e59.
- Badawy, M.I., Wahaab, R.A. ve El-Kalliny, A.S.**, 2009. Fenton-biological treatment processes for the removal of some pharmaceuticals from industrial wastewater. J. Hazard. Mater., 15, 567–574.
- Barnhart, J.**, 1997. Occurrences, uses and properties of chromium. Regul. Toxicol. Pharmacol. 26 (1), s3–s7.
- Benitez, J., Acero, J.L., Real, F.J. ve Roldan, G.**, 2009. Ozonation of pharmaceutical compounds: rate constants and elimination in various water matrices. Chemosphere, 77, 53–59.

- Blaise, C., Gagné, F., Eullaffroy, P., 2006.** Férard JF., Ecotoxicity of selected pharmaceuticals of urban origin discharged to the Saint-Lawrence River (Quebec, Canada): a review. *Braz J Aquat Sci Tech* 10(2):29–51.
- Boxall, A., Blackwell, P., Cavallo, R., Kay, P., Tolls, J., 2002.** The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. *Toxicology Letters*, 131: 19-28
- Boxall, A., Fogg, L. A., Baird, D. J., Lewis C., Telfer, T. C., Kolpin, D., Gravell, A., 2005.** Targeted monitoring study for veterinary medicines in the UK environment. Final Report to the UK Environmental Agency.
- Boyd, G. R., Reemtsma, H., Grimm, D. A., Mitra, S., 2003.** Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Surface and Treated Waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Sci. Total Environ.* 311: 135-149.
- Boyd, G.R., Reemtsma, H., Grimm, D.A., Mitra, S., 2003.** Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Surface and Treated Waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Sci. Total Environ.* 311: 135-149.
- Brun, Gl., Bernier, M., Losier, R., Doe, K., Jackman, P., Lee, Hb. 2006** Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity. *Environ Toxicol Chem* 25 (8):2163–76.
- Calza, P., Sakkas, V.A., Medana, C., Baiocchi, C., Dimou, A., Pelizzetti, E. ve Albanis, T., 2006.** Photocatalytic degradation study of diclofenac over aqueous TiO₂ suspensions. *Appl. Catal. B-Environ.*, 67, 197–205.
- Cass, Q.B., Gomes, R.F., Calafatti, S.A., Pedrazolli, Jr. J., 2003.** Determination of amoxycillin in human plasma by direct injection and coupled-column high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 987, 235-241.
- Chu, P., 2006.** Technical Manual: Guidance for Assessing Wastewater Impacts of FGD Scrubbers (EPRI Report 1013313). Electric Power Research Institute, Palo Alto, CA, USA.
- Chung, J., Nerenberg, R., Rittmann, B.E., 2006.** Rittmann Bio-reduction of soluble chromate using a hydrogen-based membrane biofilm reactor. *Water Research* (40) 1634 – 1642

