

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EVSEL ATIKSU ARITMA TESİSLERİNDE BAZI B GRUBU VİTAMİN
MİKTARLARININ BELİRLENMESİ

Fatih SELİMOĞLU

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖBEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ELAZIĞ-2009

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EVSEL ATIKSU ARITMA TESİSLERİNDE BAZI B GRUBU VİTAMİN
MİKTARLARININ BELİRLENMESİ

Fatih SELİMOĞLU

Yüksek Lisans Tezi
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu tez, tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği /oyçokluğu ile başarılı / başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖBEK

Üye : Doç. Dr. Ubeyde İPEK

Üye : Doç. Dr. Fikret KARATAŞ

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve çalışmasının planlanıp yürütülmesinde katkı ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖBEK'e, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında bana bilgilerini sunarak yol gösteren F. Ü. Fen Ed. Fak. Kim. Böl. Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Fikret KARATAŞ ile Yük. Lis. Öğr. Hilal TÜRKOĞLU'na katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim

Deneyler için bize gerekli kimyasal ve laboratuvar materyalini temin eden FÜBAP (Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi) komisyonu üyelerine 1400 numaralı projemizi destekledikleri için teşekkürü borç biliriz.

Çalışmalarımız için bize gerekli numune materyali sağlayan saygıdeğer MASKİ ve GASKİ çalışanlarına katkılarından dolayı teşekkürü borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında bana sonuna kadar destek olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

Fatih SELİMOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİLLER LİSTESİ	
TABLolar LİSTESİ	
KISALTMALAR LİSTESİ	
ÖZET	
ABSTRACT	
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
3. GENEL BİLGİLER	12
3.1. Arıtma çamuru	12
3.1.1. Çamur kaynakları	12
3.1.1.1. Ön arıtma çamuru	12
3.1.1.2. İkincil arıtma çamuru	13
3.1.2. Çamurun biyolojik özellikleri	13
3.1.3. Çamur çürütme	14
3.1.3.1. Aerobik Çamur Çürütme	14
3.1.3.2. Anaerobik Çamur Çürütme	14
3.2. Vitaminler	19
3. 2. 1. B ₁ Vitamini (Tiamin)	19
3. 2. 2. B ₂ Vitamini (Riboflavin, Laktoflavin)	20
3. 2. 3. B ₃ Vitamini (Niasin, Nikotinik Asit, Nikotamin)	21
3. 2. 4. B ₆ Vitamini (Piridoksin, pridoksamin)	22
3. 2. 5. B ₁₁ Vitamini (Folik Asit)	23
3. 2. 6. B ₁₂ Vitamini (Kobalamin)	24
3. 3. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC)	26
3.3.1. Çözücü Dağıtma Sistemi	27
3.3.2. Kolonlar	28
3.3.3. Dedektörler	29
3.3.4. HPLC Kullanırken Alınması Gereken Önlemler	31
3.3.4.1. Hareketli faz çözücülerini için önlemler	31
3.3.4.2. Kolon kullanımı için önlemler	32
3.3.5. Örnek hazırlanması	32
3.3.6. Dedeksiyon sisteminin korunması	33

3.3.7. Uygulamalar	33
4. MATERYAL VE METOT	34
4.1. Materyal	35
4.2. Metot	36
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 5. 1. Tiaminin çalışma grafiği ve doğru denklemi	39
Şekil 5. 2. Riboflavinin çalışma grafiği ve doğru denklemi	39
Şekil 5. 3. Nikotinamid'in çalışma grafiği ve doğru denklemi	39
Şekil 5. 4. Piridoksin'in çalışma grafiği ve doğru denklemi	39
Şekil 5. 5. Folik asit'in çalışma grafiği ve doğru denklemi	40
Şekil 5. 6. Kobalamin vitamininin çalışma grafiği ve doğru denklemi	40
Şekil 5.7. 260 nm de HPLC ye enjekte edilen vitamin karışımına ait kromatogram	40
Şekil 5.8. 290 nm de HPLC ye enjekte edilen vitamin karışımına ait kromatogram	41
Şekil 5.9. 500 nm de HPLC ye enjekte edilen vitamin karışımına ait kromatogram	41
Şekil 5.10. 260 nm'de bir su örneğine ait kromatogram	42
Şekil 5.11. 260 nm'de bir çamur örneğine ait kromatogram	43
Şekil 5.12. 290 nm'de bir su örneğine ait kromatogram	44
Şekil 5.13. 290 nm'de bir çamur örneğine ait kromatogram	44
Şekil 5.14. 500 nm'de bir su örneğine ait kromatogram	45
Şekil 5.15. 500 nm'de bir çamur örneğine ait kromatogram	45

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. Bazı bakterilerin büyümesi için gerekli vitaminler ve işlevleri	5
Tablo 2.2. Bazı bakteri türlerinin çeşitli vitaminleri sentezleme ve gereksinim durumları	6
Tablo 2.3. Biyolojik arıtım verimini artırmak için kullanılan kimyasal maddeler	10
Tablo 2.4. Aktif çamurun nutrient ihtiyacı ve kullanılan doz	10
Tablo 5.1. Malatya Atıksu Arıtma Tesisi örneklerindeki B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₆ , B ₁₁ ve B ₁₂ vitamin düzeyleri (Katı örnekler tartılarak (g), sıvılar ise hacim olarak (ml) alındı)	46
Tablo 5.2. Gaziantep Atıksu Arıtma Tesisi örneklerindeki B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₆ , B ₁₀ ve B ₁₂ vitamin düzeyleri (Katı örnekler tartılarak (g), sıvılar ise hacim olarak (ml) alındı)	47

SİMGELER

°C	Santigrat derece sıcaklığı
dk	Dakika
gr	Gram
IU	Uluslararası birim
l	Litre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
ppm	Herhangi bir karışımda toplam madde miktarının milyonda 1 birimlik maddesine 1 ppm denir (µg/ ml veya µg/ gr)
ppb	milyarda 1 birim (µg/ l veya µg/ kgr)
N	Azot
P	Fosfor
CaCO ₃	Kalsiyum karbonat
H ₂	Hidrojen
CO ₂	Karbondioksit
CH ₄	Metan
NH ₃	Amonyum
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
H ₂ SO ₄	Sülfürikasit
SO ₄	Sülfat
NO ₃ ⁻	Nitrat
Mg ⁺²	Magnezyum
ATP	Adenizotrifosfat

KISALTMALAR

HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LC	Sıvı (liquid) kromatografisi
UV-VIS	Ultraviyole görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisi
KOİ	Kimyasal oksijen ihtiyacı
AKM	Askıda katı madde
TLC	İnce tabaka likid kromatografisi
BOİ	Biyokimyasal oksijen ihtiyacı
UAKM	Uçucu askıda katı madde
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

EVSEL ATIKSU ARITMA TESİSLERİNDE BAZI B GRUBU VİTAMİN MİKTARLARININ BELİRLENMESİ

Fatih SELİMOĞLU

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

2009, Sayfa: 56

Özellikle biyokimyasal reaksiyonlarla gerçekleşen madde değişiminde gerekli olan vitaminlere bazı canlı türleri bunların tamamına gereksinim duyarken bazıları da ya hiç ya da bir veya birkaçına gereksinim duymamaktadır. Canlılar hayati faaliyetlerini devam ettirebilmek için ihtiyaç duydukları bu maddeleri yaşam ortamlarından temin etmek durumundadırlar. Biyolojik atık su arıtma tesislerinde aktif rol oynayan mikroorganizmaların yaşam ortamlarındaki vitamin miktarlarının bilinmesi gerekir.

Bu çalışmada, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) metodu ile Malatya ve Gaziantep Atık Su Arıtma Tesisi giriş ve çıkış suları ile arıtma çamuru örneklerinde suda çözünen B vitaminlerinden B₁ (Tiamin), B₂ (Riboflavin), B₃ (Nikotinamid), B₆ (Piridoksin), B₁₁ (Folik Asit) ve B₁₂ (Kobalamin) vitamin miktarları belirlenmiştir.

Malatya ve Gaziantep atıksu arıtma tesisinden alınan örneklerde tespit edilen B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁ ve B₁₂ vitamin miktarları farklılık göstermiştir. Sonuçlar istatistik açıdan $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ düzeylerinde önemli bulunmuştur. Örneklerde belirlenen vitamin miktarları hem biyolojik atıksu arıtımında hem de toprak ortamındaki heterotrofik mikroorganizmaların vitamin ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Atık su arıtma tesisi , B vitaminleri, Vitamin B₁ (tiamin), vitamin B₂ (riboflavin), Vitamin B₃ (niasin), Vitamin B₆ (piridoksin), Vitamin B₁₀ (folik asit), Vitamin B₁₂ (kobalamin), Giriş suyu, Çıkış suyu, Arıtma çamuru

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF AMOUNTS OF SOME VITAMIN B GROUPS IN DOMESTIC WASTEWATER TREATMENT PLANTS

Fatih SELİMOĞLU

Fırat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Environmental Engineering

2009, Page: 56

Some living species need vitamins required for matter modifications which are realized particularly through biochemical reactions, while some need a few of them or do not need any of them. The living organisms obtain those matters, which are essential for surviving, from their existing environments. Therefore, the quantity of vitamins in those environments should be identified. In this sense, the quantity of vitamins in wastewater treatment plants, the existing environments of microorganisms, need also be determined.

In this thesis study, the levels of B₁ (Thiamin), B₂ (Riboflavin), B₃ (Niacin) B₆ (Pyridoxine), B₁₁ (Folic Acid) and B₁₂ (Cobalamin) among vitamin B groups, which can be dissolved in water, existing in influent, effluent and treatment sludge of Malatya and Gaziantep wastewater treatment plants were determined.

The levels of B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁ and B₁₂ in the samples obtained from Malatya and Gaziantep wastewater treatment plants were found out to be significantly different. The results are statistically significant with respect to $p < 0.05$ and $p < 0.01$. Such differences emerged depending on the characteristics of purified water and microbial characteristics. The determined vitamin levels were found out to be satisfactory for the vitamin requirements of heterotrophic microorganisms both in biological wastewater treatment and in soil.

Key words: Wastewater treatment plant, B vitamins, Vitamin B₁ (thiamin), vitamin B₂ (riboflavin), Vitamin B₃ (niacin), Vitamin B₆ (pyridoxine), Vitamin B₁₀ (folic acid), Vitamin B₁₂ (cobalamin), influent, effluent, treatment sludge

1. GİRİŞ

Biyolojik hücreler, nükleik asitlerin, proteinlerin, yağların ve karbonhidratların sentezini içeren metabolik prosesler için altı makronütriante ihtiyaç duyarlar. Bunlar; karbon, oksijen, hidrojen, azot, kükürt ve fosfordur. Bunlardan karbon, azot ve fosfor primer nutrientlerdir. Hücreler bu altı makronütriante ilaveten mikronütriante olarak eser elementler (mangan, çinko, kobalt, molibden, nikel, bakır, vanadyum, bor, demir ve iyot) ile vitaminlere (K, B₁, B₂, B₆, B₁₂, biotin, niasin ve pantotenik asit)'de ihtiyaç duymaktadır (Beardsley ve Coffey, 1985).

Vitaminler sadece insan ve hayvanların normal hayat faaliyetleri için değil, aynı zamanda yüksek bitki ve mikroorganizmaların madde değişimi için de gereklidir (Çağatay, 1976). Canlılarda madde değişimi için meydana gelen biyokimyasal reaksiyonları gerçekleştiren katalizörlere enzim denir. Enzimler yapı bakımından iki kısımda incelenir. Ya sadece proteinden ya da Protein + Vitaminler veya Protein + metal iyonlarından meydana gelmiştir. Bu enzimlerin protein kısmına apoenzim, vitamin kısmına ise koenzim veya prostetik grup denir. Metal iyonlarına enzim aktivatörleri denir. Enzimin etki ettiği madde (substrat)' yi protein kısmı belirler. Koenzim reaksiyonu gerçekleştirir. Organizmalarda vitamin veya metal iyonları eksik olursa protein kısımları reaksiyonu gerçekleştiremez. Bundan dolayı vitaminlerin insan ve hayvan beslenmesinde mutlak gerekli olduğu bilinmektedir. İnsan ve hayvanlar için esas vitamin kaynağı, vitamin sentezleyen bitkilerdir. İnsan, vitamini ya doğrudan doğruya bitkisel besin maddelerinden, ya da hayvansal ürünlerden alır. Hayvansal ürünlerin vitamin kaynağı yine bitkilerdir. Bitki kökleri bazı vitaminler olmadan normal gelişim sağlayamazlar. Bunun yanı sıra mikroorganizmaların da büyüme ve gelişmeleri için vitaminlere ihtiyacı vardır (Çağatay, 1976).

Hem toprak ve hem de aktif çamur mikroorganizmalarının gelişimi için vitaminlerin gerekli olduğu (Pederson ve Pederson, 1945; Schormuller J., 1948; Voight ve diğ.,1979; Fillipi ve Vennes, 1971; Lind, 1994; Lemmer ve Nitschke, 1994; Lemmer ve diğ., 1998) belirtilmiştir. Vitaminlerin toprağa gübreyle (Krasilnikov, 1961) ve atıksu tasfiye tesislerine ise evsel atıksu akıntılarıyla girdiği (Wood and G. Tchobanoglous, 1975; Singleton, 1994; Burgess ve diğ., 1999) belirtilmiştir.

Yoğun olarak ürün yetiştirilen ve organik olarak tüketilen topraklarda organik madde ve bitki besin maddesi açığını kapamak veya kapsamını artırmak için organik ve inorganik gübreleyici şartlandırıcı olarak stabilize olmuş arıtma çamuru (Düring ve Gäth, 2002; Sosnowski ve diğ., 2003; Marschner ve diğ., 2003) ile geri dönüştürülmüş atık sular (Asano ve diğ.,1996; Toze, 1997) birçok ülkede tarımsal alanlarda kullanılmaktadır.

Gübre amaçlı araziye uygulanan arıtma çamurlarının toprağın organik madde içeriği ile bitki besin element düzeylerini arttırdığı, fiziksel ve biyolojik özelliklerini geliştirdiği, tarımsal ürünün ihtiyaç duyduğu bitki besin elementlerini sağladığı, ürün verimini ve kalitesini arttırdığı saptanmıştır (Larson ve diğ., 1974; Williams, 1979; Pagliai ve Guidi 1980; Guidi, 1980; Schmidtke, 1980; Pulford, 1989; Nichols,1989; Sabey ve diğ., 1990; Larsen ve diğ., 1991; Mc Donald ve diğ., 1994; Jakobsen, 1995; Pedreno ve diğ., 1996; Hulugalle, 1996; Joshua ve diğ., 1998; Emmerling ve diğ., 2000).

Biyolojik atıksu arıtım sürecinde ham ve işlenmiş atık sular ile arıtma çamurlarının içerikleri son yıllarda çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Fakat arıtma tesislerinde arıtılan su ve oluşan çamurlarda suda çözünen vitaminler üzerine detaylandırılmış çalışma azdır. Hâlbuki metabolik aktivite üzerinde etkili olan farklı vitaminler ve onların kombinasyonları, farklı bakteri türleri üzerinde farklı etkilere sahiptir ve bu nedenle de dikkatle göz önünde tutulmalıdırlar. Çünkü proses ekolojisini optimize etmede ve mikroorganizmaların büyük bir çeşitliliğini korumada yardımcı olurlar (Wood and G. Tchobanoglous, 1975; Singleton, 1994; Burgess ve diğ., 1999).

Çamurun farklı fraksiyonlarındaki B vitamin konsantrasyonu üzerine birkaç yayın vardır (Kocher ve Carti, 1952; Schwarz, 1971; Lemmer ve Nitschke, 1994). Bunlardan başka farklı tiplerdeki çamurlarda daha çok B₁₂ vitamininin oluşumu, dağılımı ve içeriği (Neujahr, 1955a), sentezlenmesi (Neujahr, 1955a), aktivitesi (Neujahr, 1955b), davranışı (Neujahr, 1956), bakterilerce üretimi (Neujahr ve diğ., 1959a, 1959b, 1960a, 1960b), izole edilmesi (Renz ve diğ., 1987) konulu çalışmalardır. Ayrıca aktif çamur tesislerinde bazı B grubu vitaminlerinin etkisi konusundaki çalışmaların Dohme (1988), Aydın ve Barlas (1996), Burgess ve diğ. (1999) ve Burgess ve diğ. (2000) tarafından yapıldığı görülmüştür. Burgess ve diğ. (1999), vitamin B kompleksinin aslında tek bir madde olarak düşünülen bir madde grubu olduğunu, ama aslında tiamin, riboflavin, niasin, pantotenik asit, biotin, piridoksin, folik asit, lipoik asit, inositol ve vitamin B₁₂ vitamininin bir araya gelmesiyle oluştuğunu ve bu maddelerin mikroorganizmalar üzerinde farklı etkilere sahip olduğunu ve ayrı ayrı düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Mikrobiyal yaşamda B grubu vitaminlerinin de kullanıldığı esas alındığında hem biyolojik atıksu arıtma tesislerinde işlenen su hem de tarımsal amaçlı kullanılan arıtılmış atık sular ile arıtma çamurlarında suda çözünen B grubu vitamin miktarlarının da belirlenmesinin gerekli olduğu ortaya çıkmaktadır ki literatür taramasında ülkemizde söz konusu materyallerde B grubu vitamin miktarlarıyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu araştırmada, Malatya ve Gaziantep Atıksu Arıtma Tesisi giriş-çıkış suları ile tarımsal amaçlı kullanılan arıtma çamurlarında suda çözünen bazı B grubu B₁ (Tiamin), B₂ (Riboflavin), B₃ (Nikotinamid), B₆ (Piridoksin), B₁₁ (Folik Asit) ve B₁₂ (Kobalamin) vitamin miktarlarının belirlenmesinde Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) yöntemi kullanılmıştır. Dolayısıyla her iki biyolojik atıksu arıtma tesisinde aktif çamur ve toprak mikroorganizmalarının ihtiyaç duyduğu vitaminlerin arıtılan sudaki miktarları ile arıtım sonucu oluşan aerobik ve anaerobik olarak çürütülüp tarımsal amaçlı kullanılan arıtma çamurlardaki vitaminlerin miktarlarına bakılmıştır.

Bu çalışma FÜBAP (Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi) tarafından 1400 nolu proje olarak desteklenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Doğal kaynakların hızla tüketildiği günümüzde, bir taraftan daha çok üretim ve tüketim yapısına paralel olarak artış gösteren atıkla oluşan çevre kirliliğini azaltma, diğer taraftan dünya nüfusunun içme ve kullanma suyu ile besin üretimini artırma ihtiyacı, geriye kazanılabilir atıklardan yeniden yararlanmayı gündeme getirmiştir (Öbek ve diğ., 2005).

Bu nedenlerle çeşitli aktiviteler sonucunda özellikleri değişikliğe uğratılarak pek çok farklı tipte ve değerde üretilen atık suların çevreye ve canlı sağlığına olası zararlı etkilerini azaltmak amacıyla arıtılmaktadır.

Atık su arıtma işlemlerinde atık suyun özelliği ve miktarı ile alıcı ortamın özelliklerine göre fiziksel, kimyasal ve biyolojik (mikrobiyolojik) yöntemlerin biri veya birkaçı kullanılmaktadır. Atık suların arıtımı her ne kadar üç kademe yapıyor ise de, kimi arıtmalar birinci, kimileri ise ikinci kademe bırakılabilmektedir.

Birinci kademe arıtım; mekanik veya fiziksel etkilerle atık sulardaki katı parçacıklar ayrılır ve atık sular klorlanarak bu sulardaki zararlı bakteriler yok edilip deşarj edilir.

İkinci kademe arıtım; biyolojik (aerobik, fakültatif ve anaerobik) ve kimyasal (kimyasal çöktürme, koagülasyon ve dezenfeksiyon) reaksiyonların yer aldığı süreçlerdir ve bu kademedan alınan su doğal sulara deşarj edilir.

Üçüncü kademe arıtım (ileri arıtım) ise suda denitrifikasyon ve fosfor eliminasyonu işlemlerini kapsayan ve genellikle az uygulanan bir sistemdir.

Arıtma yöntemleri birbirinden bağımsız olmayıp birbirini takip eden ve tamamlayan arıtma basamaklarıdır. Fiziksel tasfiyeden çıkan sulardaki kirlilik oluşturan çökemeyen asılı ya da koloidal organik maddeleri suda bulunan canlılarca ortamdan uzaklaştırmak için biyolojik arıtım gerekir. Fiziksel ve biyolojik tasfiyeden geçmiş sularda kendi halinde çökemeyen asılı taneciklerle kolloidlerin ve inorganik iyonların flokleşarak yumaklar halinde çökmeleri ya da koagüle olmaları, kimyasal-fizikokimyasal yöntemlerle sağlanır. Bu nedenle atık suyun flokleştirildiği veya koagülantların karıştırıldığı karışım havuzları, yumakların oluştuğu reaksiyon havuzları ve yumakların sudan ayrıldığı çöktürme havuzları kullanılır. Ayrıca klorlama tesislerinden yararlanılır. Atık suların daha ileri arıtımı için ; adsorpsiyon (çözülmüş maddelerin ara yüzeyde tutulması), iyon değiştirme (katyonik, anyonik ve reçineler ile istenmeyen iyonların yer değiştirmesi), ekstraksiyon, ters osmoz ve elektrodializ gibi fizikokimyasal yöntemlerden de yararlanılır (Bilgin ve diğ., 1997).

Atıksuların işlendiği atıksu arıtma tesislerinde geriye kalan artık maddeler, genelde ızgaralardan çıkan çöp, kum tutucularla ayrılan kum ve çamurdan meydana gelir. Çöp ve kum ile benzeri maddeler normal olarak çöplüklere araziye serpm şeklinde verilerek ortadan kaldırıldıkları gibi belli başlı işlemlere tabi tutulduktan sonra değerlendirilebilirler. Arıtma çamurları ise arıtım sırasında, kendiliğinden çöken katı maddeler ile biyolojik ve kimyasal işlemler sonucunda çökebilir veya yüzdürülebilir hale getirilen katı maddeler olarak artakalır (Bilgin ve diğ., 1997).

Arıtma işlemlerinde hedef,

- Çözünmemiş ve partikül biyoayrışabilir bileşenleri kabul edilebilir son ürünlere dönüştürmek
- Askıda ve çökelemeyen koloidal katıları biyolojik flog veya biyofilmlere tutturmak
- Organik veya inorganik bileşiklerin (ör; ağır metal) konsantrasyonlarını azaltmak/gidermek
- Patojen veya diğer mikroorganizmaları gidermek
- N (azot), P (fosfor) gibi nutrientleri gidermek veya dönüştürmek
- Bazı durumlarda spesifik eser organik bileşenleri ve bileşikleri gidermek
- Yüzeysel suya deşarj edilebilecek çıkış suyunu oluşturmaktır (Metcalf ve Eddy, 2003).

Biyolojik arıtma tesislerinin temeli, mikroorganizmaların besi gereksiniminin karşılanması esasına dayanır. Çünkü organizmaların enerji sağlayabilmesi, hücre bileşenlerini yapabilmesi, gelişmesi, çoğalması ve yaşayabilmesi için beslenmesi ve bu nedenle de çeşitli gıda maddelerini alması gereklidir.

Organizmalar, yaşamlarını sürdürebilmek için ortamda mevcut bileşikleri (karbonhidratlar, hidrokarbonlar, proteinler, azotlu bileşikler vb) parçalayarak enerji elde ederler. Bu enerjiyi ATP (adenozin trifosfat) halinde biriktirerek biyosentezleme, hareket, hücre içinde ve dışında besi maddesi transferi, yıpranan hücre elemanlarının tamiri ve basınç dengelenmesi için kullanır. Hücre içinde parçalanma ve sentezleme işlemleri eş zamanlı olarak devam eder. Büyük moleküllerin daha küçük moleküllere parçalanması 'katabolizma'(örneğin, glükozun CO_2 ve H_2O 'ya parçalanması) ve küçük moleküllerin birleşerek daha büyük moleküller oluşturmaya ise 'anabolizma' (örneğin, aminoasitlerden protein sentezi) ya da 'biyosentezleme' olarak bilinir. Katabolizma enerji üretir, eksergonik reaksiyonları içerir. Anabolizma ise üretilen enerjiyi tüketir, yani endergonik reaksiyonları içerir. Bir canlı organizmada meydana gelen bütün kimyasal değişimler ile enerji değişimlerinin tümüne metabolizma adı verilir. Metabolik reaksiyonlar, organizmaya ve ortama bağlı olarak değişen oldukça komplike reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlar, üç kategoride toplanabilir.

