

**NFC-DOPLU TiO₂ FOTOKATALİSTİNE MARUZ
BIRAKILMIŞ AKTİF ÇAMURUN GERÇEK EVSEL
ATIKSU BİYODEGRADASYONUNDAKİ
PERFORMANSININ VE YENİLENEBİLİRLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gökçe Faika MERDAN

Yüksek Lisans Tezi

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Günay YILDIZ TÖRE

2019

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NFC-DOPLU TiO₂ FOTOKATALİSTİNE MARUZ BIRAKILMIŞ AKTİF ÇAMURUN
GERÇEK EVSEL ATIKSU BİYODEGRADASYONUNDAKİ PERFORMANSININ VE
YENİLENEBİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gökçe Faika MERDAN

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
DANIŞMAN: Doç. Dr. Günay YILDIZ TÖRE

TEKİRDAĞ-2019

Her hakkı saklıdır

Bu tez NKÜBAP tarafından NKUBAP.06.GA.18.183 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Doç. Dr. Günay YILDIZ TÖRE danışmanlığında, Gökçe Faika MERDAN tarafından hazırlanan “NFC-Doplu TiO₂ Fotokatalistine Maruz Bırakılmış Aktif Çamurun Gerçek Evsel Atıksu Biyodegradasyonundaki Performansının ve Yenilenebilirliğinin Değerlendirilmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Günay YILDIZ TÖRE

İmza :

Üye : Prof. Dr. Emine UBAY ÇOKGÖR

İmza :

Üye : Prof. Dr. Güçlü İNSEL

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar UYMAZ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NFC-DOPLU TiO₂ FOTOKATALİSTİNE MARUZ BIRAKILMIŞ AKTİF ÇAMURUN GERÇEK EVSEL ATIKSU BİYODEGRADASYONUNDAKİ PERFORMANSININ VE YENİLENEBİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gökçe MERDAN

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Günay YILDIZ TÖRE

Son yıllarda evsel ve endüstriyel atıklarda biyolojik ayrışmaya dirençli kirleticilerin tespiti sonrasında yeni ileri arıtım teknikleri gelişmiştir. Bu anlamda heterojen fotokatalitik ileri oksidasyon prosesleri son yıllarda özellikle üzerinde yoğun çalışmaların yürütüldüğü önemli teknikler arasında yer almaktadır. Bu proseslerde, heterojen yarı iletken özelliğe sahip olan Titanyum Dioksit (TiO₂), ucuz olması ve toksik olmamasına ilave olarak yüksek aktif optik özellikleri ve kimyasal stabilitesi nedeniyle çok çeşitli organik kirleticilerin dekompozisyonunda oldukça yaygın kullanılmaktadır. Ancak; güneş ışığının sadece %3'ü ile %5'ini emebilme özelliğinden dolayı son zamanlarda literatürde TiO₂'ye güneş ışığında da fotokatalitik reaksiyona girebilme kabiliyetinin kazandırılabilmesi için, uygun geçiş metalleri (N, C, F, B, P, Ag, Au, Zn, Cu...vb.) ile ya da başka elementler yardımıyla doplanarak oksidasyon gücünün artırılmasına yönelik çalışmalara çok sık rastlanılmaktadır. Fakat bu çalışmalarda, özgül yüzey alan ve yüksek katalitik özelliklere sahip nanopartiküler yapıdaki bu doplanmış fotokatalistlerin, özellikle bir sonraki arıtma kademesi olarak tercih edilen aktif çamur sistemleri üzerinde şok etkisi yaratabildiği ve bunların biyodegradasyonunda işletme aşamasında problemlerle karşılaşılacağı belirtilmektedir. Bu nedenle söz konusu fotokatalistlerin aerobik biyolojik arıtma prosesi üzerindeki davranışını anlamak oldukça önemli olup; bu çalışmada yeni nesil bir nanopartikül olan

NFC-doplu TiO₂ toz fotokatalistinin, karbon kaynağı olarak evsel ve çoğu endüstriyel atıksu ile benzer KOİ fraksiyonlarını içeren pepton karışımı sentetik bir atıksu ve gerçek evsel atıksuyun aerobik biyodegradasyonu üzerine etkisi, respirometrik olarak tespit edilmiştir. Bu amaçla fotokataliste maruz bırakılmış ve bırakılmamış aktif çamurun oksijen tüketim hızındaki değişim respirometrik teknikler kullanılarak akut ve kronik seviyede hem sentetik hem de gerçek atıksular (evsel) için deneysel olarak tespit edilirken, bu süreçte aynı zamanda aktif çamurun performansındaki değişimi ortaya koymak için yeni nesil dizileme çalışması ile tür analizi yapılarak akut ve kronik maruziyet sonrası nasıl bir değişim gerçekleştiği ortaya konulmuştur. Buradaki amaç; nanopartiküler yapıdaki fotokataliste maruz bırakılmış ve bırakılmamış aktif çamur popülasyonunun (peptona ve gerçek evsel atıksuya aklime edilmiş), aerobik ortamda sentetik ve gerçek atıksular için davranışını respirometrik tekniklerle tanımlamak, karşılaştırmak ve gerçek evsel atıksu arıtma tesisi verimi üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Böylece, özellikle evsel atıksularda antibiyotik kalıntılar gibi biyodegradasyonu zor olan organik maddelerin gideriminde yaygın olarak kullanılan nanopartiküllerin, geleneksel aktif çamur sistemlerindeki davranışını sentetik atıksularla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, gerçek evsel atıksu ile beslenen aktif çamur, içerdii mikrokirleticiler nedeniyle pepton ile beslenen aktif çamura göre TiO₂ nanopartikülünden daha fazla etkilenmiştir. Tür analizi açısından değerlendirildiğinde, gerçek atıksudaki mikrokirleticilerin varlığı, aktif çamurda bulunması tercih edilmeyen filamentli bakterilerin, kontrol örneğinde dahi ortamda bulunmasına sebep olmuşturlardır. Her iki reaktörde de akut maruziyet sonrası KOİ giderim verimi, oksijen tüketim hızı ve faydalı türler inhibe olmuştur. 30 günlük kronik maruziyet sonrası, her iki reaktörde de filamentli bakteriler baskın hale gelmiştir. Evsel atıksu reaktörü, pepton reaktörüne göre KOİ giderim verimi ve oksijen tüketim hızı açısından daha fazla inhibe olmuştur. Evsel atıksu reaktöründe KOİ giderimi neredeyse ortadan kalkmış, pepton reaktöründe ise %60 civarında kalmıştır. Yenilenebilirlik deneylerine göre, pepton reaktörü aktif çamurunda filamentli bakteri varlığı azalmıştır ve aktif çamurda olması istenilen bakteri cinslerinde artış gözlemlenmiştir. Pepton reaktöründe oksijen tüketim hızındaki inhibisyon devam etmiş, ancak KOİ giderim verimi %19 civarında iyileşmiştir. Evsel atıksu reaktöründe ise ne KOİ giderim veriminde ne de oksijen tüketim hızındaki

inhibisyonda düzelme gözlemlenmiştir. Tür analizine göre evsel atıksu reaktörü aktif çamurunun kendisini az da olsa toparlayabildiği ama filamentli bakterilerin ortamda hala baskın olması sebebiyle mikroorganizmaların organik maddeye ulaşamayarak tüketemedikleri yorumu yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: Fotokatalitik İleri Artım, Fotokatalist, Evsel atıksu, NFC-doplu TiO₂, Oksijen Tüketim Hızı, Respirometri, Yeni Nesil Dizileme, Mikrobiyal Tür.

2019, 131 sayfa

ABSTRACT

Master's Thesis

EVALUATION OF THE PERFORMANCE OF MICROBIAL COMMUNITY INDUCED BY
NFC-DOPED TiO₂ NANOPARTICLES ON AEROBIC BIODEGRADATION OF SEWAGE
WASTEWATER AND ITS' RECOVERABILITY

Gökçe MERDAN

Tekirdağ Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Environmental Sciences and Environmental Biotechnology
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Günay YILDIZ TÖRE

During the recent years, the advanced treatment processes are developed after the determination of pollutants which are resistant to biodegradation in the domestic and industrial wastewater. In this context, heterogeneous photocatalytic advanced oxidation processes are among the most important techniques in which intensive studies have been carried out in recent years. Titanium dioxide (TiO₂), which has heterogeneous semiconductor property, is widely used for decomposition of various organic pollutants because of its high active optical properties, chemical stability and non-toxicity. However, due to its ability to absorb 3%-5% of sunlight, it is very common in the literature that TiO₂ is doped with the appropriate transition metals or other elements to increase its oxidation power. But, in these studies, it is stated that these doped photocatalysts with nanoparticulate structure having specific surface area and high catalytic properties can cause a shock effect on activated sludge systems which are preferred especially as the next treatment stage and problems may be encountered on their biodegradation during operation phase. Therefore, it is very important to understand the behavior of the photocatalysts on the aerobic biological treatment process, and the effect of NFC-doped TiO₂, a new generation nanoparticle, on aerobic biodegradation of real domestic wastewater and a peptone mixture synthetic wastewater having

similar COD fractions with domestic and most industrial wastewater was determined in this study. For this purpose, the change in oxygen consumption rate of activated and photocatalyst fed activated sludge is determined experimentally for both synthetic and real wastewater (domestic) at acute and chronic levels by using respirometric techniques also species analysis was performed to determine the change after acute and chronic exposure. The aim of this study is determination of the behavior of activated sludge population which is exposed and unexposed to photocatalyst (acclimated to peptone and real domestic wastewater) for synthetic and real wastewater at aerobic condition by respirometric techniques and evaluation of the effect on real domestic wastewater treatment plant efficiency. Thus, the behavior of nanoparticles in conventional activated sludge systems, especially which are widely used in the removal of organic materials that are difficult to biodegrade, such as antibiotic residues in domestic wastewaters, have been evaluated comparatively with the synthetic wastewater. According to the results of the analysis, activated sludge which was fed with real domestic wastewater, was affected more by TiO₂ nanoparticle than the activated sludge which was fed with peptone due to the micro-pollutants in the real domestic wastewater. When evaluated in terms of species analysis, the presence of micro-pollutants in the real domestic wastewater caused the presence of filamentous bacteria, which are not preferred, even in the control sample. In both reactors, COD removal efficiency, oxygen consumption rate and beneficial species were inhibited after acute exposure. After 30 days of chronic exposure, filamentous bacteria became dominant in both reactors. The domestic wastewater reactor was more inhibited in terms of COD removal efficiency and oxygen consumption rate than the peptone reactor. The COD removal in the domestic wastewater reactor was virtually eliminated, while it remained around 60% in the peptone reactor. According to the recoverability experiments, the presence of filamentous bacteria in the activated sludge of peptone reactor decreased and an increase was observed in the types of bacteria which are beneficial for the biodegradation. Inhibition of oxygen consumption rate continued in the pepton reactor, but COD removal efficiency recovered by around 19%. In the domestic wastewater reactor, neither COD removal efficiency nor oxygen consumption rate were recovered. According to the species analysis, it was commented that the activated sludge of domestic wastewater reactor could recover itself to a small extent but

microorganisms could not reach and consume organic matter due to the fact that filamentous bacteria were still dominant in the environment.

Keywords: Photocatalytic Advanced Treatment, Photocatalyst, Domestic Wastewater, NFC-doped TiO₂, Oxygen Consumption Rate, Respirometry, Next-Generation Sequencing, Microbial Species.

2019, 131 pages

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | iv |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| ÇİZELGE DİZİNİ | ix |
| ŞEKİL DİZİNİ | x |
| KISALTMALAR | xiii |
| ÖNSÖZ | xiv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 3 |
| 2.1. Nanoteknoloji | 3 |
| 2.1.1. TiO ₂ nanopartikülleri | 4 |
| 2.2. Yeni Nesil Sekanslama ve Metagenomik..... | 7 |
| 2.3. Biyolojik Arıtma Sistemlerinde Aktif Çamur İnhibisyonu | 11 |
| 2.3.1. Mevcut konvansiyonel sistemde giderilemeyen mikrokirleticiler ve bunların gideriminde kullanılan fotokatalistler..... | 15 |
| 2.3.2. Metal esaslı nanopartiküler yapıdaki fotokatalistlerin aktif çamur üzerindeki inhibisyonu | 20 |
| 2.4. İleri Oksidasyon Prosesi ile Desteklenmiş Biyolojik Arıtma Sistemleri..... | 30 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM | 38 |
| 3.1. Reaktör İşletimi ve Respirometrik Deney Prosedürü | 38 |
| 3.1.1. Aktif çamur üzerine NFC-doplu TiO ₂ fotokatalistinin akut ve kronik etkisinin belirlenmesi | 41 |
| 3.1.2. Analitik prosedürler | 43 |
| 3.2. Toz formda NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistin Hazırlanması ve Karakterizasyonu | 43 |
| 3.2.1. Fotokatalistin hazırlanması..... | 43 |
| 3.2.2. Fotokatalistin karakterizasyonu..... | 44 |
| 3.3. Mikrobiyal Kültür'ün Belirlenmesi | 44 |
| 3.3.1. DNA izolasyonu | 44 |
| 3.3.2. Yeni nesil sekanslama | 46 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA | 49 |
| 4.1. Kontrol Reaktörünün Aklımasyon Çalışmaları | 49 |
| 4.2. Respirometrik Deney Sonuçları..... | 52 |
| 4.2.1. Akut deneyler | 55 |
| 4.2.2. Kronik deneyler | 59 |
| 4.2.3. Yenilenebilirlik deneyleri | 66 |
| 4.2.4. Toplam tüketilen O ₂ miktarındaki inhibisyonun hesaplanması ve sonuçların yorumlanması | 74 |

| | |
|--|------------|
| 4.2.5. Hazırlanan Fotokatalistin Karakterizasyonu için SEM Tarama ve Raman Spektrumu | |
| Sonuçları | 80 |
| 4.3. DNA İzolasyonu ve Yeni Nesil Sekanslama | 85 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER | 104 |
| 6. KAYNAKLAR | 107 |
| ÖZGEÇMİŞ | 113 |

ÇİZELGE DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 2.1. Kişisel bakım ve kozmetik ürünleri, endokrin bozucu kimyasallar, alev geciktiriciler, pestisitler ve yapay tatlandırıcılar gibi hedef mikrokirleticilerin sınıflandırması (Salimi vd., 2017) | 16 |
| Çizelge 2.2. Spesifik bir antibiyotiği biyodegrade edebilen türler (Wang vd., 2016)..... | 27 |
| Çizelge 3.1. Pepton – Et özü Karışımı (ISO 8192) | 39 |
| Çizelge 3.2. Aklımasyonda kullanılacak makro ve mikro elementler (1000 mg KOİ için 10 ml) | 40 |
| Çizelge 3.3. Çalışmada yürütülen respirometrik analizler | 43 |
| Çizelge 3.4. Fosfat tamponlu salin çözeltisi içeriği..... | 45 |
| Çizelge 3.5. TE Tampon çözeltisi içeriği (10mM Tris, 1mM EDTA) | 45 |
| Çizelge 3.6. 1L TBE Tampon çözeltisi (10X) içeriği, pH 8.3..... | 46 |
| Çizelge 4.1. Aklımasyon çalışmalarında kullanılan evsel atıksu karakterizasyon parametreleri.. | 49 |
| Çizelge 4.2. Evsel atıksu için toplam tüketilen O ₂ miktarı ve yüzde inhibisyon değerleri | 75 |
| Çizelge 4.3. Pepton için toplam tüketilen O ₂ miktarı ve yüzde inhibisyon değerleri..... | 77 |
| Çizelge 4.4. Respirometrik analizler sonucu hesaplanan KOİ verimleri | 80 |
| Çizelge 4.5. Respirometrik analizler sonucu tüketilen oksijen miktarları..... | 80 |
| Çizelge 4.6. DNA konsantrasyonları ve 260/280 oranları..... | 86 |
| Çizelge 4.7. Örnek başına düşen okuma sayısı | 88 |
| Çizelge 4.8. Sekans uzunluk istatistikleri..... | 88 |
| Çizelge 4.9. Her bir örnekteki kimerik olmayan ASV/OTU sayıları | 89 |