- Chung, J., Nerenberg, R., Rittmann, B.E., 2007a.** Simultaneous biological reduction of nitrate and perchlorate in brine water using the hydrogen-based membrane biofilm reactor, *Journal of Environmental Engineering*. 133, 157–164.
- Chung, J., Rittmann, B.E., 2007.** Bio-reductive dechlorination of 1,1,1-trichloroethane and chloroform using a hydrogen-based membrane biofilm reactor, *Biotechnology and Bioengineering*. 97, 52–60.
- Chung, J., Rittmann, B.E., Wright, W.F., Bowman, R.H., 2007b.** Simultaneous bio reduction of nitrate, perchlorate, selenate, chromate, arsenate, and dibromochloropropane using a hydrogen-based membrane biofilm reactor. *Biodegradation* 18, 199–209.
- Coyne R, Hiney M, O’Conner B, Cazabon D, Smith P., 1994.** Concentration and persistence of oxytetracycline in sediments under a marine salmon farm. *Aquaculture*, 123:31-42
- Çaglayan, E., Huntgeburth, M., Karasch, T., Weihrauch, J., Hunzelmann, N., Krieg, T., Rosenkranz, S., 2006.** Phosphodiesterase type 5 inhibition is a novel therapeutic option in Raynaud disease. *Archives of internal medicine*, 166(2), 231-233.
- Daghrir, R., Drogui, P., Ka, I., 2012.** Photoelectrocatalytic degradation of chlortetracycline using Ti/TiO₂ nanostructured electrodes deposited by means of a Pulsed Laser Deposition process, *Journal of Hazardous Materials*, 199, 15-24
- Daughton C. G. ve Ternes T. A., 1999,** Pharmaceuticals and personal care products in the environment : Agents of subtle change?, *Environmental Health Perspectives Supplements*, Volume 107, Number 56, 907 – 938.
- Demirden, P., 2005.** Treatability of pharmaceutical industry wastewaters containing antibiotic in anaerobic/aerobic sequential processes, Ph-thesis, İzmir.
- Deng, Y., Zhang, Y., Gao, Y., Li, D., Liu, R., Liu, M., Yang, M., 2011.** Microbial community compositional analysis for series reactors treating high level antibiotic wastewater. *Environmental science & technology*, 46(2), 795-801.
- Dietrich D. R., Webb S. F., Petry T., 2002,** Hot spot pollutants : Pharmaceuticals in the environment, *Toxicology Letters*
- Dragun, J., 1988.** Element fixation in soil. In: *The Soil Chemistry of Hazardous Materials*. Hazardous Materials Control Research Institute, Greenbelt, MD, pp. 75–152.

- E-RE Mojica and DS Aga**, 2011. University at Buffalo, Buffalo, NY, USA & Elsevier B.V. All rights reserved.
- Ergas, S.J., Reuss, A.F.**, 2001. Hydrogenotrophic denitrification of drinking water using a hollow fibre membrane bioreactor. *Journal of Water Supply: Research and Technology AQUA* 50, 161–171
- Fent, K., Weston, AA., Caminada, D.**, 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol.* 76, 122–59.
- Fountoulakis, M.S., Stamatelatou, K., Lyberatos, G.**, 2008. The effect of pharmaceuticals on the kinetics of methanogenesis and acetogenesis. *Bioresource technology*, 99(15), 7083-7090.
- Fujita, M., Ike, M., Kashiwa, M., Hashimoto, R., & Soda, S.**, 2002. Laboratory-scale continuous reactor for soluble selenium removal using selenate-reducing bacterium, *Bacillus* sp. SF-1. *Biotechnology and bioengineering*, 80(7), 755-761.
- Gagné .F., Blaise, C., André, C.**, 2006. Occurrence of Pharmaceutical Products in A Municipal Effluent and Toxicity to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Hepa Tocytes. *Ecotox. Environ. Safety* 64: 329-336
- Gautam, A.K., Kumar, S., Sabumon, P.C.**, 2007. Preliminary Study of Physico-Chemical Treatment Options for Hospital Wastewater. *Journal of Environmental Management*.83, 298- 306
- Gilbertson Tj., Hornish Re, Jaglan Ps, Koshy Kt, Nappier Jl, Stahl Gl, Cazers Ar, Napplier Jm, Kubicek Mf, Hoffman Ga, Hamlow Pj.**, 1990 Environmental fate of ceftiofur sodium, a cephalosporin antibiotic. Role of animal excreta in its decomposition. *Journal of Agricultural Food Chemistry*,38:890-894
- Gomez-Pacheco, C. V., Sanchez-Polo, M., Rivera-Utrilla, J.**, 2012. Tetracycline degradation in aqueous phase by ultraviolet radiation, *Chemical Engineering Journal*, 187, 89-95
- Gómez-Pacheco, C. V., Sánchez-Polo, M., Rivera-Utrilla, J., López-Peñalver, J.**, 2011. Tetracycline removal from waters by integrated technologies based on ozonation and biodegradation. *Chemical Engineering Journal*, 178, 115-121.
- Grossl, P.R., Eick, M., Sparks, D.L., Goldberg, S., Ainsworth, C.C.**, 1997. Arsenate and chromate retention mechanisms on goethite. 2. Kinetic evaluation using a pressure-jump relaxation technique. *Environ. Sci. Technol.* 31, 321–326.