1. Besi maddelerinin parçalanması
2. Küçük moleküllerin sentezi (aminoasit, nükleotid)
3. Büyük moleküllerin sentezi (protein, nükleik asit)

Metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan ürünler (CO_2 , H_2O , organik asit, etanol vb.) hücre dışına verildikleri gibi hücre içinde de tutulabilirler. Metabolizma ortamda oksijen varlığına ve yokluğuna göre aerobik (oksijen varlığında) ve anaerobik (oksijensiz) metabolizma olarak iki gruba ayrılabilir. Aerobik metabolizmada son ürün, genellikle CO_2 ve H_2O 'dur. Bazı durumlarda oksijen yerine NO_3^- , Fe^{+3} , SO_4^{-2} 'da elektron alıcısı olarak kullanılabilir. Buna oksijensiz solunum (anaerobik respirasyon) adı verilir. Anaerobik metabolizmada ürünler çok değişik olabilir. Etanol, laktik asit, aseton, butanol, asetik asit, butirik asit, propiyonik asit, formik asit, metan, hidrojen sülfür, CO_2 , hidrojen en belirgin anaerobik ürünlerdir (Kargı, 1993).

İster ototrof isterse heterotrof organizmalar olsun gelişmek için iz halinde bile olsa, bazı organik maddelere ihtiyaçları vardır. Gelişmeyi sağlayan maddeler 3 ana başlıkta sınıflandırılabilir.

- 1) Purin ve Primidinler: Nükleik asitlerin sentezi (RNA ve DNA) için gereklidir.

2) Aminoasitler: Proteinlerin sentezi için gereklidir.

3) Vitaminler : Koenzim ve önemli enzimlerin fonksiyonel grupları olarak işlev görürler.

Bakterilerin gelişmeleri için gerekli olan bu maddeler karbon ya da enerji kaynağı olarak doğrudan metabolize edilmemektedir. Bunlar bakteri hücresi tarafından metabolizmalarındaki spesifik işlevlerini yerine getirmek için sindirilmektedir. *E. coli* gibi bazı bakterilerin gelişmeleri için yukarıda verilen maddelere ihtiyaçları yoktur; purin, primidin, aminoasit ve vitaminleri sentezleyebilirler. *Lactobasillus* gibi bakteriler gelişmek için purin, primidin, aminoasit ve bazı vitaminlere ihtiyaç duyarlar. Bazı mikroorganizmalar gerekli vitaminleri sentezleyemediklerinden bunları dışarıdan temin etmek durumundadırlar. Bu maddeler bakterilerin bulunduğu ortama dışarıdan eklenmektedir. Gerekli enzimatik reaksiyonlardaki vitaminlerin rolleri özet olarak Tablo 2.1’de verilmiştir (Nutritution and Growth of Bacteria, 2007).

Tablo 2.1 : Bazı bakterilerin büyümesi için gerekli vitaminler ve işlevleri

Vitamin	Koenzim formu	İşlevi
Folik asit	Tetrahidrofolat	Timin, pürin bazları, serin, methionine ve pantotenatın sentezi için gerekli olan karbonlu birimlerin transferi, C ₁ – gruplarının taşınması
Biotin	Biyositin	CO ₂ fiksasyonu gerektiren biyosentez reaksiyonları, Karboksil grubu taşınması
Lipoik asit	Lipoamid, Lipoillisin	Keto asitlerin oksidasyonunda açıl gruplarının transferi, Hidrojen atomu ve açıl grubu taşınması
Merkaptoetan-sülfonik asit	Koenzim M	Metanogenler tarafından CH ₄ üretimi
Nikotinik asit, Nikotin amid	NAD (nikotinamid adenin dinükleotid) ve NADP(nikotinamid adenin dinükleotid fosfat)	Elektron taşıyıcı, yükseltgenme- indirgenme reaksiyonları
Pantotenik asit	Koenzim A (CoA) ve Açıl taşıyıcı protein (ACP)	Metabolizmadaki keto asitler ve açıl grup taşıyıcılarının oksidasyonu
Piridoksin (B ₆)	Pridoksal fosfat	Amino grubu taşınması, Amino asit metabolizması
Riboflavin (B ₂)	FMN (flavin mono nükleotit) ve FAD (flavin adenin dinükleotit)	Hidrojen atomu (elektron) taşınması, yükseltgenme- indirgenme reaksiyonları
Tiamin (B ₁)	Thiamin pirofosfat (TPP)	Keto asitler ve transminaz reaksiyonlarının dekarbonizasyonu, Aldehit grubu taşınması
Vitamin B ₁₂	Adenin nükleosise birleştirilmiş kobalamin, Koenzim B ₁₂	Metil gruplarının transferi, Hidrojen atomlarının 1,2 - kayması
Vitamin K	Kuinon ve naphthoquinones	Elektron taşıma prosesleri

Bazı bakterilerin gelişmeleri için ihtiyaç duydukları vitaminler arasında folik asit, tiamin, vitamin B₁₂, vitamin K, biotin, pantotenik asit vb. bulunmaktadır. Bazı bakteri türleri bunların tamamına gereksinim duyarken bazıları da hiç gereksinim duymamaktadır. Unutulmaması gereken bir husus, gelişme faktörü gereksinimlerinin türlere özgü bir yapısı olduğudur (Schörmüller, 1948).

Peterson ve Peterson (1945) yapmış oldukları literatür taraması çalışmalarında vitamin ve diğer bazı gelişme faktörlerini sentezleme kapasitesine sahip bakteri türlerini bir araya getirerek bu bakterilerin gelişme faktörleri bakımından ilgi durumlarını ortaya koymuşlardır (Tablo 2.2.). Tablo

2.2’de listelenen 130 bakteri türünün bir veya daha fazla gelişme faktörüne gereksinim duyduğu sonucuna varılmıştır.

Tablo 2.2 : Bazı bakteri türlerinin çeşitli vitaminleri sentezleme ve gereksinim durumları.

Organizma	Biotin	Nikotinik Asit	Pantothenik Asit	Piridoksin	PAB	Riboflavin	Tiamin
<i>Acetobacter suboxidans</i>	S	G	G		G	S	
<i>Bacillus brevis</i>	G						
<i>Bacillus butylicus</i>	G						
<i>B dextrolacticus</i>						G	G
<i>B larvae</i>	yok	yok	yok	yok	yok	G	
<i>B. macerans</i>	G						G
<i>B.mesentericus</i>	G	S				S	S
<i>B. polymyxa</i>	G						
<i>B. proteus</i>		G					
<i>B. saccharobutylicus</i>	G						
<i>Bacterium bifidum</i>						G	
<i>Bacterium brassicae</i>			G			Yok	
<i>Bacterium tularensense</i>	G	G	G				
<i>Bacterium utile</i>				G			
<i>Betabacterium breve</i>						G	
<i>Brucella abortus</i>	G	G	G		S		G
<i>Brucella melitensis</i>	G	G	G				G
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	G				G	S	
<i>C. beijerinckii</i>							yok
<i>C. botulinum</i>	G				S		
<i>C butylicum</i>	G	S	S	S	G	S	S
<i>C. chauvosi</i>	G						
<i>C. felsineum</i>	G				G		
<i>C. histolyticum</i>	G						
<i>C pectionovarum</i>							yok
<i>C. septicum</i>	G	G		G			G
<i>C. sporogenes</i>	G				S		
<i>C. tetani</i>	G	G	G	G	S	G	G
<i>C. welchii</i>	G			G			
<i>Corynebacterium dyptheria</i>					S	S	S
<i>C. diptheria (intermedius)</i>		G	G				S
<i>C. diptheria (mitis)</i>		G	G			S	S
<i>C. diptheria (gravis)</i>		G	G		G	S	S
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>						G	
<i>Escherichia coli</i>	S	S, G				S	S,G
<i>H. pertussis</i>		G					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		G					
<i>Lactobacillus arabinosus</i>	G	G	G	S	G	S, G, yok	
<i>L. acidophilus</i>	G					G	
<i>L. bulgaricus</i>						G	

Tablo 2.2'nin devamı							
<i>L. beijerinckii</i>						G	
<i>L. delbrückii</i>			G	G		G	
<i>L. gayonii</i>						G	
<i>L. jugurt</i>						G	
<i>L. helveticus</i>						G	
<i>L. lactis</i>			G	G, S		G	
<i>L. leichmanii</i>						G	
<i>L. lycopersici</i>						G	
<i>L. mannitopoeus</i>						G	G
<i>L. pento aceticus</i>						Yok, G	
<i>L. pentosus</i>			G		G	Yok, G, S	
<i>L. plantarum</i>						G	
<i>Leptospira canicola</i>		G				G	G
<i>L. hebdomasis icterohaemorrhagiae</i>		G					
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		G					
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	G	G	G	G		Yok, G	G
<i>Listerella monocytogenes</i>	G					G	G
<i>M. phlei</i>		G					
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		G	G	G			G
<i>Pasteurella pestis</i>	Yok, G	G, yok	Yok, G	Yok, G	Yok, G	Yok, G	G, yok
<i>P. suis</i>		G	G				
<i>P. tularensis</i>							G
<i>Photobacterium phosphorescens</i>						G	
<i>Pneumococci (değişik türlerden)</i>	G	G	G			G	G
<i>Propionibacterium arabinosum</i>			G			G	G
<i>P. jensenii</i>	G	Yok, G	G	Yok, G	G	Yok, G	
<i>P. pentosaceum</i>			G			G	G
<i>P. petersonii</i>	G	Yok, G	G	Yok, G	G	Yok, G	G
<i>P. rubrum</i>	G		G	G		G	G
<i>P. shermanii</i>			G				
<i>P. technicum</i>		Yok, G	G	Yok, G		Yok, G	
<i>P. thoenii</i>	G	Yok, G	G	Yok, G		Yok, G	G
<i>P. zeae</i>			G			S	G
<i>P. vulgaris</i>	S	G	S	S	S	S	S
<i>Proteus morganii</i>	Yok, G	G	G	Yok, G	Yok, G	Yok, G	Yok, G
<i>Pseudomonas aeruginosa pyogenes</i>	S	G,yok				S	
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	G						Yok, G
<i>R. lupinii</i>	G						
<i>R. meliloti</i>	G						
<i>R. phaseoli</i>	G						
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	G						
<i>R. trifolii</i>	G, S		G			G,S	G,S
<i>Salmonella gallinarum</i>							G
<i>S. paratyphi</i>		G			S		
<i>S. pullorum</i>	Yok,G	G	Yok, G	Yok, G		Yok, G	Yok, G
<i>S. schottmuelleri</i>		G					
<i>Sarcina flava</i>						G	G
<i>Shigella dysenteriae</i>		G			S		
<i>S. paradyenteriae</i>		G	G	Yok, G	S		

Tablo 2.2'nin devamı							
<i>Shigella sonnei</i>		G		Yok, G			
<i>Spirillum serpens</i>						S	
<i>Spironema gallinarum</i>						Yok, G	Yok, G
<i>Staphylococcus albus</i>		G		G	S	S	
<i>S aureus</i>	G,S	G			S	S	G
<i>S. pyogenes aureus</i>	G,yok	G,yok					G
<i>Streptobacterium casei</i>						G	
<i>S. plantarum</i>	G	G	G	G	G	G	G
<i>Streptococci (hemolytic)</i>		G	G	G	S	G	
<i>Streptococci (hemolytic) A grubu</i>	G	G	G	G		G	G
<i>Streptococci (hemolytic) B grubu</i>	G	G	G	G		G	G
<i>Streptococci (hemolytic) C grubu</i>			G			G	
<i>Streptococci (hemolytic) D grubu</i>			G	G		G	
<i>Streptococci (hemolytic) G grubu</i>			G				
<i>Streptococcus bovis</i>	G	G				S	G
<i>S. cremoris</i>	G	G	G	G		G	G
<i>S. distendens</i>			G				
<i>S. durans</i>	G	G	G	G		G	Yok, G
<i>S. epidemicus</i>			G			G	
<i>S. faecalis</i>	G	G	G	G		G	Yok, G
<i>S. lactis</i>	G	G	G	G		G,yok,	G,yok
<i>S. liquefaciens</i>	G	G	G	G		G	Yok, G
<i>S. mostitidis</i>			G	G		G,yok	
<i>S. paracitrevorus</i>						G	
<i>S. pyogenes</i>			G			G	
<i>S. salivarius</i>	G	G	G			G	G
<i>S. thermophilus</i>						G	G
<i>S. zymogenes</i>	G	G	G	G		G	Yok, G
<i>Thermobacterium bulgaricum</i>						G	
<i>T. helveticum</i>						G	
<i>T. jugurt</i>						G	
<i>T. lactis</i>						G	
<i>S lactis ATCC 8043</i>	G	G	G	G		Yok,G,S	

(Tablodaki “S” harfi adı geçen bakteri türünün vitamini sentezlediğini belirtmektedir.”G” harfi ise bakteri türünün ilgili vitamine olan gereksinimini ortaya koymaktadır. Tabloda “yok” ile doldurulan kısımlarda ise yapılan çalışmalar sonucu bakteri türünün ilgili faktöre gereksinim duymadığını ifade etmektedir. Boş kısımlar ise literatürde henüz bu gelişme faktörü ile ilgili bir veri bulunmadığını işaret etmektedir)

Anderl (1987), yapmış olduğu derleme çalışmasında ABD’nde 71 adet biyolojik atıksu arıtma tesisinin % 65’inde vitamin eksikliği tespit edildiğini belirtmiştir. Vitamin eksikliği bulunan tesislerin 4’ünde B₁₂ vitamini, 4’ünde B₂ vitamini, 7’sinde pantotenik asit, 10’unda tiamin ve 21’inde folik asit olduğunu ve araştırma sonucunda, eksikliği görülen vitaminin dışarıdan eklenmesiyle bakteri gelişimi ve arıtma veriminde artış kaydedildiğini belirtmiştir.

Lind ve diğ., (1994), endüstriyel ön tasfiye tesislerinde çoğu kez düşük bulunan MLSS'nin tiamin, biotin ve niasin ilaveleriyle hafifleyebildiğini belirten araştırmacılar bu çalışmalarında muhtelif bir çamur popülasyonunun ihtiyaç duyduğu vitaminlerin çoğunu kendisi sağlayabilirken, düşük dengeli popülasyonlara sahip endüstriyel çamurların muhtemelen vitamin ilavelerinden faydalandıklarını belirtmişlerdir.

Aydın ve Barlas (1996), tesis havalandırma tankının girişine yapmış oldukları (1 gr folik asit formülasyonu (Dosfolat)/1 m³ atıksu) 1-30 gün 1,0 ppm ve 30. gün ve devamında 0,5 ppm folik asit uygulamalarında tesisin KOİ ve AKM giderim veriminde büyük bir artış gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca dayanıklı bir biyokütleyle sahip olduğunu ve çamur flokleşme kalitesinin iyileştiğini saptadıklarını belirtmişlerdir.

Lemmer ve diğ. (1998), biyolojik atıksu arıtma tasfiyesine vitamin ilavesi konulu çalışmalarında, mikronutrientlerin dengesiz kompozisyonuna sahip tesisler seçilmiştir. Çalışmalarında çeşitli endüstriyel çamurlardaki vitamin gereksinimleri, evsel bir atıksu tasfiye tesisi aktif çamuru ile karşılaştırılmıştır. Test edilen vitaminler; tiamin, riboflavin, folik asit, biotin, nikotinik asit, piridoksin, siyanokobalamin ve pantoten'dir. Vitamin içeriği kuru katı madde ile çürütülmüş aktif çamurun su fazında fluorometrik ve HPLC analizleri yoluyla tayin edilmiştir. Çalışılan tesislerde yaşayan canlı topluluğundan izole ettikleri heterotrofik saprofitlerin gelişme (büyüme) faktörlerinin tiamin, biotin ve nikotinik asit olduğunu belirtmişlerdir. Vitaminlere ihtiyaç duyan saprofitlerin de farklı taksonomik gruplara ait olduklarını bulmuşlardır. Aktinomiseteslerin içinde auxotrofların izolatlarını ve proteobakterilerin içinde de *Clostridium/Bacillus* türlerini bulmuşlardır. Bunların çoğu α ve β alt sınıflarına aittir. Bu taksonomik gruplar içinde, nitrifikasyon (*Nitrosomonas*, *nitrobacter*), denitrifikasyon (*Hydrogenophaga*, *Acidovorax*) ve polimerlerin degradasyonu (*Bacillus*) için gerekli atıksu bakterileri cinslerini bulmuşlardır.

Clark ve Stephenson (1998), biyolojik arıtım boyunca mikrobiyal döngüler için vitaminlerin kullanıldığını ve belirli vitaminler ile iz metallerin aerobik biyolojik arıtımda yararlı olduğu gibi çamur kabarma probleminin kontrolü ve alternatif çamur arıtma yollarını sağladığını belirtmiştir. Tablo 2.3'de mikronutrientlerin ve iz elementlerin kullanımı ve bunların olası olumsuz etkileri belirtilmiştir.

Burgess ve diğ. (2000), aktif çamur mikroorganizmaları için biotin, pantotenik asit ve niasin'in gerekli olduğunu vurguladığı çalışmada atıksuya 1 mg/l niasin eklemesiyle KOİ gideriminde en verimli sonucun alındığını ve niasin'in çamur kullanımını düzelttiği, amonyak, süspanse katılar ve fosfor giderimini de arttırdığını belirtmiştir.

Mikrobiyal gelişme, aktif çamur prosesi için temel teşkil ederken, giriş suyu, hücresel enzimleri aktive etmek için tüm spesifik mikronutrientleri içermelidir. Bunlar gelişme ve metabolizma için gerekli genel nutrientler ve ayrışan/çözünen substratlardır. Tasfiye prosesinde yer alan tüm mikrobiyal cinsleri için yeterli miktarda mikrobese gereklidir. Aksi takdirde dengesiz bir mikrobiyal yapı oluşumu sık sık çökelmeyi başaramayan kabaran veya köpüren bir çamur oluşumuna yol açar.

Atıksu tasfiye tesislerindeki mikronutrientlerin ana kaynağı, evsel atıksu akıntılarıdır ki giriş suyu kompozisyonu zamana ve yere göre değişir (Wood and G. Tchobanoglous, 1975; Singleton, 1994; Burgess ve diğ., 1999).

Tablo 2. 3. Biyolojik arıtım verimini artırmak için kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal madde	Uygulama	Avantajları		Dezavantajları	
İz metaller, örneğin kobalt	Biyolojik arıtım verimini artırmak	Biyokütlenin için yararlı olan ve oluşan çamurun hayvan yemi olarak kullanılması sağlayan B12 vitaminin sentezini artırmak	F	Aşırı miktarda olursa toksik etkileri, örneğin nitrifikasyon, yumaklaştırmanın engellenmesi, çıkış suyu kalitesinin bozulması	F
Vitamin veya nutrient ilavesi	Biyolojik arıtım verimini artırmak	Enzim aktivitesini artırmak; çamur kabarma probleminin kontrolü	L,F	Gerekli konsantrasyonun belirlenmesi zor olması	L
B vitamini kompleksi	Biyokütle oluşumu hızlandırma	Büyüme ve hücre metabolizması için önemli	L	Gerekli konsantrasyonun belirlenmesi zor olması	L
Biyotin	Biyokütle oluşumu hızlandırma	Önemli büyüme materyalleri ve mikrobiyal hareketin göstergesi	F	Gerekli konsantrasyonun belirlenmesi zor olması	F

F= Tam Ölçekli , L= Laboratuvar Ölçekli

Burgess ve diğ. (2000), aktif çamurdaki bakterilerin kuramsal olarak iz elementler ile vitamin ihtiyaçlarının aralığı ve doz miktarının bir listesini şu şekilde özetlemiştir (Tablo 2.4.).

Tablo 2. 4. Aktif çamurun nutrient ihtiyacı ve kullanılan doz

Nutrient		Kuramsal olarak iz elementler ile vitamin ihtiyaçlarının aralığı (mg/l)	Atıksuda saptanan mikronutrient konsantrasyonu (mg/l)	İlave doz (mg/l)
İz elementler	Kalsiyum	0.4-1.4	0.44	1.0
	Potasyum	0.8-3.0	95.0	Yok
	Demir	0.1-4.0	1.20	Yok
	Magnezyum	0.4-5.0	10.0	Yok
	Mangan	0.01-0.5	<1.0	1.0
	Bakır	0.01-0.5	<1.0	Yok
	Alüminyum	0.01-0.5	0.02	1.0
	Çinko	0.01-0.5	<1.0	1.0
	Molibden	0.2-0.5	<1.0	0.5
	Kobalt	0.1-5.0	<1.0	1.0
Vitaminler	Biotin	0.05-0.1	-	1.0
	Niasin	0-10	-	1.0
	Tiamin (B ₁)	0.3-1.2	-	1.0
	Laktoflavin (B ₁)	0.5-2.0	-	1.0
	Piridoksin (B ₁)	0.1-10	-	1.0
	Pantotenik asit	0.01-2.0	-	1.0

Atıksu tasfiyesinde vitamin miktarlarını değerlendirme; mikrobiyal populasyon hareketliliğini, metabolizma ve gelişimlerinde kullanımlarının anlaşılmasından kaynaklanmaktadır (Burgess ve diğ., 1999).

Vitaminlerin yapılarının ve fonksiyonlarının birbirinden çok farklı oluşları, gıdalarda eser miktarda bulunmaları ve ısı, ışık oksidasyon gibi dış etmenlerden aşırı derecede etkilenmelerinden dolayı tayinleri oldukça karmaşık, zor ve zaman alıcıdır (olakoęlu ve Ötleş, 1985). Suda özölebilen birçok vitaminin aynı anda belirlenmesi zordur ve birçok farklı analizler kullanılmaktadır. B grubu vitaminlerin belirlenmesi için elektrokimyasal metotlar, spektrofotometri, UV spektrofotometri, spektroflöorimetri, normal fazlı ve ters fazlı TLC (ince tabaka likid kromatografisi) ve HPLC, kapiler elektroforez gibi farklı enstrümantal metotlar kullanılmaktadır. B grubu vitaminlerin belirlenmesi için en fazla kullanılan metot C18 kolonun kullanıldığı ters fazlı HPLC' dir. Diğer kromatografi sistemleri, B₁, B₆ ve B₁₂ konsantrasyonu aynı olduğu durumlarda kullanılır. Fakat kompleksteki B₁ ve B₆ konsantrasyonu B₁₂ konsantrasyonundan yüz veya bin kat daha fazla olduğu zaman bu sistemler kullanılamaz (Amidzic ve diğ., 2005).

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Arıtma Çamuru

Arıtma çamuru; atık su arıtma tesislerinde atıksudaki süspanse maddelerin giderimi ile ortaya çıkan (Gaspard ve diğ., 1996), birçok kirletici maddenin konsantre hale getirildiği (Akça ve diğ., 1996), sıvı yada yarı katı halde, kokulu ve uygulanan arıtma işlemine bağlı olarak ağırlıkça % 0.25 ile % 12 katı madde içeren (Filibeli, 1996) atıklar olarak isimlendirilir.

Arıtma ile giderilen maddelere bağlı olarak büyük hacimlerde çamur oluşumunun yanı sıra, çamurun işlenmesi ve bertarafı konusu atıksu ile uğraşan mühendislerin karşılaştığı en kompleks problemlerden biridir. Çamur problemi komplekstir, çünkü;

- a) Arıtılmamış atıksu içinde önemli miktarlarda bulunan ve ona kokulu karakterini veren maddeleri içerir.
- b) Biyolojik arıtmada oluşan ve uzaklaştırılması gereken çamur, ham atıksu içerisindeki organik maddelerin bileşimi halinde, fakat başka bir yapıda, bozunma ve kokuşma eğilimindedir.
- c) Çamurun sadece küçük bir kısmı katı madde, önemli bir kısmı sudur, bu nedenle büyük hacimler işgal eder.

Arıtma tipine ve amacına göre arıtma çamurlarının cinsleri farklılık gösterir. Bunlar;

- a) Çökebilen katı maddelerin oluşturduğu ön çökeltim çamurları,
- b) Kimyasal arıtma ve koagülasyon sonucu oluşan kimyasal çamurlar,
- c) Biyolojik arıtma işlemleri sonucu oluşan biyolojik çamur,
- d) İçme suyu arıtma işlemleri sonucu oluşan çamurlar.

Atık bünyesinde kirlilik oluşturan maddeleri üç grup altında toplamak mümkündür.

- a) Çökebilen katı maddeler,
- b) Askıda katı maddeler,
- c) Çözünmüş katı maddeler.