ŞEKİL DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1. TiO ₂ 'in anataz formunun kristal yapısı (Anonim-3, 2017) | 6 |
| Şekil 2.2. Illumina yeni nesil sekanslama aşamaları: a-) Kütüphane oluşturma, b-) Kümelerin oluşturulması, c-) Sekanslama, d-) Hizalama ve veri analizi (Illumina, 2011)..... | 10 |
| Şekil 2.3. Nano partiküllerin aktif çamur ortamındaki davranışları (Brar vd., 2010) | 21 |
| Şekil 2.4. Nano partiküllerin bakteriler üzerindeki olası etkileri (Klaine vd., 2008)..... | 22 |
| Şekil 2.5. Atıksu çeşitlerinin aktif çamur üzerindeki etkileri (Cervantes-Aviles vd., 2016)..... | 24 |
| Şekil 2.6. 16S rDNA dizileme çalışması ile farklı konsantrasyonlarda TiO ₂ NP'lerine maruz kalmış aktif çamur mikroorganizmalarının taksonomik sınıflandırması: a-) filum, b-) sınıf, c-) cins (Li vd., 2017)..... | 29 |
| Şekil 2.7. Molekül boyutuna göre C-C bağının kırılma hızının değişimi (Mantzavinos ve Psillakis, 2004) | 32 |
| Şekil 2.8. Fotokatalitik proses ve ardışık kesikli reaktörden oluşan kombine sistem (Elmolla vd., 2011)..... | 35 |
| Şekil 2.9. Aerobik ardışık kesikli reaktörde TiO ₂ ve flokların interaksiyonunun şematik gösterimi (Supha vd., 2015) | 37 |
| Şekil 3.1. Aklimasyon reaktörünün temsili şematik gösterimi..... | 39 |
| Şekil 3.2. Respirometre analizörünün ve OTH profillerinin temsili görünümü..... | 41 |
| Şekil 4.1. Evsel atıksu için aklimasyon süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri . | 50 |
| Şekil 4.2. Evsel atıksu için aklimasyon süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi..... | 50 |
| Şekil 4.3. Pepton için aklimasyon süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri | 51 |
| Şekil 4.4. Pepton için aklimasyon süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi | 51 |
| Şekil 4.5. Evsel atıksu kontrol deneyi OTH grafiği | 53 |
| Şekil 4.6. Evsel atıksu kontrol deneyi KOİ grafiği | 53 |
| Şekil 4.7. Pepton kontrol analizi OTH grafiği..... | 54 |
| Şekil 4.8. Pepton kontrol analizi KOİ grafiği..... | 54 |
| Şekil 4.9. Atıksu akut analiz OTH grafiği..... | 56 |
| Şekil 4.10. Atıksu akut analiz KOİ grafiği | 56 |
| Şekil 4.11. Atıksu kontrol ve akut analiz OTH grafikleri | 57 |
| Şekil 4.12. Pepton akut analiz OTH grafiği..... | 58 |
| Şekil 4.13. Pepton akut analiz KOİ grafiği..... | 58 |
| Şekil 4.14. Pepton kontrol ve akut analiz OTH grafikleri..... | 59 |
| Şekil 4.15. Evsel atıksu için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri | 60 |
| Şekil 4.16. Evsel atıksu için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi..... | 61 |
| Şekil 4.17. Pepton için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri | 62 |
| Şekil 4.18. Pepton için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi..... | 62 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.19. Atıksu kronik analiz OTH grafiği | 63 |
| Şekil 4.20. Atıksu kronik analiz KOİ grafiği..... | 64 |
| Şekil 4.21. Pepton kronik analiz OTH grafiği..... | 65 |
| Şekil 4.22. Pepton kronik analiz KOİ grafiği..... | 65 |
| Şekil 4.23. Pepton kontrol ve kronik analiz OTH grafikleri | 66 |
| Şekil 4.24. Evsel atıksu için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri..... | 68 |
| Şekil 4.25. Evsel atıksu için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi..... | 68 |
| Şekil 4.26. Pepton için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri..... | 69 |
| Şekil 4.27. Pepton için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi..... | 70 |
| Şekil 4.28. Atıksu yenilenebilirlik analizi OTH grafiği | 71 |
| Şekil 4.29. Atıksu yenilenebilirlik analizi KOİ grafiği | 71 |
| Şekil 4.30. Atıksu kronik ve yenilenebilirlik analizi OTH grafikleri..... | 72 |
| Şekil 4.31. Pepton yenilenebilirlik analizi OTH grafiği..... | 73 |
| Şekil 4.32. Pepton yenilenebilirlik analizi KOİ grafiği..... | 73 |
| Şekil 4.33. Pepton kronik ve yenilenebilirlik analizi OTH grafikleri | 74 |
| Şekil 4.34. Atıksu için zamana karşı hesaplanan %I değerleri..... | 76 |
| Şekil 4.35. Atıksu için zamana karşı hesaplanan toplam tüketilen O ₂ miktarı..... | 77 |
| Şekil 4.36. Pepton için zamana karşı hesaplanan toplam tüketilen O ₂ miktarı | 78 |
| Şekil 4.37. Fotokatalistin boyutu ve fiziksel yapısını gösteren SEM tarama sonuçları a-) 2.500 x, b-) 10.000 x ve c-) 10.000 x | 81 |
| Şekil 4.38. Raman saçılmasının molekül enerji diyagramı ile açıklanması (Ohsaka vd., 1978) .. | 82 |
| Şekil 4.39. Raman saçılmasının grafiksel açıklaması (Ohsaka vd., 1978)..... | 83 |
| Şekil 4.40. a-)Raman Saçılması olaylarında dalga boyları (Ohsaka vd., 1978) b-) Toz formda NFC-doplu fotokatalistlerin Raman Spektrum ölçüm sonuçları)..... | 83 |
| Şekil 4.41. Toz formda NFC-doplu fotokatalistlerin Raman Spektrum ölçüm sonuçları | 84 |
| Şekil 4.42. Pepton ile beslenen reaktörden alınan çamurdan izole edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü | 86 |
| Şekil 4.43. Gerçek atıksu ile beslenen reaktörden alınan çamurdan izole edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü..... | 87 |
| Şekil 4.44. Alfa Rarefaction grafiği..... | 90 |
| Şekil 4.45 Beta çeşitlilik grafiği (Temel koordinatlar analizi) | 91 |
| Şekil 4.46. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistine akut maruziyetin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine etkisi..... | 92 |
| Şekil 4.47. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistine akut maruziyetin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine etkisi..... | 93 |

| | |
|---|-----|
| Şekil 4.48. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistine kronik maruziyetin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine etkisi (30. gün örneği)..... | 94 |
| Şekil 4.49. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğinin yenilenebilirliği (50. gün örneği) | 95 |
| Şekil 4.50. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörden alınan kontrol örneğinde cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik..... | 96 |
| Şekil 4.51. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine akut etkisi | 97 |
| Şekil 4.52. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine kronik etkisi (30. gün örneği)..... | 98 |
| Şekil 4.53. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO ₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğinin yenilenebilirliği (50. gün örneği) | 99 |
| Şekil 4.54. Sentetik atıksu ve gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörlerdeki aktif çamur kompozisyonunun filum düzeyinde değişimi..... | 100 |

KISALTMALAR

| | |
|------------------|---|
| AKM | :Askıda Katı Madde |
| ASM1 | :Aktif Çamur Modeli 1 |
| ASM3 | :Aktif Çamur Modeli 3 |
| ASV | :Amplikon Sekans Varyantları |
| bH | :Heterotrofik Biyokütle Ölme Hızı [gün^{-1}] |
| DOend | :İçsel solunumda tüketilen oksijen miktarı [mg/L] |
| DOtotal | :Tüketilen toplam oksijen miktarı [mg/L] |
| EC ₅₀ | :Respirasyonun %50'sini Engelleyen İnhibitör Konsantrasyonu [mg/L] |
| fES | :Endojen Biyokütlenin Çözünmüş İnert Ürün Oranı |
| fEX | :Endojen Biyokütlenin Partiküler İnert Ürün Oranı |
| I | :İnhibitör Konsantrasyonu [mg/L] |
| İOP | :İleri Oksidasyon Prosesleri |
| Kh | :Maksimum Spesifik Hidroliz Hızı [gün^{-1}] |
| KI | :İnhibitör Katsayısı |
| KOİ | :Kimyasal Oksijen İhtiyacı |
| Ks | :Yarı Doygunluk Hız Sabiti [mg/L] |
| Kx | :Hidroliz için Yarı Doygunluk Hız Sabiti [mg/L] |
| NP | :Nanopartikül |
| OTH | :Oksijen Tüketim Hızı [mg/L.h] |
| OTU | :Operasyonel Taksonomik Üniteler |
| PCR | :Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| SMX | :Sülfametoksazol |
| UAKM | :Uçucu Askıda Katı Madde |
| Y _H | :Mikroorganizma Dönüşüm Oranı Katsayısı |
| μHmax | :Maksimum Spesifik Çoğalma Hızı [gün^{-1}] |

ÖNSÖZ

Öncelikle, yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda yardımcı olan ve yol gösteren danışmanım Doç. Dr. Günay YILDIZ TÖRE'ye teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarımda ve aklıma takılan her türlü soruda bana sıkılmadan yardımcı olan Prof. Dr. Emine UBAY ÇOKGÖR'e, tez çalışmam için gerekli olan temel bilgileri edinmeme yardımcı olan ve Universitat Autònoma de Barcelona'da çalıştığım süre zarfında her türlü problemimle ilgilenen Doç. Dr. Albert GUIASOLA ve Dr. Natalia REY'e teşekkürü bir borç bilirim.

Haziran 2019

Gökçe MERDAN
Çevre Mühendisi

1. GİRİŞ

Çevresel ortam ve sucul ortamda mikrokirleticilerin varlığı ve bu ortamlarda yaşayan canlılara olumsuz etkilerinin görülmesi, son yıllarda hem konvansiyonel aktif çamur sistemlerinin performansı hem de çevre sağlığı açısından endişe verici bir hal almaktadır. Çok çeşitli ve farklı yapıdaki mikrokirleticiler hem üretim esnasında hem de kullanıldıktan sonra doğaya dolayısı ile arıtma tesislerine giriş yapmaktadırlar. Bu mikrokirleticiler mevcut konvansiyonel aktif çamur sistemlerinde giderilemediği gibi aktif çamuru inhibe ederek performanslarını da olumsuz yönde etkilemektedirler. Bu mikrokirleticilerden özellikle antibiyotikler, bakterilere doğrudan etki etme amaçlı olarak üretilip kullanıldıklarından arıtma performansı aktif çamur yani biyolojik arıtma ile doğrudan ilişkili olan konvansiyonel aktif çamur arıtma tesislerini inhibe etmektedirler. Bu amaçla araştırmacılar son yıllarda konvansiyonel aktif çamur arıtma tesisi öncesi, sonrası veya bu sisteme entegre olarak ileri bir arıtma prosesini değerlendirme üzerine çalışmalar yapmaktadırlar. İleri arıtma prosesleri içerisinde ise araştırmacılar aynı zamanda suyun geri kazanımı amacı ile de fotokatalitik ileri oksidasyon prosesleri üzerinde oldukça yoğun çalışmalar yürütmektedirler. Ancak; fotokatalitik ileri oksidasyon proseslerinde kullanılan fotokatalistler de konvansiyonel aktif çamur sistemlerini inhibe edebilmektedirler. Bu sebeplerden, antibiyotikler gibi özellikle biyolojik ayrışmaya dirençli kirleticilerin giderimine yönelik üzerinde yoğun çalışmalar yürütülen fotokatalitik heterojen ileri oksidasyon proseslerinin, evsel atıksuların yaygın olarak arıtıldığı konvansiyonel biyolojik arıtma sistemlerinin verimi üzerindeki olumlu ve olumsuz etkilerini birlikte değerlendirmek oldukça önemli bir konu haline gelmiştir.

Bu kapsamda bu çalışmada, son yıllarda geleneksel evsel atıksu arıtma tesislerine giriş yapan ve son zamanlarda geniş bir kullanım alanı bulan daha önce antibiyotik gideriminde başarılı olduğu tespit edilen NFC-doplu TiO₂ fotokatalistinin, gerçek evsel atıksuların arıtıldığı aktif çamur sisteminin verimliliği üzerindeki etkisi karbon kaynağı olarak evsel ve çoğu endüstriyel atıksu ile benzer KOİ fraksiyonlarını içeren pepton karışımı sentetik bir atıksu ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Bu amaçla, laboratuvarında özel olarak hazırlanan NFC-doplu TiO₂ toz fotokatalistinin, Tekirdağ ili sınırları içinde faaliyet gösteren ve antibiyotik içeriği yüksek olduğu bilinen Çorlu Evsel Atıksu Arıtma Tesisi ham atıksuyunun biyodegradasyonu üzerine etkisi

respirometrik olarak tespit edilmiş, bunun yanında DNA izolasyonu sonrası yeni nesil dizileme çalışması mikrobiyal topluluk içindeki değişim de karakterize edilmiştir.

Böylece bu çalışma, antibiyotik gideriminde kullanılan ve literatürde aktif çamur mikroorganizmaları üzerindeki etkisi daha önce değerlendirilmemiş olan NFC-doplu TiO₂ fotokatalistlerin geleneksel aktif çamur sistemlerinde aerobik biyodegradasyon üzerindeki etkisine yönelik bilimsel veri üretirken aynı zamanda mikrokirletici içeren gerçek atıksular üzerinde NFC-doplu TiO₂ fotokatalistleri ile yürütülecek ön arıtma çalışmaları veya direkt olarak aerobik arıtmaya ilave edildiği çalışmalarda, aktif çamur sisteminin performansını ne şekilde etkilediğini anlamak için de yol gösterici nitelik taşıyacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji veya nanobilim, nanometre ölçeğindeki maddelerin özelliklerini ve davranışlarını inceleyen bilimdir.

Nanopartiküller onlarca veya yüzlerce atom veya molekülün meydana getirdiği ve çok değişik boyut ve morfolojide (şekilsizlik, kristallik, küresellik, iğneli yapı vb.) olabilmektedir. Bazı nano partiküller kuru toz veya sıvı çözeltiler halinde piyasada ticari olarak bulunmaktadır. Ticari nanopartiküller, sıvı ortamda veya akışkan formundaki organik maddeler ile nano partiküller birleştirilerek süspansiyon veya macun kıvamında oluşturulmaktadır. Partiküllerden üniform ve kararlı bir çözelti oluşturmak için kimyasal katkıları (sümfaktanlar, çözücüler) eklenmesi gerekebilmektedir. Daha ileri işlem aşamaları ile nano yapılı tozlar ve çözeltiler ham partikül maddelerin nanopartikül yapısını koruyan veya korumayan kaplamalar, bileşikler veya aygıtlar üretilebilmektedir. Günümüzde su ve atıksu arıtımında tespit edilen yeni nesil kirleticilerin giderimi amacıyla ticari olarak kullanılan en önemli nanopartikül maddeler titanyum dioksit (TiO_2), alüminyum oksit (Al_2O_3), demir oksit (Fe_3O_4 , Fe_2O_3) gibi metal oksitlerdir. Ancak karbon siyahı ve fullerenler gibi karbon nanopartikülleri, kadmiyum tellurid (CdTe) ve galyum arsenit (GaAs) gibi yarı iletken bileşikler ve metal nano partiküller (özellikle Ag, Au gibi değerli metaller) de önemli uygulama alanları bulmaktadır (Luther, 2004). Ayrıca makro moleküler kimyada molekül boyutu birkaç on nanometre olan moleküller de nanoteknoloji olarak adlandırılmaktadır. Tıpta ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilecek olan fullerenler ve dendrimerler gibi bazı özel bileşikler de nanoteknolojik ürün kapsamına girmektedir (Luther, 2004).

Nanoteknolojinin; kozmetik, atıksu arıtımı, elektronik gibi çeşitli alanlarda ve katalizör olarak yaygın bir kullanımı vardır. Bunlar; boya duyarlı güneş hücreleri, hidrojen depolama, katı oksit yakıt hücreleri için gelişmiş anot ve katot materyalleri, termal kontrol yakıtları, çevresel katalizörler, araçların katalitik konvertörleri, minyatür varistörler, yakıt hücresi katalizörleri, bipolar plakaları için yakıt pillerinde iletken polimerler, süper kapasitörler ve bataryalarda gelişmiş elektrotlar, sudan hidrojen üretiminde üretim veriminin artırılması, gaz, sıvı teknolojilerinde katalizörler, kömür gazlaştırma teknolojileri, biyodizel ve diğer sentetik yakıtlar, hedefe ilaç

gönderme, alternatif ilaç ve aşı gönderme mekanizmaları, kemik gelişim destekleyicileri, kanser tedavisi, yaralar için canlıya uyum sağlayan kaplamalar, güneş kremleri, kozmetikler, biyoetiketleme ve tespit etme, ilaç taşıyıcılar ve düşük suda çözünürlük, fungusitler, MRI kontrast ajanları, yeni diş bileşikleri, biyolojik bağ ajanları, antiviral, antibakteriyel, antispore, kimyasal olmayan kremler ve tozlar, kesme uçları, bujiler (nanoboyutlu metal ve seramik tozlar), kimyasal sensörler, moleküler elekler, aşınmaya dayanıklı kaplamalar, nanokil destekli polimer bileşikler, yağlar ve sızdırmaz/hidrolik katkıları, pigmentler, kendi kendini temizleyen camlar, polimerler ve bileşiklerin yapısal ve fiziksel iyileştirmesi, mürekkepler, alev geciktirici polimer formülasyonları, araba lastiği gibi kauçuk bileşikleri, fotoğraf filmlerinde dağılmayı önleyici tabakalar, sahte baskı önleme aygıtları, bariyer ambalaj kullanan silikatlar, beyaz eşyalar, camlar için parlamayan, buğulanmayan kaplamalar, spor eşyaları, su ve leke tutmayan tekstil ürünleri, piroteknikler ve patlayıcılar, boya katkı malzemeleri, fayans kaplamalar, su arıtımı, yansıma önleyici kaplamalar, sağlıklı eşyalar, toprak ıslahı, herbisit ve pestisitlerin kontrollü dağılımı, kirlenmeyen kaplar, daha fazla veri depolayabilmek için nanoboyutlu manyetik parçalar, EMI kalkanı kullanan iletken ve manyetik malzemeler, elektronik devreler, alan emisyon cihazlar da dahil olmak üzere görüntü teknolojileri, ferro sıvılar, anahtarlar gibi optoelektronik cihazlar, iletken kaplama ve kumaşlar, kimyasal mekanik planarizasyon, fiber optikler, boya ve birleştirme malzemeleridir (Willems ve Willenberg, 2005).

Nanopartiküllerin geniş kullanımı kaçınılmaz olarak, büyük oranda nanopartiküllerin maddenin çevreye verilmesine sebep olmaktadır. Her geçen gün artan çeşitleri ve kullanım alanları nedeniyle nanopartiküllerin çevrede bulunma olasılıkları giderek artmakta ve ekosistem üzerindeki etkileri de endişe verici bir hal almaktadır. Nanopartiküllerin üretimi, kullanımı ve çok iyi arıtılmadan su veya toprak gibi alıcı ortamlara verilmesi nanopartiküllerin doğaya karışmasına neden olmaktadır.

2.1.1. TiO₂ nanopartikülleri

Titanyum, kimyasal sembolü "Ti", atom numarası 22 olan ve periyodik cetvelin IVB grubunda yer alan kimyasal bir elementtir. Görünüş olarak grimsi beyaz, güçlü, parlak, korozyona karşı dirençli bir geçiş metalidir. Titanyum demir, alüminyum, vanadyum, molibden gibi elementler ile alaşım yapabilir. Titanyum (Ti) atomunun adı Yunan Mitolojisinde güçlü olarak

kabul edilen Yunan tanrıları “Titan”lardan gelir. 1791 yılında W. Gregor tarafından keşfedilen Titan, 1831’de rutilden Liebig tarafından elde edilmiştir. Özgül ağırlığı 4,5 gr/cm³, yüksek erime ve kaynama noktasına sahip olan Titan, özellikleri bakımından silisyuma benzeyen ve oda sıcaklığında sıkı dizilmiş hekzagonal kafes yapısına sahip olan bir metaldir (Anonim-3, 2017).

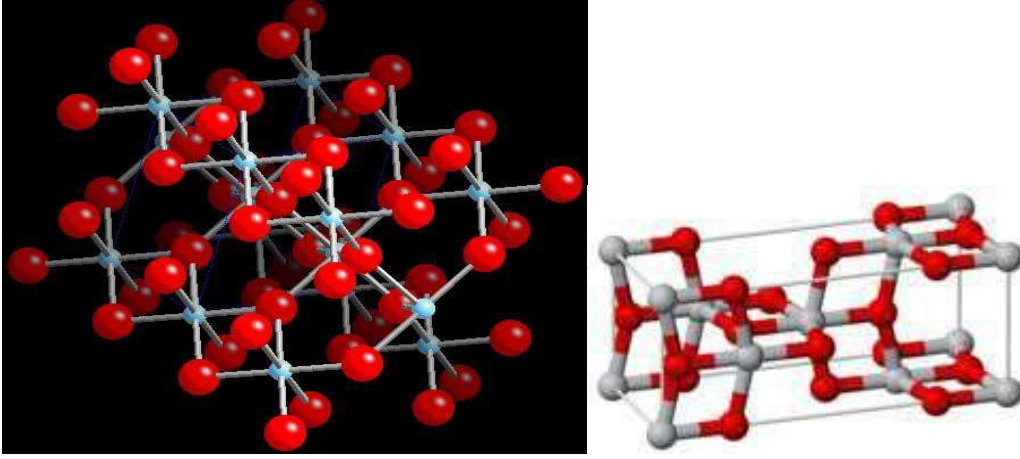
Dünya kabuğunda bol miktarda olan Ti, doğada rutil formda ve ilmenit (FeTiO₃) mineralleri biçiminde bulunur. FeTiO₃ formu plaj kumlarında, kayalarda; daha az bulunan kırmızı, kahverengi ve sarı tetragonal kristaller yapısında olan rutil formu ise, daha çok Avustralya’daki plaj kumlarında mevcuttur (Anonim-3, 2017).