- Gulkowska, A., Leung, H.W., So, M.K., Taniyasu, S., Yamashita, N., Yeung, L.W.Y., Richardson, B.J., Lei, A.P., Giesy, J.P., Lam, P.K.S.** 2008, Removal of Antibiotics from Wastewater by Sewage Treatment Facilities in Hong Kong and Shenzhen, China. *Water Research*. 42, 395- 403
- Halling-Sorensen B, Sengelov G, Ingerslev F, Jensen Lb.,** 2003. Reduced Antimicrobial Potencies of Oxytetracycline, Tylosin, SDZ, Streptomycin, Ciprofloxacin, and Olaquinox due to Environmental Processes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44:7–16
- Halling-Sorensen B, Sengelov G, Tjornelund J.,** 2002. Toxicity of Tetracyclines and Tetracycline Degradation Products to Environmentally Relevant Bacteria, Including Selected Tetracycline-Resistant Bacteria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42:263–271,
- Halling-Sorensen B.,** 2000. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming. *Chemosphere*, 40:731-739
- Halling-Sorensen Bh, Nielsen Sn, Jensen J.,** 2002. Environmental Assessment of Veterinary Medicinal Products in Denmark. *Environmental Project No.659*
- Halling – Sorensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Lützhof H.C., Jorgensen S. E.,** 1998, Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A Review, *Chemosphere*, Vol. 36, No.2, 357 – 393.
- Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., Nau, H.,** 2002, Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, 74, 1509–1518 pp.
- Hanay, Ö., Türk, H.,** 2015. Comprehensive evaluation of adsorption and degradation of tetracycline and oxytetracycline by nanoscale zero-valent iron. *Desalination and Water Treatment*, 53(7), 1986-1994.
- Hasar H., Siqing Xia, Chang Hoon Ahn, Bruce E. Rittmann,** 2008. Simultaneous removal of organic matter and nitrogen compounds by an aerobic/anoxic membrane biofilm reactor *Water Research*, 42 - 4109 – 4116
- Hasar, H.,** 2009. Simultaneous removal of organic matter and nitrogen compounds by combining a membrane bioreactor and a membrane biofilm reactor. *Bioresource Technology* 100, 2699-2705.