3.1.1. Çamur kaynakları

3.1.1.1. Ön arıtma çamuru

Ön çökeltim havuzu tabanında toplanan maddeler ‘ ham ön çökeltme çamuru ’ olarak isimlendirilir. Ham ön çökeltme çamurunun su içeriği oldukça yüksektir. Bu çamur genellikle çürütülür ve ‘ çürük ön çökeltme çamuru ’ olarak bilinir. Çürütücülerde oluşan üst sıvı (supernatant) arıtma tesisi başına geri döndürülür. Çürütücü üst suyu, yüksek katı madde konsantrasyonuna sahiptir ve bu katı maddelerin arıtma sistemi girişine geri döndürülmesi bazı işletme problemlerine neden olabilir. Anaerobik çürütme ile uçucu katı maddelerin %50’si giderilir, koku azaltılır ve önemli oranda patojen giderimi sağlanır, çürümüş çamur doğrudan araziye verilebilir, kurutma yataklarında suyu alınabilir veya mekanik olarak suyu alındıktan sonra nihai bertarafı yapılır.

3.1.1.2. İkincil arıtma çamuru

En yaygın kullanılan ikincil arıtma tesisleri aktif çamur sistemleridir. Aktif çamur sisteminde oluşan mikroorganizma miktarı sistem için gerekli olan miktarı aşarsa, bu durumda fazla katı maddelerin sistemden atılması gerekir. Bu atık biyolojik materyal ‘ atık (fazla) aktif çamur’ olarak bilinir ve arıtma tesisi için gerçek problemlerden birisidir.

Uzun havalandırılmalı sistemlerin dışında, hemen hemen bütün aktif çamur prosesleri çamur fazlası üretmektedir. Bu proseslerin ilk çamur çökeltme tanklarından atılan çamurlar organik maddesi bol katıları ihtiva ederken, ikinci çökeltme tankı da aktif çamur biyolojik tankında üreyen biyolojik kütleden oluşmaktadır. Her iki tür çamurun çoğunluğu sudur, sadece %0.5 ila 5.0 oranında katı ihtiva eder. Bu çamurların bünyesinde zararlı maddeler bulunduğundan, çevreye bırakılmadan önce arıtmadan geçirilmeleri gerekir.

Damlatmalı filtreler de yaygın olarak kullanılan biyolojik arıtma yöntemlerinden birisidir. Filtre yataklarından kopan katı çamur “filtre humusu” miktarı olarak bilinir ve miktarı azdır. Filtre humusu ve aktif çamur genellikle ham ön çökeltim çamuru ile karıştırılır ve anaerobik çürütücülerde çürütülür. Sonuç materyal “karışık çürük çamur” olarak isimlendirilir ve nihai bertaraftan önce suyunu almak gereklidir. Filtre humusu ise atık aktif çamur gibi hafif, yumuşak bir çamurdur. %0.5- %1.5 katı madde içerir, rengi sarıdan siyaha değişir. Aktif çamur tesislerinde oluşan çamur türü, işletme yönetimine, giriş atıksu özelliklerine ve sistemde mevcut olan mikroorganizma türüne bağlıdır. Havalandırma havuzunun ekolojisi, işletme ve beslenmenin bir fonksiyonudur. Çamurların etkisiz hale getirilmeleri genellikle, aşağıda verilen proseslerden herhangi biri ile gerçekleştirilebilir. (a) Konsantre hale getirme, (b) Stabilizasyon, (c) Şartlandırma, (d) Suyunu alma, (e) Isıda kurutma ve yakma.

3.1.2. Çamurun biyolojik özellikleri

Atıksu arıtımında meydana gelen çamurlarda iki önemli husus; toksinomi (organizmaların sınıflandırılması) ve patojen organizmaların varlığıdır. Bir çamur kütlesinin sayılamayacak kadar çok farklı kaynağı olabileceği ve her bir kaynaktan gelen besin ile değişik organizmaların bu küttelede yer alacağını düşünürsek, bu küttele, patojen (hastalık yapan) mikroorganizmaların üremesi mümkündür. Bunların cins ve miktarını tespit etme zorluğundan dolayı, kimyasal özellik gibi biyolojik ve biyokimyasal özelliklerin çamur için bir genellemesini yapmak zordur. Kısa olarak, çamurda bulunan su giderici (dehydrogenase) enzimlerin varlığı ile çamurların su verme kapasitesi arasında bir ilişki olduğu tahmin edilmektedir. Bu suretle doğal su verme özellikleri iyi olmayan çamurlara enzimler ilave etmek suretiyle su verme özellikleri kolaylaştıracak veya tam tersine çamur daha stabil hale gelecektir. Ham ön çökeltim çamuru çok sayıda ve değişik türde organizma içerir. Patojen organizma konsantrasyonu oldukça yüksektir. Aktif çamurda çok çeşitli organizmalar vardır, hepsinin belirlenmesi imkânsızdır. Sabit besi maddesi altında bile organizmalar sürekli değişim ve üreme gösterirler. Çürümüş çamurda organizma sınıfları çürütme yöntemine bağlıdır. Çürütme işlemi ile patojenik mikroorganizmalar büyük oranda yok edilirler.

3.1.3. ÇAMUR ÇÜRÜTME

3.1.3.1. Aerobik Çamur Çürütme

Çeşitli arıtma işlemlerinden gelen organik çamurların biyolojik stabilizasyonu için kullanılan bir prostestir. Anaerobik çürütücüye alternatif olarak, atık aktif çamur aerobik olarak da çürütülebilir. Atık aktif çamur ayrı bir tank içine alınır ve birkaç gün süre ile havalandırılır. Böylece çamur içindeki uçucu katı maddeler biyolojik olarak stabilize olur. Sonuçta oluşan çamur “aerobik çürük çamur” adını alır. Aerobik çürümenin avantajları aşağıdaki gibi sıralanır:

- (a) Uçucu katı madde (VSS) indirgenmesi anaerobik çürüme ile elde edilene yakındır.
- (b) Substrattaki BOI konsantrasyonları oldukça düşüktür.
- (c) Kolayca bertaraf edilebilecek kokusuz, humusa benzer, biyolojik olarak stabil son ürün elde edilir.
- (d) Oluşan çamurun su alma karakteristikleri çok iyidir.
- (e) Çamurun gübreleme değeri yüksektir.
- (f) İşletme problemleri azdır.
- (g) Yatırım maliyetleri düşüktür.

Aerobik çürümenin avantajlarının yanında en önemli dezavantajı, sisteme gerekli oksijeni sağlamak için yüksek güç gereksinimidir. Metan gibi yararlı bir son ürünün elde edilememesi de bir dezavantajdır.

Aerobik çürüme aktif çamur prosesine benzer. Ortamda mevcut besi maddesi miktarı azalırken, mikroorganizmalar hücre bakım reaksiyonları için gerekli olan enerjiyi elde etmek üzere kendi protoplazmalarını yiyip bitirmeye başlarlar. Bu olay başladığında mikroorganizmalar endojen fazda bulunmaktadır. Hücre dokusu, aerobik ortama su, karbondioksit ve amonyakla oksitlenir. Gerçekte hücre dokusunun yalnızca %75- 80 i oksitlenir; kalan %20-25’ lik kısmı ise inert maddeler ve biyolojik olarak indirgenemeyen organik maddelerden meydana gelmektedir. Bu oksidasyondan açığa çıkan amonyak, sonuçta nitrata oksitlenir. Atıksuyun alkalinitesi çözeltiyi tamponlamak üzere yetersizce, amonyak nitrata oksitlendiğinde pH düşebilir. Teorik olarak oksitlenen amonyak başına 7.1 kg CaCO_3 giderilir.

Aktif çamur veya damlatmalı filtre çamuru ön çökeltim çamuru ile karıştırılıp aerobik olarak çürütüldüğünde ön çökeltim çamurundaki organik maddenin direkt oksidasyonu ve hücre dokusunun endojen oksidasyonu bir arada bulunmaktadır. Aerobik çürütücüler kesikli veya sürekli reaktörler olarak işletilebilir. Sistemin iki uygulaması vardır.

- (1) Klasik aerobik çürüme
- (2) Saf oksijenli aerobik çürüme

3.1.3.2. Anaerobik Çamur Çürütme

Anaerobik çürüme, çamur stabilizasyonu için kullanılan en eski proseslerden biridir. Moleküler oksijen yokluğunda organik ve inorganik maddelerin parçalanması işlemi olarak tanımlanabilir. Atıksu arıtımı sonucu oluşan arıtma çamurlarının biyolojik stabilizasyonunda ve bazı endüstriyel atıksuların arıtımında günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çürüme işlemi hava

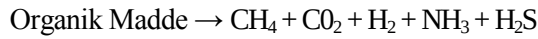
girişinin önleildiği kapalı bir rektörde gerçekleştirilir. Kompleks organik maddelerin havasız ayrışması en genel halde üç safhalı bir proses halinde ele alınabilir.

- 1- Yüksek molekül ağırlıklı katı ve çözünmüş organik maddelerin hidrolizi,
- 2- Düşük molekül ağırlıklı organik maddelerin asit bakterilerince muhtelif uçucu yağ asitleri ve müteakiben de asetik asite dönüştürülmesi,
- 3- Asetik asit, H₂ ve CO₂ 'den metan üretimi.

Havasız ayrışma sırasında oluşan enerji mikroorganizmalarca biyokütle sentezi ve hücre yenilenmesi şeklinde kullanılmaktadır.

Anaerobik çürüme bir seri organizma grubu tarafından yürütülen bir biyolojik bozunma işlemidir. Anaerobik çürümede kompleks organik maddelerin metan ve diğer nihai ürünlere dönüşümü, mikrobiyolojik populasyon ve metabolik aktivite tarafından koordine edilir. Bu proseste çamurdaki organik katılar sıvılaştırılır, katı hacmi düşürülür ve aynı çevrede yaşayan iki farklı bakteri gruplarının faaliyetleri sonucu çürütücüde faydalı metan gazı üretilir. Birinci grup, genellikle 'asit yapıcılar' olarak adlandırılan saprofitik organizmaları içerir. İkinci grup saprofitler tarafından üretilen asitleri kullanan 'metan üreticiler'dir. Asit üreten bakteriler pH ve sıcaklık gibi çevresel değişikliklere karşı toleranslıdır. Bu tür bakterilerin büyüme hızı metan bakterilerine göre daha hızlıdır. Diğer taraftan metan bakterilerinin büyüme hızları düşük olup aktiviteleri pH, sıcaklık değişimi ve substrat bileşimine karşı daha hassastır. Bu grubun yavaş büyümesi, değişen çevre koşullarına karşı hassaslıkları ile birleştiğinde, proses, bozulmayla sonuçlanabilir.

Mikroorganizmalar ve özellikle de bakteriler, yüksek moleküler ağırlıktaki kompleks organik bileşiklerin metana dönüşümünde rol alırlar. Gerçekleşen genel reaksiyon şu şekildedir:



Bazı mantar ve Protozoalar anaerobik parçalanma içerisinde yer almakla birlikte asıl baskın mikroorganizmalar bakterilerdir. Organik bileşiklerin hidroliz ve fermentasyonunda *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* gibi zorunlu ve fakultatif anaerobik bakteri yer alır. Kompleks maddelerin CH₄ ve CO₂ gibi basit moleküllere dönüşümü dört grup bakteri tarafından gerçekleştirilir. Bahsi geçen bakteri grupları arasında sinerjetik bir ilişki söz konusudur.

1. Grup Bakteriler: Polimerik Bileşiklerin Hidrolizinde Hidrolitik Bakteriler

Anaerobik bakteri grupları kompleks organik molekülleri monomerlere dönüştürebilmektedirler. Proteinler amino asitlere; yağlar yağ asidi ve gliserine; nişasta, glukoz ve dextroza; selüloz glukozu hidroliz olurlar. Yeni bakteri grubu ise oluşturulan monomerleri kullanırlar. Hidroliz organizmalar yardımı ile enzimatik olarak ya da asit (H₂SO₄, HCl, H₃PO₄) ile gerçekleştirilebilir. Selüloz, proteaz ve lipaz gibi ekstraselüler enzimler kompleks moleküllerin hidrolizinde katalizör görevini üstlenmektedirler. Enzimatik hidroliz normal şartlarda (25-30°C, 1atm) de oluşur ve daha özgül dönüşümler sağlar. Hücre dışı enzimlerce gerçekleştirilen hidrolitik faz (hidroliz) oldukça yavaş ve

İkinci basamakta oluşan organik asitler (valerik asit, bütirik asit, propiyonik asit, laktik asit, etanol) asetik asit oluşturan *Enterobacter sp.* (*E. coli*, *E. aerogenes*), *Clostridia sp.* (*C. Aceticum*) vb. gibi anaerobik mikroorganizmalar tarafından asetik asit, CO₂ ve H₂'e dönüştürürler. Etanol, propiyonik asit ve bütirik asit, asetojen bakteriler tarafından aşağıdaki reaksiyon ile asetik aside dönüştürülür (Gabriel, (1994)).

Asetik asit bakterileri çoğalmaları için gerekli enerjiyi organik asit ve solventlerin asetik asit, H₂ ve CO₂'e parçalanması sonucu açığa çıkan enerjiden sağlarlar. Termodinamik sebeplerle asetik asit bakterileri sadece H₂ kullanan mikroorganizma alt grupları ile birlikte yaşarlar. Asetik asit bakterileri aynı zamanda H₂ üreten asetojenik bakteriler olarak da tanımlanırlar.

Düşük SO₄⁻² konsantrasyonlarında belirgin olmamakla beraber sülfat gideren bakteriler de özellikle metan üretimini çeşitli şekillerde etkileyebilmektedir. Bu bakteriler bir yandan bazı organik asit ve alkoller asetik asite oksitlerken aynı zamanda sülfatları da H₂S'e dönüştürmektedirler. H₂S konsantrasyonu metan bakterileri için lüzumlu bir nütrient olduğundan, H₂S'in başka kaynaklardan karşılanmaması halinde ortamdaki sülfatın kullanılması gereklidir. Bununla birlikte SO₄⁻² konsantrasyonu çok yüksek olursa, sülfat giderimi sonucu, H₂S konsantrasyonu metan bakterileri için zehirli olabilecek seviyelere ulaşabilir ve sülfat gideren bakteriler metan bakterileri ile H₂ için rekabete girebilirler. Ortamda yeterince SO₄⁻² olmaması halinde sülfat gideren bakteriler asetik asit üreten bakteriler gibi H₂ üretecek tarzda faaliyet gösterebilmektedir.

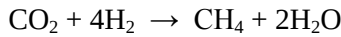
4. Grup Metan Oluşumunda Metan bakterileri

Üçüncü basamakta oluşan asetik asit, organik asitler, alkoller, CO₂ ve H₂ metan oluşturan mikroorganizmalar vasıtasıyla metan ve CO₂ 'e dönüştürürler. Metan oluşturan bakterilerden bazıları; *Methanobacter sp.*, *Methanococcus sp.*, *Methanovibrio sp.*, *Methanospirilla sp.* ve *Methanobacillus sp.* dir.

Metan bakterileri iki alt gruba ayrılırlar:

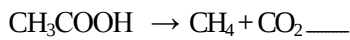
1. Hidrojenotrofik Metan bakterileri (hidrojen kullanan kemolitotroflar)

Bunlar H₂ ve CO₂ yi metana dönüştürürler.



Hidrojen kullanan metanojenler uçucu asitler ve alkollerin asetata dönüşümü için gerekli düşük H₂ gazı kısmi basıncı sağlarlar.

2. Asetotrofik Metan bakterileri; asetoklastik bakteri olarak adlandırılırlar asetatı, CH₄ ve CO₂ ye dönüştürürler.



Asetoklastik bakteriler asit oluşturan bakterilerden çok daha yavaş ürerler. Üretilen metanın 2/3'ü asetotrofik metanojen bakteriler tarafından asetatın dönüşümünden elde edilir. Diğer kısım hidrojenin CO₂'i indirgenmesi ile oluşur. Metan bakterilerinin 49 türü tanımlanmıştır (Gabriel, 1994).

Dört basamaklı anaerobik parçalanma prosesinde ya hidroliz (enzimatik) ya da metan oluşumu basamağı hız belirleyici (en yavaş) basamaktır.

Anaerobik parçalanmada H₂S gazı, sülfatın (SO₄⁻²) *Desülfovibrio sp.* tarafından indirgenmesi ile oluşur. Ayrıca, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter* gibi denitrifiye edici organizmalar NO₃⁻

'yi N₂ gazına dönüştürürler. Böylece, atık maddenin bileşimine bağlı olarak CH₄ ve CO₂ yanında H₂S ve N₂ gazları da oluşur.

Pratikte uygulanan üç tip anaerobik çamur çürütme yöntemi bulunmaktadır. (a) standart hızlı prosesler, (b) yüksek hızlı prosesler, (c) iki basamaklı (yüksek ve standart hızlı).

Bu iki ayrı sistemden standart olanı kesikli olarak çalıştırılmakta olup, genellikle ısıtılarak, gereken çamur bekletme süresi 30 ila 60 güne düşürülmektedir. Bu tip çamur çürütme birimlerinde organik yükleme hızı 0.5- 1.5 kg UAKM/m³ –gün arasında değişmektedir. Karıştırmanın uygulanmadığı standart hızlı çürütme tankları düşük kapasiteli (4000 m³ / gün) biyolojik arıtma tesislerinde kullanılmaktadır. Çünkü, hacim gereksinimi çok fazladır.

Yüksek hızlı çürütme birimleri iki kademeli olarak işletilmekte, birinci kademede tam karışım sağlanarak çamurların ısıtılması sağlanmaktadır. İkinci tank ise çökeltme ve gaz biriktirme tankı olarak görev yapmaktadır. Bu tip tanklara 1.60- 2.30 kg UAKM/m³ –gün yüklenebilmektedir. Birinci tanktaki çamur bekletme süresi 35 °C' de 10- 15 gün arasında değişmektedir.

Çürümemiş haldeki biyolojik çamurların % 70'i organik, yüzde %30' u ise mineral orijinlidir. Çamur çürütücüde, organik maddenin (2/3)' ü gaz haline geçer. O halde kuru ağırlığı 100 gram olan çamur çürütülünce, 30 gram mineral madde ile (70) (1/3) = 23 gram organik madde elde edilir. Yani 20+23=53 gram çamurun 23/53 = 0.45' i organik ve 0.55' i mineral orjinlidir.

Kurutulmuş organik maddenin birim ağırlığı başına meydana gelen gaz hacmi, çürüme zamanının ve sıcaklığının bir fonksiyonudur. Yüksek sıcaklıklarda ayrışma daha hızlı olmaktadır. Teşekkül eden toplam gaz miktarı da sıcaklıkla birlikte artmaktadır. Belirli bir çürüme zamanından sonra gaz teşekkül hızının azaldığı görülür (İleri, 2000).

Anaerobik çürütmenin amacı; stabilize olmuş bir çamur üretmek, patojenleri azaltmak, uçucu katıların kısmen yok edilmesiyle çamur miktarını azaltmak ve metan üretmektir. Anaerobik çürütmenin çamur arıtımında uygulanan diğer proseslere göre avantajları aşağıdaki gibidir (Mc Carty, 1964).

- * Sistem havasız olduğundan oksijen transferine gerek olmadığı için stabilizasyon verimi oksijenden bağımsızdır ve işletme maliyeti düşüktür.

- * Metan önemli bir yan üründür.

- * Giderilen organik maddelerin aerobik proseslere göre oldukça az bir kısmı biyokütleyle dönüştüğünden çamur üretimi çok düşüktür.

- * Bekletme süresi uzun olduğu için patojenler inaktif olur.

3.2. VİTAMİNLER

Vitaminler, nispeten küçük moleküllü organik bileşiklerle, diğer çeşitli kimyasal strüktürlerin teşkil ettiği bir gruptur. Esasen organizmada, özellikle madde değişiminde etken olan bu maddelere Polonyalı bilim adamı K. Funk, vitamin adını vermiştir. 1880’de keşfedilen ve zamanımıza kadar hala keşfedilmekte olan birçok vitaminler bilinmekte ve bunların strüktürleri de açıklanmış bulunmaktadır. İnsan ve hayvan beslenmesinde mutlak gerekli olduğu bilinmektedir. Protein, yağ ve karbonhidratlar gibi esas besin maddelerine oranla, organizmada katalitik fonksiyon yapan vitaminlere çok az miktarda ihtiyaç vardır. Vitaminler, genel olarak eksojen (dış kaynaklı) maddelerdir. Vitaminlerin diğer organik besin maddelerinden farkı, doku yapısına girmemeleri ve organizmaya enerji sağlamamalarıdır. Vitaminler besin maddelerinde çok az miktarda bulunmasına rağmen madde değişiminde fevkalade önemli rol oynarlar. Besin maddelerinde vitamin bulunmayışı yahut azlığı, madde değişimini zorlaştırır. Enzimlerle vitaminler arasında sıkı bir ilişkinin bulunduğu tespit edilmiştir. Her ikisi de biyokimya proseslerinde en önemli katalizatörlerdir. Şayet vitaminler proteinle birleşecek olursa enzimleri meydana getirirler. Bazı vitaminler organizmaya ön madde olarak girerler ve burada vitaminlere çevrilirler. Bu ön maddelere provitamin denir. Vitaminler suda ve yağda çözünen vitaminler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Yağda çözünen vitaminler A, D, E ve K vitaminleri, suda çözünenler ise B grubu vitaminleri ve C vitamini’dir (Tekman ve Öner, 1974; Çağatay, 1976; Keha ve Küfrevioğlu, 1997).

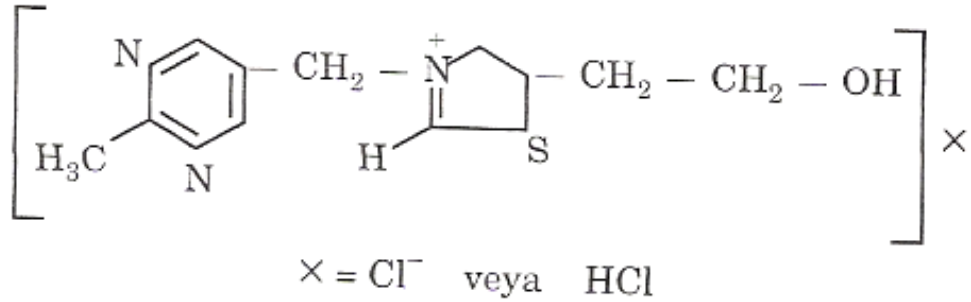
Tabiatta B vitaminleri adı altında bazı ortak özellikler gösteren vitaminler bulunur. Kimyasal yapıları farklı olmakla beraber bu vitaminlerin ortak özellikleri, genel olarak, suda çözünmeleri, azot ihtiva etmeleri, ısıya dayanıklı olmaları ve bazı enzimlerin etkili kısmını yani koenzimini veya prostetik grubunu teşkil etmeleridir. Bu vitaminlere B₁, B₂, B₃ vitaminleri vb. adlar verilir. B vitaminleri grubuna ait en önemli ve kimyasal yapıları aydınlatılmış olan vitaminler; tiamin (B₁), riboflavin (B₂), niasinamid (B₃), pantotenik asid (B₅), piridoksin (B₆), biotin, folik asid (B₁₀ veya B₁₁), siyanokobalamin (B₁₂) ve α-lipoik asiddir. Bunlardan başka kolin, inozitol, adenin (B₄) ve p-aminobenzoik asid’i birçok otoriteler B vitamini olarak kabul etmemekte, bazıları ise kabul etmektedirler. B grubu vitaminlerinin eksiklik belirtileri, çok defa bir tek vitamene ait olmayıp diğerlerinin eksikliği ile de ilgilidir (Tekman ve Öner, 1974). Bu çalışma atık su ve arıtma çamurundaki bazı B grubu vitaminlerinin varlığına odaklandığından burada sadece çalıştığımız suda çözünen B grubu vitaminlerden B₁ (Tiamin), B₂ (Riboflavin), B₃ (Nikotinamid), B₆ (Piridoksin), B₁₁ (Folik Asit) ve B₁₂ (Kobalamin) ile ilgili bilgi verilecektir.

3. 2. 1. B₁ VİTAMİNİ (Tiamin)

Tiamin adıyla bilinir. İlk keşfedilen B vitaminidir. Bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentez edilir. Tiamin, çoğu omurgalılar ve bazı mikroorganizmalar için zorunlu olan bir vitamindir. Hayvansal, bitkisel organizma ve mikroorganizmalarda karbonhidratların değişiminde önemli rol oynar. Karboksilaz enziminin bir parçasını teşkil eder. Hücrelerde büyük orana aktif koenzim formu

olan tiamin pirofosfat (TPP) halinde bulunur. Tiamin pirofosfat, iki sınıf enzimle katalizlenen reaksiyonda koenzim rolü oynar. Her ikisi de karbonhidratların ana metabolizma yolunda aldehit gruplarının uzaklaştırılması ve/veya taşınmasında rol oynarlar; (1) α -keto asitlerin dekarboksilasyonunda ve (2) α -keto cisimlerinin oluşumunda veya yıkımında. Bu reaksiyonlarda tiamin pirofosfatın tiyazol halkası, kovalent bağlı aktif bir aldehit grubunun taşıyıcısı rolünü oynar. Mg^{+2} kofaktör olarak gereklidir. Tiamin pirofosfat piruvat dehidrogenaz, α -ketoglutarat dehidrogenaz ve transketolaz enzimlerinin prostetik grubudur.