Ti, Titan-4-klorür’ün TiCl₄’e dönüştürülüp magnezyumla indirgenmesi ile, TiCl₄ ise filiz ve karbon karışımının kızıl derecede klorlanması ile elde edilir. Aktif bir metal olan Ti ve alaşımları, mukavemetleri yüksek, hafif, korozyona ve ısıya dayanıklıdır ve pahalı olmasına rağmen uzay sanayinde kullanılır. Beyaz bir pigment olarak kalıcılık ve kapaticılık özelliğine sahip olan Titanyum Dioksit (TiO₂) formu, boyaların yapısına katılır, silgi, kağıt ve benzeri maddelerin yapımında kullanılır. Gıda, mürekkep, sentetik elyaf, boya, ilaç, seramik, plastik, kaplama ve kozmetik endüstrisinde opaklık ve beyazlık sağlayıcı, koyulaştırıcı ve güneşten koruyucu olarak yaygın kullanım alanları vardır. Safir ve yakut kristallerinin yıldız şekilleri, içeriklerindeki TiO₂’ten ileri gelmektedir (Anonim-3, 2017).

Doğal olarak meydana gelen, titanyumun oksit formu olan titanyum dioksit (TiO₂); titania olarak da bilinmekte, doğada saf olarak bulunmamakta ve demir titanyum dioksit (Fe₃TiO₃) cevherlerinden üretilmektedir. Beyaz toz formunda bulunan titanyum dioksit; ürünün teknolojik özelliklerini geliştirmek için küçük miktarlarda alüminyum ve/veya silika ile kaplanabilen saf titanyum dioksit içerebilmektedir. Isı ve ışık stabilitesi yüksek olan titanyum dioksit; su ve organik çözücülerde çözünmemekte, hidroflorik asit ve sıcak derişik sülfürik asit çözeltilisinde ise yavaş çözünmektedir. En yaygın kullanılan beyaz pigment olan TiO₂ çok beyaz olup, çok yüksek bir refraktif indekse (n=2,4) sahiptir. Sahip olduğu yüksek refraktif indeks ve parlak beyazlıktan dolayı, pigmentler için etkili bir opaklaştırıcı olmaktadır. TiO₂’in önemli bir diğer avantajı da; UV ışık altında renginin solmamasıdır. TiO₂, foto-voltaik zarlara için bir fotosensitizer olarak rol oynamakta ve foto elektrolizlerde bir elektrot kaplayıcı olarak kullanıldığında, suyun hidrojen ve oksijene elektrolitik ayrılmasının etkililiğini artırmaktadır (Anonim-3, 2017).

UV ışık altında fotokatalizör olarak davranabilen TiO_2 'in anataz formu, pozitif band aralığı ile güçlü yükseltgeyici potansiyele sahiptir. Suyu oksitleyerek hidroksil radikalini oluşturur ve direkt olarak organik maddeyi oksitleyebilir.

TiO_2 'in Anataz formunun kristal yapısı tetragonaldir (Şekil 2.1). Anataz formu, rutil formuyla karşılaştırıldığında, kristallerinin dikey eksenini rutilden daha uzundur ve fiziksel özellikleri bakımından çok sert ve yoğun bir yapıya sahip değildir. TiO_2 'in anataz formu optik olarak negatif olup, rutil formu optik olarak pozitifdir ve fotokatalitik etkinliği yüksektir (Anonim-3, 2017).



Şekil 2.1. TiO_2 'in anataz formunun kristal yapısı (Anonim-3, 2017)

Ancak, mükemmel fotokatalitik kabiliyete sahip olan, toksik olmayan, uzun süre stabil kalabilen ve ucuz temin edilebilen TiO_2 , sadece UV ışığını absorblayabilmektedir. Band aralığının 3,2 eV'lerden daha düşük seviyelere düşürülerek güneş ışığında fotokatalitik reaksiyona girebilme kabiliyetinin kazandırılmasıyla İOP (İleri Oksidasyon Prosesleri)'nin daha ekonomik ve efektif olarak gerçekleştirilebilmesi için TiO_2 'in uygun geçiş metalleri ile yada başka elementler yardımıyla doplanması, son yıllarda oldukça tercih edilen bir yöntemdir. TiO_2 'in spektral performansını arttırmak ve görünür ışığı daha efektif olarak absorblayarak oksidasyon gücünü kuvvetlendirmek için literatürde çeşitli doplama yöntemleri uygulanmıştır. Bu yöntemler içinde,

evsel atıksu arıtımında biyolojik olarak parçalanamayan antibiyotik kalıntılarının üçüncül arıtma kademesinde gideriminde NFC-doplu TiO₂ fotokatalistinin efektif olduğu bilimsel olarak da ortaya konulmuştur.

Yeni nesil kirleticiler olarak ele alınan ayrışmaya dirençli kirleticiler, geleneksel aktif çamur sistemlerinde giderilemedikleri gibi bu sistemleri inhibe etmektedirler. Bu nedenle, antibiyotik giderimi için son yıllarda yapılan araştırmalar fotokatalitik arıtım proseslerine odaklanmış ve bu prosese en uygun yarı iletkenin de TiO₂ olduğu belirlenmiştir. TiO₂, heterojen ileri oksidasyon proseslerinin inatçı, foto-stabil organik kirleticilerin atıksulardan giderilmesinde en yaygın olarak kullanılan fotokatalistidir. Bu yönde literatürde yapılan çalışmalar, son yıllarda evsel atıksuların arıtılmasında özellikle inatçı giderilemeyen maddelerin ön arıtımında heterojen fotokatalist olarak TiO₂ esaslı ileri oksidasyon proseslerinin oldukça yaygın olarak kullanıldığını ortaya koymaktadır.

2.2. Yeni Nesil Sekanslama ve Metagenomik

Mikrobiyal topluluklar belli bir yer ve zamanda bulunan mikroorganizma gruplarını tanımlar. Mikrobiyal çeşitliliğin çok fazla olduğu ve bu topluluklardaki mikroorganizmaların büyük çoğunluğunun (yaklaşık %99) kolaylıkla kültürlenemediği ve bu nedenle de geleneksel yöntemlerle belirlenemediği kabul edilmektedir (Streit vd., 2004). Son birkaç on yıl boyunca kültürden bağımsız yöntemler, örneğin dentatüre edici jel elektroforezi, kantitatif gerçek zamanlı PCR, terminal restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi gibi yöntemler kullanılarak tek tek organizmalar ve çevresel topluluklar üzerine çalışmalar yapılmıştır ancak bu teknikler meşakkatli olmakla beraber karmaşık mikroorganizma toplulukları hakkında yeterli bilgi verememektedir (Escobar-Zepeda vd., 2015). Bir kova deniz suyu ya da bağırsaktaki bakteri toplulukları gibi oldukça çok sayıda ve bilinmeyen mikroorganizma içeren örnekleri incelemek için bu toplulukta bulunan tüm genomları inceleme yaklaşımına metagenomik denmektedir. Metagenomiğin son yıllarda mikrobiyal ekoloji için en önemli araştırma alanlarından biri olduğu görülmüştür. Günümüzde metagenomik çalışmalarının kaynağı yeni nesil sekanslama yöntemidir. Metagenomda yer alana her şeyi hızlıca sekanslayarak mikrobiyal toplulukların fonksiyonel durumu ve kapsamlı bir profili elde edilebilir. Su ve toprak gibi çevresel örneklerdeki bakterileri tek tek laboratuvarında kültürleyerek çalışmaktansa bu örneklerden elde edilen total DNA üzerinde

çalışarak içindeki mikroorganizma toplulukları günümüzde metagenomik yaklaşımlarla hızlıca elde edilebilmektedir. Ancak tek bir genomdan elde edilen veri ile kıyaslandığında metagenomik verisi çok daha karmaşıktır.

Yeni nesil sekanslama teknolojilerinin ürettikleri veri bakımından düşük maliyetli oldukları söylenebilir. Günümüzde en yüksek elde ve en düşük fiyat ile Illumina teknolojileri metagenomik çalışmalarda en popüler teknolojilerden biri durumuna gelmiştir. Illumina kimyasının temeli floresan etiketli nükleotid senteziyle tersinir-sonlandırma sekanslamasıdır (Şekil 2.2).

Yöntemin ilk aşamasında çevresel örneklerden total DNA izole edilmesi gerekmektedir. DNA izolasyonu için piyasada toprak, su ve dışkı örnekleri gibi farklı örneklerden DNA izolasyonu için optimize edilmiş bir çok kit bulunmaktadır. Çalışmanın amacına ve çevresel örneklerin doğasına uygun olan kit seçilerek DNA izolasyonu yapılmaktadır. İzolasyon sonunda DNA konsantrasyonu manuel yöntemler kullanılarak da denenebilir, ancak bu yöntem hem uzun sürmektedir, hem bir çok kimyasal ve malzeme ihtiyacı doğurmaktadır. Ayrıca elde edilen DNA'ların saflığı kit ile izole edilenlerden genellikle daha kötü olmaktadır. Bu nedenle kitler daha çok tercih edilmektedir. Elde edilen DNA'lar ile daha sonra bir kütüphane oluşturulmaktadır. Bu aşamada DNA'lar enzimatik olarak rastgele fragmente edilirken 5' ya da 3' uçlarına sekans adaptörlerinin eklenmesiyle etiketlenmektedir. Bir sonraki aşamada kümelerin oluşumu için kütüphaneyi oluşturan fragmanlar bir yüzeye tutturulmuş kütüphane adaptörlerini tamamlayıcı oligoların olduğu bir akış hücrelerine yüklenirler. Daha sonra her fragman köprü amplifikasyonu ile ayrı ayrı klon kümeleri oluşturacak şekilde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılmaktadır.

İzole edilen DNA'ların konsantrasyonları $\mu\text{Drop}^{\text{TM}}$ Plate (Thermo Scientific) ile belirlenmiştir. Bunun için $2\mu\text{L}$ DNA örneği seyreltilmeden kullanılmıştır. Nükleik asitlerin maksimum absorbans değeri 260 nm olduğu için DNA'lar spektrofotometrik olarak 260 nm 'de ölçülmüş ve konsantrasyonları Lambert-Beer Kanununa göre belirlenmektedir:

$$\text{DNA konsantrasyonu } (\mu\text{g/ml}) = \text{Abs}_{260} \times 50 \mu\text{g/ml} \times (10\text{ mm}/0.5\text{ mm}) \quad (2.1)$$

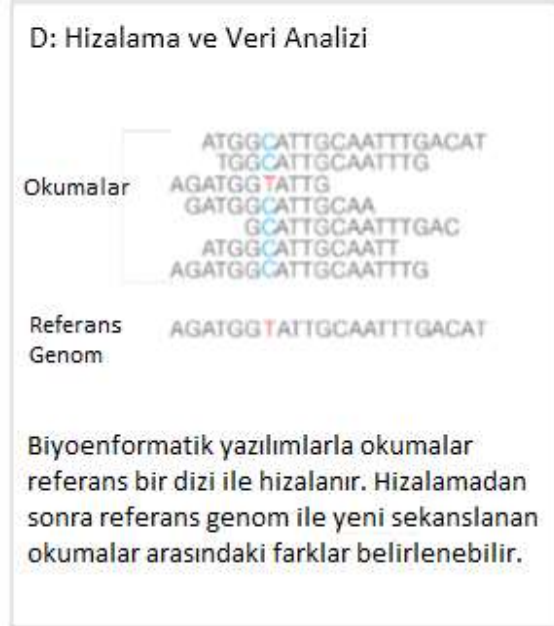
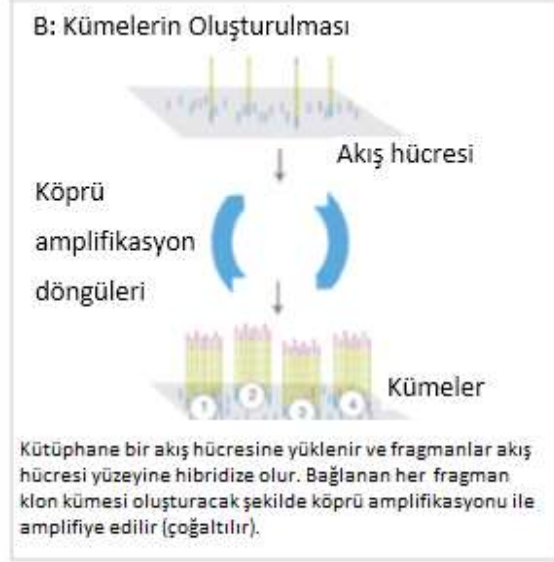
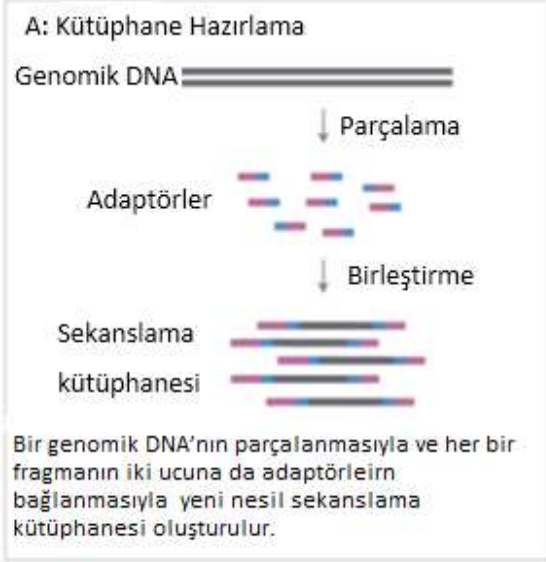
$\mu\text{Drop}^{\text{TM}}$ Plate'in optik ışık yolu 0.5 mm , ve çift zincirli DNA'nın ortalama ekstinksiyon katsayısı $0.020 (\mu\text{g/ml})\text{-}1\text{ cm}^{-1}$ 'dir, yani 260 nm 'de 1.0 absorbansta $50\text{ }\mu\text{g/ml}$ DNA vardır. Bunun yanında proteinlerin varlığı 280 nm 'de belirlenir ve nükleik asit örneklerinde $260/280$ oranı izole

edilen nükleik asitlerin saflığını gösterir. Bu değerin 1.8-2.0 arasında olması izole edilen nükleik asitlerde protein kontaminasyonu olmadığını gösterir (Scientific, T.F., 2011).

Kümelerin oluşumu tamamlandığında sekanslamaya geçilir. Tersinir-sonlandırma sekanslaması ile her bir yeni nükleotid eklenince floresan molekülü lazer ile uyarılır ve oluşan sinyal cihaz tarafından kaydedilir. Sonrasında floresan molekülü ayrılır ve yeni nükleotid eklenir. Tüm bu işlemlerin yapıldığı cihazda bir veri raporu çıkarılır daha sonra veri analizi aşamasında ileri analizlerle verinin biyolojik içeriği yorumlanır (Illumina: MiSeq™ System, 2011).

Bu yöntem çıktıları yeni nesil sekanslama teknolojileri arasında en yüksek olanıdır ve bu nedenle de yüzlerce örneğin çoğullanması için kullanılabilir. DNA fragmanları tek yönlü ya da çift yönlü olarak sekanslanabilir ve her okumada en fazla 300 baz çifti okunabilir (Bennett, 2014). Illumina teknolojisi ile çşılan cihazların arasında da MiSeq mümkün olan en yüksek okuma uzunluğunu vermektedir (Glenn, 2016).

Metagenomik çalışmaları, insan mikrobiyotasının belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bunun yanında, toprak, su örnekleri, aktif çamur, ağız veya dışkı gibi mikrobiyal çeşitliliğin çok olduğu örneklerde de sıklıkla kullanılmaktadır. Illumina MiSeq yöntemi ile çevre alanında yapılmış bir çok çalışma mevcuttur. Yakın zamanlı bir çalışmada atıksu arıtma tesisinin aktif çamurunun bakteri topluluğunda antibiyotik direnç genleri incelenmiştir (Zhang vd., 2019). Başka bir çalışmada katyonik polyakrilamitin aktif çamur bakterilerinin çeşitliliği üzerine etkileri yine aynı yöntemle incelenmiştir (Liu vd., 2019). Pekin’de bulunan belediyeye ait atıksu arıtma tesisinin iç ve dış ortamdaki bölümlerinden alınan örneklerde hava yoluyla hastalık yapan bakteriler yine bu yöntemle belirlenmiştir (Xu vd., 2018). Bu ve benzer örneklerde olduğu gibi çevresel mikrobiyal topluluklarının üyelerini belirlemede DNAlardaki spesifik bölgeler, taksonomik bilgi veren primer hedefleri ile çoğaltılır. Bakteri ve arkealar için bu hedef 16s rRNA genleridir ve bu genler bu organizmalar için spesifik marker genlerdir. 16s rRNA ribozomon integral bir parçası olarak sabit bir hızda evrilir ve bu nedenle filogenetik bir saat gibi davranır; yüksek oranda korunmuş bölgeleri olduğu gibi V1’den V9’a adlandırılan hiperdeğişken bölgeleri de vardır. Bu bölgeler hem evrensel primerler kullanılarak amplifikasyonda hem de organizmaları birbirinden ayırt etmede kullanılır (Janda vd., 2007).



Şekil 2.2. Illumina yeni nesil sekanslama aşamaları: a-) Kütüphane oluşturma, b-) Kümelerin oluşturulması, c-) Sekanslama, d-) Hizalama ve veri analizi (Illumina, 2011)

Yeni nesil sekanslama verisi elde edilince ilk yapılması gereken ham verinin ön işlemden geçirilmesidir. Buna kalite kontrol de denir. Bu aşamada düşük kalitedeki ve hata içerebilecek

okumalar, sekans adaptörü, amplifikasyon primerleri bilgileri veriden uzaklaştırılır. Hatasız okumalar elde edilince 3 adımdan oluşan asıl analize geçilir. İlk adımda operasyonel taksonomik uniteler (OTU) kümelenir. İkinci adımda taksonomik klasifikasyon yapılır ve son adımda istatistiksel değerlendirmeler ile tür zenginliği ve tür farklılığı analizine geçilir. Her bir adım için geliştirilen bir çok yazılım mevcuttur ve uygun olanlar seçilerek kullanılır (Escobar-Zepeda vd., 2015, Jünemann vd., 2017). QIIME yazılımı ham veriden mikrobiyom analizi yapmak için kullanılabilir. Bunun dışında Mothur yazılımı, ve SILVAngs yazılımı da sıklıkla kullanılan yazılımlardandır (Caporaso vd., 2010, Pruesse vd., 2017).