- Hasar, H., Karatas, S., Taskan, E., Sahinkaya, E., Ozkaya, B., Rittmann B.E., 2011.** Microbial communities in sequencing dehalogenation steps of PCE to Ethane by H₂-based Membrane Biofilm Reactor
- Heberer, T., 2002.** Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data, *Toxicology Letters*, 131, 5–17.
- Hektoen H, Berge Ja, Hormazabal V, Yndestad M., 1995.** Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture*, 133:175-184
- Henschel, K. P., Wenzel A., Diedrich, M., Flöder, A., 1997.** Environmental Hazard Assessment of Pharmaceuticals, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 220- 225.
- Hindmarsh, J.T., 2000.** Arsenic, its clinical and environmental significance. *J. Trace Elem. Exp. Med.* 13, 165–172.
- Hindmarsh, J.T., McCurdy, R.F., 1986.** Clinical and environmental aspects of arsenic toxicity. *Crit. Rev. Cl. Lab. Sci.* 23, 315–347.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K. and Kratz, K.L., 1999,** Occurrence of antibiotics in the aquatic environment, *Sci. Total Environ.*, 225, 109–118 pp.
- Homem, V., Santos, L., 2011.** Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – a review. *Journal of Environmental Management*
- Hoseini, M., Safari, G.H., Kamani, H., Jaafari, J., Ghanbarain, M., Mahvi, A.H., 2013.** Sonocatalytic degradation of tetracycline antibiotic in aqueous solution by sonocatalysis, *Toxicological and Environmental Chemistry*. 95, 1680-1689.
- Ivashechkin, P., Corvini, P., Fahrbach, M., Hollender, J., Komietzko, M., Meesters, R., Schroder, H.F., Dohmann, M., 2004.** Comparison of the Elimination of Endocrine Disrupters in Conventional Wastewater Treatment Plants and Membrane Bioreactors. In: *Conference Proceedings of the Second IWA Leading-Edge Conference on Water and Wastewater Treatment Technologies*, 1-4 June 2004, Prague, Czech Republic.
- Jacobsen P, Berghnd L., 1998.** Persistence of oxytetracycline in sediments from fish farms. *Aquaculture*, 70:365-370, 92
- Jain, C.K., Ali, I., 2000.** Arsenic: occurrence, toxicity, and speciation techniques. *Water Res.* 34, 4304–4312.
- Karaalp D., 2010,** İleri Oksidasyon Prosesleri İle Bazı Farmasötiklerin Parçalanmasının İncelenmesi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*

- Kay P, Blackwell Pa, Boxall Aba.,** 2004. Fate of veterinary antibiotics in a macroporous tile drained clay soil. *Environmental Toxicology Chemistry*, 23(5):1136–1144.
- Kay P., Blackwell P. A., Boxall A. B. A.,** 2005. Transport of veterinary antibiotics in overland flow following the application of slurry to arable land. *Chemosphere* 59, 951-959.
- Kayaalp, S.O.,** 1998. Tıbbi Farmakoloji, 1. Cilt, Hacettepe Taş Yayınları, Ankara, 8. Basım, S:248-254.
- Kim Y., Choi K., Jung J., Park P.G., Park J.,** 2007. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environment International*, 33, 370–375.
- Kim, I., Yamashita, N. ve Tanaka, H.,** 2009. Performance of UV and UV/H₂O₂ processes for the removal of pharmaceuticals detected in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan. *J. Hazard. Mater.*, 166, 1134–1140.
- Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Buxton H.T.,** 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000 : A national reconnaissance, *Environmental Science Technology*, 36, 1202 – 1211.
- Komori, K.A., Rivas, A., Toda, K., Ohtake, H.,** 1990. A method for removal of toxic chromium using dialysis-sac cultures of a chlomite-reducing strain of *Enterobacter cloacae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 33 (1), 117–119
- Kulik, N., Trapido, M., Goi, A., Veressinina, Y. ve Munter, Y.,** 2008. Combined chemical treatment of pharmaceutical effluents from medical ointment production. *Chemosphere*, 70, 1525–1531. -290.
- Kulshrestha P., Rossman Jfg., Aga D.,** 2004. Investigating the molecular interactions of oxytetracycline in clay and organic matter: insights on factors affecting its mobility in soil. *Environmental Science & Technology*, 38:4097–4105
- Kumar, A., Ergas, S.J., Yuan, X., Fitch, M., Min, K.-N., Dewulf, J., Van, H.,** 2010a. Langenhove Modeling of a hollow fiber membrane biofilm reactor for nitric oxide removal: model development and experimental validation *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85 , pp. 423–428
- Kumar, A., Ergas, S.J., Yuan, X., Fitch, M., Min, K.-N., Dewulf, J., Van, H.,** 2010b. Langenhove Model of a polyethylene microporous hollow-fiber membrane