B₁ Vitaminin Kimyasal Yapısı



Vücutta karaciğer, kalp ve böbreklerde çok az depolandığı için günlük olarak alınması gereklidir. Fazla alındığında da idrarla atılır. Oldukça dayanıksızdır. Alkol, kafein, yiyecek katkıları, antibiyotik kullanımında etkisiz hale gelir. Fırında pişirilme işleminde suda pişirilmeye oranla daha az tahribata uğrar. Tiamin en çok bira mayasında ve buğday, pirinç, arpa gibi tahılların kabuğunda bulunur. Bundan başka kuruyemiş (fındık, fıstık, ceviz) ve baklagillerde (fasulye, nohut, bakla, mercimek) beslenme bakımından yeter miktarda vardır (Tekman ve Öner, 1974; Çağatay, 1976; Keha ve Küfrevioğlu, 1997; Kalaycıoğlu ve diğ., 2006).

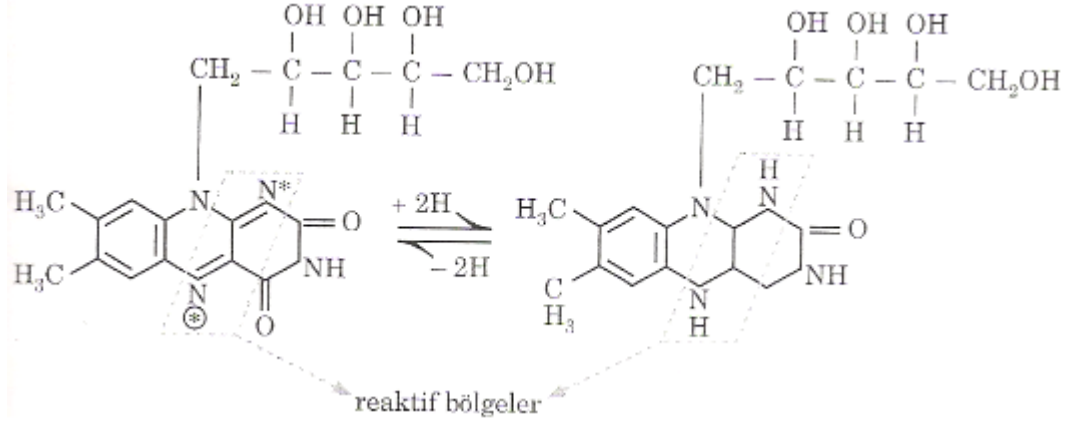
3. 2. 2. B₂ VİTAMİNİ (Riboflavin, Laktoflavin)

Uzmanlar ilk önce vitaminleri ısıya dayanıklı ve ısıya dayanıksız olarak iki gruba ayırmışlardır. B₂ vitamini de ısıya dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Isıya dayanıklı olduğu halde alkalik çözeltide dayanıklı değildir. B₂ vitamini 1935 yılında ilk defa süttten izole edildiği için laktoflavin adını da alır. Bütün bitkiler ve birçok mikroorganizmalar tarafından sentezlenebildiği halde yüksek hayvanlarca sentezlenemezler. Riboflavin, glukoz 6-fosfatın oksidasyonunda gerekli olan bir vitamindir.

Riboflavin'in fosfor asidi kökü, madde değişiminde (metabolizma) önemli rol oynayan ve bazı enzimlerin esas maddesidir. Riboflavinin ribitil grubunun 5'-karbon atomuna fosforik asit bağlanmasıyla flavin mononükleotid (FMN), bunun da adenilik asitle birleşmesiyle flavin adenin dinükleotid (FAD) meydana gelir. Flavinnükleotid enzimlerin etkili grubudur. Oksido-redüksiyon reaksiyonlarını katalize eder. Flavinnükleotidler flavoproteinler veya flavoenzimler olarak bilinen

redoks enzimlerinin prostetik grubu olarak görev yaparlar. Bu enzimler piruvatın, yağ asitlerinin, amino asitlerin oksidatif yıkımına ve elektron taşınma olayına katılırlar. Riboflavin, bitkisel ve hayvansal organizmada serbest halde ve fosfor esteri halinde bulunur.

B₂ Vitaminin Kimyasal Yapısı

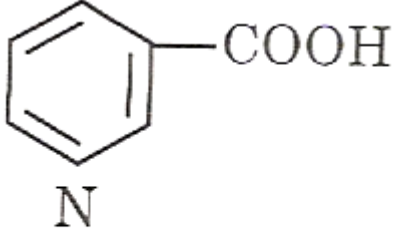


B₂ vitamini bitkisel ve hayvansal yiyeceklerde özellikle peynir, karaciğer, böbrekler, süt, yumurta sarısında, balık , kuru fasulye ve ıspanakta bol miktarda bulunmaktadır. Isıya karşı asit reaksiyonlarda dayanıklı, alkali reaksiyonlarda dayanıksızdır (Tekman ve Öner, 1974; Çağatay, 1976; Keha ve Küfrevioğlu, 1997; Kalaycıoğlu ve diğ., 2006).

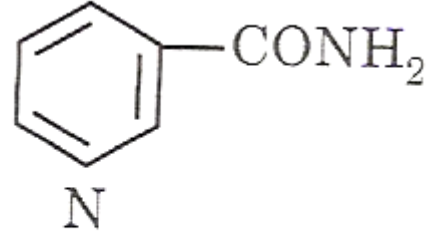
3. 2. 3. B₃ VİTAMİNİ (Niasin, Nikotinik Asit, Nikotamin)

B₃ vitamininin niasin (nikotinik asit) ve nikotinamin gibi isimleri de vardır. PP vitamini de denilir. Eskiden sadece bu adlarla anılırken artık B₃ denilmektedir. Kimyasal olarak nikotin ile yakınlığı varsa da etkilerinin benzerliği yoktur. Bitkiler ve çoğu hayvanlarda nikotinik asit, değişik yollarla özellikle triptofandan elde edilebilir. Nikotinamid ihtiva eden başlıca iki koenzim vardır: Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) ve nikotinamid adenin dinükleotidfosfat (NADP⁺). Her iki koenzim piridin koenzimi veya piridin nükleotidi olarak adlandırılır. Piridin nükleotidleri, piridine bağımlı dehidrogenaz sınıfından oksidoredüktaz enzimlerinin koenzimi olarak görev yaparlar. NAD⁺ ve NADP⁺ birçok oksidoredüktazın (dehidrogenaz) koenzimleri olup oksidasyon ve redüksiyon olaylarında görev alır. Bu koenzimler oksidasyonda NAD⁺ ve NADP⁺, redüksiyonda ise NADH ve NADPH şeklindedir. NADPH tamamen indirgeyici biyosentez olaylarında görev alırken; NADH, ATP sentezine katılır. Piridin nükleotidli dehidrogenazla katalizlenen reaksiyonlar, normal olarak dönüşümlüdür.

B₃ Vitaminin Kimyasal Yapısı



Nikotinik asit
(Niasin)



Nikotinamid

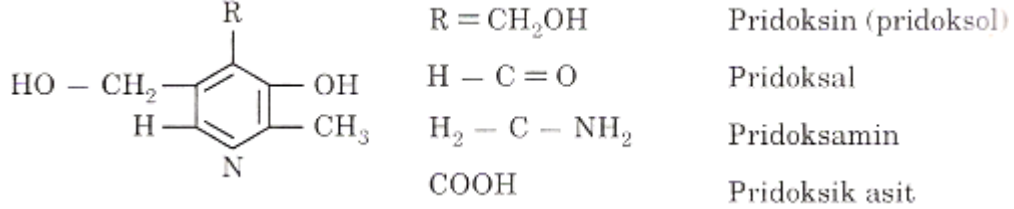
Vitaminler içerisinde ısıya ve ışığa karşı en dayanıklısıdır. B₃ vitamini en çok ette ve özellikle karaciğerde bulunur. Bundan başka bira mayası, yeşil sebzeler, kuru fasulye ve bezelye, tahıl kepeği, avokado, hurma, incir, yer fıstığı bu vitamini için iyi bir kaynaktır (Tekman ve Öner, 1974; Çağatay, 1976; Keha ve Küfrevioğlu, 1997; Kalaycıoğlu ve diğ., 2006).

3. 2. 4. B₆ VİTAMİNİ (Piridoksin, pridoksamin)

Piridoksin (piridoksol) adı ile bilinir. Vitamin B₆ bütün transamilazların prostetik grubudur. Piridoksin, biyolojik olarak piridoksal ve pridoksamine dönüşebilir. B₆ vitamininin aktif koenzimleri de piridoksal fosfat ve piridoksamin fosfattır. Piridoksin koenzimleri çok yönlü fonksiyona sahiptirler ve çok çeşitli enzimatik reaksiyonlara katılırlar. Piridoksal fosfatın zorunlu koenzim olarak katıldığı genel bir enzimatik reaksiyon tipi transaminasyondur; bu reaksiyon tipinde bir amino asidin α -amino grubu bir α -keto asidin α -karbon atomuna taşınır. Bu gibi reaksiyonları katalizleyen enzimler transaminazlar veya aminotransferazlar olarak adlandırılır. Transaminasyon reaksiyonlarında, bir amino asidin α -amino grubuyla enzime bağlı piridoksal fosfat arasında bir Schiff bazı oluşur. Daha sonra bu amino grubu amino asitten ayrılır ve bir α -keto asit oluşur. Meydana gelen enzime bağlı piridoksamin fosfat bir başka α -keto asidiyle reaksiyona girer; sonuçta yeni bir amino asit ve piridoksal fosfat enzim kompleksi oluşur. Piridoksal fosfatın transaminasyon reaksiyonları dışında da koenzim rolü vardır: α -amino asitlerin dekarboksilasyonu, molekülde H₂O ve H₂S'in uzaklaştırılması ve rasemizasyon. Yine glisin ve serinin birbirine dönüşmesinde koenzim olarak etki eden tetrahidrofolik asitle beraber piridoksal fosfata da ihtiyaç vardır. Besinlerde B₆ vitamini piridoksin, piridoksamin ve piridoksal olarak 3 şekilde bulunur. Bunlar vücutta birbirine dönüşebilir. Aktif şekli kısaca PLF (piridoksalfosfat) denilen şekilde bulunur. 60 kadar enzimin işlemesi için koenzimdir.

DNA ve RNA'nın sentezi ve fonksiyonlarına etkilidir. Dayanıksızdır, alkali ortamda, güneş ışığı etkisiyle, işlenme esnasında, uygun olmayan saklama koşullarında, pişirme sırasında kolaylıkla harap olur.

B₆ Vitaminin Kimyasal Yapısı

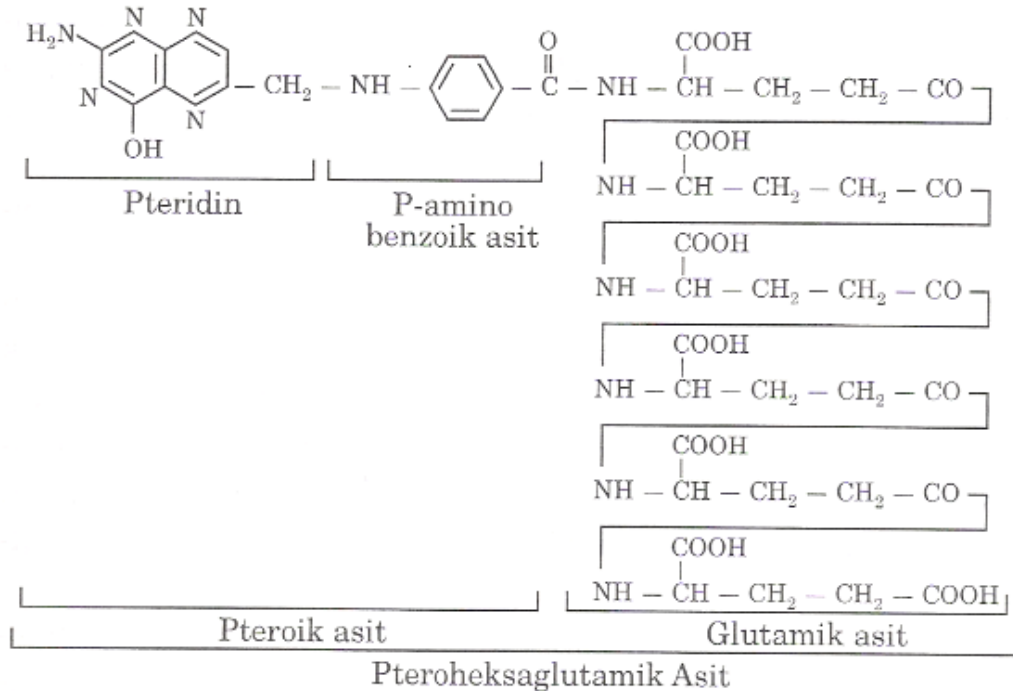


Bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentez edilir. B₆ vitamini en çok maya, pirinç kabukları, yumurta sarısı, tahıl ve sebzelerde, avokado, soya fasulyesi, patates, kuruyemiş, et, karaciğer, böbrek, balık ve sütte bulunur (Tekman ve Öner, 1974; Çağatay, 1976; Keha ve Küfrevioğlu, 1997; Kalaycıoğlu ve diğ., 2006).

3. 2. 5. B₁₁ VİTAMİNİ (Folik Asit)

Folik asit ve vitamin BC gibi isimleri varsa da folik asit olarak bilinir. Bitkilerde oldukça yaygındır. Bağırsaklardaki mikroorganizmalar tarafından da sentezlenir. Memelilerce sentelenemezler.

B₁₁ Vitaminin Kimyasal Yapısı



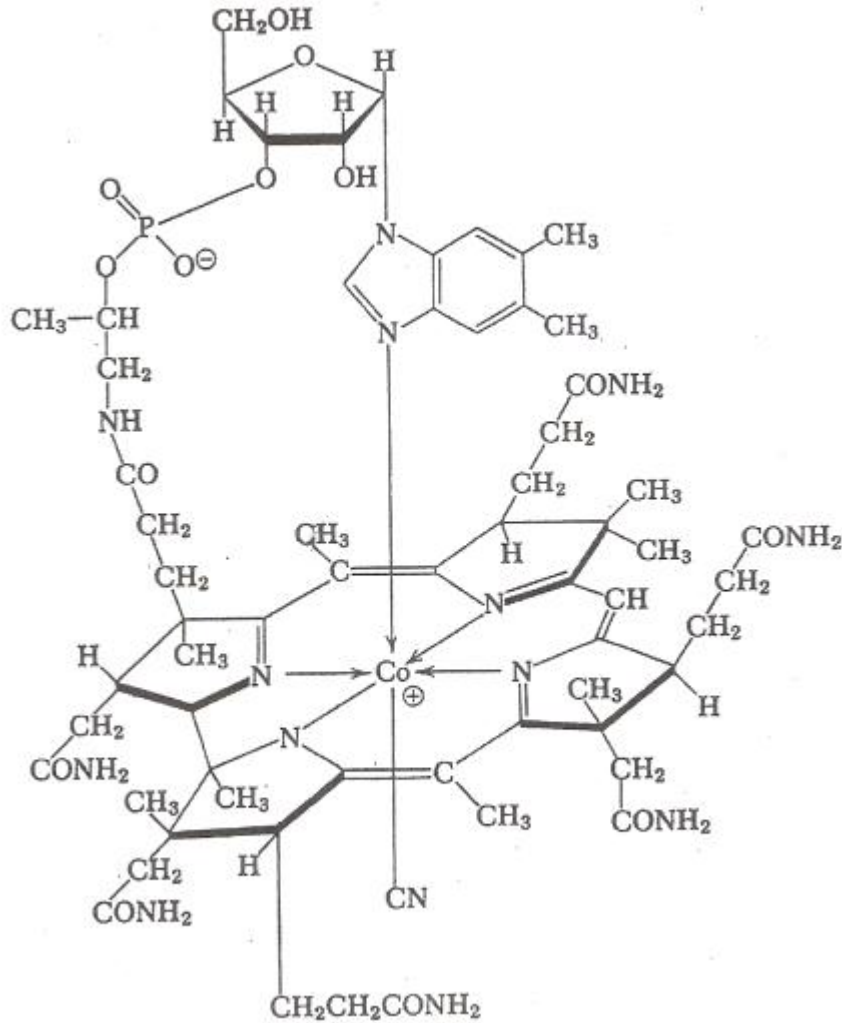
Folik asit, kendi başına folik asit etkisi göstermez. Besinlerde bulunan folik asit organizmada enzimatik olarak tetrahidrofolik aside dönüşür/redüklenir. Tetrahidrofolik asit (THFA) ise folik asidin koenzim şeklidir. Tetrahidrofolik asit, bir karbonlu birimlerin enzimatik reaksiyonlarında oksidasyon

ve redüksiyonla birbirlerine değişmesinde koenzim olarak görev yapar (metil, metilen, fromil, formimino, metenil gibi). B₁₂ Vitaminine benzer etki alanları olan THFA adlı enzimin ön maddesidir. Hücre için şart olan DNA ve RNA sentezinde görev alır. Hücre bölünmesi için gereklidir. Bu etkisi ile büyümeyi de sağlar. Genel olarak yeşil sebzelerde bol miktarda bulunur. Havuç, avokado, yumurta ve portakal suyu gibi gıdalarda da bulunur. Mikroorganizma, bitki ve hayvanlarda oldukça yaygındır. Dayanıksızdır, ışık, ısı, bekleme ve pişirilme esnasında tahrip olur (Tekman ve Öner, 1974; Çağatay, 1976; Keha ve Küfrevioğlu, 1997; Kalaycıoğlu ve diğ., 2006).

3. 2. 6. B₁₂ VİTAMİNİ (Kobalamin)

Siyanokobalamin veya kobalamin adları ile bilinir. B₁₂ adı daha yaygındır. Hayvanlar ve bitkiler B₁₂ vitaminini kendileri sentezleyemezler, yalnızca bikaç mikroorganizma tarafından sentezlenirler. Bazı mikroorganizmaların çoğalmaları için kobalamine gerek vardır.

B₁₂ Vitaminin Kimyasal Yapısı



Bitkisel kaynaklı besinlerde bulunmaz. Ancak hayvansal kaynaklı besinlerle alınabilir. Barsak bakterileri tarafından üretilebilir ama bu vücuda pek yarar sağlamaz zira bakteriler kalın barsakta bulunur ama bu vitamin ince barsaklardan emilebilir. Vejetaryen kişilerde yegâne eksikliği oluşan vitamindir. Vücuttaki tüm hücelere gereklidir. Hücreler ne denli hızla çoğalıyorsa o kadar fazla B₁₂ vitaminine gereksinim duyarlar. Koenzim B₁₂ değişik enzimlerin etkileri için gereklidir. DNA sentezi için şarttır, fakat RNA için şart değil fakat yararlıdır. Bu işlevini folik asitle beraber yürütür. Yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmalarına etkilidir. Hayvansal kaynaklı besinlerle temin edilir. Sakatat denilen hayvan karaciğer, yürek ve böbreğinde bol olarak bulunur. Kırmızı et, karaciğer, böbrek, süt, balık ve yumurta bu vitamin yönünden zengindir. Pişirme işlemi pek zararlı değildir (Tekman ve Öner, 1974; Çağatay, 1976; Keha ve Küfrevioğlu, 1997; Kalaycıoğlu ve diğ., 2006).

3. 3. YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC)

HPLC suda çözünen bütün vitaminlerin tayini ve ayrımı için genel bir yöntemdir. Temel kromatografik proses örnek moleküllerinin hareketli faz ve sabit faz arasında paylaşımından ibarettir. Gaz kromatografisinde hareketli faz bir gaz, sıvı kromatografisinde ise bir sıvıdır. Sıvı kromatografisinde sabit faz bir kolonda bulunur ve hareketli faz onun üzerinden akar veya pompalanarak akıtılır. Örnekteki ayrılacak iki bileşik kolondan farklı hızlarda ilerlemelidir. Kromatografinin başlıca amacı bir örnekteki bileşenlerinin ayrılmasının gerçekleştirilmesidir. HPLC, tüm analitik ayırma tekniklerine göre çok geniş kullanım alanına sahiptir. HPLC, gaz kromatografisi kadar yüksek rezolüsyona sahip olmamakla birlikte, pek çok alanda gaz kromatografisinden daha uygundur. HPLC'nin en büyük avantajı ısıya dayanıklı olmayan ve uçucu olmayan bileşiklerin analiz edebilmesidir. Vitaminler veya aminoasitler gibi analiz edilecek karışımda kimyasal olarak birbirine çok benzer bileşikler arasında iyi bir ayırma gücüne sahiptir. Analiz süresi genellikle kısadır. Bu, diğer kromatografik tekniklere göre HPLC'ye üstünlük sağlar. Şeker (2006), HPLC ile ilgili aşağıdaki bilgileri vermiştir.

Sıvı kromatografisi yönteminin özel bir uygulaması olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yönteminde, sabit faz olarak kullanılan parçacık boyutlarının önemli ölçüde küçültülmesi sonucu hareketli faz ile etkileşen sabit faz yüzey alanı büyür ve böylece kolonun etkinliği artırılmış olur. Çok sıkı olarak doldurulmuş kolondan hareketli fazın belirli bir hızla geçebilmesi için bir basınç uygulanması gerekir. Bu yüksek verimdeki kolonların ve oldukça yüksek basınçların kullanıldığı HPLC, element türlendirilmesinde en yaygın biçimde uygulanan kromatografi türüdür.

HPLC günümüzde kimya, biyokimya, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp kimyası, bitki kimyası, tarım ve kimya mühendisliğini içeren alanlarda ayırma ve analiz için vazgeçilmez bir araç olarak kabul edilmektedir. Bilhassa diğer kromatografik tekniklere uygun olmayan bileşiklerin ayrılması ve analizi için uygundur. Çevre sıcaklığında termal olarak kararsız bileşikler ve yüksek polarlıktaki bileşikler herhangi bir türevlendirme olmaksızın ayırabilir ve analiz edebilir.