Tür zenginliği, belli bir bölgedeki tür sayısını gösterir. Metagenom verisine uygulanabilecek diğer bir kavram da Simpson tarafından ortaya konan tür eşitliği kavramı (evenness) ya da ayrımsal zenginlik (differential abundance) kavramlarıdır. Tür eşitliği kavramı bazı türlerin daha az dominant olduğu ya da birçok türün daha az rastlanan türler olduğu topluluklardaki eşitsiz temsilini ölçmeye çalışır. Topluluktan rastgele seçilen iki bağımsız bireyi aynı tür içine koyma olasılığına dayanan Simpson (D) endeksi (Simpson, 1949) ya da örnekteki tür sayısının artmasına bağlı olarak entropi ölçülmesine dayanan Shannon-Weaver H' (Shannon, 1948) endeksi tür zenginliğini tahmin etmede kullanılabilir.

Bu tür analizlerle birlikte DNA'nın izole edildiği örneğin o anki durumu ve içerdiği mikrobiyal toplulukların durumu belirlenebilir. Bu konu gelişmeye çok açık olmakla beraber analizler için gün geçtikçe yeni biyoenformatik yazılımlar geliştirilmektedir.

2.3. Biyolojik Arıtma Sistemlerinde Aktif Çamur İnhibisyonu

Aktif çamur biyokütlesi, dengede, sistemi belirli sınırlar içinde çalıştırmak için esneklik sağlayan heterojen karmaşık bir topluluktur. Ancak, biyolojik olarak ayrışması güç ve inhibitör özellikli bileşikler, bu sistemi negatif yönde etkilerler ve arıtma veriminin düşmesine ve hatta sistemin çökmesine neden olurlar (Gutiérrez vd., 2002).

Tespit edilen bu bileşiklerin inhibisyon etkisini tanımlamak için, kısa dönem (akut) ve uzun dönem (kronik) testler olmak üzere 2 farklı deneysel yaklaşım yaygın olarak kullanılmaktadır. Kısa dönem deneylerde, seçilen inhibitör bileşiğe daha önce maruz kalmamış biyokütle, substrat tüketim hızı, oksijen tüketim/solunum hızı, mikrobiyal büyüme hızı, enzimatik aktivite, bakteriyel ışıma,

metabolik ısı üretimi ve biyogaz üretim hızı gibi inhibisyon etkilerini ölçmek için indikatör olarak kullanılır. Akut testler, noktasal kaynaklardan zaman zaman gelen inhibitör pulslarına biyokütlenin cevabını değerlendirmek için bir temel oluşturmaktadır. Kronik etki daha önce seçili bileşiğe maruz kalmış (aklime olmuş) mikrobiyal topluluğa etki eden inhibisyon türünü ifade etmektedir. Kronik testler, sürekli inhibitör bileşiğe maruz bırakan atık sulardan substrat uzaklaştırılmasına yönelik sistemlerdeki olumsuz etkilerin değerlendirilmesini sağlamaktadır. Bu nedenle, iki testin sonuçları hedeflenen etkinin daha iyi görselleştirilmesi için birbirlerini tamamlamaktadır.

İnhibitörün yarattığı rekabetli ve rekabetsiz inhibisyon birbirinden farklıdır. Rekabetli inhibisyonda inhibitör enzimin aktif bölgesine substratla yarışarak bağlanmaktadır. İnhibitör molekülünün yapısı substratinkine benzediğinden dolayı enzim ile inhibitör kolaylıkla bağlanmakta ancak ürün oluşmamaktadır. Bu tip inhibitörler, enzime asıl substratın bağlanmasını engelleyen maddelerdir. Ortamda substrat moleküllerinin arttırılmasıyla enzimin inhibitöre olan ilgisi azalmakta ve inhibisyon ortadan kalkmaktadır. Rekabetsiz inhibisyonda ise, substratla yapısal benzerliği olmayan inhibitör, substratla aynı bölgeye bağlanmamaktadır. İnhibitör, enzim substrat kompleksine bağlanarak substratın mikroorganizmalar tarafından kullanılmasına engel olmaktadır. Substrat konsantrasyonu arttırılarak inhibisyon ortadan kaldırılamamaktadır.

Aerobik mikroorganizmalar için en iyi bilinen inhibisyon testleri respirometrik yaklaşımı esas almaktadır (Ricco vd., 2004). Respirometrik test, aktif çamur mikroorganizmaları üzerinde seçilen bileşiklerin inhibitör etkisi ve/veya toksik seviyesinin değerlendirilmesi için kabul görmüş efektif bir metottur. Organizmalar için OTH, proste tüketilen oksijen hızını göstermektedir. Respirometre cihazı, inhibisyonun direk olarak ilgili olduğu substrat kullanımı ve biyokütle üretimi ile ilgili olan OTH parametresi ölçümüne olanak tanımaktadır. OTH, kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) fraksiyonlarını ve önemli biyokimyasal reaksiyonların stokiyometri ve kinetiklerini değerlendirmek için yorumlanabilmektedir.

Diğer yandan, günümüzde aktif çamur sistemlerinde toksisite ve inhibisyon konusunda pek çok araştırma yapılmaktadır. Bu araştırmalar inhibisyonun numerik olarak birbirleriyle kıyaslanabilir şekilde belirlenebilmesi için geliştirilen yöntemlerdir. Pratikte en çok uygulanan yöntemler sayısal limitleri belirlemek üzere yürütülen deneysel çalışmalara ve gözlemlere dayanmaktadır (Lewandowski vd., 1985; Stasinakis vd., 2002). Bu tür yöntemler kalite kriterlerini

oluştururken oldukça yararlı olmakla birlikte, genellikle aktif çamur sistemlerinin işletildiği koşullardan çok farklı şartlar altında yürütüldüğünden yalnızca ham göstergeler olarak kullanılabilir. Bu bakımdan, inhibisyonun fiziksel ve matematiksel olarak, basit parametreler kullanılarak, aktif çamur sistemlerinin proses hızları ve kütle dengesi ifadelerine dayalı olarak tanımlanması gerekmektedir. Bu şekilde inhibisyon etkisi günümüzde kullanılan aktif çamur modellerine (Aktif Çamur Modeli 1, ASM1 ve Aktif Çamur Modeli 3, ASM3), kinetik ve stokiyometrik katsayılar kullanılarak dahil edilebilmektedir. Modeldeki sabitler (μ_{Hmax} , K_s , b_H , Y_H , k_h , K_x , f_{ES} and f_{EX}), atıksudan organik karbon gideriminde aktif çamurun davranışının modellenmesi ve değerlendirilmesi için en uygun değerlere sahip olmak zorundadır. Y_H ve b_H katsayıları respirometrik ölçümlerden elde edilen OTH değerleri ile tanımlanırken, K_s , K_h ve K gibi sabitler ise sadece deneysel olarak bulunan OTH profillerinin eğriye uydurulmasıyla hesaplanabilmektedir. Bunun yanında, büyüme prosesine ilişkin sabitler (μ_{Hmax} , K_s) biyolojik olarak ayrışabilen KOİ ile direkt ilişkilendirilerek tanımlanmasına rağmen, aktif çamur davranışını tanımlamak için son yıllarda kabul gören modellere göre; çoğunlukla yavaş ayrışan KOİ'nin hidrolizine bağlı olan ve sadece KOİ giderim verimi açısından organik karbon giderimine yönelik işletilen sistemler için bu prosesin çok önemli olmadığı anlaşılmıştır (Yıldız Töre vd., 2011). Dolayısıyla tüm bu hususlar dikkate alınarak bu amaca yönelik olarak geliştirilen respirometrik deneysel yöntemlerle organik madde gideriminin modellenmesi, kesin ve tutarlı sonuçlar üreterek proses kinetiğinin anlaşılması için yaygın olarak kullanılabilir. Günümüzde respirometrik teknikler biyokimyasal proses kinetiğinin anlaşılması için yaygın olarak kullanım alanı bulmuş, inhibisyon etkisinin en iyi şekilde ortaya konmasında kullanılan teknikler olarak ön plana çıkmıştır (Ellis vd., 1996; Guissesola vd., 2003). Kullanılan eğri uydurma (curve-fitting) teknikleri ile gerçekleştirilen simülasyonlar sonucu proses kinetiği anlaşılabilir (çoğalma, sübstrat depolama vb.), model parametrelerinin kıyaslanabileceği sonuçlar ortaya konabilmektedir.

İnhibisyon genellikle çoğalma mekanizması üzerindeki etkileri itibarıyla tanımlanmaktadır. Bu bakımdan çoğalma davranışının en iyi şekilde gözlenebildiği ve modelleme yoluyla sayısallaştırılabildiği teknik olan Oksijen Tüketim Hızı (OTH) ölçümü (Respirometri), inhibisyonun belirlenmesi için kullanılabilir en etkili araç olarak belirlenmiştir (Albek vd., 1997; Kelly vd., 1997). İnhibisyon modelleri genellikle enzim kinetiğinden yola çıkarak belirlenmiş modellerdir (Orhon ve Artan, 1994).

İnhibisyon etkilerini OTH ölçümleri ile belirleyen ve standart bir yöntem olarak kabul görmüş olan ISO 8192 metodu (1995), bu amaçla kullanılabilir yöntemlerden biridir. Bu metod farklı inhibitör konsantrasyonları eklenmiş kesikli deney sistemlerinde ölçülen OTH değerlerinin, inhibitör eklenmemiş kontrol reaktöründe elde edilen respirasyon davranışı ile karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Bu karşılaştırma sonucu aşağıda verilen formülasyon kullanılarak yapılan hesaplamalar ile respirasyonun %50'sini engelleyen (inhibe eden) inhibitör konsantrasyonu EC50 değeri olarak rapor edilmektedir;

$$EC_{50} = \frac{OTH_{kontrol} - OTH_{inhibisyon}}{OTH_{kontrol}} \times 100 = \%50 \quad (2.2)$$

ISO 8192 prosedürü ile EC50 değerinin belirlenmesi için OTH ölçümü yapılması önerilen süreler kesikli deneylerin başlangıcından sonraki 30 ve 180. dakikalardır. Ancak farklı biyokimyasal mekanizmaların olduğu sistemlerde, inhibisyon etkilerinin belirlenmesi için verilen bu süreler her zaman doğru zamanlamayı yansıtamamaktadır. Bu yüzden OTH ölçümlerinin belirli zamanlarda alınan numuneler üzerinde gerçekleştirilmesi yerine, sürekli olarak OTH ölçümünün yapılacağı respirometrik deney düzeneklerinin bilimsel olarak daha doğru sonuçlar verdiği ortaya konmuştur (İnsel vd., 2006). Farklı deney koşullarında elde edilen OTH profilleri, özellikle inhibisyon etkisi altında farklılık gösterdiğinden değerlendirmelerin tüm OTH profilinin modellenmesi ve simülasyonu ile yapılması gerektiği ve farklı zamanlarda (30 ve 180. dakikalar) ölçülen OTH değerlerinin kullanılmasındansa kümülatif oksijen tüketim miktarlarının kullanılmasını daha güvenilir sonuçlar verdiği ortaya konmuştur (Çokgör Ubay vd., 2007).

İnhibisyon etkisi, OTH profillerinin modellenmesiyle proses hızları ve OTH profilleri ile bir korelasyon kurulmak suretiyle belirlenebilmektedir. Bu kapsamda uygulanan yaklaşım, farklı koşullar altında yürütülecek olan respirometrik deneylerin modelleme sonuçları kullanılarak proses hızlarının inhibisyon katsayıları kullanılarak modifiye edilmesi sonucu elde edilecek inhibisyon kinetiğine ait kinetik ve stokiometrik katsayıların belirlenmesi yönünde olmaktadır. Örneğin non-kompetitif inhibisyon için heterotrofik biyokütle çoğalma hızı ifadesi $KI/(I+KI)$ şeklinde ifade edilen inhibisyon teriminin eklenmesi ile aşağıda verildiği gibi modifiye edilmelidir. Bu ifade, inhibitör konsantrasyonu (I) ve proses hızında %50 oranda azalmaya sebep olacak inhibisyon katsayısına (KI) bağlı olarak elde edilen bir ifadedir;

$$\frac{dX_H}{dt} = \hat{\mu}_H \frac{S_S}{K_S + S_S} \frac{K_I}{I + K_I} X_H \quad (2.3)$$

2.3.1. Mevcut konvansiyonel sistemde giderilemeyen mikrokirleticiler ve bunların gideriminde kullanılan fotokatalistler

Farmasötikler ve kişisel bakım ürünleri, endokrin bozucu bileşikler, ateş düşürücüler, pestisitler ve yapay tatlandırıcılar gibi maddeler ve bunların metabolitlerinin doğaya karışması çevre ve insan sağlığını büyük ölçüde tehdit etmektedir. Bu maddelerin artımında, konvansiyonel aktif çamur sistemleri verimli bir şekilde çalışmamakta ve aynı zamanda bu mikrokirleticiler, aktif çamur mikroorganizmalarını da inhibe ederek mevcut arıtma veriminin düşmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte bozunma ara ürünleri, konvansiyonel sistemlerde giderimi büyük bir zorluk olmaya devam eden orijinal bileşiklerden daha toksiktir. Atıksu arıtma tesisleri direk olarak sucul ortamlara deşarj yaptığından mikrokirleticiler sucuk ortamda ng/L konsantrasyonlarından mg/L konsantrasyonlarına kadar bulunabilmektedirler. Yukarıda bahsedilen ve konvansiyonel arıtma sistemleri ile giderilemeyen, sucul ortam ve çevre için oldukça zararlı olan bileşikler Salimi ve arkadaşları tarafından 2017 yılında Çizelge 2.1'deki gibi listelenmiştir.

Çizelge 2.1. Kişisel bakım ve kozmetik ürünleri, endokrin bozucu kimyasallar, alev geciktiriciler, pestisitler ve yapay tatlandırıcılar gibi hedef mikrokirleticilerin sınıflandırması (Salimi vd., 2017)

| Sınıflar | Kullanım | Örnekler |
|--|--|---|
| İlaçlar ve Kişisel Bakım Ürünleri | | |
| Analjezikler | Ağrı kesici | Asetaminofen ve asetilsalisilik asit |
| Antiepileptik ilaçlar | Antikonvülzan | Karbamazepin ve primidon |
| Antihiperlipidemikler | Lipid düzenleyiciler | Gemfibrozil, klofibrilik asit ve fenofibrilik asit |
| Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar | Antiinflamatuvar | Diklofenak, ibuprofen, ketoprofen, ve naproksen |
| Sentetik hormonlar | Hormon | Östron, 17a-östradiol, 17a-etinilöstradiol, östriol |
| Antimikrobiyaller | Antibiyotik | Eritromisin, sulfametoksazol ve tetrasiklin |
| | Antiseptik | Triklosan, bifenilol ve klorofen |
| Polisiklik miskler | Kokular | Heksa hidroheksametil siklopentabenzopiran |
| Diğer | Böcek uzaklaştırıcı | DEET |
| | Kokular | Asetofenon |
| | Uyarıcılar | Kafein |
| Endokrin Bozucu Kimyasallar | | |
| Steroidler | Doğal insan östrojeni | 17b-östradiol |
| | Metabolit | Östron |
| Alkilfenoller | Evsel ve endüstriyel ürünlerin imalatı | Nonilfenol ve oktilfenol |
| Polyaromatik bileşikler | | Poliklorlu bifeniller ve bromlu alev geciktiriciler |

Çizelge 2.1. Kişisel bakım ve kozmetik ürünleri, endokrin bozucu kimyasallar, alev geciktiriciler, pestisitler ve yapay tatlandırıcılar gibi hedef mikrokirleticilerin sınıflandırması (Salimi vd., 2017) (Devam)

| | | |
|--|---|--|
| Organik oksijen bileşikleri | Plastikleştiriciler | Ftalatlar |
| | Polikarbonatların ve epoksi reçinelerinin endüstriyel üretimi | BPA |
| Pestisitler | İnsektisitler, herbisitler, fungusitler | Atrazin, klordan ve trifluralin |
| Diğerleri | Çeşitli endüstriyel işlemlerin ve yanma işlemlerinin ürünleri | Dioksinler ve furanlar |
| Alev Geciktiriciler | | |
| Halojenli alev geciktiriciler (flor, klor, brom veya iyot) | Alev geciktiriler | Bromlu bisfenoller ve fenoller |
| Fosfor esaslı alev geciktiriciler | Alev geciktiriler | Kırmızı fosfor ve inorganik fosfatlar |
| Melamin alev geciktiriciler | Alev geciktiriler | Melamin siyanürat |
| İnorganik hidroksit alev geciktiriciler | Alev geciktiriler | Alüminyum hidroksit ve magnezyum hidroksit |
| Borat alev geciktiriciler | Alev geciktiriler | Sodyum borat ve borik asit |
| Silikon alev geciktiriciler | Alev geciktiriler | Antimonlu halojenler ve azotlu fosfor |
| Sinerji | Alev geciktiriler | |
| Pestisitler | | |
| Karbamatlar | Herbisitler, insektisitler, fungusitler | Karbendazim, benomil ve karbaril |

Çizelge 2.1. Kişisel bakım ve kozmetik ürünleri, endokrin bozucu kimyasallar, alev geciktiriciler, pestisitler ve yapay tatlandırıcılar gibi hedef mikrokirleticilerin sınıflandırması (Salimi vd., 2017) (Devam)

| | | |
|------------------------------|------------------------------------|---|
| Kloroasetanilidler | Çıkış öncesi uygulanan herbisitler | Metolaklor ve alaklor |
| Klorofenoksi asitleri | Herbisitler | Bentazon ve triklopir |
| Organoklorlar | İnsektisitler | DDT, dieldrin, endrin ve endosülfan |
| Organofosfatlar | İnsektisitler | Diazinon, malatyon ve klorpirifos |
| Piretroidler | İnsektisitler | Bifenthrin, sipermetrin ve esfenvalerat |
| Triazinler | Herbisitler | Atrazin, siyanazin ve simazin |
| Diğer pestisitler | | Fenilüre herbisit izoproturon ve mecoprop |
| Yapay Tatlandırıcılar | | |
| Yapay tatlandırıcılar | Şeker ikameleri | Asesülfam |
| | | Sukraloz |
| | | Sakarın |
| | | Siklamat |
| | | Aspartam |
| | | Neotam |
| | | Neohesperidin dihidrokalkon |

Son yıllarda sucul ortamlarda mikrokirletici olarak özellikle antibiyotikler üzerinde yoğun araştırmalar yürütülmektedir. Çünkü bu maddelerin düşük konsantrasyonlarda bile oldukça tehlikeli olduğu daha önce yapılan birçok çalışmada ortaya konmakla beraber dünyada en çok kullanılan ilaç grubudur. Bu maddeler ilaç endüstrisinin başlıca ürünleridir ve insan/hayvan tedavisinde sıklıkla kullanılmalarının yanı sıra, su ürünleri yetiştiriciliğinde, çiftlik hayvancılığında ve kümes hayvancılığında kullanılmaktadırlar. Bu maddelerin en tehlikeli yanı ise ekosistemde baskın mikroorganizma türlerinin oluşmasına yol açarak ekosistem dengesini bozması ve

mikroorganizmaların antibiyotiklere maruz kaldıkça onlara karşı direnç geliştirmesidir. Antibiyotikler, vücuda alındıktan sonra çok az bir bölümü metabolize edilir ve büyük bir bölümü kanalizasyon şebekeleri yolu ile evsel atık su arıtma tesislerine giriş yapmaktadırlar. Mikroorganizmanın hücre duvarını bozmak, protein sentezini bozmak veya mikroorganizmanın ihtiyaç duyduğu maddeleri yok etmek antibiyotiklerin etki mekanizmaları arasındadır. Antibiyotiklerin etki mekanizmasını anlamak oldukça önemlidir çünkü geleneksel evsel atık su arıtma tesislerinin verimi yüksek oranda biyolojik arıtma prosesi ile ilişkilidir ve antibiyotiklerin biyolojik arıtma proseslerine özellikle insan metabolitleri halinde girerek mikroorganizma topluluklarından oluşan aktif çamuru inhibe etmesi arıtma verimini düşürmektedir.