- biofilm reactor inoculated with *Pseudomonas putida* strain To1 1A for gaseous toluene removal *Bioresource Technology*, 101 , pp. 2180–2184
- Kumar, S., Upadhyay, S.N., Upadhyay, Y.D.**, 1987. Removal of Phenols by Adsorption on Fly Ash., *J.Chem. Tech. Biotechnol.*, 37: 281
- Kümmerer K, Alexy R, Hüttig J, Schöll A.**, 2004. Standardized tests fail to assess the effects of antibiotics on environmental bacteria. *Water Research*, 38:2111–2116
- Kümmerer K.**, 2002. Introduction : Pharmaceuticals in the environment- Chapter 1; Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) as environmental pollutants, EPA, <http://www.epa.gov/esd/chemistry/pharma/kummer/intro.pdf>
- Kümmerer K.**, 2004. Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54:311–320
- Kümmerer, K., Al-Ahmad, A.**, 1997. Biodegradability of the Anti-Tumour Agents 5-Fluorouracil, Cytarabine and Gemcitabine:Impact of the Chemical Structure and Synergistic Toxicity with Hospital Effluent, *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 25:166-172.
- Kümmerer, K., Al-Ahmad, A., Mersch-Sundermann, V.**, 2000. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test, *Chemosphere*, 40, 701-710.
- Lee, K.C., Rittmann, B.E.**, 2000. A novel hollow fiber membranebiofilm reactor for autohydrogenotrophic denitrification of drinking water. *Water Science and Technology* 41 (4–5),219–226.
- Lee, K.C., Rittmann, B.E.**, 2002. Applying a novel autohydrogenotrophic hollow fiber membrane biofilm reactor for denitrification of drinking water. *Water Research* 36, 2040–2052
- Lee, K.C., Rittmann, B.E.**, 2003. Effect of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow fiber membrane biofilm reactor. *Water Research* 37, 1551–1556.
- Leonard, A.**, 1991. Arsenic. In: Merian, E. (Ed.), *Metals and their Compounds in the Environments, Occurrence, Analysis, and Biological Relevance*, second ed. VCH, Weinheim, pp. 751–774.

- Liguoro, M.D., Poltronieri C, Capolongo, F., Montesissa C.,** 2007. Use of sulfadimethoxine in intensive calf farming: evaluation of transfer to stable manure and soil. *Chemosphere*, 68:671-676.
- Li, B., Zhang, T.,** 2013. Different removal behaviours of multiple trace antibiotics in municipal wastewater chlorination, *Water Research*. 47, 2970-2982.
- Li, D., Yang M., Hu J., Ren L., Zhang Y., Chang H., Li K.,** 2008a. Determination and fate of oxytetracycline and related compounds in oxytetracycline production wastewater and the receiving river. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 80–86.
- Li, D., Yang M., Hu J., Zhang Y., Chang H., Jin F.,** 2008b. Determination of penicillin G and its degradation products in a penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. *Water Res.* 42, 307–317.
- Li, X., Shi, H., Li, K., Zhang, L.,** 2015. Combined process of biofiltration and ozone oxidation as an advanced treatment process for wastewater reuse, *Frontiers of Environmental Science and Engineering*. DOI 10.1007/s11783-015-0770-5. In press.
- Lindsey, M.E., Meyer, M., Thurman, E.M.,** 2001. Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials, in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, 73, 4640–4646 pp.
- Lovley, D.R., Coates, J.D.,** 1997. Bioremediation of metal contamination. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8 (3), 285–289.
- Lu, F.J., Hsieh, H.P., Yamauchi, H., Yamamura, Y.,** 1991. Fluorescent humic substrates-arsenic complex in well water in areas where blackfoot disease is endemic in Taiwan. *Appl. Organomet. Chem.* 5, 507–512.
- Marsh, T.L., McInerney, M.J.,** 2001. Relationship of hydrogen bioavailability to chromate and reduction in aquifer sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (4), 1517–1521.P
- Martin, K.J., Nerenberg, R.,** 2012. The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment: Principles, applications, and recent developments, *Bioresource Technology*, pp. 83–94
- Martinez, J.L.,** 2008. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science* 321 (5887), 365–367.