HPLC'nin sıvı kromatografisinin diğer türlerinden üstünlükleri şunlardır:

- HPLC kolonu, rejenerasyon olmaksızın pek çok kez kullanılabilir.
- Böyle kolonlarda gerçekleştirilen ayırma, eski yöntemlerle elde edilenden çok daha çeşitlidir.
- Bu teknik kullanıcının becerisine daha az bağımlıdır ve tekrarlanabilirlik daha yüksektir.
- Nicel analiz amaçları için de kullanılabilir.
- Analiz süresi kısadır.
- Duyarlık çok yüksektir

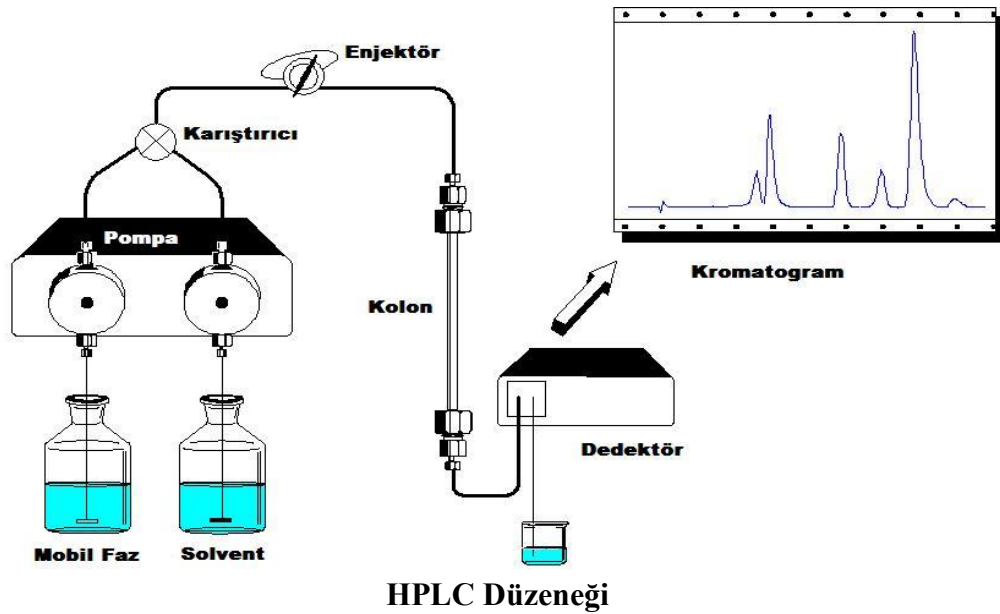
HPLC cihazı başlıca üç bölümden oluşur:

- Çözücü dağıtma bölümü
- Ayırma kolonu

- Dedektör ve kaydedici sistem

3.3.1. Çözücü Dağıtma Sistemi

HPLC cihazı, diğer sıvı kromatografisi cihazlarından, daha önce de belirtildiği gibi, kolon giriş ve çıkışı arasında oluşturulması gereken yüksek basınç nedeni ile farklılık gösterir. Bu basınç farkı, kolon girişine bir pompa yoluyla uygulanan basınç ile sağlanır. Çözücü pompalama sistemi belki de HPLC sisteminin en önemli kısmıdır. Pompanın performansı, analitik sonuçlardaki tekrarlanabilirliği, nicel değeri, gözlenebilme sınırı vb. değerleri büyük ölçüde etkiler. Ticari olarak mevcut pompalama sistemlerinin farklı tipleri şunlardır:



- Doğrudan gaz basınç pompalarında, yüksek basınçta sıvı akışının sağlanması, genellikle azot veya helyum gazının kullanılmasıyla olur. Gaz basıncı, hareketli fazın yüzeyine doğrudan veya bir diyafram yoluyla uygulanır. Bu sistem sınırlı bir hacme sahiptir, bu yüzden durdurularak tekrar çözücü ile doldurulmalıdır. Avantajı, ucuz ve tek hareketli faz kullanıldığında güvenilir olmasıdır.
- Pnömatik (havalı) pompalar da gaz basıncıyla çalışır. Gaz basıncı küçük alanlı bir pistonu iten büyük alanlı bir pistonla etki eder. Gaz basıncı böylece pistonların yüzey alanları oranında kuvvetlenir. Sabit basınçtaki sıvı sisteme dağıtılır. Sıvının pompayı terketme hızı, çözücünün vizikositesine, pompa çıkışındaki akışın direncine ve kolon dolgu maddesiyle olan etkileşimine bağlıdır.
- Pistonlu (sabit akış) pompaları iki modeldir. Birinde piston, pompalanan hareketli sıvı faz ile doğrudan temas halindedir. Diyafram pompaları olarak adlandırılan diğerinde ise, piston hareketi hidrolik sistem yoluyla esnek paslanmaz çelik membrana iletilir. Bu pompaların piston hareketi nedeniyle çözücü, sabit akış hızında, havalı pompalardan daha seri pulslerle dağıtılır. Çözücünün

pulslu akışı ile dakikada 25 -100 piston hareketi (strok) üretilir. Pompalardaki sıvı akışı genellikle 10 mL.dak⁻¹e kadardır.

- Şırınga tipinde pompalarda, elektriksel olarak hareket eden kurşun vida, verilen çözücü hacmini yeterli basınçta tutan bir pistonu hareket ettirir. Bu pompaların başlıca avantajı, yüksek basınçta (7500 psi'a kadar) serbest pulslu akış sağlama yetenekleridir ve akış hızı, çalışılan basınçtan bağımsızdır.

Pompaların aynı zamanda çözücü oranlarını da değiştirebilecek şekilde programlanabilmesi, *çözücü programlaması* adı verilen ve çok daha etkin bir ayırmayı sağlayan tekniğin uygulanmasına olanak verir.

Çözücüler, ayırma kolonuna girmeden önce karıştırılırlar. Bu sistem gerekli ayırmayı sağlamakta kullanılan iki hareketli faz için, iki yüksek basınç pompasına sahiptir. Bu amaçla kullanılacak iki hareketli fazın tamamen karışabilir olması gerekir. Pompalar yoluyla çözücüler, ya difüzyon ya da mekanik olarak çalışan küçük hacimdeki karıştırma odalarında karıştırılırlar.

Sıvı kromatografisinde, iki farklı örnek enjeksiyon sistemi kullanılır.

a) Hareketli faz akışı olurken; Septum yoluyla kolon başına mikrosırınga ile enjeksiyon,

Hareketli faz akışının durdurulmasıyla septum yoluyla enjeksiyon,

Kolonun hemen başında hareket eden faza septum yoluyla enjeksiyon.

b) Dış ilmek subabı (valfi)yoluyla enjeksiyon.

Şırınga enjeksiyonları, iç hacmi mümkün olduğunca küçük olması gereken bir septum enjektörü vasıtasıyla yapılabilir. Bu basit alet, dolgu maddesine yapılan (kolon üzeri enjeksiyon) ve akışı durdurarak yapılan enjeksiyonlar (stop-flow) için iyi sonuçlar verir. Kolon üstü septum enjeksiyonu yapılırken alınması gereken önlem, iğnenin kolon dolgu maddesine temas etmemesidir.

3.3.2. Kolonlar

HPLC cihazında kullanılan kolonlar, yüksek basıncı korumak için paslanmaz çelikten yapılmışlardır. Bunlar baştan başa düzgün bir iç çapa sahiptirler ve ticari olarak değişik büyüklüklerde mevcuttur.

Bir kromatografik sistemin performansı, kolonda gerçekleştirilen ayırma ile yani, kolon dolgu maddesinin seçilmesi ve kullanılmasıyla tayin edilir.

HPLC çalışmalarında sabit faz olarak genellikle silika jel kullanılır. İçerdiği SiOH grupları nedeniyle zayıf asidik özellik gösteren silika jel, bazik özellik gösteren bileşikler bazlık kuvvetlerine göre tutar.Yani, kuvvetli bazlar silika jel kolonlarda zayıf bazlara oranla daha kuvvetli tutulurlar. Silika jel doğrudan dolgu maddesi olarak kullanıldığı gibi bir katı yüzeyine film halinde kaplanabilir. Bu katının cam boncuk olması durumunda bu ince tabaka, yüzeye kimyasal bağlarla bağlanır. Asidik özellik gösteren bileşiklerin ayrılmasını sağlayan, yani bazik özellik taşıyan bir kolon dolgu maddesi de alüminadır. Bu dolgu maddesi de katı bir yüzeye film halinde kaplanarak kullanılır.

Elementel türlendirme amacı ile kullanılan dolgu maddesi ise genellikle anyon veya katyonları tutan iyon değiştirici reçinelerdir. Bu reçinelerin kullanılması durumunda örnekte iyon halinde bulunan türlerin birbirinden ayrılması sağlanabilir. Kullanılan iyon değiştirici reçineler doğrudan kolona doldurulabilen katı reçineler olabileceği gibi, bir katı yüzeyine kaplanmış sıvı reçineler de olabilir. İyonların bu reçinelere olan ilgilerine etki eden birçok faktör vardır. Bunlar; iyonların yükü ve büyüklüğü, pH, iyon şiddeti, kullanılan reçinenin gözenekliliği, çözücü cinsi, çözücü derişimi ve sıcaklıktır.

Silika temelinde iyon değiştiriciler: Silika temelinde iyon değiştiren matriksler hidrofiliktir ve polimerik tabaka oluşması için kullanılan çapraz bağlayıcılar yüzünden düşük hidrofobik tutunma gösterirler. Küçük parçacık büyüklükleri ve sık dağılımları yüksek kaliteli bir ayırma sağlar. Gözenekli yüzeylerinden dolayı, hareketli faza önemli bir temas yüzeyi sağlarlar. Kimyasal ve mekanik olarak kararlı olan silika matriksleri, yüksek akış hızı gerektiren yüksek basınca karşı iyi direnç gösterirler. 2.5-7 pH aralığındaki sulu tamponlar ve pekçok organik çözücüler, matrikste şişme veya büzülme olmaksızın kullanılabilirler.

İyon değiştirici reçineler, polimere bağlanan asidik veya bazik fonksiyonel grupların kuvvetine göre de sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırma kuvvetli bazik (kuvvetli anyon değiştirici), oldukça bazik, zayıf bazik, kuvvetli asidik (kuvvetli katyon değiştirici) ve zayıf asidik şeklindedir. Fonksiyonel grubun bazikliği veya asidikliği arttıkça ters yüklü örnek iyonlarını çekme gücü artar.

3.3.3. Dedektörler

Örnek, hareketli faz ile birlikte kolon boyunca sürüklenerek dedektöre taşınır. HPLC cihazlarında kullanılan dedektörler, diğer sıvı kromatografisi cihazlarında kullanılan dedektörlerle aynıdır. Analizin amacına göre UV absorpsiyon, kırılma indisi, floresans ve elektrokimyasal dedektörler kullanılır. İdeal bir dedektör şu özelliklere sahip olmalıdır:

- Hızlı ayrılan pikleri kaydetmek için süratli cevap zamanına sahiptir.
- Hareketli fazdaki akış hızı, sıcaklık ve fazın bileşimindeki değişimlere karşı bir dereceye kadar duyarsızdır.
- Bütün çözünenlere cevap verir veya en azından tahmin edilebilir bir seçiciliğe sahiptir.
- Kolay çalışır ve güvenilirliği fazladır.
- Oluşan pikte kalitatif bilgi de sağlar.

HPLC dedektörlerinin iki tipine rastlamak mümkündür. Bunlar;

1. Genel dedektörler
2. Seçici dedektörler'dir.

Genel dedektörler, hareketli faz ve örnek çözeltisinin özelliklerindeki değişimi ölçer. Seçici dedektörler ise yalnız örnek çözeltisi için duyarlık ve seçicilik gösterir. Genel özellikli dedektörlere örnek olarak kırılma indisi ölçen dedektörler ve kütle spektrofotometreleri verilebilir. Seçici dedektörlere örnek olarak da UV, FT-IR, floresans, elektrokimyasal, radyokimyasal, iletkenlik dedektörleri verilebilir.

UV absorpsiyon dedektörü, kolondan ayrılarak dedektöre ulaşan bileşenlerin ultraviyole bölgede yaptığı absorbansın ölçümüne dayanır. Tek bir dalga boyunda çalışan dedektörler kullanılabildiği gibi bir monokromatör ile çeşitli dalgaboylarını seçerek çalışan dedektörler de vardır. Tek dalgaboyunda çalışan dedektörlerde ışık kaynağı olarak genellikle 254 nm’de ışıma yapan Hg lambası, çeşitli dalgaboylarını ölçebilen dedektörlerde ise döteryum lambası kullanılır. Spektrofotometrik ölçüm temeli ile çalışan bir başka dedektör türü ise fotodiyot dizisidir. Ölçümlerin çok hızlı bir biçimde yapılmasının gerektiği analizlerde genellikle bu dedektör kullanılır.

UV dedektörün karakteristikleri şunlardır:

- Örneklerin UV- görünür bölgede absorpsiyon yapması gerekir.
- Hareketli faz akış hızı ve sıcaklık değişimlerinden etkilenmez.
- Band genişletme etkisi küçüktür.
- Çok güvenilir, operasyonu kolaydır.
- Örnek çözeltiyi bozmaz.

Floresans özellikleri taşıyan bileşiklerin analizinde ise spektrofotometrik dedektörlere oranla duyarlığı daha fazla olan floresans dedektörlerin kullanılması mümkündür. Bu dedektör ile 10^{-11} g/mL gibi çok düşük gözlenebilme sınırlarına inilebilmektedir. Luminesans özelliğine sahip olan ilaçların, aminoasitlerin tayini yapılabilir yada bazı biyokimyasal bileşikler floresant bir madde ile tepkimeye sokulup, yeni bir floresant ürün veya etiketlenirilmiş ürün oluşturulur.

10^{-11} - 10^{-12} g/mL değerinde gözlenebilme sınırına ulaşılan elektrokimyasal dedektörler, elektroliz sonucu akım ölçülmesi ilkesine göre çalışır. Burada ölçülen akım, örnek maddesinin elektrolizi sonucu olduğundan kullanılan çözücünün elektrik akımı vermemesi gerekir. Elektrokimyasal redoks tepkimelerine cevap veren ve polarografi ilkesine dayanan HPLC dedektörü de yaygın olarak kullanılır.

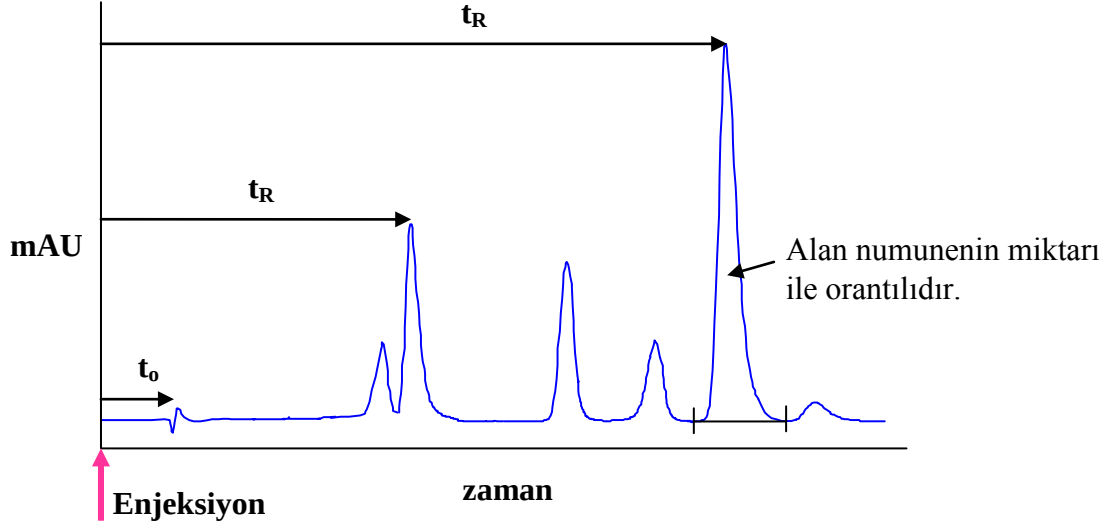
İletkenlik dedektörleri kolondan çıkan iyonik haldeki bileşenlerin ölçümünde kullanılır. Bu dedektör organik sistemler için pek uygulanabilir değildir. Daha çok sulu sistemlere uygundur.

Tüm bileşenleri ölçebilen, yani seçimli olmayan kırılma indisi dedektörü ile yapılan ölçümlerde, kırılma indisi sıcaklıkla değiştiğinden, çok iyi bir sıcaklık kontrolü yapılmalıdır.

Çok yönlülüğü mükemmeldir, fakat duyarlılığı vasat olduğundan eser analizler için ideal değildir.

t_0 - Kolonda tutunamayan piklerin elusyon zamanı

t_R - retansiyon zamanı (numuneyi belirleyicidir.)



3.3.4. HPLC Kullanırken Alınması Gereken Önlemler

3.3.4.1. Hareketli faz çözücülerini için önlemler

Farklı dolgulu kolonlar için çözücü sınırlaması: Silika dolgulu bir kolon kullanıldığında, kullanılan hareketli fazın pH'ına dikkat edilmelidir. Uygun pH aralığı 2- 7.5 arasındadır. Gözenekli polimere sahip bir kolonun çözücüsünü değiştirirken, kolon maddesinde şişme veya büzülme olup olmadığına dikkat edilmelidir. Dolgu maddesinin şişmesi, su yüzdesiyle artar. Asit, baz, tuz veya iyon çifti reaktifleri kullanıldıktan sonra kolon, metanol/su karışımı ile temizlenmelidir.

- Çözücünün saflığı: HPLC'de kullanım için mümkün olan en yüksek saflıkta bir çözücü önerilir.
- Çözücünün degaze edilmesi: HPLC'de, eğer hava, hareketli fazda, yüksek basınç altında çözünürse, pompa başında veya dedektör hücresinde, doğru analize imkân vermeyen, hava kabarcıkları oluşur. Bu yüzden mobil faz olarak kullanılan çözücü tamamen degaze edilmelidir. Degaze işlemi özellikle, gazların kolayca çözüldüğü su, alkol ve asetonitril veya bunların karışımı için gereklidir.
- Çözücünün süzülmesi: HPLC çözeltileri, kullanılmadan önce daima süzülmalıdır. Eğer süzülmeden kullanılırlarsa, kolon filtresi ve kolon başı tıkanabilir. Bunun sonucunda duyarlılığın azalması, basıncın artması ve kolon ömrünün azalması gibi değişik problemler ortaya çıkabilir. Sulu ortamda süzme genellikle selüloz ester karışımı 0.22 µm gözenek büyüklüğüne sahip

filtrelerle, organik ortamda süzme ise 0.2 µm gözenek büyüklüğündeki politetrafloroetilen filtrelerle yapılır veya HPLC çözücüsü için özel süzme aleti kullanılabilir.

- Çözücülerin değişimi: Eğer çözücü değiştirilecek olursa, diğer çözelti ilki ile iyi karışabilir olmalıdır. Bu durum yalnızca pompanın düzensiz çalışmasına yol açmaz, aynı zamanda kolon ve dedektörü de kararsız hale getirir. Bir tampon kullanıldıktan hemen sonra organik bir çözücü kullanılırsa, HPLC sistemi tuzların çökmesi yüzünden çalışamaz hale gelir. Bu kolonun ömrünü de etkileyebildiğinden, organik çözücü kullanılmadan önce sistem su veya ara polaritede bir çözücü ile temizlenmelidir.

3.3.4.2. Kolon kullanımı için önlemler

Kolon seçimi: Örneğin molekül kütlesi, solvent sisteminin çözünürlüğü, ayırma modu gibi bilgiler performanslı bir ayırmadan önce kolon seçimine yardım eder. Üreticiler kolon dolgu maddelerini, ayırdıkları bileşikler, örnek kapasiteleri vb. şekilde sınıflandıran bir literatür sağlamışlardır.

- Ön-kolon kullanımı: Hareketli faz, pompa çıkışından sonra, ayırmayı sağlayan kolon ile aynı sabit fazı içeren bir ön-kolondan geçirilir. Bu uygulamanın amacı, hareketli fazdaki safsızlıkları toplamak ve hareketli fazı sabit faz ile doymuluğa getirmektir. Ön-kolon kullanmanın bir diğer avantajı ise fiyatları bir hayli yüksek olan ayırıcı kolonların ömrünü uzatmasıdır.
- Kolon tabakasının bozulması: HPLC sistemi çalıştırılmaya başlanınca akış hızı yavaş yavaş arttırılmalıdır. Aynı uygulama sistem kapatılırken de izlenmelidir. Böylece kolon tabakasının bozulmaksızın kolon basıncının artması sağlanır.
- Kolonun korunması: Kolonlar rutubetli ve çok yüksek veya çok düşük sıcaklıkların olduğu yerlerde saklanmamalıdır. Kolonların özel bir çözücü ile saklanması, kirlenmeyi azaltır ve kolon ömrünü artırır. Bazı tamponlar (özellikle halojen tuzlarını içeren tamponlar) kolonun paslanmaz çelik duvarını aşındırır. Bu nedenle kolon saklanmadan önce uygun bir çözücüyle temizlenmelidir.
- Kolonun rejenerasyonu (yenilenmesi): Kolon performansı azaldığında en iyisi kolonu rejenere etmektir. Normal faz kolonları kullanıldığında, kolon önce çok az polarlıkta bir çözücü geçirilerek yenilenebilir ve sonra tekrar hareketli fazla dengeye getirilir. Ters faz kolonları metanol, THF, CH₂Cl₂ gibi çözücülerle yenilenebilir.

3.3.5. Örnek hazırlanması

Katı örneklerin hazırlanması: Bir örneği HPLC sistemine vermek için, bu örneğin, hareketli faz olarak kullanılan çözücüde çözünmesi gerekir. Örneğin, metanol/su karışımı bir hareketli fazla ile analiz yapılacaksa, örnek metanolde, suda veya metanol/su karışımında çözülmelidir. Eğer örnek böyle bir çözücüde çözünmüyorsa, diğer bir çözücüde çözülmeli, fakat bu durumda kullanılan çözücü

kesinlikle hareketli fazla karışabilir olmalıdır. Örnek bileşenlerinin, mobil faz çözücüsünde çökmemesine de dikkat edilmelidir.

Sıvı örneklerin hazırlanması: Sıvı örneklerde çözücü, sistem ile uyumlu ise, doğrudan enjekte edilebilir. Eğer örnekler istenen çözücüde değilse veya enjekte edilecek kadar derişik değilse, kurutulmalıdır veya deriştirilmelidir. Daha sonra hareketli fazda tekrar çözünmelidir.

Örneklerin süzülmesi: Hareketli faz akışında azalmaya, geri basıncında artmaya, kolon veriminde azalmaya ve istenmeyen piklere neden olabilecek çözünmeyen maddelerin kolona girmesini önlemek için, örneğin enjeksiyondan önce süzülmesi tavsiye edilir.

3.3.6. Dedeksiyon sisteminin korunması

Dedeksiyon hücresinde gaz kabarcıkları oluşursa, tayinde problemler ortaya çıkar. Gaz kabarcığının oluşumunu önlemek için şu önlemler alınmalıdır:

- Sistemde sızıntı olmamalıdır.
- Solvent HPLC sisteminde kullanılmadan önce degaze edilmelidir.
- Eter, pentan gibi uçucu solventler sistemde buharlaşacağından, bunları kullanmaktan kaçınılmalıdır.

3.3.7. Uygulamalar

HPLC sistemi ile hangi analiz yapılacak ise öncelikle o analiz için gerekli şartlar sağlanır. Analiz yapılacak numuneden, analiz yapılacak bileşenin saf olarak ayrıştırılabilmesi için uygun ekstraksiyon yöntemi bulunur. Daha sonra o analiz için uygun kolon, hareketli faz ve akış hızının seçilmelidir.

Bütün bu şartlar yerine getirildikten sonra analiz edilecek maddenin bilinen bir derişimdeki standartı sisteme enjeksiyon edilir. Standart çok saf olduğu için deney sonucunda sadece tek pik gözlenmelidir. Standartın kolondan çıkış süresi (alikonma süresi) tespit edilir. Analiz edilecek çözelti sisteme enjekte edildiği zaman elde edilen kromatogramda değişik zamanlarda gelen birden fazla pik olması muhtemeldir. Bu nedenle de standartın alikonma süresine denk gelen pik o kromatogramda bizim aradığımız pik olacaktır.

Daha sonra derişimi bilinen standartın verdiği pikin altında kalan alan veya pik yüksekliği (h) hesaplanır. Örnek kromatogramındaki yeri tespit edilen bilinmeyen bileşenin pikinin altında kalan alan pik veya yükseklik yardımıyla hesaplanır. Sonuçta orantı hesaplaması ile analiz edilen bileşenin derişimi belirlenir.

4. MATERYAL VE METOT

Araştırma materyali olarak incelenen su ve çamur numunelerinin alındığı Malatya ve Gaziantep Atık Su Arıtma Tesislerine ait işletme bilgileri aşağıda verilmiştir.

Malatya Atıksu arıtma tesisinin işletilmesi;

Malatya Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi, Uzun Havalandırılmalı Aktif Çamur Sistemi ile birlikte atıksudan nütrient giderimini gerçekleştiren proseslere sahiptir. Tesise alınan atıksular ön arıtma ünitesinde, ızgaradan geçirilmektedir. Atıklar, ızgara konveyörünün üzerine boşaltılırlar ve oradan da iki ızgara presine yönlendirilirler. Sıkıştırılan atıklar, daha sonra kamyonlara aktarmak için konteynirlarda toplanmaktadır. Izgaralardan sonra yer alan 4 adet kum ve yağ tutucu tanklarda, su içerisindeki kum, posa, yağ, gres ve deterjan gibi malzemeler tutularak kum helezonları ve yağ sıyrıcı vasıtasıyla ayrıştırılarak sudan alınmaktadır. Yağ ve diğer yüzen maddeler, kum tutucunun hemen yanında bulunan yağ ayırma bölümünün yüzeyinde toplanır, sıyrıcı köprüsünün ayrı bir kolu yardımıyla yağ haznesine süpürülür ve buradan da, tesis alanının dışına tasfiye edilmesi için vidanjör kamyonları ile aralıklı olarak çekilir. Kum ve yağ tutucuların havalandırılması için, 3 (2+1) rotary pistonlu hava körüğü bulunmaktadır. Kum tutuculardan sonra selektör almaktadır. Bu yapı sisteme yeniden dönen geri devir çamurunun tesise giren atıksu ile karıştığı bir yapıdır. Çamur hacim indeksini olumsuz yönde etkileyecek olan filamentli bakteri oluşumunu engellemek için, bir selektör tankı kullanılmaktadır. Atıksu ve geri devir çamuru, anaerobik tanka girmeden önce yoğun bir şekilde yakın temasta bulundurulur. Bu yapı, tesise giren ham atıksuyu geri devir çamuru ile aşıladıktan sonra biyolojik arıtımın başladığı ilk basamaktır. Atıksu fosfor giderimi için bir anaerobik tanka savaklanmaktadır. Anaerobik havuzlardan çıkan sular havalandırma ünitesine verilmektedir. Tesiste toplam 6 adet havalandırma havuzu bulunmaktadır. Her havuz anoksik ve oksik olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Her bir havuzun oksik kısmı anoksik kısmının üç katı kadardır. Havalandırma havuzlarında içsel geri devir işlemi resürkülasyon pompaları ile sağlanmakta olup oksik kısımdan anoksik kısma bir geçiş söz konusudur. Havalandırma havuzlarında tam anlamı ile bir azot döngüsü sağlanarak Amonyum iyonu (NH_4^+) ve Toplam Azot (TN) gideriminde % 80-90'a varan giderimler sağlanmaktadır. Sistem Uzun Havalandırılmalı Aktif Çamur metodu ile çalıştırılıp, yüksek enerji sarfiyatına karşılık yüksek verim elde edilmektedir. Havalandırma tanklarından savaklanan atıksu/çamur karışımı, gravite ile son çökeltme tanklarına alınmaktadır. Tesiste toplam 6 adet son çökeltme bulunmaktadır. Çamurun bir kısmı giriş suyu ile karıştırılırken geriye kalanı (fazla çamur olarak nitelendirilir) belt presse gönderilerek %22 kuruluk oranıyla biokati olarak tesisten çıkmaktadır.