Antibiyotik inhibisyonu ile ilgili Kor-Bicakci ve arkadaşlarının 2016 yılında biyolojik olarak ayrışması zor nanopartiküllerden biri olan Sülfometoksozal (SMX) antibiyotiği üzerine yaptıkları çalışmada, doldur-boşalt kesikli bir reaktörde respirometrik datalarla modellenen akut etki 25-200 mg/L aralığındaki dozajlarla tespit edilmeye çalışılmıştır. Kronik etki ise 50 mg/L dozunda 20 gün olarak belirlenmiştir. Buna göre akut etki daha yüksek bakım enerjisi gereksinimlerini, aktivite azaltmasını ve hafif substrat bağlanmasını ortaya çıkarmıştır. Kronik etki ise; substrat depolamanın gecikmesine neden olmuştur. Bu süreçte rol oynayan mikrobiyal türler ise ön sekanslama işlemi sonucunda, *Amaricoccus* sp. ve sınıflandırılmamış *Bacteroidetes* sp., olarak belirlenmiştir. Ayrıca yüksek içsel solunum hızı (yani yüksek çamur yaşı) SMX'in temel akut etkisinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, SMX'e kronik maruziyetin kısmi inaktivasyona ve büyüme kinetiğinin hafif bir inhibisyonuna neden olduğu tespit edilmiştir. Son olarak, bu çalışmada SMX'i ko-metabolize etme yeteneğine sahip dirençli türlerin mikrobiyal toplulukta gözlemlenen değişiklikler için birincil göstergeler olduğu tespit edilmiştir (Kor-Bicakci vd., 2016). Bu kapsamda, konvansiyonel yöntemlerle arıtılamayan antibiyotik içerikli atıksuların gideriminde ileri oksidasyon proseslerinin önem kazandığı ortaya çıkmıştır. Bunlara ek olarak, 2012 yılında Gao ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, yine konvansiyonel arıtma sistemlerinde biyolojik olarak giderimi oldukça zor olan ve nanopartiküler yapıli fotokatalistlerle fotokatalitik arıtımına yönelik yoğun araştırmaların üzerinde yürütüldüğü antibiyotiklerin, insanlar yada hayvanlar tarafından kullanıldıktan sonra sadece %25-30'unun metabolize olduğu ve %60 ile %75 inin kendi etken maddeleri olarak değişmeden ya da metabolitleri şeklinde vücuttan atılarak atıksuya karıştıkları tespit edilmiştir (Gao vd., 2012).

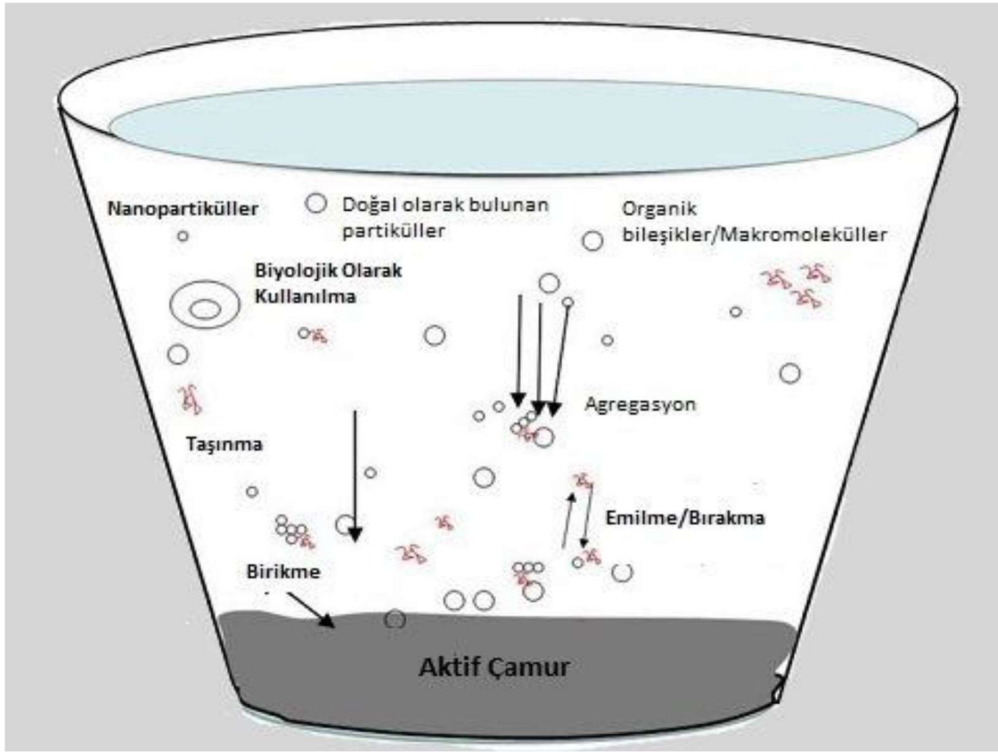
Araştırmacılar son dönemde mikrokirleticilerin giderimine yönelik çalışmalarda ileri arıtım prosesleri üzerinde daha çok durmaktadırlar. Bu proseslere örnek olarak, ileri oksidasyon prosesleri, ozonlama, fenton prosesleri, heterojen fotokatalitik prosesler, homojen fotokatalitik prosesler, membran prosesleri verilebilir. Literatürde, mikrokirletici gideriminde aktif karbon ve ters ozmoz membranları gibi arıtma teknolojilerinin üzerinde çok çalışılmasına karşın bu teknolojiler ile nihai verim elde edilememiştir. Bu nedenle yeni bir yaklaşım olan ileri oksidasyon prosesleri üzerine çalışmalar artmıştır çünkü ileri oksidasyon prosesleri, arıtma tesislerinde biyolojik degradasyon ve detoksifikasyonun arttırılması için en pratik teknolojiler arasında yer almaktadır. Bir ışık kaynağı olması ya da olmaması halinde, O₃, H₂O₂ gibi gülü oksidasyon elemanlarının ve/veya Fe, Mn, TiO₂ gibi katalizörlerin kullanıldığı proseslere ileri oksidasyon prosesleri adı verilir. İleri oksidasyon proseslerinde yarı iletken fotokatalizör olarak metal oksitler kullanılmaktadır çünkü metal oksitlerin valens bandlarının diğer yarı iletken maddelere kıyasla daha pozitifdir. Metal oksitlerin çoğu da yarı iletken özellik taşımaktadır. Yarı iletken metal oksitlere örnek olarak; Fe₂O₃, SrTiO₃, In₂O₃, K₄NbO₁₇, WO₃, V₂O₅, MoO₃, MoS₂, SiC ve ZnFe₂O₄ gösterilebilir. Bu durum yarı iletken metal oksitlerine kimyasal maddeleri oksitleyici özellik kazandırmaktadır. TiO₂'in fotokatalitik prosese en uygun ve aktif yarı iletken olduğu, yapılan pek çok bilimsel çalışmayla ortaya konulmuştur.

Bu kapsamda Ata ve arkadaşlarının 2019 yıllarında yaptığı bir alışmalardada, özel olarak hazırlanmış toz ve immobilize N-doplu ve NFC-doplu TiO₂ fotokatalistlerle Meriç Ergene Havzası'na deşarj edilen evsel ve endüstriyel atıksulardan antibiyotik kalıntıları ve renk kirliliğinin giderimine yönelik ileri arıtma prosesi incelenmiş ve giderim veriminin yüksek olduğu ortaya konmuştur (Ata ve Yıldız Tore, 2019; Ata R., 2018).

2.3.2. Metal esaslı nanopartiküler yapıdaki fotokatalistlerin aktif çamur üzerindeki inhibisyonu

Nanopartiküller farklı fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle alıcı ortamlarda farklı şekillerde davranabilmektedirler. şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, genellikle biyolojik olarak parçalanamayan inorganik kimyasallardan oluşan, yüksek yüzey alanına sahip olan nanopartiküllerin, alıcı ortamlarda biyolojik olarak bozunabilecekleri ve birikebilecekleri, diğer kirleticilerle birlikte taşınabilecekleri veya bünyelerine daha toksik kirleticileri bağlayarak onların

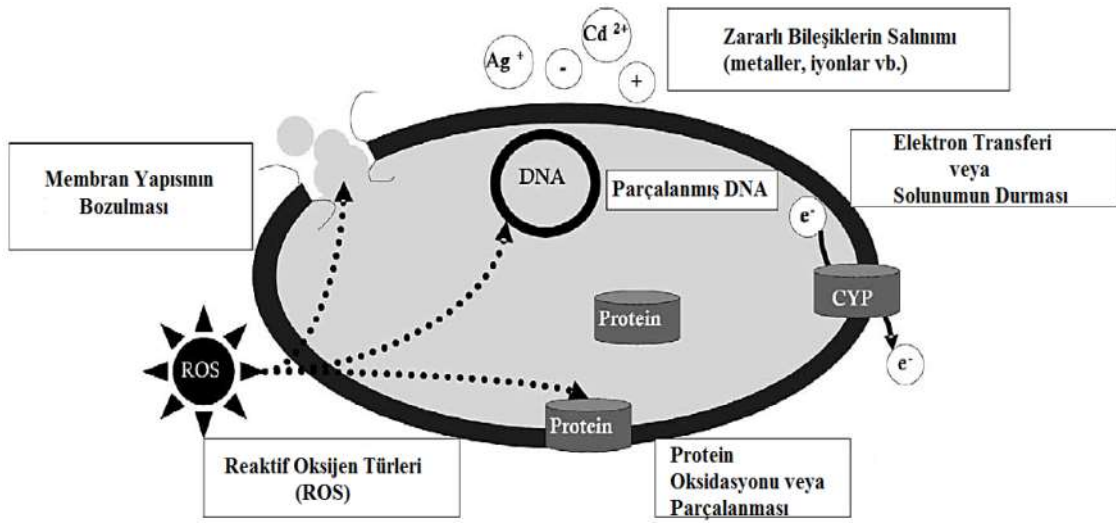
taşınımını artırabilecekleri, diğer kirleticilerle kimyasal ya da fiziksel reaksiyona girebilecekleri belirtilmektedir (Şekil 2.3). Yapılan bazı çalışmalar bazı nanopartikül türlerinin, su ortamındaki bakteriler tarafından kullanılabilirliğini ortaya koymuştur (Brar vd., 2010).



Şekil 2.3. Nano partiküllerin aktif çamur ortamındaki davranışları (Brar vd., 2010)

Su ve atıksu arıtımı yanında her geçen gün artan çeşitleri ve kullanım alanları nedeniyle nanopartiküllerin çevrede bulunma olasılıkları giderek artmakta ve ekosistem üzerindeki etkileri de endişe verici bir hal almaktadır (Klaine vd., 2008). Nanopartiküllerin üretimi, kullanımı ve çok iyi arıtılmadan su veya toprak gibi alıcı ortamlara verilmesi nanopartiküllerin doğaya karışmasına neden olmaktadır. Nanopartiküller kaçınılmaz olarak atık su arıtma tesislerine hem giriş atık suyu ile birlikte hem de arıtma prosesinin bir parçası olarak verilmektedir. Bu nedenle, nanopartiküllerin geleneksel aktif çamur sistemindeki davranışını hem inhibisyon hem de bu sistemlerde arıtma verimi direk olarak aktif çamur kompozisyonuna bağlı olduğundan mikrobiyal kültür üzerinde yarattığı değişiklik yönünden anlamak oldukça önemlidir.

Geleneksel organik kirleticilere kıyasla nanopartiküllerin biyodegradasyonunun oldukça zor olduğu belirtilmiştir (Bakheet vd., 2013). Birçok nanopartikül için toksisite mekanizması halen tam olarak bilinmese de, olası toksisite mekanizmaları, membran veya membran yapısının bozulması, protein oksidasyonu, genotoksisite, enerji iletimi kesintisi, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve toksik bileşenlerin serbest kalmasıdır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Nano partiküllerin bakteriler üzerindeki olası etkileri (Klaine vd., 2008)

Bu kapsamda, 2016 yılında Hou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, çok çeşitli kaynaklardan (katalist, kimyasal sensor, optik/katalitik bakteri uygulamaları, antibakteriyel ve yarı iletken olarak kullanımı, tıbbi ürünler vb.) gelen CuO nanopartikülünün ardışık kesikli bir biyofilm reaktörde N giderme verimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda 1-50 mg/L CuO nanopartikülünün kısa dönem maruziyetinin (8 saat) azot giderim verimi üzerinde ihmal edilebilir seviyede bir etkiye sahip olduğunu, 1 mg/L CuO nanopartikülüne uzun süreli maruziyetinin (45 gün) ise orta seviyede bir zarara yol açmasına karşın yenilenebilir olduğunu ortaya koymuştur. Diğer yandan 50 mg/L CuO nanopartikülüne uzun süreli maruziyetin ise azot giderim verimini yaklaşık %50 mertebelerinde düşürdüğünü belirtmişlerdir (Hou vd., 2016).

Başka bir çalışmada ise, ZnO nano partiküllerinin fosfor akümüle eden bakterilerce zengin aktif çamur üzerindeki etkisi akut ve kronik olarak, inhibisyon ve mikrobiyal kültür değişimi

yönünden değerlendirilmiştir. ZnO nano partiküllerinin arıtma verimini büyük ölçüde düşürdüğü görülmüştür. 6 mg/L'den yüksek konsantrasyonlarda mikrobiyal zenginlik ve çeşitlilik azalmış, *accumulibacter* ve *competibacter* inhibe olmuştur (Hu vd., 2017).

Atıksuyun fizikokimyasal karakteri, nanopartiküllerin aktif çamur mikroorganizmaları üzerindeki toksisitesine etki eder. Bu kapsamda 2016 yılında yapılan bir çalışmada, mikroorganizma topluluğu filtre edilmiş atıksu, sentetik atıksu ve ham atıksu olmak üzere üç farklı karakterde atıksu ile beslenerek TiO₂ NP'ünün aktif çamur üzerindeki toksisitesi karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme, TiO₂ NP'ünün agrega boyutu, spesifik KOİ ve dTOK adsorpsiyonu, mikroorganizma topluluğunun oksijen tüketim hızı, TiO₂ NP'ü ve mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler yorumlanarak yapılmıştır. Mikroorganizma topluluğu, aktif çamur pilot tesisinden alınmıştır ve deneylerde 2640 ± 330 mg UAKM/L konsantrasyonunda kullanılmıştır. Aktif çamur mikroorganizmaları, sentetik atıksu için bu substrat kaynağına 64 gün aklima edildikten sonra değerlendirilmiştir. Mikroorganizma topluluğu, sentetik, filtre edilmiş ve ham atıksu olmak üzere ayrı ayrı üç farklı atıksu ile beslenerek 500,1000,1500 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarında TiO₂ NP'üne 8 saat maruz bırakılmıştır. Deneysel sonuçlar TiO₂ NP'lerinin agrega boyutu ve bunların substratı adsorplamasının atıksuyun tipine ve atıksudaki askıda katı madde miktarına bağlı olduğunu göstermiştir. Mikroorganizmaların oksijen tüketim hızlarının yine atıksu karakterine göre farklılık gösterdiği ve ham atıksudaki mikroorganizma oksijen tüketim hızının sentetik ve filtre edilmiş atıksuya göre daha fazla inhibe olduğu gözlemlenmiştir. Üç farklı karakterli atıksuda da TiO₂ NP'lerinin hücre membranlarına tutunduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, TiO₂ NP'lerinin mikroorganizmalar tarafından internalizasyonu sadece ham ve filtrelenmiş atıksularda gözlemlenmiştir. TiO₂ NP'lerinin en büyük agregat boyutu ve en yüksek spesifik KOİ ve TOK adsorpsiyonu sentetik atıksuda gözlemlenmiştir. Aynı zamanda, TiO₂ NP'lerinin agregat boyutu ve spesifik KOİ ve TOK adsorpsiyonu ham atıksuda filtre edilmiş atıksuya göre daha yüksek olduğu görülmüştür. TiO₂ NP'leri ve mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler açısından, hücre zarı bozunması tüm atıksu türlerine gözlemlenmesine karşın, TiO₂ NP'lerinin internalizasyonu sadece ham atıksu ve filtrelenmiş atıksuda gözlemlenmiştir. Tüm deney sonuçları, oksijen tüketim hızındaki yüksek derecede inhibisyonunun nedeninin heteroagregat oluşumunun olduğunu gözler önüne sermiştir. Bu çalışma atıksu tipinin, TiO₂ NP'lerinin agregat boyutunu, TiO₂ NP'lerinin KOİ ve TOK spesifik adsorpsiyonunu, TiO₂ NP'leri

ve mikroorganizmalar arasındaki etkileşimini ve son olarak da mikroorganizmalar üzerindeki TiO₂ NP'lerinin toksisitesini önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir (Şekil 2.5). Bununla birlikte, bu çalışmada gerçek atık suyun özellikleri, antropojenik aktiviteye ve çevreye bağlı olarak değişebileceği için, karmaşıklık kümeleme analizi ile azaltılması gerektiği vurgulanmıştır (Cervantes-Aviles vd., 2016).