- Mateu E, Martín M.**, 2001. Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? *Journal of Veterinary Medicine B*, 48:569-581
- Metcalf and Eddy**, 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. George Tchobanoglous, Franklin I. Burton (editor), H. David Stensel, New York , McGraw-Hill Pub., 1819s.
- Nerenberg, R., Rittmann, B.E.**, 2004. Hydrogen-based, hollow-fiber membrane biofilm reactor for reduction of perchlorate and other oxidized contaminants, *Water Sci. Technol.: Water Supply*, 49, 223-230.
- Nerenberg, R., Rittmann, B.E., Najm, I.**, 2002. Perchlorate reduction in a hydrogen-based membrane-biofilm reactor. *J. Am. Water Works Assoc.* 94 (11), 103–114.
- Oka H, Ikaï Y, Kawamura N, Yamada M, Harada K, Ito S, Suzuki M.**, 1989. Otodecomposition products of tetracycline in aqueous solution. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 37(1):226-231
- Oremland, R.S.**, 1989. Hollibaugh, J.T., Maest, A.S., Presser, T.S., Miller, L.G., Culbertson, C.W., Selenate reduction to elemental selenium by anaerobic bacteria in sediments and culture: biogeochemical significance of a novel, sulfate-independent respiration. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (9), 2333–2343.
- Palmer, C.D., Wittbrodt, P.R.**, 1991. Processes affecting the remediation of chromium-contaminant sites. *Environ. Health Persp.* 92 (1), 25–40.
- Peirez-Estrada, L.A., Maldonado, M.I., Gernjak, W., Aguera, A., Fernaindez- Alba, A.R., Ballesteros, M.M. ve Malato, S.**, 2005. Decomposition of diclofenac by solar driven photocatalysis at pilot plant scale. *Catal. Today*, 101, 219–226.
- Pereira, V.J., Linden, K.G. ve Weinberg, H.S.**, 2007. Evaluation of UV irradiation for photolytic and oxidative degradation of pharmaceutical compounds in water. *Water Res.*, 41, 4413–4423.
- Qiang, Z., Adams, C., Surampalli, R.**, 2004. Determination of ozonation rate constants for Lincomycin and Spectinomycin. *Ozone Sci. Eng.* 26, 525e537
- Quinn, B., Gagné, F., Blaise, C.**, 2008. The effects of pharmaceuticals on the regeneration of the cnidarian, *Hydra attenuata*, *Science of the Total Environment*. 402, 62 – 69.

- Ravina, M., Campanella, L., Kiwi, J.,** 2002. Accelerated mineralization of the drug Diclofenac via Fenton reactions in a concentric photo-reactor *Water Res.*, 36 pp. 3553–3560
- Reddersen K., Heberer T., Dünnebier U.,** 2002. Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground-and drinking water, *Chemosphere*, 49, 539 – 544
- Rittmann, B.E.,** 2006. The membrane biofilm reactor: the natural partnership of membranes and biofilm. *Water Science and Technology* 53 (3), 219–226.
- Rittmann, B.E.,** 2007. The membrane biofilm reactor is a versatile platform for water and wastewater treatment. *Environmental Engineering Research* 12 (4), 157–175.
- Rittmann, B.E., Nerenberg, R., Lee, K.C., Najm, I., Gillogy, T.E., Lehman, G.E., Adham, S.S.,** 2004. Hydrogen-based hollow-fiber membrane biofilm reactor (MBfR) for removing oxidized contaminants. *Water Supply* 4, 127–133
- Roefler, P., Synder, S., Zegers, R.E., Rexing, D.J., And Fronk, J.L.,** 2000. Endocrine-Disrupting Chemicals in A source Water, *Journal of AWWA*, 92(8): 52-58
- Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H.J., Blankenhorn, I.,** 2001. Pharmaceuticals in Groundwaters. Analytical Methods and Results of A Monitoring Program in Baden-Württemberg, Germany. *J. Chromatogr., A* 938: 199-210.
- Samuelsen Ob.,** 1989. Degradation of oxytetracycline in seawater at two different temperatures and light intensities, and the persistence of oxytetracycline in the sediment from a fish farm. *Aquaculture*, 83:7-16
- Sanderson H., Ingerslev F., Brain R.A., H.Sorensen B., Bestari J.K., Wilson C.J., Johnson D.J., Solomon K.R.,** 2005. Dissipation of oxytetracycline, chlortetracycline, tetracycline and doxycycline using HPLC-UV and LC/MS/MS under aquatic semi-field microcosm conditions. *Chemosphere*, 60, 619-629.
- Sarmah Ak, Meyer Mt, Boxall Aba.,** 2006. global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 65:725-759
- Sebastian, N.S., Fernandez, J.F., Segura, X.F. ve Ferrer, A.S.,** 2003. Pre-oxidation of an extremely polluted industrial wastewater by the Fenton's reagent. *J. Hazard. Mater.*, B 101, 315–322.