Gaziantep Atıksu Arıtma Tesisinin işletilmesi

1999 yılında işletmeye alınan Gaski Atıksu Arıtma Tesisi, evsel nitelikli atıksuların arıtılmasına yönelik dizayn edilen biyolojik atıksu arıtma tesisidir. Tesise alınan atıksular ön arıtma ünitesinde, 4 cm 'lik 3 adet otomatik kaba ızgara, 1,5 cm'lik 3 adet otomatik ince ızgaradan geçerek içerisindeki kaba malzemeler tutulmaktadır. Izgaralardan sonra yer alan 3 adet kum ve yağ tutucu tanklarda, su içerisindeki kum, posa, yağ, gres ve deterjan gibi malzemeler tutularak kum helezonları

ve yağ sıyrıcı vasıtasıyla ayrıştırılarak sudan alınmaktadır. Ön arıtma ünitesinde günde ortalama 20 ton katı malzeme sudan ayrıştırılarak belediyenin çöp alanına götürülüp bertaraf edilmektedir. Kum havuzlarından sonra 3 adet ön çökeltme tankı yer almaktadır. Ön çökeltme tankında atıksular savaklanarak havalandırma ünitesinin giriş yapısına ulaşmaktadır. Tesisin buraya kadar olan kısmı fiziksel arıtma olarak adlandırılır. Ön çökeltme tankının dibinde toplanan çamurlar alt sıyrıcılar vasıtasıyla toplanarak çamur yoğunlaştırma tanklarına gönderilir. Havalandırma ünitesine gelen atıksu 4 adet turbo kompresörün sağladığı hava ile havalandırma tanklarının dibinde yer alan difüzörler vasıtası ile havalandırılmaktadır. Altı adet son çökeltme tankına gelen atıksu buradan çıkış noktası olan Sacır deresine deşarj edilmek üzere savaklanır. Önçökeltme tankından yoğunlaştırma tankına, havalandırma tankından çamur yüzdürme tankına gelen çamurlar, bu tanklarda yoğunluk kazanarak mikser tankına gelmektedir. Mikser tankında homojen olarak karışan çamur eşanjör sistemiyle 36°C ısıtılarak her biri 8000 m³ kapasiteli 3 adet çamur çürütme tankına iletilir. Yaklaşık 30 gün bu tanklarda kalan çamur 1 adet son çürütme tankına alınarak burada da 10 gün kaldıktan sonra çamur susuzlaştırma ünitesine gönderilmektedir. Çamur çürütücülerden günde ortalama 16000 m³ metan gazı yan ürün olarak elde edilmektedir. Çamur susuzlaştırma ünitesine gönderilen çamur burada yer alan 7 adet beltpres makinasında tesiste kullanılan tek kimyasal olan polimer ile kıvamlandırılarak %22 kuruluk oranıyla biokati olarak tesisten çıkmaktadır.

4.1. Materyal

Araştırmamızda materyal olarak atıksu arıtma tesislerinin giriş, çıkış ve ara kademe suları ile arıtma çamuru örnekleri kullanıldı. Örnekler Mayıs- Haziran 2007 ve 2008 tarihleri arasında Malatya ve Gaziantep atıksu arıtma tesislerinden alındı. Her bir örnek ayrı ayrı ağzı kapaklı siyah plastik numune kaplarına konuldu. Numunelerdeki vitamin kaybını engellemek için de ışıktan korunarak, alüminyum folya ile kaplandı. Daha sonra bu numune kapları, içerisinde buz bulunan termoslara konularak laboratuara getirildi ve hemen gerekli analizlere tabi tutuldu.

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler

1. CH₄O(Metanol)
2. n-Hegzan
3. Etil alkol (yerli)
4. Fosforik Asit
5. Vitamini B₁ (THİAMİN)
6. Vitamini B₂ (RİBOFLAVİN)
7. Vitamini B₃ (NİACİN)
8. Vitamini B₆ (PYRİDOXİNE)
9. Vitamini B₁₀ (FOLİC ACİD)
10. Vitamini B₁₂ (COBALAMİN)
11. HClO₄

12. Heptano sülfonik asitin Na tuzu

13. Trietil amin

Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup lokal firmalardan temin edildi.

Analizlerde kullanılan cam malzemeler

1. 1x10 cm cam ve lastik kapaklı tüp(iç çap 1 cm)
2. Balon joje 10 ml'lik
3. Balon joje 25 ml'lik
4. 1 ml'lik pipet
5. 2 ml'lik pipet

Analizlerde kullanılan cihazlar

1. HPLC kolonu: HPLC, Cecil 1100 Marka / Model
2. Üç yollu otomatik lastik puar
3. Azot tüpü dolumu
4. Pompa: Cecil 1100 Marka / Model , Analitik Pompa
Detektör: UV (Ultra viyole) Detektör
Kolon: Supelkosil™ LC-18-DB 5µm (15cmx4.6 mm); (15 cm - Uzunluk) x (4.6 cm -İç çapı) x (5 µm -Partikül Büyüklüğü)
5. Karıştırıcı (Vorteks)
6. Santrifüj
7. Isıtıcı
8. Etüv
9. Hassas terazi
10. Ultrasonik su banyosu

4.2. Metot

Vitamin standartlarına ait piki ve dolayısıyla alıkonma süresini belirlemek amacıyla B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁ ve B₁₂ vitaminlerinin stok çözeltileri ve bu stok çözeltilerden de uygun seyreltmelerle değişik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı.

B₁ vitamini standart stok çözeltisi, 2.5 mg tiyamin hidroklorid'in 10.0 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlandı.

B₂ vitamini standart stok çözeltisi, 2.5 mg riboflavin'in 10.0 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 0.5, 5, 10, 15 ve 20 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlandı.

B₃ vitamini standart stok çözeltisi, 2.5 mg nikotinamid'in 10.0 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 0.5, 5, 10, 15, 20 ve 25 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlandı.

B₆ vitamini standart stok çözeltisi, 2.5 mg piridoksin hidroklorid'in 10.0 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlandı.

Folik asit standart stok çözeltisi, 2.5 mg folik asit'in 10.0 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. 2 ml folik asit standart stok çözeltisi 50 ml % 15'lik metanol çözeltisi ile seyreltilmiştir. Bu stok çözeltiden 0.5, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlandı.

B₁₂ vitamini standart stok çözeltisi, 1,0 mg siyanokobalamin'in 10,0 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 2, 4, 8, 12, 16, 20 ve 24 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlandı.

Her bir vitamin için ayrı ayrı hazırlanan bu konsantrasyonlardan 20'şer µl HPLC'ye enjekte edilerek alıkonma süresine bağlı olarak konsantrasyona karşı pik yükseklikleri tespit edildi (Şekil 5.1-6).

	<u>Alıkonma süresi(RT)</u>	<u>dalgaboyu</u>	<u>4 ppm pik yüksekliği</u>
Nikotinamid (B ₃)	2,3 dk	260 nm	5,6 cm
Pridoksin (B ₆)	3,3 dk	290 nm	8,3 cm
Tiamin (B ₁)	5,4 “	260 “	3,9 “
Kobalamin (B ₁₂)	5,4 “	500 “	2,6 “
Folik asit (B ₁₁)	6,9-7,0 “	290 “	2,6 “
Riboflavin (B ₂)	9,9-10,0 “	260 “	5 “

Tablo incelendiğinde B₁ ile B₁₂ vitaminin alıkonma sürelerinin aynı olduğu görülmektedir. Bu durumun kimyasal girişime neden olmaması için B₁ vitamini 260 nm de okunurken B₁₂ vitamini 500 nm okunarak girişim bu şekilde önlenmektedir. Çünkü 500 nm de B₁ vitamininin piki gözlenemez iken B₁₂ vitamini maksimum pik vermektedir. B₁, B₂ ve B₃ vitaminleri 290 nm'de okunabilmelerine rağmen duyarlılıkları az oldukları için maksimum absorbans yaptıkları 260 nm'de okunmaları daha uygundur. Aynı durum B₆ ve B₁₁ vitamini için de geçerlidir. Çünkü bu iki vitaminde 260 nm'de zayıf absorbans yapmalarına rağmen 290 nm'de maksimum absorbans yaptıkları belirlenmiştir. 500 nm de B₁₂ vitaminin 12 ppm'nin 10 m amp de pik yüksekliği = yaklaşık 1.3 cm iken, 500 nm de B₁₂ vitaminin 12 ppm'nin 5m amp de pik yüksekliği = yaklaşık 2.5-2.6 cm'dir yani yaklaşık 2 katı kadardır (Karataş ve diğ., 2008).

Buradan elde edilen veriler yardımıyla su ve çamur örneklerindeki B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁ ve B₁₂ vitamini miktarının tespitinde kullanılacak konsantrasyona karşı pik yüksekliği grafiği çizildi (Şekil 5.7-9).

Bütün bu işlemlerden sonra, elde edilen örneklerde B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁ ve B₁₂ vitamini miktarlarının HPLC'de belirlenmesi için sırasıyla şu işlemler yapıldı (Karataş ve diğ., 2008).

Her bir analiz için plastik tüplerdeki çamur örneğinden 1.0 gr, su örneklerinden ise 2.0 ml alındı. Alınan örneklerin üzerine 0.5 M HClO₄ 'den 0.5 ml katılarak 3 dakika vortekslendi. Örnekler üzerine 2.5 ml saf su ilave edilerek tekrar vortekslendi ve ultrasonik su banyosunda 5 dakika bekletilerek çözünürleştirildi. Daha sonra örnekler 4000 rpm'de 8-10 dakika santrifüjlenerek çökelek ve süzüntünün ayrılması sağlandı. Santrifüjlenen örneklerin üstteki süzüntüsünden 20 µl alınarak HPLC ye enjekte edildi. Mobil Faz olarak 5 mM heptano sülfonik asitin Na tuzu Metanolde çözünerek

250 ml 'lik A çözeltisi hazırlandı. Aynı şekilde %0.1 trietil aminin 750 ml 'lik B sulu çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan A ve B çözeltileri 25:75 hacim oranında karıştırılarak pH'ı fosforik asitle 2.8'e ayarlandı. Mobil fazın akış hızı 0.7 ml/dk'ya ayarlanarak C18DB kolon (15 cm (Uzunluk) x 4.6 cm (İç çapı) x 5 µm (Partikül Büyüklüğü) 'un da B₁, B₂ ve B₃ vitamini 260 nm, B₆ ve B₁₁ 290 nm ve diğer B₁₂ vitamini ise 500 nm dalga boyunda tayin edildi.

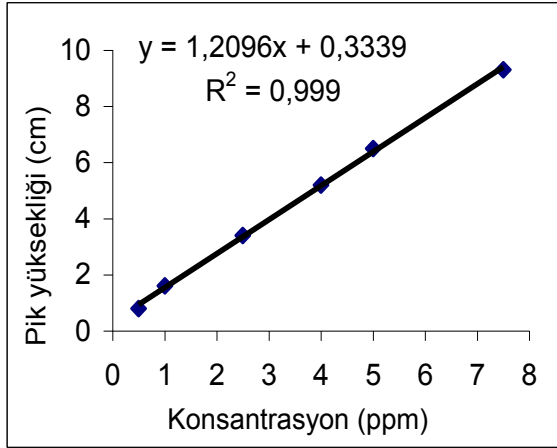
HPLC'de kromatogramları alınan vitaminlerin miktarları her bir vitamene ait çalışma grafiğindeki doğru denklemi esas alınarak hesaplandı (Şekil 5.1-6). Örneğin Tiamin için $y = 1,2096x + 0,3339$ olarak bulunan doğru denkleminde numunenin pik alanı yada pik yüksekliği formüldeki y yerine yazılarak çözeltinin konsantrasyonu olan (µg/ml veya µg/g) x değeri bulunur. Bütün deneysel çalışmalardaki vitamin miktarları vitaminlere ait pik yükseklikleri esas alınarak hesaplamalar gerçekleştirildi.

Bütün Analizler 3 defa tekrar edildi. Sonuçlar ortalamanın standart hatası alınarak ve varyans analizi yapılarak istatistiksel analize tabi tutuldu. Analizlenen örneklerde B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁ ve B₁₂ vitamin içeriği bakımından, tesisler arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla, varyans analizi bilgisayarda SPSS 10.0 Windows programı kullanılarak çoklu karşılaştırma testi ile $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ önem seviyelerinde yapıldı. Analizlerin aritmetik ortalaması ve standart sapması belirlendi. Bir vitaminin bir deney serisine ait sonucu, o deney serisinden elde edilen tüm değerlerin ortalaması alınarak hesaplandı.

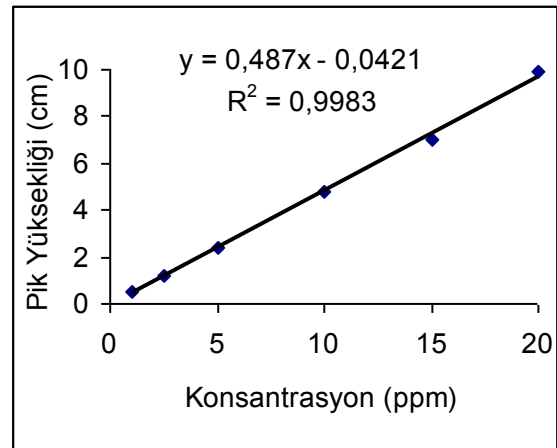
5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmamızda kullanılan vitaminlerden Tiamin, Riboflavin, Nikotinamid, Piridoksin, Folik asit ve Kobalamin standartlarının her biri için ayrı ayrı hazırlanan değişik konsantrasyonlardaki çözeltilerin HPLC’deki pik yüksekliklerine göre çalışma grafiği ve doğru denklemi ile regrasyon katsayıları elde edilmiştir (Şekil 5.1- Şekil 6).

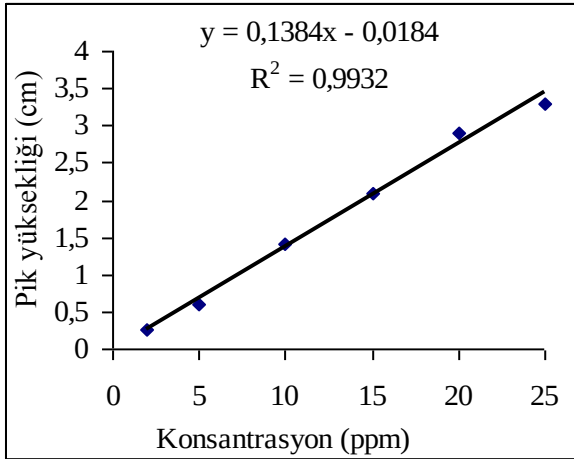
Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan vitaminlere ait çalışma grafikleri (Şekil 5.1- Şekil 6).



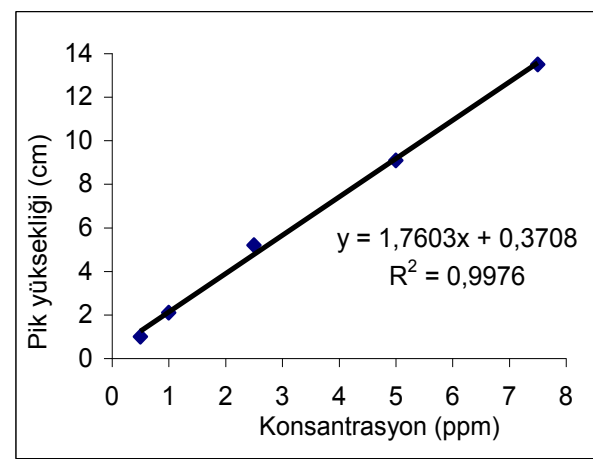
Şekil 5. 1. Tiaminin çalışma grafiği ve doğru denklemi



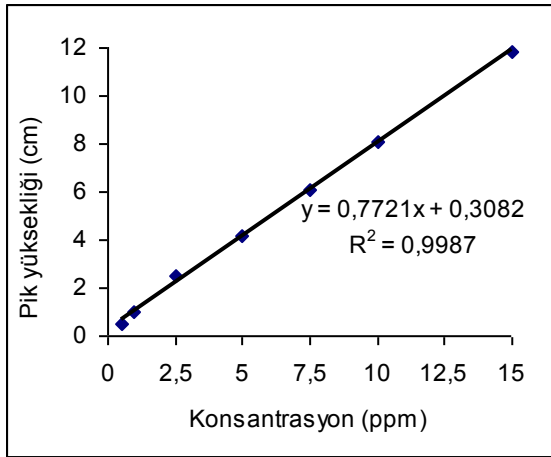
Şekil 5. 2. Riboflavinin çalışma grafiği ve doğru denklemi



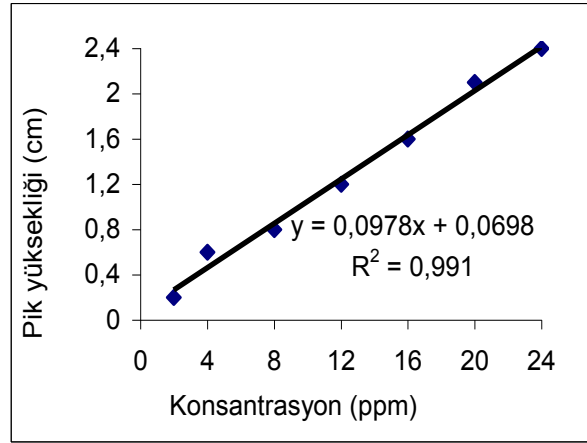
Şekil 5. 3. Nikotinamid'in grafiği ve doğru denklemi



Şekil 5. 4. Piridoksin'in çalışma grafiği ve doğru denklemi

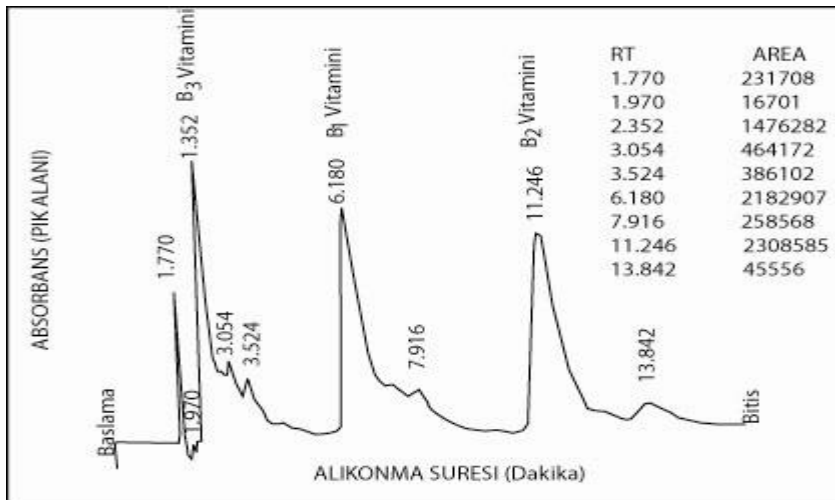


Şekil 5. 5. Folik asit'in çalışma grafiği ve doğru denklemi

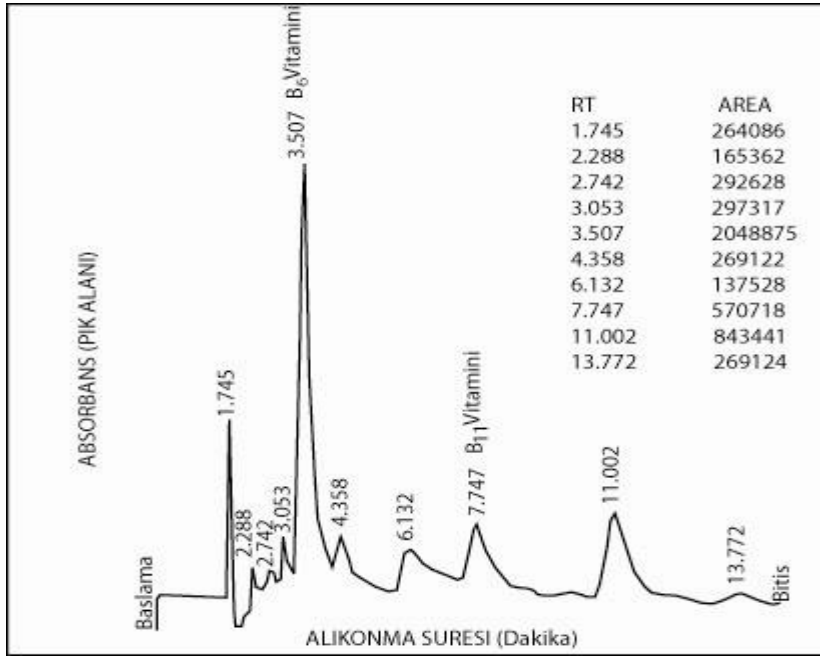


Şekil 5. 6. Kobalamin vitamininin çalışma grafiği ve doğru denklemi

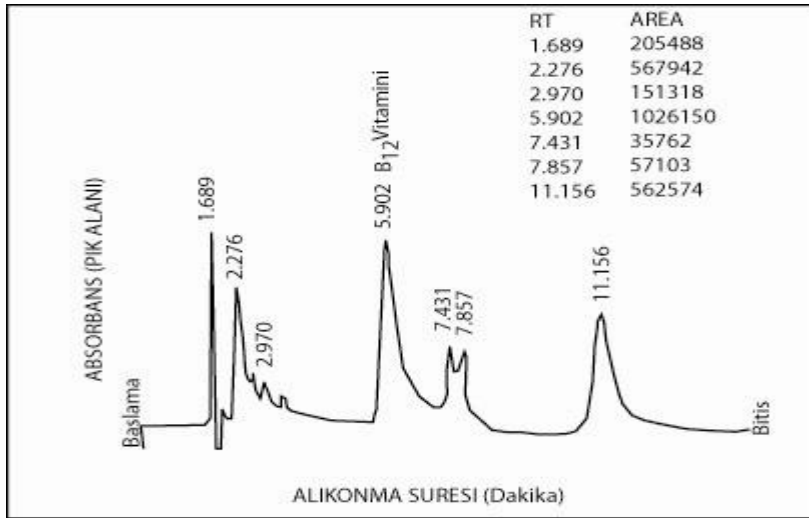
Materyal ve metot kısmında da belirtildiği gibi Tiamin, Riboflavin, Nikotinamid, Piridoksin, Folik asit ve Kobalamin vitaminlerinin her biri için hazırlanan standart çözelti ayrı ayrı 20µL olarak HPLC' ye enjekte edilmiştir. 6 adet vitamin standartlarından hazırlanan karışım kromatografik koşullarda ayırma işlemine tabi tutulmuştur. HPLC ile ayrılan bileşiklerin tespiti 260, 290 ve 500 nm dalga boyunda yapılmıştır. Tiamin, Riboflavin, Nikotinamid'in 260, Piridoksin, Folik asit'in 290 ve Kobalamin'in 500 nm dalga boyunda absorpsiyon verdiği tespit edildi. Cihazda karışımdan elde edilen kromatogramlar Şekil 5.7-9'da verilmiştir.