| Parameter | SWW | RWW | FWW |
|---|--------------|-------|-------|
| TSS | (-) | (+) | (-) |
| Conductivity | (+) | (+++) | (+++) |
| Aggregates size of TiO ₂ NPs | | > | > |
| Specific adsorption of CODs | (+++) | (+) | (+) |
| Specific adsorption of dTOC | (+++) | (+) | (+) |
| Attachment to microorganisms | | | |
| Internalization in microorganisms | Non observed | | |
| Inhibition of OUR | (+) | (+++) | (+) |

Şekil 2.5. Atıksu çeşitlerinin aktif çamur üzerindeki etkileri (Cervantes-Aviles vd., 2016)

TiO₂ NP'lerinin biyolojik atıksu arıtımına olan inhibisyonu Qiu ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışmada ardışık kesikli reaktörde incelenmiştir. Deneysel çalışmalardan

önce aktif çamur topluluğu 43 gün boyunca sentetik atıksu ile beslenerek mikroorganizma topluluğunun substrat kaynağına aklimasyonu sağlanmıştır. Kararlı halde mikroorganizma konsantrasyonunun 4600 mg UAKM/L olduğu belirtilmiştir. Biyoreaktör, toplam hacmi 2,2 L, atıksu hacmi 1,54 L ve TiO₂ NP konsantrasyonu 1 mg/L olacak şekilde işletilmiştir. TiO₂ NP'leri ile aktif çamur topluluğunun 30 gün boyunca sürekli beslenmesi sonucunda, KOİ ve NH₄⁺-N giderim verimlerinin nispeten değişmediği ve verimlerin sırasıyla >%95 ve %99 civarında olduğu gözlemlenmiştir. Bununla beraber; TiO₂ NP'lerinin, NO₂-N'nun NO₃-N'a dönüşümünü hızlandırmasıyla toplam azot giderim verimini %95'ten %90'a düşürerek denitifikasyonda az da olsa inhibisyona neden oldukları görülmüştür. Aktif çamur genel topluluk yapısı ve biyoçeşitlilik hemen hemen değişmemiştir. Baskın bakteri türlerinin neredeyse tamamı belirgin bir şekilde etkilenmemiştir. Hücre dışı polimerik maddelerin polisakkarit içeriği genel olarak etkilenmemiş ve bundan dolayı sitoplazmik bozunmanın gerçekleşme ihtimalinin düşük olduğu belirtilmiştir. Ancak; TiO₂ NP'leri protein içeriğinde bir azalma meydana getirerek inhibe edici etki göstermiştir. TiO₂ NP'leri sistemden çamurla beraber uzaklaştırılmıştır. Aktif çamurun TiO₂ NP'leri ile beslenmesine devam edildiğinde sorpsiyon saturasyonu ve aktif çamur mikroorganizmaları hücre dışı polimerik maddelerin azalması sebebiyle 4 hafta sonunda giderim verimliliği %90'dan %70'e düşmüştür. Aynı zamanda aktif çamurun TiO₂ NP'lerini tutma kapasitesinin de zamanla azaldığı belirtilmiştir (Qiu vd., 2016).

Aktif çamur mikroorganizmaları ile ilgili yapılan araştırmalarda mikroorganizma tür analizinin de yapılması oldukça önemlidir. Biyodegradasyonunun ana sorumlusu mikroorganizmalardır ve farklı mikroorganizma türleri inhibitör bileşiğine karşı farklı reaksiyon gösterir. Bu nedenle biyodegradasyon ile ilgili yapılan çalışmalarda aşı olarak kullanılan aktif çamurun içerdiği mikroorganizma türleri de belirlenmeli ve elde edilen sonuçlar değerlendirilirken göz önünde bulundurulmalıdır. Aktif çamurun biyodegradasyon üzerindeki büyük etkisinin anlaşılmasıyla araştırmacılar, inhibitör bileşiklerin geleneksel evsel atık su arıtma tesislerindeki biyodegradasyon verimini arttırmak amacıyla spesifik bir bileşiğin biyodegradasyonu üzerinde kabiliyetli bakteri türleri üzerinde çalışmalar yapmaya başlamışlardır. Zor ayrışan veya inhibisyona neden olan bileşiklerin biyodegradasyonu ve biyolojik topluluğun test edilen deney koşullarına bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonuçları bileşiklerin biyodegradasyonunda spesifik bakteri türlerinin önemli rol oynadığını kanıtlamıştır ve biyodegradasyon ile ilgili yapılacak

çalışmalarda, aktif çamur içerisindeki seçili bileşik türünün biyodegradasyonunda baskın bakteri türleri belirlenmeli ve biyodegradasyon verimleri bu bakteri türleri ile ilişkilendirilerek yorumlanmalıdır.

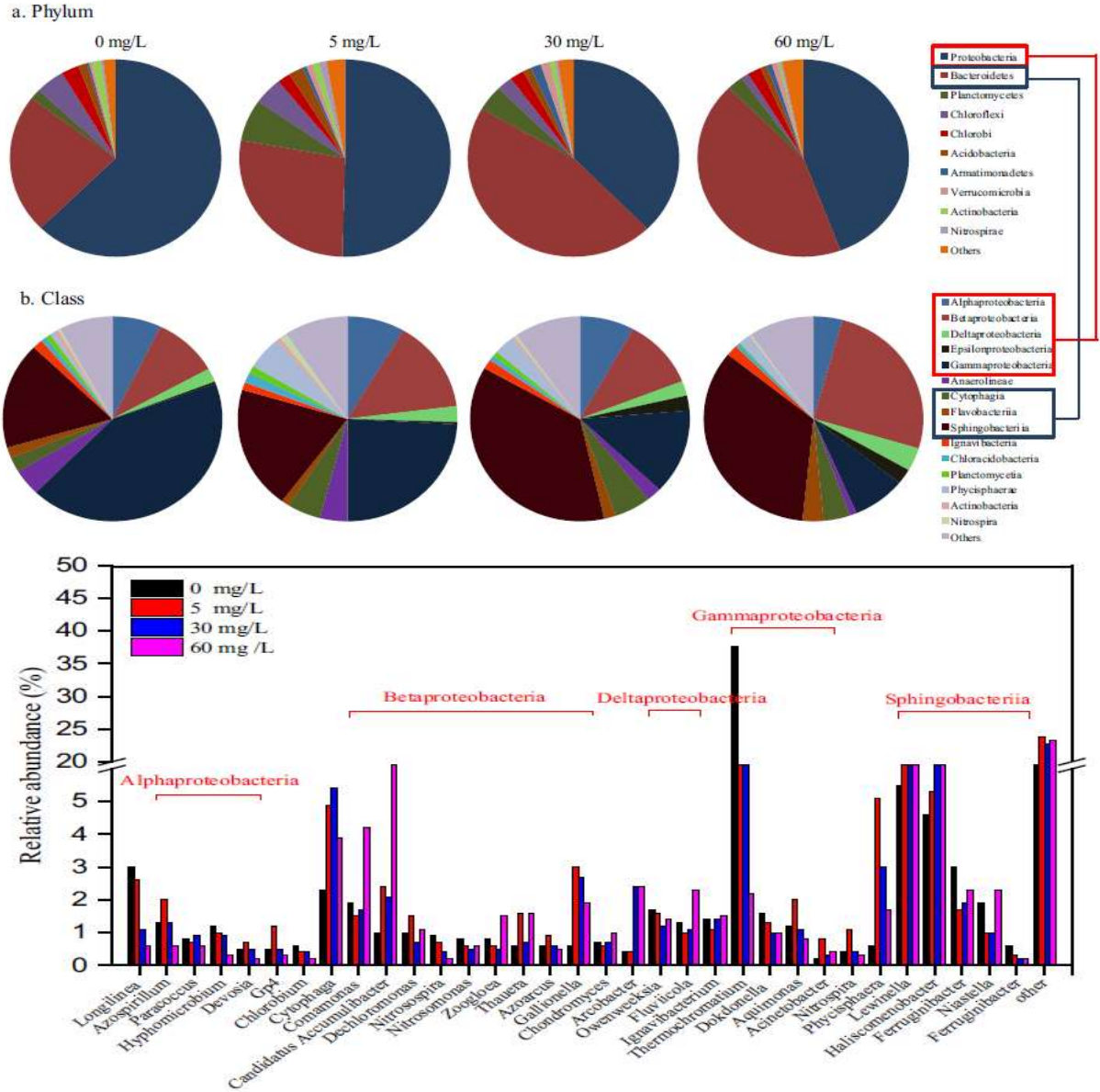
Bu bilgiler ışığında antibiyotikler üzerinden örnek verecek olunursa, antibiyotiklerin konvansiyonel aktif çamur sistemlerinde giderilemediği ve antibiyotik giderimi için konvansiyonel aktif çamur sistemi öncesi veya sonrası fotokatalitik arıtım prosesinin gerekliliği literatürde ortaya konmuştur. Ancak her iki uygulama şeklinde de gerek sistem gerek alıcı ortam üzerinde inhibisyon oluşmakta ve mikrobiyal türler değişmektedir. Ancak antibiyotik gideriminde etkin olan mikroorganizma türlerinin varlığı halinde sistem daha verimli çalışmaktadır. Çizelge 2.2’de belli bir antibiyotiği biyodegrade edebilen türler daha önce yapılan çalışmalar incelenerek 2016 yılında Wang ve arkadaşları tarafından özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Spesifik bir antibiyotiği biyodegrade edebilen türler (Wang vd., 2016)

| Antibiyotik | Tür | Substrat Kaynağı |
|------------------|--|------------------|
| Sulfamethoxazole | <i>Achromobacter denitrificans</i> PR1 | - |
| Sulfamethoxazole | <i>Pseudomonas psychrophila</i> HA-4 | - |
| Ofloxacin | <i>Labrys portucalensis</i> F11 | Asetat |
| Ciprofloxacin | <i>Labrys portucalensis</i> F11 | Asetat |
| Tylosin | <i>Citrobacter amalonaticus</i> | - |
| Sulfadiazine | <i>Trametes versicolor</i> | - |
| Sulfadiazine | <i>Microbacterium lacus</i> SDZm4 | - |
| Cefalexin | <i>Pseudomonas</i> sp. CE21 | - |
| Cefalexin | CE22 <i>Bacillus subtilis</i> | - |

Bu kapsamda başka bir çalışmada TiO_2 NP'lerinin aktif çamur mikroorganizmaları üzerine olan kronik inhibisyonu mikroorganizma tür analizi de yapılarak değerlendirilmiştir. Ardışık kesikli reaktörün işletme süresi 2, 5, 10, 30 ve 60 mg/L TiO_2 konsantrasyonlarında sırasıyla 59, 63, 36, 31 ve 44 gün tutulmuştur. Mikroorganizma topluluğu sentetik atıksu ile beslenmiştir. 0-60 mg/L konsantrasyonlarındaki TiO_2 NP'leri aktif çamurun KO_2 ve fosfor giderimlerini inhibe etmesine karşın NH_4^+-N giderim verimliliğini önemli ölçüde etkilememiştir. TiO_2 NP'leri ardışık kesikli reaktörde nitrit oksitleyici bakteriler üzerinde amonyak oksitleyici bakterilerden daha fazla inhibisyon etkisi göstermiştir. Nanopartiküler madde organik madde ve nitrojen giderim hızını yavaşlatmıştır. Fosfor giderim hızı kademeli olarak 0-5 mg/L TiO_2 konsantrasyonu varlığında azalmış ve ardından TiO_2 konsantrasyonu 10-60 mg/L'ye yükseltildiğinde artmıştır. Organik madde, azot ve fosfor giderim hızı trendlerinin, karşılık gelen mikrobiyal enzimatik aktivitelerine göre benzer olduğu belirtilmiştir. TiO_2 NP'lerin yüksek konsantrasyonları, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ve aktif çamurun laktat dehidrojenazı salınımına yol açmıştır. Aktif çamur mikrobiyal

aktivitesinin, karşılık gelen farklı TiO₂ konsantrasyonlarındaki mikrobiyal enzimatik aktivitelerle benzer değişken eğilimlere sahip olduğu görülmüştür. Artan reaktif oksijen türleri oluşumu ve laktat dehidrojenazı salınımı nedeniyle, TiO₂ NP'leri biyolojik inhibisyona yol açmış ve aktif çamur mikroorganizmalarının membran bütünlüğünü tahrip etmiştir. Mikrobiyal zenginlik ve çeşitlilik 16S rDNA dizileme çalışması ile incelenmiş, TiO₂ konsantrasyonunun değişmesi ile aktif çamur mikroorganizma topluluğunun oldukça değişim gösterdiği gözler önüne serilmiştir (Şekil 2.6). Özetle; spesifik amonyak oksidasyon hızı ve spesifik nitrit oksidasyon hızı TiO₂ konsantrasyonunun artmasıyla azalmıştır, spesifik fosfor alım ve spesifik fosfor artış hızlarının 0-5 mg/L TiO₂ konsantrasyonlarında azalmasına karşın 10-60 mg/L TiO₂ konsantrasyonlarında artış göstermiştir, yüksek TiO₂ konsantrasyonu reaktif oksijen türleri ve laktat dehidrojenazı salınımını arttırmıştır ve son olarak TiO₂ NP'leri nedeniyle mikrobiyal zenginlik ve çeşitlilik önemli ölçüde değişmiştir (Li vd., 2017).



Şekil 2.6. 16S rDNA dizileme çalışması ile farklı konsantrasyonlarda TiO₂ NP'lerine maruz kalmış aktif çamur mikroorganizmalarının taksonomik sınıflandırması: a-) filum, b-) sınıf, c-) cins (Li vd., 2017)

ZnO nanopartiküllerinin mikrobiyal kültür üzerindeki etkisini değerlendiren bir başka çalışmada, evsel atıksu arıtma tesisi birincil arıtma çıkışıdan alınan atıksu iki saat çöktürülmüş ardından filtre edilmiştir. Filtre edilen atıksu karbon ve nutrient ile beslenerek mikrobiyal kültür oluşturulmuştur. Kullanımdan önce Sigma Aldrich'ten satın alınan ZnO nanopartikül

süspansiyonu, Steril Milli-Q su ile 1000 mg/L konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden, çalışma çözeltilisinin nihai nZnO konsantrasyonuna (0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L ve 100 mg/L) karşılık gelecek şekilde mikrobiyal kültür içeren 250 mL'lik şişelere toplam hacim 100 mL olacak şekilde ilave edilmiştir. ZnO çözeltisi ilave edilmeyen mikrobiyal kültür kontrol olarak değerlendirilmiştir. Deney başlangıcında ve inkübasyon süresinin sonunda (96 saat), pH, elektriksel iletkenlik ve çözünmüş oksijen gibi kimyasal parametrelerin yanı sıra mikrobiyal parametreleri analiz etmek için de numuneler alınmıştır. Mikrobiyal kültür üzerindeki değişim Illumina yeni nesil sekanslama ile belirlenmiştir. Shannon-Weaver H' endeksine dayanarak mikrobiyal topluluğun nanopartiküler maddelere maruz kalması sonrası oldukça değişim gösterdiği gözler önüne serilmiştir. Sonuçlar, farklı konsantrasyonlarda ZnO nanopartiküllerine maruz kalan numunelerde, ZnO nanopartiküllerine maruz bırakılmamış numunere kıyasla operasyonel taksonomik ünite sayısında (27 737) ciddi bir düşüş olduğunu ortaya koymuştur (5, 10 ve 100 mg/L nZnO için operasyonel taksonomik ünite sayısı sırasıyla 23 743, 17 733 ve 13 324). Kontrol numunelerinde 12 filum, 21 sınıf, 30 takım, 54 aile ve 51 cins tanımlanmıştır. 5 mg/L ZnO nanopartiküllerine maruz kalan numunede filum, sınıf, takım, aile ve cins sırasıyla 7-15-25-28-20; 10 mg/L ZnO nanopartiküllerine maruz kalan numunelerde sırasıyla 9-15-24-31-23 ve 100 mg/L ZnO nanopartiküllerine maruz kalan numunede sırasıyla 7-11-19-26-17 olarak tanımlanmıştır (Meli vd., 2016)

Özgül yüzey alanı ve yüksek katalitik özelliklerinden dolayı nano partiküler maddelerin atıksu arıtma tesislerine verilmesi, biyokütle üzerinde şok etkisi yaratmaktadır ve nano partiküllerin, geleneksel aktif çamur sistemlerinde biyodegradasyonu organik kirleticilere kıyasla oldukça zordur. Bu nedenle evsel atıksulardan antibiyotik kalıntılarının gideriminde üçüncül arıtma kademesinde başarılı bulunan NFC-doplu TiO₂ fotokatalistinin aerobik biyolojik arıtma prosesi üzerindeki davranışını anlamak oldukça önemlidir.

2.4. İleri Oksidasyon Prosesi ile Desteklenmiş Biyolojik Arıtma Sistemleri

Biyolojik sistemlere zehir (toksik)/engelleme (inhibitör) etki gösteren ve biyolojik parçalanmaya karşı dirençli madde içeren organik kökenli endüstriyel atıksular geleneksel biyolojik arıtım ünitelerinde tatmin edici bir verimle arıtılamazlar. Bu durum organik maddenin molekül yapısından kaynaklanmaktadır. Molekülün boyutu ve şekli ve yapısındaki fonksiyonel gruptan dolayı biyolojik etki engellenebilir. Bu atıksuların pek çok fiziksel, kimyasal ve

fizikokimyasal arıtım süreçleri ile arıtımı mümkündür. Ancak organik nitelikteki atıksular için ekolojik ve ekonomik açıdan kabul edilebilir arıtım prosesi biyolojik arıttır. Biyolojik arıtım birimlerinde parçalanabilirliği düşük, zehir/engelleyici etki gösteren atıksuların arıtılabilmesi için birleşik arıtım sistemleri önerilmektedir. Bu sistemlerde atıksular ön arıtım biriminden geçirildikten sonra biyolojik arıtım birimine verilmektedir. Ön arıtım biriminin amacı kirleticide fizikokimyasal veya biyokimyasal değişimler yaratarak atıksuyun zehirlilik/engelleyici etkisini azaltmak ve biyolojik parçalanabilirliğini artırmaktır (Genç, 2008).