- Sengelov G, Agerso Y, Halling-Sorensen B, Baloda Sb, Andersen Js, Jensen Lb.,**2003. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environment International*, 28:587–595
- Shi, Y.J., Wang, X.H., Qi, Z.,** 2011. Sorption and biodegradation of tetracycline by nitrifying granules and the toxicity of tetracycline on granules, *Journal of Hazardous Materials*, 191, 103-109.
- Shin, J.H., Sang, B.I., Chung, Y.C., Choung, Y.K.,** 2005a. Feasibility study on the removal of nitrous compounds with a hollow fiber membrane biofilm reactor. *Water Science and Technology* 51 (6–7), 365–371.
- Sithole, B.B., Guy, R.G.,** 1987. Models for tetracycline in aquatic environments. *Water, Air, Soil Pollution*, 32:315–321
- Sithole, B.B., Guy, R.G.,** 1987. Models for tetracycline in aquatic environments. *Water, Air, Soil Pollution*, 32:315–321,
- Smedley, P.L., Kinniburgh, D.G.,** 2002. A review of the sources, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.* 17, 517– 568.
- Søeborg, T., Ingerslev, F., Halling-Sørensen, B.,** 2004. Chemical stability of chlortetracycline and chlortetracycline degradation products and epimers in soil interstitial water. *Chemosphere*, 57(10), 1515-1524.
- Stricker, A.-E., Lossing, H., Gibson, J.H., Hong, Y., Urbanic, J.C.,** 2011. Pilot scale testing of a new configuration of the membrane aerated biofilm reactor (MABR) to treat high-strength industrial sewage *Water Environment Research*, 83 (1), pp. 3–14
- Taşkan, E.,** 2013. Mikrobiyal Yakıt Hücrelerinde Farklı Kirleticilere Göre Elektrik Üretim Kapasitesi ve Mikrobiyal Tür Değişiminin İncelenmesi, Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ
- Tekin, H., Bilkay, O., Ataberk, S.S., Balta, T.H., Ceribasi, H., Sanin, F.D., Dilek, F.B., Yetis, U.,** 2006. Use of Fenton oxidation to improve the biodegradability of a pharmaceutical wastewater. *J. Hazard. Mater., B* 136, 258–265.
- Ternes T.A.,** 1998, Occurence of drugs in German sewage treatment plants and river. *Water Research*, 32, No. 11, 3245 – 3260 pp.
- Thiele-Bruhn S, Seibicke T, Schulten Hr, Leinweber P.,** 2004. Sorption of Sulfonamide Pharmaceutical Antibiotics on Whole Soils and Particle-Size Fractions. *Journal of Environmental Quality*, 33:1331–1342