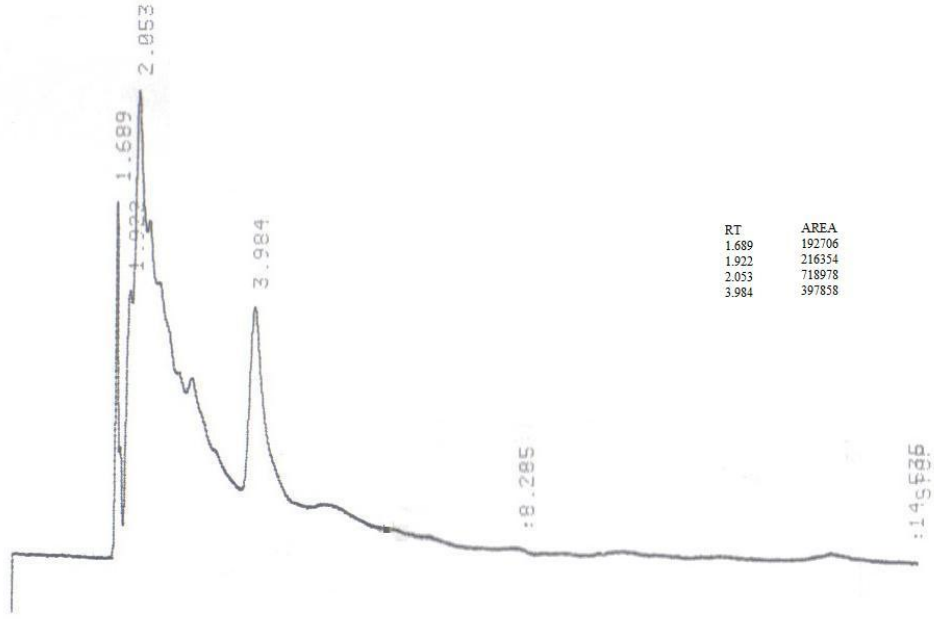
Şekil 5.7. 260 nm de HPLC ye enjekte edilen vitamin karışımına ait kromatogram



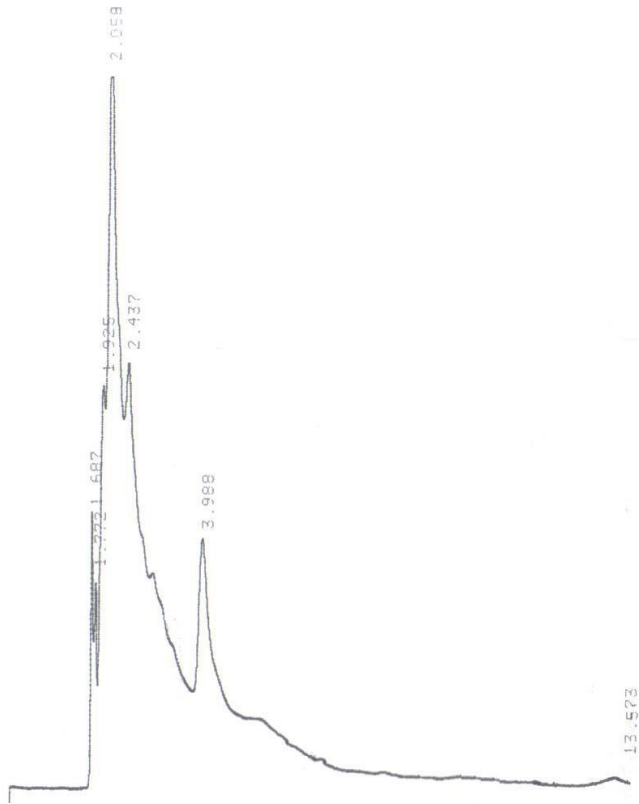
Şekil 5.8. 290 nm de HPLC ye enjekte edilen vitamin karışımına ait kromatogram



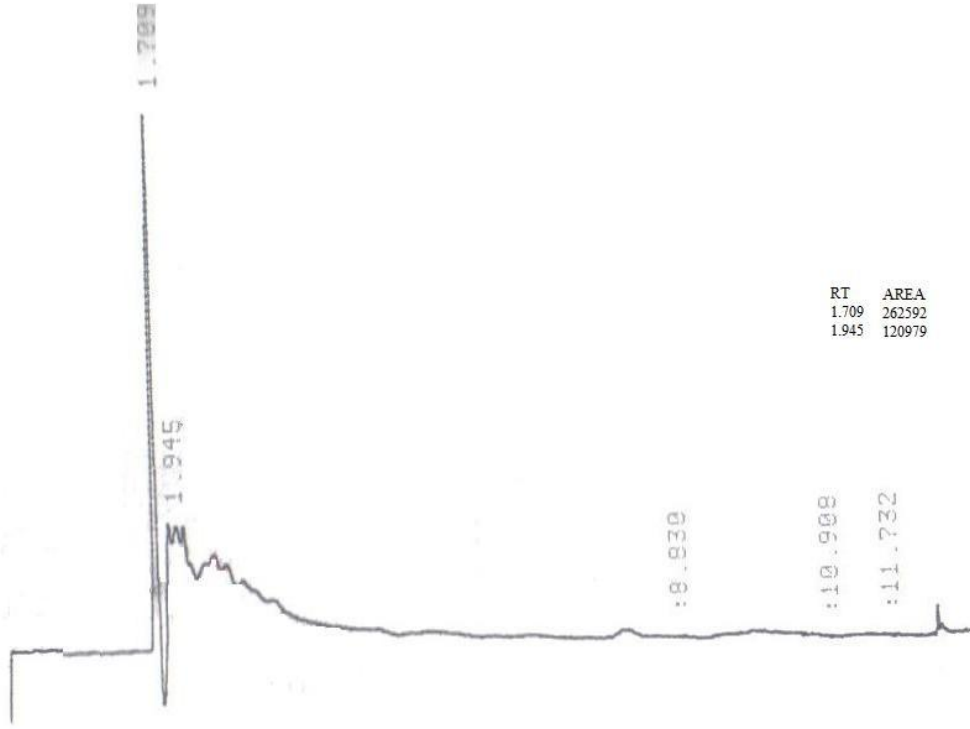
Şekil 5.9. 500 nm de HPLC ye enjekte edilen vitamin karışımına ait kromatogram



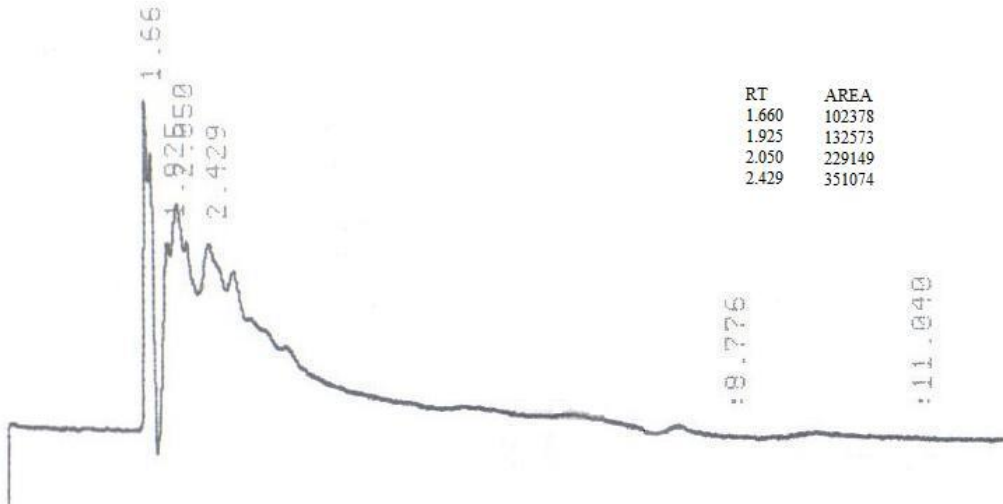
Şekil 5.10. 260 nm'de bir su örneğine ait kromatogram



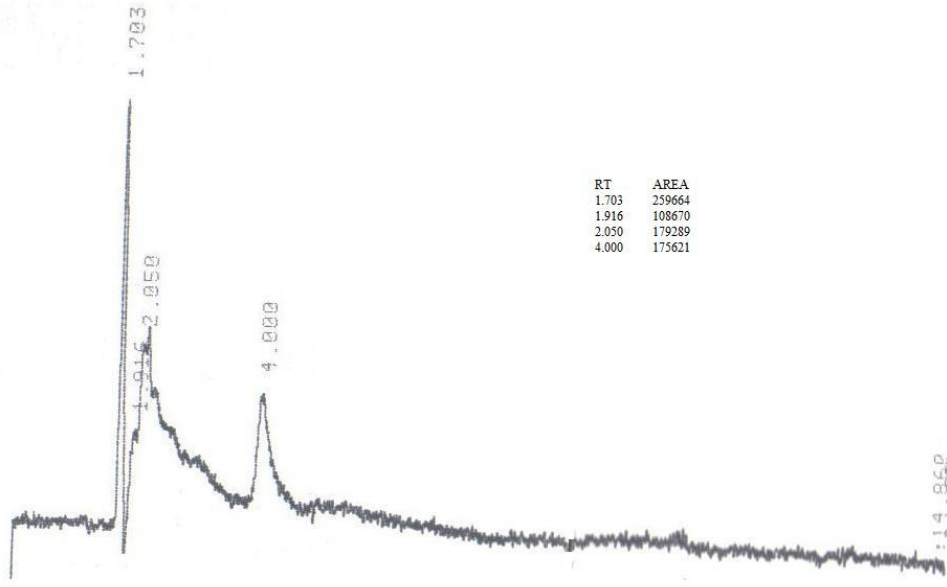
Şekil 5.11. 260 nm'de bir çamur örneğine ait kromatogram



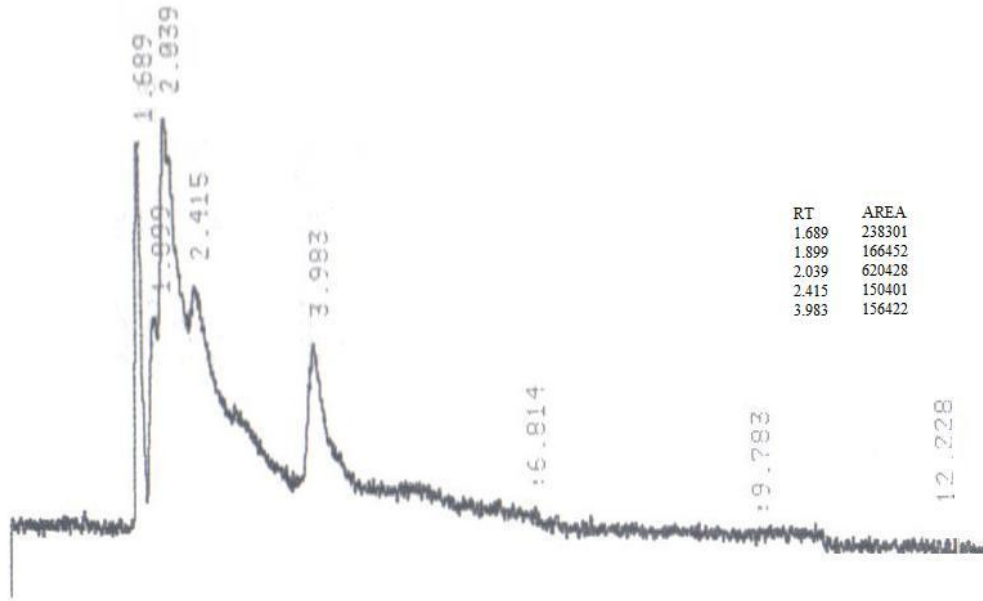
Şekil 5.12. 290 nm'de bir su örneğine ait kromatogram



Şekil 5.13. 290 nm'de bir çamur örneğine ait kromatogram



Şekil 5.14. 500 nm’de bir su örneğine ait kromatogram



Şekil 5.15. 500 nm’de bir çamur örneğine ait kromatogram

Vitamin standartlarından elde edilen (Şekil 5.1-6) kalibrasyon eğrisinin bize verdiği formüle HPLC’ ye enjekte edilen su ve çamur örneklerimizin süzüntülerinden elde edilen pik alanı yada pik yüksekliği (Örneğin şekil 5.10-19) formüldeki y yerine yazılarak örneklerimizdeki Tiamin, Riboflavin, Nikotinamid, Piridoksin, Folik asit ve Kobalamin miktarları ppm olarak bulunmuştur.

Malatya Atıksu Arıtma Tesisi Giriş suyu, Çıkış suyu, Havalandırma giriş suyu, Havalandırma oksik kısmın suyu, Havalandırma anoksik kısmın suyu, Ana dağıtım yapısındaki su, Geri devir yapısındaki su, Pres çıkış çamurunun sıvı fazı ve Kurutulmuş çamur'da sırasıyla miktarları tespit edilen;

B₁ Vitamini (Tiamin)'nin 0,29±0.03; 0,20±0.02; 0,20±0.02; 0,20±0.02; 0,10±0.01; 0,20±0.02; 0,20±0.02; 1,30±0.02 ve 14,19±1,79 ppm

B₂ Vitamini (Riboflavin)'nin 0,56±0,09; -; -; -; 0,15±0.02; 0,11±0.02; 0,15±0,02; 0,45±0.08 ve 11,16±1.06 ppm

B₃ Vitamini (Nikotinamid)'nin 0,42±0.07; 0,42±0.07; 0,20±0.03; 0,28±0.04; 0,20±0.03; 2,17±0.22; 0,20±0.03; 4,24±0.89 ve 661,37±17.20 ppm

B₆ Vitamini (Piridoksin)'nin -; 0,07±0.01; 0,10±0.01; 0,13±0.02; 0,09±0.02; 0,07±0.01; 0,10±0.01; 0,40±0.07 ve 23,87±0.47 ppm

B₁₀₋₁₁ Vitamini (Folik Asit)'nin 0,30±0.03; 0,23±0.02; 0,30± 0.03; 0,23±0.02; 0,46±0.05; 0,23± 0.03; 0,23±0.03; 1,00±0.04 ve 2,60± 0.34 ppm

B₁₂ Vitamini (Kobalamin)'nin 0,45±0.05; 0,38± 0.03; 0,44± 0.04; 0,38±0.03; 1,05± 0.16; 0,36± 0.03; 0,46±0.06; 0,74± 0.13 ve 9,23± 1.25 ppm aralığında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. Malatya Atıksu Arıtma Tesisi örneklerindeki B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁ ve B₁₂ vitamin düzeyleri (Katı örnekler tartılarak(g), sıvılar ise hacim olarak (ml) alındı)

	Örnek Sayısı (n)	B1 Vitamini (Tiamin) (ppm)	B2 Vitamini (Riboflavin) (ppm)	B3 Vitamini (Nikotinamid) (ppm)	B6 Vitamini (Piridoksin) (ppm)	B11 Vitamini (Folik Asit) (ppm)	B12 Vitamini (Kobalamin) (ppm)
Giriş Suyu	3	0,29±0.03	0,56±0,09	0,42±0.07	-	0,30±0.03	0,45±0.05
Havalandırma giriş suyu	3	0,20±0.02	-	0,20±0.03	0,10±0.01	0,30± 0.03	0,44± 0.04
Havalandırma oksik kısmın suyu	3	0,20±0.02	-	0,28±0.04	0,13±0.02	0,23±0.02	0,38±0.03
Havalandırma anoksik kısmın suyu	3	0,10±0.01	0,15±0.02	0,20±0.03	0,09±0.02	0,46±0.05	1,05± 0.16
Ana dağıtım yapısındaki su	3	0,20±0.02	0,11±0.02	2,17±0.22	0,07±0.01	0,23± 0.03	0,36± 0.03
Geri devir yapısındaki su	3	0,20±0.02	0,15±0,02	0,20±0.03	0,10±0.01	0,23±0.03	0,46±0.06
Çıkış suyu	3	0,20±0.02	-	0,42±0.07	0,07±0.01	0,23±0.02	0,38± 0.03
Pres çıkış çamuru	3	1,30±0.02	0,45±0.08	4,24±0.89	0,40±0.07	1,00±0.04	0,74± 0.13
Kurutulmuş çamur	3	14,19±1,79	11,16±1.06	661,37±17.20	23,87±0.47	2,60± 0.34	9,23± 1.25

Not: - (Tayin sınırı 0,1 ppm'in altında olduğu için belirlenemedi)

Gaziantep Atıksu Arıtma Tesisi Giriş suyu, Ön çökeltme girişi suyu, Havalandırma giriş suyu, Havalandırma çamuru sulu fazı, Tesis çıkış suyu, Çamur yoğunlaştırma girişi su fazı, Çamur yoğunlaştırma çıkışı su fazı, Flotasyon giriş su fazı, Flotasyon çıkışı su fazı, Çamur çürütme girişi su fazı, Çamur çürütme çıkışı su fazı ve Biyokatı'da sırasıyla miktarları tespit edilen;

B₁ Vitamini (Tiamin)'nin 0,40±0.07; 0,20±0.03; 0,40±0.07; 0,20±0.03; 0,09±0.01; 2,79±0.41; 1,81±0.25; 0,09±0.01; 1,19±0,18; 1,19±0,20; 0,50±0.09; 0,08±0.01 ppm

B₂ Vitamini (Riboflavin)'nin -; -; 0,24±0.04; -; 0,23±0.02; -; 2,00±0.35; -, 1,16±0.17; 0,70±0.02; 1,18±0.23 ve 0,76±0.06 ppm

B₃ Vitamini (Nikotinamid)'nin 0,20±0.10; 0,28±0.02; 0,35±0.02; 0,28±0.02; 0,35±0.02; -; 9,13±1.97; 1,65±0.59; 0,97±0.13; -; 0,98±0.18 ve - ppm

B₆ Vitamini (Piridoksin) -; -; 0,32±0.06; 0,13±0.02; 0,56±0.08; -; 0,33±0.02; 0,23±0.02; 0,89±0.09; 1,38±0.14; - ve 0,70±0.07 ppm

B₁₀₋₁₁ Vitamini (Folik Asit)'nin -; -; 0,44±0.06; 0,45± 0.07; 0,59± 0.07; 0,30± 0.03; 0,44±0.07; -; -; -; 3,80±0.64 ve 1,48± 0.19 ppm

B₁₂ Vitamini (Kobalamin)'nin -; -; -; -; 4,54± 0.62; -; -; 3,06± 0.55; -; - ve 3,61± 0.66 ppm aralığında olduğu saptanmıştır (Tablo 5.2).

Tablo 5.2. Gaziantep Atıksu Arıtma Tesisi örneklerindeki B₁,B₂,B₃,B₆,B₁₀ ve B₁₂ vitamin düzeyleri (Katı örnekler tartılarak(g), sıvılar ise hacim olarak (ml) alındı)

	Örnek Sayısı	B1 Vitamini (Tiamin) (ppm)	B2 Vitamini (Riboflavin) (ppm)	B3 Vitamini (Nikotinamid) (ppm)	B6 Vitamini (Piridoksin) (ppm)	B11 Vitamini (Folik Asit) (ppm)	B12 Vitamini (Kobalamin) (ppm)
Tesis giriş suyu	3	0,40±0.07	-	0,20±0.10	-	-	-
Ön çökeltme tankı giriş suyu	3	0,20±0.03	-	0,28±0.02	-	-	-
Havalandırma tankı giriş suyu	3	0,20±0.07	0,24±0.04	0,35±0.02	0,32±0.06	0,44±0.06	-
Havalandırma tankı çamur	3	0,20±0.03	-	0,28±0.02	0,13±0.02	0,45± 0.07	-
Tesis çıkış suyu	3	0,41±0.05	0,23±0.02	0,35±0.02	0,56±0.08	0,59± 0.07	-
Çamur yoğunlaştırma giriş suyu	3	-	-	-	-	0,30± 0.03	4,54± 0.62
Cazibeli çamur yoğunlaştırıcı çıkış suyu	3	1,81±0.25	2,00±0,35	9,13±1.97	0,33±0.02	0,44±0.07	-
Flotasyon (çamur yüzdürme) giriş suyu	3	-	-	1,65±0.59	0,23±0.02	-	-
Flotasyon (çamur yüzdürme) çıkış suyu	3	1,49±0,18	1,16±0.17	0,97±0.13	0,89±0.09	-	3,06± 0.55
Anaerobik çamur çürütme giriş suyu	3	1,49±0,20	0,70±0,02	-	1,38±0.14	-	-
Anaerobik çürütücü çıkış çamuru	3	0,50±0.09	1,18±0.23	0,98±0.18	-	3,80±0.64	-
Biyokatı	3	-	0,76±0.06	-	0,70±0.07	1,48± 0.19	3,61± 0.66

Not: - (Tayin sınırı 0,1 ppm'in altında olduğu için belirlenemedi)

Malatya ve Gaziantep atıksu arıtma tesisi örneklerinden elde ettiğimiz bulgulara göre B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₀ ve B₁₂ vitamin miktarları tesisten tesise farklılık göstermiştir. Bu durum özellikle tesis giriş suyunda ve arıtma çamurlarına uygulanan işlem sonucunda elde edilen çürütülmüş çamurda kendisini göstermektedir. Malatya atıksu arıtma tesisinin gerek giriş suyu gerekse aerobik olarak çürütülen arıtma çamuru Gaziantep atıksu arıtma tesisinin gerek giriş suyu gerekse anaerobik olarak çürütülen arıtma çamurundan daha yüksek vitamin miktarına sahip olduğunu göstermiştir.

Malatya ve Gaziantep atıksu arıtma tesislerinde istatistikî olarak;

Giriş suyundaki vitamin miktarları arasındaki farkın B_1 ve B_3 için $p<0.05$ düzeyinde, B_2 , B_6 , B_{11} ve B_{12} için ise $p<0.01$ düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur (Tablo 5.1 ve 5.2).

Çıkış suyundaki vitamin miktarları arasındaki farkın B_1 , B_6 ve B_{11} için $p<0.05$ düzeyinde, B_2 ve B_{12} için ise $p<0.01$ düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur. B_3 için ise $p>0.05$ düzeyinde bir farklılık görülmediğinden önemli bulunmamıştır (Tablo 5.1 ve 5.2).

Giriş ve çıkış sularının haricinde tesisin değişik kademelerinde arıtılan sularındaki B_1 , B_2 , B_3 , B_6 , B_{10} ve B_{12} vitamin miktarları arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$, $p<0.01$).

Tarımsal amaçlı kullandırılan arıtma çamurlarındaki B_1 , B_2 , B_3 , B_6 , B_{10-11} ve B_{12} vitamin miktarları arasındaki farkın $p<0.01$ düzeyinde önemli olduğu saptamıştır (Tablo 5.1 ve 5.2).

Bulgularımız, daha çok farklı metotların kullanıldığı diğer yayınlarda rapor edilen sonuçlar ile direkt olarak karşılaştırılamamaktadır.

Lemmer ve diğ. (1998), evsel ve endüstriyel kaynaklı çamurlarda 1-29 ppm ve sindirici (digester) çamurda ise 1-6 ppm tiamin bulmuşlardır. Lemmer ve Nitschke (1994), evsel tesislerin aktif çamurunun kuru katılarındaki tiamin içeriğinin 1.1-6.6 ppb ve su fazında 1-6 ppb bulunmuştur. Çürütülmüş kuru katısı materyalinde ise tiamin içeriğinin 0.9-6.0 ppb ve su fazında 18 - 386 ppb arasında olduğunu saptamışlardır. Kocher ve Carti (1952), evsel tesisten tasfiye edilmemiş aktif çamur örneklerinin içeriğinde 20.5 ppb' lik tiamin bulmuşlardır. Schwarz (1971), evse bir damlatmalı filtre tesisinin birinci derece tasfiyesinin su fazında 14.7 ppb' lik bir maximum ile 4-5 ppb lik ve ikinci derece tasfiyesinin su fazında 5.2 ppb' lik bir maximum ile 1-2 ppb' lik bir tiamin içeriği bulunmuştur. Lemmer ve Nitschke (1994), endüstriyel atıksu tasfiye tesislerinden alınan üç aktif çamurun kuru katılarında ve su fazında tiamin tayin etmiştir. Kuru katıların tiamin içeriği petrokimyasal bir endüstrinin çamurunda 5,1 ve 29,1 ppb ve su fazında ise 3-14 ppb arasında olduğunu belirlemiştir. Meyve ve kağıt endüstrisindeki kuru katılardaki içeriği 2,4 µg ppb iken su fazında bulunamadığını saptamıştır. Yağ endüstrisi tesis çamurlarının kuru katılarında 1.9 ppb ve su fazında ise 5 ppb tiamin bulunmuştur. Çalışmamızda Malatya atık su arıtma tesislerinden alınan aerobik olarak çürütülmüş çamurda tiamin miktarının $14,19 \pm 1,79$ ppm ve sularında ise 0.09-1,32 ppm arasında olduğu belirlenmiştir. Gaziantep atık su arıtma tesislerinden alınan anaerobik olarak çürütülmüş çamurda tiamin miktarının dedeksiyon limitinin altında olduğu görülmüş olup sularında 2,06 ppm' e kadar bulunmuştur.