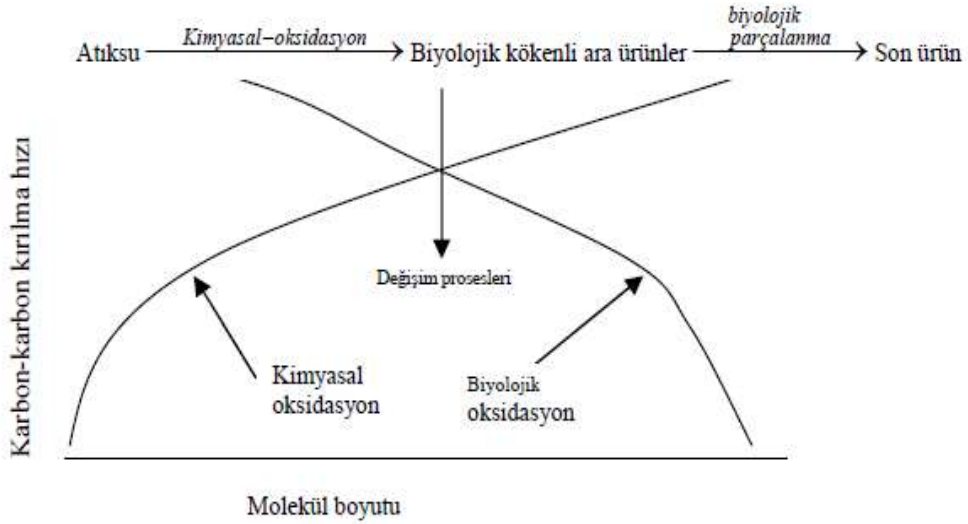
Biyolojik parçalanmaya dirençli, biyolojik sistemi engelleyen/zehir etkisi gösteren kirleticilerin geleneksel biyolojik arıtım sistemlerinde verimli bir biçimde arıtımının yapılabilmesi için biyolojik parçalanabilirliğinin geliştirilmesi ve zehirliliğin azaltılması gerekir. Bu amaçla biyolojik arıtım birimlerinden önce kirleticilerin ön arıtım işlemine tabi tutulması önerilmektedir. Ön arıtım biriminde kirleticinin kısmi oksidasyonu hedeflenmektedir, tam oksidasyon/mineralizasyon ise biyolojik arıtım birimlerinde sağlanmaktadır.

Ön arıtım birimlerinde kimyasal, fizikokimyasal, enzimatik ve ısı oksidasyonu temel alan işlemler uygulanır. Ön arıtım tipi ve işletme şartları (kirletici tipine, derişimine ve atığın miktarına göre değişir) ardından gelen biyolojik arıtım verimliliğini etkiler. Arıtım verimliliğinin artırılması için bu iki faktörün yanında çeşitli ön arıtım birimlerinin birleşik kullanımı da düşünülebilir. Bu kullanımdaki amaç, iki veya daha fazla yöntemin birlikte çalışması ile bir sinerji yaratılmasıdır. Ön arıtılmış atık biyolojik arıtım birimine alınmadan önce biyolojik parçalanabilirlik ve zehirlilik testlerinin yapılması önemlidir. Çünkü gerek ön arıtım işlemi ile oluşan ara ürünler gerekse kullanılan oksitleyici madde/kimyasal madde ardından gelecek olan biyolojik parçalanmayı olumsuz yönde etkileyebilir.

Ön arıtım işlemi özellikle geleneksel biyolojik arıtım sistemlerinde giderilemeyen kirleticiler için, biyolojik parçalanabilirliğinin geliştirilmesinde önemli katkı sağlar, ancak yüksek maliyetinden dolayı optimum işletme şartlarında kısmi oksidasyon sağlanarak birleşik sistemlerin etkinliğini artırma yönünde kullanılmalıdır.

Uygulanacak ileri oksidasyon prosesinin tipi ve arıtılacak atıksuyun özelliğine göre, kimyasal oksidasyona dayalı ön arıtım basamağı tüm kirleticilerin tam mineralizasyonu veya atıksudaki belli kirleticilerin kısmi oksidasyonunu sağlayabilir. Ön arıtım basamağında, kimyasal

olarak okside olmuş ara ürünler tam oksidasyona karşı dirençli oldukları için tam mineralizasyon oldukça pahalıdır. Ara ürünlerin karbondioksit ve suya tam oksidasyonu için daha ileri oksidatif şartlar gerektirir, çünkü kimyasal C-C bağlarının bölünme hızı molekül boyutu azalması ile azalır. Bu yüzden ön arıtım basamağında kısmi oksidasyon ile biyolojik olarak parçalanabilen ara ürünlere dönüşüm sağlandıktan sonra tam oksidasyonun biyolojik oksidasyon biriminde sağlanması önerilmektedir. Bu yolla hücre duvarından geçemeyen büyük moleküller, hücreye girebilen ara ürünlere dönüşümü sağlanır. Biyolojik oksidasyonun hızı genellikle molekül boyutu azalması ile artar. Bu durum Şekil 2.7’de gösterilmiştir (Mantzavinos ve Psillakis, 2004).



Şekil 2.7. Molekül boyutuna göre C-C bağının kırılma hızının değişimi (Mantzavinos ve Psillakis, 2004)

Kimyasal ön arıtım adımı biyolojik parçalanabilirliği geliştirirken öte yandan kimyasal yapısı değişime uğrayan organik madde ilk kimyasal yapısından daha toksik bir hale dönüşebilir. Aynı zamanda hem oluşacak yan ürünlerin hem de prosese ilave edilecek fotokatalistlerin inhibitör etkisi göz önünde bulundurulmalıdır.

Verimliliğin artırılmasında farklı ön arıtım tekniklerinin birlikte kullanımı da düşünülebilir. Bu kullanımdaki amaç ön arıtım teknikleri arasında sinerji yaratmaktır (Beltran vd., 1999).

Uygulanan modelin düzeni/sıralaması da önemli bir faktördür. Bunun için çeşitli sistemler önerilmektedir. Örneğin, kimyasal olarak ön oksidasyona uğramış atıksu filtrasyon biriminden geçirildikten sonra biyolojik arıtıma alınabilmektedir. Filtrasyon birimi kısmi oksidasyona uğramış atıksudaki büyük molekülleri (ki bunların biyolojik parçalanabilirliği azdır) tutarak kimyasal ön arıtım birimine geri döndürmekte, biyolojik parçalanabilirliği yüksek olan küçük molekülleri ise geçirerek biyolojik arıtım birimine göndermektedir. Yüksek oranda biyolojik parçalanabilen madde içeren atıksular için uygun olan birleşik arıtım modeli ise, biyolojik arıtım uygulandıktan sonra kimyasal arıtımın uygulanmasıdır. Bu model; biyolojik arıtım - kimyasal arıtım - biyolojik arıtım veya biyolojik arıtım - kimyasal arıtım düzeninde uygulanabilmektedir.

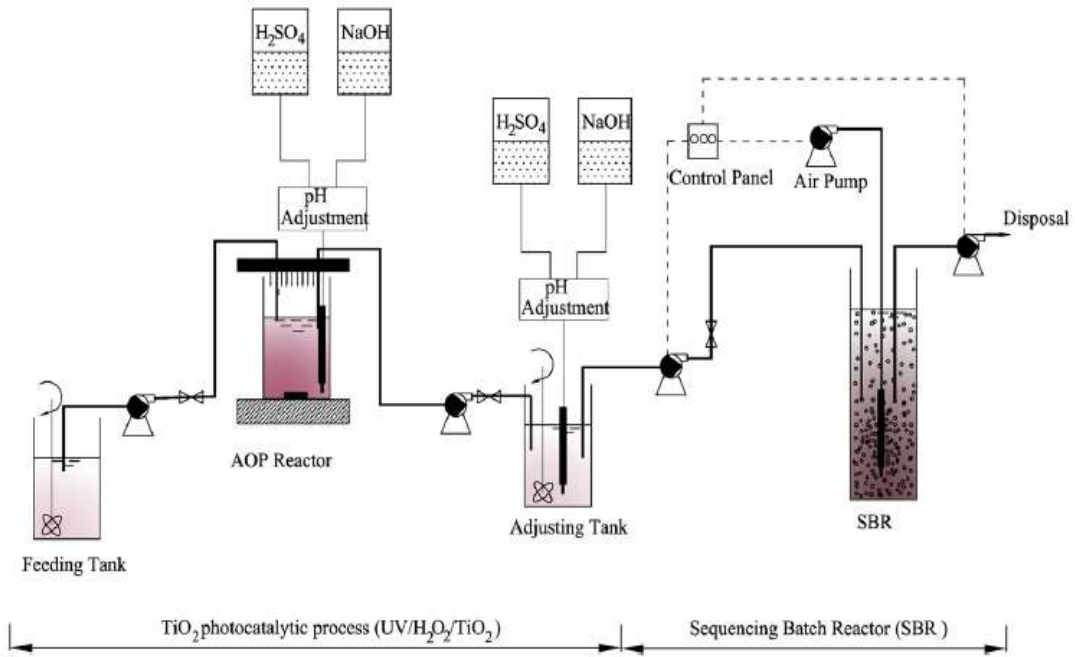
Son yıllarda atıksu arıtımı için elektrokimyasal teknolojinin kullanımı artmıştır. Bu teknoloji tek başına veya farklı oksidasyon yöntemleri ile birleşerek ön arıtım basamağı olarak da kullanılabilir. Elektrokimyasal ön arıtım, biyolojik parçalanmaya dirençli organik maddelerle birlikte zehirli etkiye sahip ağır metallerin birlikte arıtımı için de uygundur. Metal giderimine ilaveten poliklorlanmış bifeniller, petrol hidrokarbonları, klorlu çözücüler ve metil tetri butil eter gibi organik kirleticilere de elektro-Fenton oksidasyonu uygulanabilmektedir (Mantzavinos vd., 2004). Fakat bu teknoloji mikrokirleticilerin gideriminde nihai verimi sağlayamamaktadır. Bu nedenle son yıllarda yapılan araştırmalarda bu teknolojiye alternatif olarak fotokatalitik prosesler geliştirilmiştir. Fotokatalitik proseslerde mikrokirleticilerin, çok güçlü ve seçici olmayan oksitleyici elemanların (Hidroksil Radikalleri) oluşturulması sayesinde çevreye zararsız olan CO₂ ve inorganik iyonlara kadar degradasyonları sağlanabilmektedir. Fotokatalitik prosesler, eşleşmemiş elektronlarından dolayı oldukça reaktif ve kuvvetli oksidan özellikte olan ve yüksek kinetik hız sabitlerine sahip olan Hidroksil Radikalleri (OH•), bozunmaya dayanıklı olan inatçı sentetik yada doğal organik kirleticiler ile seçici olmaksızın hızlı bir şekilde reaksiyona girerek arıtım maliyetlerinin azaltılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda, özellikle ileri oksidasyon prosesleri ile konvansiyonel aktif çamur sistemlerinin entegrasyonu üzerine yoğunlaşılmalıdır.

Birleşik sistemlerde kimyasal oksidasyona dayalı ön arıtım işlemleri biyolojik parçalanabilirliğin geliştirilmesinde verimli kullanılabilen bir alternatif olduğu pek çok çalışmada ifade edilmiştir.

Kombine arıtma ile antibiyotik giderimine ilişkin yapılan bir çalışmada, sülfametazin antibiyotiğinin TiO_2 veya ZnO fotokatalistleri kullanılarak giderim verimliliği değerlendirilmiştir. Arıtma verimliliği, verimliliği etkileyen ana faktörlerden pH, katalizör miktarı ve başlangıçtaki sülfametazin konsantrasyonu parametreleri açısından incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, sadece katalist veya sadece UV ışığı ile sülfametazin bozunmasının gerçekleşmediğini göstermiştir. pH konsantrasyonunun 4-9 aralığında değişmesi, sülfametazin bozunmasında önemli bir değişime sebep olmamıştır. TiO_2 ve ZnO için optimum konsantrasyonların sırasıyla 0,5 ve 0,25 g/L olduğu belirtilmiştir. Giriş sülfametazin konsantrasyonunun arttırılması, giderim verimliliğini düşürmüştür. Sülfametazinin 10 mg/L'den 50 mg/L'ye yükseltilmesi 30 dakikalık reaksiyon süresi için verimliliği TiO_2 katalisti ile yapılan çalışmada %31'den %13'e, ZnO katalisti ile yapılan çalışmada ise %100'den %27'ye düşürmüştür. Elde edilen sonuçlar, ZnO katalisti ile hem antibiyotik hem de KOİ giderimi açısından daha yüksek verim elde edildiğini göstermiştir. Ancak, 7 saatlik fotokatalitik proseten sonra bile KOİ gideriminin %41 olduğu gözlemlenmiştir. Biyodegradasyon, giriş sülfametazin konsantrasyonu 50 mg/L, pH 6, $T = 25^\circ C$, $\omega = 360$ rpm koşulları altında değerlendirilmiştir. Biyodegradasyon değerlendirilirken kullanılan katalist konsantrasyonları TiO_2 ve ZnO için sırasıyla 0,5 g/L TiO_2 ve 0,25 g/L'dir. Bu koşullarda, giderim verimlilikleri, TiO_2 varlığında 4 ve 7 günlük ön arıtma için %26 ve %41 değerlerinde, ZnO varlığında 4 ve 7 günlük ön arıtma için %55 ve %92 olduğu gözlemlenmiştir. BOI_5/KOI oranı 7 saat ışınlamanın ardından önemli ölçüde artmış ve TiO_2 varlığında 0'dan 0,25'e, ZnO varlığında ise 0'dan 0,16'ya yükselmiştir. TiO_2 fotokatalisti ve biyolojik arıtma kombinasyonu ile 28 günlük arıtma sonrasında bile toplam KOİ gideriminin %58 olduğu belirtilmiştir (Aissani vd., 2017).

2010 yılında yapılan başka bir çalışmada ise, TiO_2 fotokatalisti (UV / TiO_2 / H_2O_2) ve ardışık kesikli reaktörün amoksisilin ve kloksasilin antibiyotikleri gideriminde birlikte kullanılabilirliği incelenmiştir. Çalışmada, ilaç endüstrisi atıksuyu kullanılmıştır. Kombine sistemde fotokatalitik proseten çıkan atıksu ardışık kesikli reaktörü beslemektedir (Şekil 2.8). Reaktör 1,5L atıksu ve 0,5L çamur olmak üzere toplam 2L'dir. Aktif çamur, arıtma tesisinden alınarak atıksuya 10 gün aklime edilmiştir ve 2400 mg UAKM/L'dir. Çalışmanın birinci bölümünde, TiO_2 ve H_2O_2 'in UV / TiO_2 / H_2O_2 prosesi için optimum dozu belirlenmiştir. Optimum TiO_2 ve H_2O_2 dozlarının sırasıyla, 1000 mg/L ve 250 mg/L ve uygun pH'ın 5 olduğu belirtilmiştir. Bu optimum koşullarda, HPLC analizi ile her iki antibiyotiğin de 30 dakikada tamamen degrade

olduğu doğrulanmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde, farklı işletme koşulları altında, fotokatalitik arıtma ile ardışık kesikli reaktörün birlikte kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Hidrolik bekletme süresinin 24 saatten 48 saate çıkarılması, ardışık kesikli reaktör verimliliğini önemli ölçüde arttırmıştır. Kullanılan H_2O_2 konsantrasyonu yükseldikçe KOİ giderim verimi arttırmıştır ancak H_2O_2 konsantrasyonunun 250mg/L'nin üzerine çıkarılması KOİ giderim verimini daha fazla arttırmamıştır. TiO_2 konsantrasyonunun düşürülmesi, atıksuda antibiyotik ara ürünlerinin kalmasına sebebiyet verdiği için ardışık kesikli reaktör KOİ giderim veriminde herhangi bir artışa sebep olmamakla beraber giderim verimini de düşürdüğü gözlemlenmiştir. Optimum koşullarda kombine proseste, KOİ giderim veriminin %57 olduğu görülmüştür (Elmolla vd., 2011).

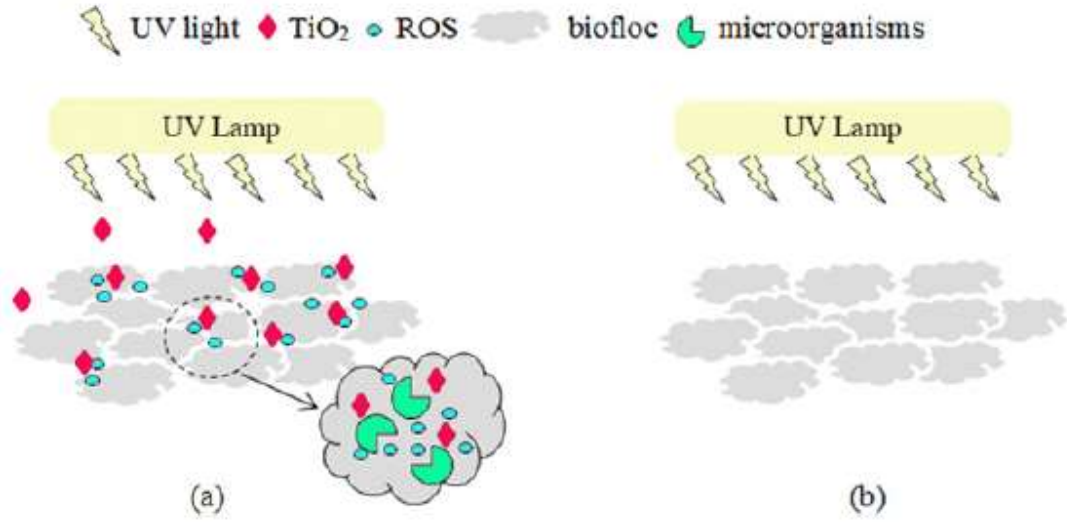


Şekil 2.8. Fotokatalitik proses ve ardışık kesikli reaktörden oluşan kombine sistem (Elmolla vd., 2011)

2015 yılında yine kombine sistem değerlendirilmiş olup, TiO_2 NP'lerinin, bakteri ve protozoan toplulukları üzerindeki kronik etkilerini araştırmak için ardışık kesikli reaktöre farklı konsantrasyonlarda (1 mg/L, 10 mg/L, 30 mg/L, 50 mg/L) TiO_2 NP'leri ilave edilmiştir. Ardışık

kesikli reaktör deneyleri TiO_2 NP ile UV ışığının etkisi altında gerçekleştirilmiştir. Aktif çamur evsel atıksu arıtma tesisinden alınmış ve sentetik atıksu ile beslenmiştir. Deneylerden önce seçili atıksu kaynağına aktif çamurun aklımasyonu sağlanmıştır ($F/M=0,25$). Aklımasyon sonunda aktif çamurun 3500 mg UAKM/L olduğu belirtilmiştir. Biyofloklardaki nanopartiküler maddeler, taramalı elektron mikroskobu, transmisyon elektron mikroskobu ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi ile analiz edilmiştir. TiO_2 varlığında, gözlemlenen tüm protozoa türlerinin sayılarının azaldığı belirtilmiştir. TiO_2 konsantrasyonu yükseldikçe, protozoa topluluğu üzerindeki inhibisyon artmıştır. TiO_2 NP'lerinin, optik mikroskopi ile gözlemlenerek siliatlar ve rotifer protozoaları tarafından yutulduğu belirtilmiştir. TiO_2 NP'lerinin girişimi biyoflokların hem yüzeyinde hem de içinde gözlemlenmiştir. Mikrobiyal popülasyonun değişimi UAKM ve çamur hacim indeksi parametreleri göz önüne alınarak izlenmiştir. TiO_2 NP'leri mikrobiyal popülasyonun ve respirasyon hızının azalmasına sebep olmuştur. UAKM ve SVI parametrelerinde de TiO_2 NP'lerinin artması ile azalma gözlemlenmiştir. Bunun nedeninin ise TiO_2 'in biyofloklara tutunmasından olduğu belirtilmiştir. TiO_2 konsantrasyonu 50 mg/L'ye yükseltildiğinde bakterilerin oksijen tüketim hızı inhibisyonu artmış popülasyonun yaşayabilirliği azalmıştır. 0,5 ve 1,0 mg/L konsantrasyonlarında TiO_2 fotokatalisti ile 20 gün arıtma süresince, TiO_2 NP'lerinin protozaların sayısında oldukça büyük bir azalmaya sebep olduğu görülmüştür. Ölçülen çıkış KO_2 konsantrasyonunun zamanla artma eğiliminde olduğu belirtilmiştir ve bu artış atıksu arıtma verimliliğinin azaldığının bir göstergesi olarak sunulmuştur. Bununla beraber; çalışmada biyofloklar 50 mg/L konsantrasyonuna kadar TiO_2 NP'lerini tutabilmiş ve çıkış suyunda nanopartiküler madde gözlemlenmemiştir. (Supha vd., 2015).