- Thiele-Bruhn S.**, 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166:145-167
- Tolls J.**, 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environmental Science Technology*, 35:3397–3406
- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA)**, 1997. Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effect Assessment and Analysis, Office of Research and Development, Risk Assessment Forum, Washington, D.C.
- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA)**, 1998. Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee (EDSTAC) Final Report.
- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA)**, 2001. National Risk Management Research Laboratory: Endocrine Disrupting Chemicals, www.epa.gov, Washington, D.C.
- Vainshtein, M., Kusch, P., Mattusch, J., Vatsourina, A., Wiessner, A.**, 2003. Model experiments on the microbial removal of chromium from contaminated groundwater. *Water Res.* 37 (6), 1401–1405.
- Van Ginkel, S.W., Ahn, C.H., Badruzzaman, M., Roberts, D.J., Lehman, S.G., Adham, S.S., Rittmann, B.E.**, 2008. Kinetics of nitrate and perchlorate reduction in ionexchange brine using the membrane biofilm reactor (MBfR). *Water Res.* 42 (15), 4197–4205.
- Van Ginkel, S.W., Zhou, C., Lien, M., Rittmann, B.E.**, 2010a. Hydrogen-based nitrate and selenate bioreductions in flue-gas desulfurization brine. *J. Environ. Eng.* 137 (1), 63–68
- Wen, X., Jia, Y., Li, J.**, 2010. Enzymatic degradation of tetracycline and oxytetracycline by crude manganese peroxidase prepared from *Phanerochaete chrysosporium*, *Journal of Hazardous Materials*, 177, 924-928
- Wettstein, F.E.**, 2004. F.E. Wettstein, Auftreten und Verhalten von Nonylphenoxyessigsäure und Weiteren Nonylphenolverbindungen in der Abwasserreinigung. In: Ph.D. Thesis, ETH-Zürich, Zurich.
- Xia, S.Q., Zhang, Y.H., Zhong, F.H.**, 2009. A continuous stirred hydrogen-based polyvinyl chloride membrane biofilm reactor for the treatment of nitrate contaminated drinking water, *Biores. Technol.*, 100, 6223-6228.

- Yahiat, S., Fourcade, F., Brosillon, S.,** 2011. Removal of antibiotics by an integrated process coupling photocatalysis and biological treatment - Case of tetracycline and tylosin, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65, 997-1003
- Zhang, T., Li, B.,** 2011. Occurrence, transformation, and fate of antibiotics in municipal wastewater treatment plants. *Critical reviews in environmental science and technology*, 41(11), 951-998.
- Zhang, Y., Okeke, B. C., & Frankenberger, W. T.,** 2008. Bacterial reduction of selenate to elemental selenium utilizing molasses as a carbon source. *Bioresource technology*, 99(5), 1267-1273.
- Zhang, Y.H., Zhong, F.H., Xia, S.Q., Wang, X.J., Li, X.J.,** 2009. Autohydrogenotrophic denitrification of drinking water using a polyvinyl chloride hollow fiber membrane biofilm reactor, *J. Hazard. Mater.*, 170, 203-209.
- Zhu, J., Snow, D., Cassada, D.A., Monson, S.J., Spalding, R.F.,** 2001. Analysis of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline in water using solid phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 928, 177-186 pp.
- Zhu, X., Wang, Y., Zhou, D.,** 2014. TiO₂ photocatalytic degradation of tetracycline as affected by a series of environmental factors, *Journal of Soils and Sediments*. 14, 1350-1358.

ÖZGEÇMİŞ

Aslen Elazığlı olup, 1989 yılında Ş.Urfa'nın Birecik ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Birecik'te tamamladım ve 2008 yılında Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümüne giriş hakkı elde ettim. 2012 yılında Çevre Mühendisliği lisans eğitimimin bitimi ile aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı programında yüksek lisans eğitimine başladım. Yüksek lisans öğrenimim boyunca birden fazla TÜBİTAK destekli projede görev aldım ve tez çalışmamı aktif olduğum bu projelerden biriyle tamamladım.