Lemmer ve diğ. (1998), evsel ve endüstriyel kaynaklı çamurlarda 18-43 ppm ve sindirici (digester) çamurda ise 3-11 ppm riboflavin olduğunu saptamışlardır. Lemmer ve Nitschke (1994), evsel atıksu tasfiye tesislerinden alınan kuru aktif çamur katılarındaki riboflavin içeriğinin 17.6-43.2 ppb ve su fazında 9-25 ppb arasında olduğunu bulmuşlardır. Benzer bir içeriği, Kocher ve Corti (1952) tarafından evsel tesisin çürütülmüş kuru katılarında 3.2 ve 10.8 ppb su fazında 6-116 ppb arasında riboflavin bulunmuştur. Lemmer ve Nitschke (1994), petrokimyasal endüstrisinin kuru katılarında 31.5-41 ppb ve su fazında 1-5 ppb, meyve ve kağıt endüstrisi kuru katılarında 21.3-24.4 ppb ve su fazında yaklaşık 26 ppb, yağ endüstrisi kuru katılarında 23.4-32.4 ppb ve su fazında 15 ppb riboflavin bulunmuştur. Çalışmamızda Malatya ve Gaziantep atık su arıtma tesislerinden alınan çamur katılarındaki riboflavin miktarının sırasıyla 10.10-12.22 ve 0,76-0,06 ppm arasında olduğu ve sularında 0,65 ve 2,35 ppm'e kadar bulunmuştur.

Lemmer ve diğ. (1998), evsel aktif çamurda 10-13 ppm ve endüstriyel çamurda 2 ppm folik asit'in olduğunu belirleyen araştırmacılar sindirici (digester) çamurda ise folik asit'in 0.3-0.6 ppm arasında olduğunu saptamışlardır. Lemmer ve Nitschke (1994), evsel atıksu tasfiye tesislerinden alınan aktif çamurun kuru katılarındaki folik asidin 10-13 ppb ve su fazında 9-25 ppb arasında olduğunu

saptamışlardır. Kuru çürütülmüş çamur katılarının 0.25-0.6 ppb folik asit içerirken su fazlarını folik asitsiz bulmuşlardır. Kocher ve Corti (1952) evsel tesisin kuru katılarında 1.8 ppb folik asit bulmuşlardır. Lemmer ve Nitschke (1994), endüstriyel atıksu tasfiye tesislerinden alınan kuru aktif çamur katılarında yaklaşık 2 ppb folik asit bulmuşlardır. Çalışmamızda Malatya ve Gaziantep atık su arıtma tesislerinden alınan çamur örneklerindeki folik asit miktarının sırasıyla 2.26-2.94 ve 1.39-1.67 ppm arasında olduğu ve sularında 0,51 ve 0,66 ppm'e kadar belirlenmiştir. Gerek çalışma materyallerimizde gerekse diğer çalışmalarda kullanılan materyallerde vitamin miktarları tesisten tesise farklılık göstermiştir.

Çamur kalitesi, önemli ölçüde değişime sahiptir. Çünkü atıksu kalitesi, proses dizaynı ve düşük besin/mikroorganizma oranı gibi proses parametreleri değişkendir. Vitaminler gibi mutlak mikronutrientler, sindirici çamur mikroorganizmaları gibi aktif çamurun gelişimi için önemlidir. Düşük besin/mikroorganizma oranına bağlı olarak, bu mikronutrientlerin bazıları tesiste yetersiz olabilir. Bunun için biyolojik atıksu tasfiyesinin randımanı, biyolojik komüniteye ilave olunan mikronutrientlerle artırılmalıdır (Lemmer ve Nitschke, 1994). Biyolojik atıksu tasfiyesinde vitamin eklemesiyle gelişme faktörlerinin eksikliği tamamlanır ve böylece çamur aktivitesi ve tasfiye verimi artar (Lemmer ve diğ., 1998)

Biyolojik atıksu arıtma tasfiyesine vitamin ilavesi konulu çalışmalarda; tiamin, biotin ve niasin'in düşük MLSS'nin hafifleyebildiğini (Lind ve diğ., 1994), folik asit'le KOİ ve AKM giderim veriminde büyük bir artış gözlemlendiğini, dayanıklı bir biyokütleyle sahip olunduğunu ve çamur flokleşme kalitesinin iyileştiğini (Aydın ve Barlas, 1996; Şenörer, 2001), heterotrofik saprofitlerin gelişme (büyüme) faktörlerinin tiamin, biotin ve nikotinik asit olduğunu (Lemmer ve diğ., 1998), belirli vitaminler ile iz metallerin çamur kabarma probleminin kontrolü ve alternatif çamur arıtma yollarını sağladığını (Clark ve Stephenson, 1998), niasin'le KOİ gideriminde en verimli sonucun alındığını ve çamur kullanımını düzelttiği, amonyak, süspanse katılar ve fosfor giderimini de arttırdığını (Burgess ve diğ., 2000), belirtmişlerdir.

Belli maya türleri için propiyonik asit ve diğer bakteriler, küf mantarları ve protozoa için ise bir büyüme metaryali olarak B₁ vitamini (aneurin- C₁₂H₁₇ClN₄OS) gereklidir. Organizmaların B₁ vitamini olan gereksinimi farklıdır. Bazı organizmalar tamamen B₁ vitamini bağımlı halde iken bazıları, bu vitamini hiçbir şekilde gereksinim duymaz ayrıca her iki durum arasında gereksinim duyan mikroorganizmalarda vardır. B₂ vitamini (laktoflavin- C₁₇H₂₀O₆N₄) birçok laktik asit bakterisi için önemli bir büyüme materyalidir. Buna karşın, sadece birkaç bakteri türü için büyüme materyali olarak kullanılmaktadır. B grubu vitaminlerden bir olan pantotenik asit (C₉H₁₇NO₅), solunum döngüsü olarak hareket eden mikroorganizmalar için bir büyüme materyalidir. Pantotenik asit (B₅), Piridoksin (B₆) gibi diğer B vitaminlerinin varlığında daha aktiftir. Birçok bakteri için, bu asitlerin büyüme, üreme, fermantasyon, solunum ve glikojen sentezinde gerekli oluşu belirtilmiştir (Schormuller, 1948).

Biotin ($C_{10}H_{16}NO_3Sn$), tiamin ($C_{12}H_{17}ClN_4OS$) ve nikotinik asit (C_5H_4NCOOH)'in bakteriler için büyüme faktörü olarak gerekli olduğu bulunmuştur. Yüksek yüklü çamurlarda, *Eschericia coli*, tiamin salgılar. Salgılanan tiamin ise *Trithigmotoma cucullulus* veya *tetrahymena pyriformis* gibi protozoa türlerinin aktivitesini artırır (Voight ve diğ.,1979; Fillipi ve Vennes, 1971). Evsel atıksu arıtım tesisinde fazla yükün olduğu ilk kademedede, nikotinik asite ihtiyaç duyan organizmalar bulunmaz. Buna karşın *Staphylcoccus aureus* gibi zorunlu büyüme faktörü olarak nikotinik asite ihtiyaç duyan belli organizmalar vardır. *Streptobacterium casei* ve *Lactobactobacillus arabinosus* için bir büyüme materyali olarak gerekli olan nikotinik asitin optimum aktivitesi yaklaşık 1 mg/l konsantrasyonunda sağlanır.

Mohr (1987), folik asit'in bakteri ve funguslar için bir mikronutrient veya gelişime (büyüme) faktörü olduğunu ve bu mikroorganizmalarıda 'Acetobacter, Achromobacter, Agrobacterium, Alcalidines denitrificans, Bacillus coagulans, Bacillus stearothermophilus, Bacillus subtilis, Candida, Clostridium tetani, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Flavobacterium, Fusarium, Fusarium moniliforme, Fusarium oxysporum, Gluconobacter oxydans, Lactobacillus, Lactobacillus acidophylus, Lactobacillus arabinosus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei, Lactobacillus delbrückii, Lactobacillus fermenti, Lactobacillus leichmannii, Leuconostoc, Micrococcus, Mycobacterium, Nitrobacter, Nitrosomonas, Norcadia, Pediococcus cerevisiae, Propionibacteria, Propionibacterium jensenii, Propionibacterium pentosaceum, Propionibacterium rubrum, Pseudomonas, Pseudomonas acidovorans, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas stützen, Rhizobium tritoli, Rhizopus microsporus, Rhodotorula, Sacharomyces cerevisiae, Sporolactobacillus inulinus, Streptococcus avium, Streptococcus faecalis, Streptococcus thermophilus ve Staphylococcus aureus' şeklinde özetleyen derleme çalışmasında mutajenlerin bu asitin varlığında düşük etkili olduğunu belirtmiştir. Dohme (1988), aktif çamur tesislerinin örneklerinde folik asidin metabolizma üzerindeki etkisi çalışmasında folik asit'in özellikle O_2 eksikliğinde etkili ve dekompoze olan nutrientler için de oldukça geçimsiz olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı O_2 düzeyi ile folik asit'in etkisi arasında direkt bir ilişkinin var olduğunu belirtip folik asit'in eklenmesiyle kuru çamur seviyesinde bir düşüş olduğunu tespit etmiştir. Çalışmasında folik asit'in etkisinin direkt olarak sadece çok az bir oksijen durumunda görüldüğünü ve folik asit ilavesinin enerji metabolizmasının şiddetini arttırdığını yani enerji metabolizmasındaki artışın folik asitle meydana geldiğini belirtmektedir. Enerji metabolizmasındaki artışın bir sonucu olarak da daha az organik madde oluştuğunu saptamışlardır.

Lochhead ve Thexton (1951), tarım toprağından izole ettikleri 534 kültürün 41'i yani % 7,6'sının temel besin maddesi olarak B_{12} 'ye gereksinim duyduklarını tespit edilmişlerdir. Lochhead ve Burton (1956) tarım topraklarından izole edilen 499 türün % 27,1'e tekabül eden 14,1 milyon bireyinin bir veya birden fazla vitamine gereksinim duyduklarını ve vitamin ihtiyacı duyan türlerin büyük bir kısmı (% 64)'nın daha çok tiamin, biotin ve riboflavinden yalnızca bir tanesine gereksinim duyduklarını tespit etmişlerdir. Tamamında ise 16 ayrı formda vitamin gereksinimi tespit edilmiştir.

Aerobik ve anaerobik bakterilerin vitamin ihtiyacı Niasin, Tiamin, Laktoflavin/riboflavin, Piridoksin, Pantotenik asit için ppm ve folik asit için ppb oranında olacağı kabul edilebilmektedir (Lemmer ve Nitschke, 1994; Lemmer ve diğ., 1998; Burgess ve diğ., 2000). Malatya ve Gaziantep Atıksu Arıtma Tesislerinde, hem işlenen su ve hem de tesisten elde edilip tarımsal amaçlı kullanılan arıtma çamuru ve çıkış suyunun vitamin içeriği, çeşitli heterotrofik bakterilerin vitamin ihtiyacını karşılayacak düzeyde olduğu ortaya çıkmıştır.

Neujahr (1957), mikrobiyal olarak bozunan atık çamurlarda vitamin oluşum miktarına farklı faktörlerin etki ettiğini ve bunları fermentasyon tipi (aerobik veya anaerobik), çamurun bozunması için yapılan eklentilerin etki derecesi, çamurun pH'ıyla karakterize edilebileceğini vurgulamıştır. Çalışmalarında ısı ve alkali muamelenin siyanocobalamin'in sentezi üzerinde zararlı bir etkiye sahip olduğunu da belirtilmiştir. Çalışma örneklerimizden aerobik şartlar altında yürütülen çamurda vitaminlerin artan bir sentezine neden olmuş, anaerobik şartlar altında ise vitamin sentezi harekete geçmemiştir.

Çalışılan örneklerdeki vitamin düzeyleri arasındaki farklılığın 'kentsel metabolizma' sonucu oluşan ve arıtılan suyun özellikleri ile arıtım mikrobiyolojisi ve çamurun işlenme şekliyle kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Akça, L., Çitil, E., Tüfekçi, N., 1996, Arıtma Çamurlarının Tarım Alanlarında Değerlendirilmesi, Tarım-Çevre İlişkileri Sempozyumu (13-15 Mayıs 1996), Doğal Kaynakların Sürdürülebilir Kullanımı Bildiriler Kitabı, Mersin Üniv. Müh. Fak., Mersin, 35-43 s.
- Amıdžic R., Brboric J., Cudina O and Vladimirov S., 2005, RP-HPLC Determination of vitamins B1, B3, B6, folic acid and B12 in multivitamin tablets J. Serb. Chem. Soc. 70 (10) 1229–1235.
- Anderl A., 1987, A Vitamin for biological sewage treatment plants. BioTechnologie 5/87

- Asano, T., Maeda, M., and Takaki, M.,1996, Wastewater reclamation and reuse in Japan: overview and implementation examples. *Water Science and Technology*. 34:219-226.
- Aydın H. ve Barlas H., 1996, Glikoz Üretimi Atıksularının Biyolojik Arıtımında Folik Asit Yardımıyla Arıtma Veriminin Arttırılması. İTÜ 5. Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Sempozyumu'96 25-27 Eylül 1996 İSTANBUL sh. 402-410
- Beardsley M.L. and Coffey J.M., 1985, Bioagumentation: optimizing biological wastewater treatment. *Pollution Engineering*, December: 30-33.
- Bilgin, N., Alluşoğlu, S., Oruç, S.,1997, İkinci Kademe Arıtılmış Kentsel Nitelikli Atıksu Arıtma Çamurlarının Tarımda Kullanılma Olanaklarının Araştırılması, Köy Hizmetleri Araştırma Projesi, Proje No:973230B01, Ankara.
- Burgess J. E., Harkness J, Longhurst P. J., Stephenson T., 2000, Nutrient balancing for enhanced activated sludge reactor performance : UK perspective *Water Science and Technology*, 41(12) 223-231 IWA Publishing
- Burgess J.E., Quarmby J. ve Stephenson T., 1999, Role of micronutrients in activated sludge-based biotreatment of industrial effluents. *Research review paper. Biotechnology Advances*; 17: 49-70.
- Clark T. ve Stephenson T, 1998, Effect of chemical addition on aerobic biological treatment of municipal wastewater. *Environmental Technology*, Vol. 19, 579-590.
- Çağatay M., 1976, Bitki Biyokimyası. A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 579.
- Çolakoğlu M. ve Ötleş S., 1985, Vitaminlerin bozulmalarına etki eden faktörler ve koruma çareleri. *E.Ü.Mühendislik Fakültesi Dergisi*, Seri B, 3, (2), 71-84.
- Dohme M.,1988, The effect of folic acid on the metabolism rate of activated sludge plants as shown by the example of the Uelzen and Suderburg sewage treatment works. *Diploma Thesis*.
- Düring, R.A., Gäth, S., 2002, Utilization of Municipal Organic Wastes in Agriculture: Where Do we Stand, Where will we go? *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 165, 544-556.
- Emmerling, C., Liener, M., Haubold-Rosar, M., Katzur, J., Schröder, D., 2000, Impact of Application of Organic Waste Materials on Microbial and Enzyme Activities of Mine Soils in The Lusatian Coal Mining Region. *Plant Soil*, 220, 129-138.
- Filibeli, A., 1996, Arıtma Çamurlarının İşlenmesi, DEÜMF Yayınları No:225, İzmir.
- Fillipi G.M. ve Vennes J.W., 1971, Biotin production and utilisation in a sawage treatment lagoon. *Appl. Microbiol.* 22, 49-54.
- Gabriel B., 1994, *Wastewater Microbiology*, 1. Baskı, New York
- Gaspard, P., Wiart, J., Schwartzbrod, J., 1996, A Method For Assessing The Viability of Nematode Eggs In Sludge, *Environmental Technology*, 17, 415-420,

- Guidi, G., 1980, Relationships Between Organic Matter of Sewage Sludge and Physico-Chemical Properties of Soil. Characterization, Treatment and use of Sewage Sludge. Proceedings of the Second European Symposium. Vienna, 21-23 ,530-544.
- Hulugalle, N.R., 1996, Effects of Pelletized Sewage Sludge on Soil Properties of a Cracking Clay from Eastern Australia. Waste Management & Research, 14, 571-580.
- İleri R., 2000, Çevre Biyoteknolojisi. Birinc Baskı. 661 sh. Değişim Yayınları, Adapazarı
- Jakobsen, S.T., 1995, Aerobic Decomposition of Organic Wastes 2. Value of Compost as a Fertilizer. Resour. Conserv. Recy., 13, 57-71.
- Joshua, W.D., Michalk, D.L., Curtis, I.H., Salt, M., Osborne, G.J., 1998, The Potential for Contamination of Soil and Surface Waters from Sewage Sludge (Biosolids) in a Sheep Grazing Study, Australia. Geoderma, 84, 135-156.
- Kalaycıoğlu L., Serpek B., Nizamlioğlu M., Başpınar N. ve Tiftik A.M., 2006, Biyokimya, 3. Baskı Nobel Yayın No 153, 654 sh. ANKARA
- Karataş F., Aydın S., Türkoğlu H. ve Öbek E., 2008, Determination of vitamin complexes (B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₁, B₁₂) by HPLC (*Analytical Chemistry* yayında).
- Kargı F., 1993, Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler. DEÜ Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 234, DEÜ Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, İzmir.
- Keha E. ve Küfrevioğlu İ., 1997, Biyokimya. 636 sh.(222-246) Şafak Yayınevi ERZURUM
- Kocher V. and Corti U. A., 1952, Beitrage zur Kenntnis des Vitamingehaltes von Belebtschlamm aus Abwasserreinigungsanlagen, Schweiz. Z. Hydrol. 14, 333–335.Schwarz (1971)
- Krasilnikov N.A., 1958, Soil, microorganisms and higher plants. Part IV. Interaction between soil microorganisms and plants. Moskau 1958.(Academy of Sciences of the USSR, Ed.); Translation (1961) The national science foundation, Washington .D.C.
- Larson, W.E., Susag, R.H., Dowdy, R.H., Clappa, C.E., Larson, R.E., 1974, Use of Sewage Sludge in Agriculture with Adequate Environmental Safeguards. Sludge Handling and Disposal Seminar Proceedings. Toronto, 18-19, 27-46.
- Larsen, A.B., Funch, F.H., Hamilton, H.A., 1991, The use of Fermentation Sludge as a Fertilizer in Agriculture. Water Science and Technology, 24(12), 33-42.
- Lemmer, H. and Nitschke L., 1994, Vitamin content of four sludge fractions in the activated sludge wastewater treatment process. Water Res., 28: 737- 739.
- Lemmer, H., G. Lind, G. Metzner, L. Nitschke and M. Schade, 1998, Vitamin addition in biological wastewater treatment. Water Sci. Tec., 37: 395-398.

- Lind G., Schade M., Metzner G. and Lemmer H., 1994, Use of vitamins in biological waste water treatment. GWF-Wasser/Abwasser 135: 595-600.
- Lochhead A. G. and Thexton R. H., 1951, Vitamin B12 as a growth factor for soil bacteria. *Nature* 167, 1034.
- Mc Carty, P., 1964, Anaerobic Waste Treatment Fundamentals, Part I, II, III and IV, Public works
- Mc Donald, M.A., Hawkins, B.J., Prescott, C.E., Kimmins, J.P., 1994, Growth and Foliar Nutrition of Western Red Cedar Fertilized with Sewage Sludge, Pulp Sludge, Fish Silage, and Wood Ash on Northern Vancouver-Island. Canadian Journal of Forest Research, 24(2), 297-301.
- Metcalf and Eddy, 2003, Wastewater engineering treatment and reuse. Fourth Edition.
- Mohr H., 1987, Folic acid – a micronutritive and promoter of growth for bacteria and fungus. A review. BioTechnologie Das Nachrichten-Magazin 10/87
- Neujahr H.Y., 1955a, Formation of vitamin B12-, folic acid-, and folinic acid factors in municipal sludge. Acta Chemica Scandinavica, 9, 622-630.
- Neujahr H.Y., 1955b, Vitamin B12 activity of different types of sewage sludge. Acta Chemica Scandinavica, 9, 803-806.
- Neujahr H.Y., 1956, Isolation of new vitamin B12-like factors. Acta Chemica Scandinavica, 10, 917-927.
- Neujahr H.Y., 1959a, Production of vitamin B12 by methane bacteria. Acta Chemica Scandinavica, 13, 1453-1459.
- Neujahr H.Y., 1959b, Production of vitamin B12 by sulphate-reducing bacteria. Acta Chemica Scandinavica, 13, 1960-1970.
- Neujahr H.Y., 1960a, Further Studies on the Production of vitamin B12 by some enrichment cultures of methane bacteria. Acta Chemica Scandinavica, 14, 28-42.
- Neujahr H.Y., 1960b, Production of vitamin B12 by certain *Clostridia*. Acta Chemica Scandinavica, 14, 43-47.
- Nichols, C.G., 1989, US Forestry uses of Municipal Sewage Sludge. Alternative uses for Sewage Sludge Conference Proceedings. U.K.; 5-7 September 1989, 155-165.
- Nutritution and Growth of Bacteria, 2007. Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. (<http://www.textbookofbacteriology.net/nutgro.html>).
- Öbek, E., Tatar, Ş.Y., Hasar, H., Karataş, F., Erulaş, M.F., 2005, Tavuk Kesimhanesi Atıksu Arıtma Tesisi Giriş ve Çıkış Suları ile Arıtma Çamurundaki Vitamin Düzeylerinin Değerlendirilmesi. F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17(2), 327-334.

- Öncel T., 1999, Tekstil Fabrikası Atıksularının Biyolojik Arıtımında Elde Edilen Dipçamurundan Biyogaz Üretimi Koşullarının Araştırılması - Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Bölümü
- Pagliai, M., Guidi, G., 1980, Porosity and Pore Size Distribution in a Field Test Following Sludge and Compost Application. Characterization, Treatment and use of Sewage Sludge. Proceedings of the Second European Symposium. Vienna, 21-23 ,545-552.
- Pedreno, J.N., Gomez, I., Moral, R., Mataix, J., 1996, Improving the Agricultural Value of a Semi-Arid Soil By Addition of Sewage Sludge and Almond Residue. Agriculture, Ecosystems and Environment, 58, 115-119.
- Peterson, W. H., and Peterson, M. S., 1945, Relation of bacteria to vitamins and other growth factors. Bact. Revs., 9, 49-109.
- Pulford, I.D., 1989, Sewage Sludge as an Amendment for Reclaimed Colliery Spoil. Alternative Uses for Sewage Sludge Conference Proceedings. U.K.; 5-7 September 1989, 41-54.
- Renz P. , Blickle S. , Friedrich W., 1987, Two new vitamin B-12 factors from sewage sludge containing 2-methylsulfinyladenine or 2-methylsulfonylidenine as base component. Eur. J. Biochem., 163; 175-179.
- Sabey, B.R., Pendleton, R.L., Webb, B.L., 1990, Effect of Municipal Sewage Sludge Application on Growth of Two Reclamation Shrub Species in Copper Mine Spoils. J. Environ. Qual., 19; 580-586.
- Schormuller J., 1948, Vitamins as growth material for bacteria. A comprehensive Review. Z.Lebensm. Untersuchung und Forschung., 88,408-436.
- Schmidtke, N.W., 1980, Sludge Generation, Handling and Disposal at Phosphorus Control Facilities in Ontario. Characterization, Treatment and Use of Sewage Sludge. Proceedings of The Second European Symposium. Vienna, 21-23: 190-225.
- Singleton J., 1994, Microbial metabolism of xenobiotics: Fundamental and applied research. J Chem Technol Biotechnol 59: 9–23.
- Şeker M.E., 2006, Türkiyede bulunan bazı üzüm türlerinin çekirdeklerindeki e-vitamini miktarının HPLC ile tayini Celal Bayar Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 94 sh. (Danışman Prof. Dr. Ali ÇELİK)
- Şenörer E., 2001. Foli asit'in Biyolojik Arıtma Verimi Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 86 sh. İSTANBUL
- Tekman Ş. ve Öner N., 1974, Genel Biyokimya, İstanbul Üniversitesi Yayınları No. 1910 Baha Matbaası İSTANBUL

- Williams, J.H., 1979, Utilization of Sewage Sludge and other organic Manures on Agricultural Land. First European Symposium Treatment and Use of Sewage Sludge Proceedings. Cadarache, 13-15, 227-242.
- Wood D.K.ve Tchobanoglous G., 1945, Trace elements in biological waste treatment. J. Wat. Pollut. Control Fed., 47:1933-1945.
- Voight M.N., Eitenmiller R.R. ve ware G.O., 1979, Vitamin assay by microbial and protozoan organisms: response to vitamin concentration, incubation time and assay vessel. J. Food. Sci. 44, 729-734.

ÖZGEÇMİŞ

1981 Malatya doğumlu olup İlk, orta ve lise öğrenimini Malatya' da tamamladım. 2000 yılında girdiğim Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü' nden 2005 yılında mezun oldum. Eylül 2005 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans öğrenimine başladım.

Fatih SELİMOĞLU