UV ile oluşan serbest oksijen radikalleri, TiO_2 NP'leri varlığında biyoflokların içine yayılarak mikroorganizmalarla direk olarak temasa geçmektedir. TiO_2 NP'leri ilave edilmediği takdirde mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir girişim gözlemlenmemektedir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Aerobik ardışık kesikli reaktörde TiO_2 ve flokların interaksiyonunun şematik gösterimi (Supha vd., 2015)

Metal esaslı nanopartiküler yapıdaki fotokatalistlerin aktif çamur üzerinde inhibitör etki yaratabileceği literatürde ortaya konmasına karşın NFC-doplu TiO_2 fotokatalistin, aktif çamur üzerindeki etkisini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada;

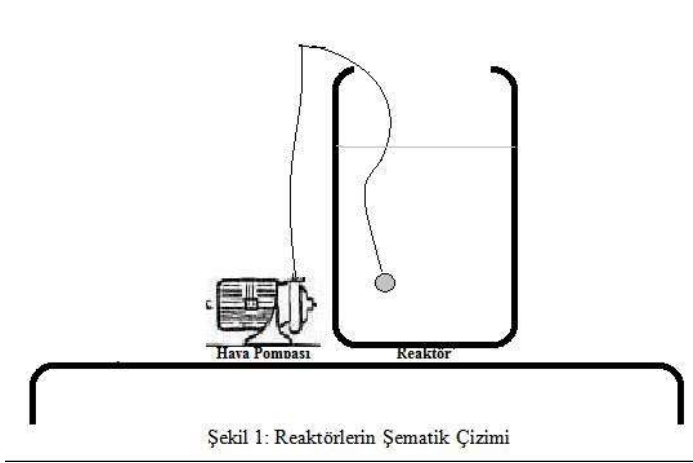
- 1) Antibiyotik kalıntılarının evsel atıksulardan gideriminde etkinliği kanıtlanmış NFC-doplu TiO_2 fotokatalistin, aktif çamur üzerinde yaratacağı etkilerin, hem sentetik hem de gerçek atıksular kullanılarak aerobik ortamda yürütülecek deneysel çalışmalarla karşılaştırmalı olarak ortaya konulması,
- 2) Aynı zamanda hem sentetik hem de gerçek atıksuya ayrı ayrı aklime olmuş aktif çamurlar içindeki mikrobiyal popülasyonun performansındaki değişim de, yeni nesil dizileme ile tanımlanarak, akut ve kronik maruziyet sonrası popülasyonun iyileşebilirliğinin değerlendirilmesi ile literatüre önemli katkılar sağlaması,
- 3) Elde edilecek veriler ile evsel atıksu arıtma tesisi tasarımcı/işletmecilerine bu açıdan faydalı bir bilgi üretmek amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Reaktör İşletimi ve Respirometrik Deney Prosedürü

Biyolojik arıtılabilirlik amaçlı respirometrik çalışmalarda Manotherm RA-1000 cihazı kullanılmıştır. Hava debisi, OTH ölçümlerinin en az 6-7 mg/L çözünmüş oksijen konsantrasyonu ile başlayacak şekilde ayarlanmış ve ölçümlerde ototrofik çoğalmadan kaynaklanan oksijen tüketimini engellemek amacıyla nitrifikasyon inhibitörü kullanılmıştır. Evsel atıksu içeriğinde antibiyotik kalıntıları gibi biyolojik olarak zor parçalanabilen madde varlığının yüksek olduğu bilinen ve Tekirdağ ilinde halihazırda aktif olarak çalışan Çorlu Evsel Atıksu Arıtma Tesisinin dengeleme ünitesinden, aklime edilen aktif çamur numunesi ise yine bu tesisin havalandırma ünitesinden alınmıştır. Evsel atıksu arıtma tesisi havalandırma havuzundan alınan aktif çamurun seçili karbon kaynağına (pepton) ve çalışmada kullanılan gerçek evsel atıksuya laboratuvar ortamında aklimasyonu, çamur yaşı 10 gün ve F/M oranı 0,3 mg KOİ/mg UAKM olan doldur-boşalt iki ayrı reaktörde gerçekleştirilmiştir. Respirometrik çalışmalarda bu aklimasyon reaktörlerinden kararlı hal koşullarında alınan aktif çamur numuneleri kullanılmıştır. Reaktörlerin işletilmesi sırasında aerobik koşulların sağlanması için sürekli olarak havalandırma sağlanmıştır. Her gün aynı saatte reaktör havalandırması durdurulmuş, 1 saat çökmeye bırakıldıktan sonra üst su uzaklaştırılacak, sentetik/gerçek evsel atıksu ve mikro-makro element beslemesi yapılarak tekrar reaktör havalandırmaya tabi tutulmuştur.

Laboratuvar ölçekli doldur-boşalt reaktör aerobik koşullar altında çamur yaşı 10 gün, hidrolik bekletme süresi 1 gün olacak şekilde sistem kararlı hale gelene kadar sentetik ve gerçek atıksularla iki ayrı aklimasyon reaktöründe işletilmiştir. Sentetik atıksu reaktörü, ISO 8192 test prosedüründe belirtildiği gibi (Çizelge 3.1) hazırlanmış olan pepton-et özü karışımı ile reaktörlerdeki toplam KOİ 600 mg/L olacak şekilde ve yine ISO 8192 de belirtildiği gibi laboratuvar ortamında hazırlanan makro-mikro elementleri içeren solüsyonlarla (Çizelge 3.2) beslenmiştir. Aklimasyon reaktörünün temsili şematik gösterimi Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Aklimasyon reaktörünün temsili şematik gösterimi

Çizelge 3.1. Pepton – Et özü Karışımı (ISO 8192)

| Konsantrasyon | Kimyasal |
|---------------|--------------------------------------|
| 16 g/L | Pepton |
| 11 g/L | Et Özü |
| 3 g/L | Üre |
| 0,7 g/L | NaCl |
| 0,4 g/L | CaCl ₂ .2H ₂ O |
| 0,2 g/L | MgSO ₄ .7H ₂ O |
| 2.8 g/L | K ₂ HPO ₄ |

Çizelge 3.2. Aklımasıyonda kullanılacak makro ve mikro elementler (1000 mg KOI için 10 ml)

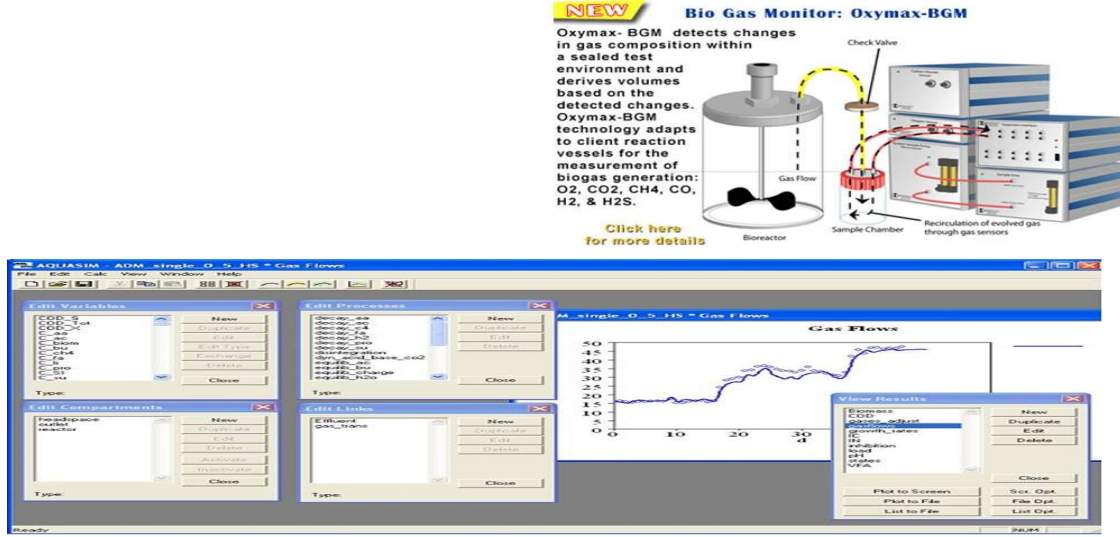
| | KİMYASAL MADDE | KONSANTRASYON |
|--------------|-----------------------|----------------------|
| SOL A | K_2HPO_4 | 320 gr/l |
| | KH_2PO_4 | 160 gr/l |
| | NH_4Cl | 120 gr/l |
| SOL B | $MgSO_4.7H_2O$ | 15 gr/l |
| | $FeSO_4.7H_2O$ | 0.5 gr/l |
| | $ZnSO_4.7H_2O$ | 0.5 gr/l |
| | $MnSO_4.3H_2O$ | 0.5 gr/l |
| | $CaCl_2$ | 2 gr/l |

Gerçek evsel atıksu reaktörü de sentetik atıksu reaktörüne eşdeğer koşullarda hazırlanarak işletilmiş olup, reaktöre beslenecek gerçek evsel atıksuda besi ve iz maddelerin eksikliği olmadığından Çizelge 3.2'deki makro-mikro element içerikli Sol A ve Sol B çözeltilerinden ilave edilmemiştir.

Hem sentetik suya (pepton) hem de gerçek evsel atıksuya aktif çamurun aklımasyununun ardından, her iki mikrobiyal popülasyon üzerine NFC-doplu TiO_2 fotokatalistinın akut ve kronik etkisinin değerlendirilebilmesi için farklı zamanlarda yürütülen respirometrik analizlerde gerekli olan mikrobiyal kültür aklımasyon reaktörlerinden sağlanmıştır.

Respirometrik deneyler Ra-Combo (Applitek Co., Nazareth, Belgium) respirometre ile sürekli havalandırma sağlanarak yürütülmüş ve OTH profilleri elde edilmiştir. Tüm respirometrik analizlerde, nitrifikasyon kaynaklı O_2 tüketiminin önüne geçmek adına reaktörlere nitrifikasyon inhibitörü (Formula 2533, Hach Company) ilave edilmiştir. Deney sürecinde pH, sıcaklık ve O_2 konsantrasyonları optimum seviyede tutulmuştur. Respirometrik deneylere, reaktöre yalnızca gerekli miktarda ilave edilmiş biyokütle ile başlanmış ve OUR_{end} (içsel solunum hızı) elde edilmiştir. Sentetik/Gerçek Evsel atıksu ve nanopartiküler yapıdaki yeni nesil fotokatalist madde (inhibitör) ilavesi, respirometre reaktörü belirli bir süre içsel solunum seviyesinde çalıştırıldıktan

sonra yapılmıştır. Respirometre analizörünün ve OTH profillerinin görünümü Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2. Respirometre analizörünün ve OTH profillerinin temsili görünümü

3.1.1. Aktif çamur üzerine NFC-doplu TiO₂ fotokatalistinin akut ve kronik etkisinin belirlenmesi

Kronik etki belirleme çalışmalarında aklımasyon reaktörlerine respirometrik çalışma öncesi sırasıyla pepton içerikli sentetik atıksu/ gerçek evsel atıksu ile beraber 30 gün süreyle her gün antibiyotik giderimde etkili olduğu literatürde belirtilen 2,25 mg/L dozunda NFC-doplu TiO₂ fotokatalistinin beslemeleri yapılmıştır. 30. günün ardından, 20 gün boyunca fotokatalist beslemesi kesilmiş ve sadece sentetik atıksu/gerçek evsel atıksu beslemesi yapılarak aktif çamurun yenilenebilirlik potansiyeli belirlenmiştir. Fotokatalist beslemesi öncesi reaktörlerden alınan biyokütle ile akut etkinin, 30. gün reaktörlerden alınan biyokütle ile kronik etkinin tanımlanması, 50. gün reaktörlerden alınan numune ile de biyokütlenin iyileşebilirliği değerlendirilmiştir.

Pepton içerikli sentetik atıksu ve gerçek evsel atıksuyun biyodegradasyonu üzerine fotokatalistin etkisinin değerlendirilmesi, tipik pepton içerikli sentetik/gerçek evsel atıksu

biyodegradasyonu OTH (oksijen tüketim hızı) profilini belirlemek için sadece pepton içerikli sentetik/gerçek evsel atıksu ile yürütülen respirometrik analizlerden elde edilen veriler ile pepton içerikli sentetik/gerçek evsel atıksuya fotokatalist ilavesi sonrası yürütülen respirometrik analizlerden elde edilen verilerin kıyaslanması şeklinde yapılmıştır.

Akut etkinin değerlendirilmesinde kullanılan mikrobiyal kültür, aklimasyonun ardından reaktörden sağlanmıştır. Kronik etkinin değerlendirilmesinde kullanılan mikrobiyal kültürün sağlanması için ise, akut etki belirlendikten sonra aklimasyon reaktörüne pepton içerikli sentetik/gerçek evsel atıksu ile birlikte 2,25 mg/L konsantrasyonunda NFC-doplu TiO₂ fotokatalistinin beslemesi yapılmıştır. Çizelge 3.3'de çalışmada yürütülen respirometrik analizler sıralanmıştır.

Aklımasyon reaktörlerin kararlı hale ulaştığı KOİ, AKM ve UAKM parametrelerinin analizi ile değerlendirildikten sonra respirometrik analizlere başlanmış, respirometrik analizler sırasında da mikrobiyal türlerin yeni nesil dizileme çalışmaları için gerekli numuneler önceden sterilizasyonu yapılmış vial numune kaplarına alınarak buzdolabında korumaya tabi tutulduktan sonra, 16S Metagenomics Hizmeti alınacak laboratuvara iletilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada yürütülen respirometrik analizler

| Analiz İsimlendirmesi | Gün |
|--|-----|
| 1)Evsel Atıksu Kontrol 2)Pepton Kontrol | 0 |
| 1)Evsel Atıksu Akut 2)Pepton Akut | 0 |
| 1)Evsel Atıksu Kronik 2)Pepton Kronik | 30 |
| 1)Evsel Atıksu Yenilenebilirlik 2)Pepton Yenilenebilirlik | 50 |

3.1.2. Analitik prosedürler

Çalışma süresince, KOI, Çözünmüş KOI, AKM ve UAKM ölçümleri gerçekleştirilmiştir. KOI deneyleri ISO 6060 prosedürüne göre, Renk ölçümleri ise ISO 7887 metoduna göre yapılmıştır. Çözünmüş KOI için numuneler 0.45 µm gözenek çaplı filtre ile filtrelendikten sonra analiz edilmiştir. AKM ve UAKM deneyleri Standart Metotlar'da belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2. Toz formda NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

3.2.1. Fotokatalistin hazırlanması

Sol jel metoduyla (Sato, 1976) laboratuvar ortamında oda sıcaklığında toz formda azot-flor-karbon doplu (NFC-doplu) TiO₂fotokatalistin hazırlanmasına öncelikle, NF-doplu TiO₂ hazırlanması ile başlanmıştır. Bunun için, buzlukta 0⁰C'ye soğutulmuş 25mL %30' luk sulu amonyak çözeltisi, 25 mL %97'lik TTIP'e manyetik karıştırıcı ile hızla karıştırılarak eklenmiştir. Eklenecek amonyum hidrojen florür (NH₄F-HF- Sigma Aldrich) miktarını belirlemek için çökelti safhasındayken sırasıyla farklı NH₄F-HF(g)/TTIP(ml) oranlarında fotokatalistler hazırlanmıştır. NF-doplu fotokatalist henüz çökelti halinde iken içine ilave olarak 0,05 g Sigma Aldrich'den temin edilen karbon nano partiküller ilave edilmiş ve ardından elde edilen çökelti yıkayıp

santrifüjlendikten sonra 450°C’de 2 saat kalsine edilerek anataz formda NFC-doplu TiO₂ fotokatalist haline gelmesi sağlanmıştır.

3.2.2. Fotokatalistin karakterizasyonu

Elde edilen fotokatalistin karakterizasyonu için SEM (Scanning Electron Microscope) taraması ile NFC-doplu TiO₂ fotokatalistinin boyutu ve morfolojik yapısının doğrulamasının yapılması, 5 µm çözünürlük ve 1000-20 000 kat büyütmede çok hassas ölçekte NFC doplamasının etkilerinin gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Raman Spektroskopi ile de bu çalışmada hazırlanan fotokatalistin anataz formda olduğunun tespit edilmesi amaçlanmış ve hem SEM taraması hem de Raman Saçılmalarının tespiti için hazırlanan numune NKU NABİLTEM laboratuvarına gönderilmiştir.

3.3. Mikrobiyal Kültür’ün Belirlenmesi

3.3.1. DNA izolasyonu

Bu çalışmada hazırlanan fotokatalisti ilave etmeden önce ve sonra 50 ml aktif çamur örneği alınarak mikrobiyal türlerin belirlenmesine yönelik yapılacak yeni nesil dizileme çalışması için toplam DNA izolasyonu yapılmıştır. Bunun için toprak, dışkı ve diğer çevresel örneklerinden DNA izole etmekte kullanılabilen Invitrogen PureLink™ Microbiome DNA Purifikasyon Kiti (ThermoFisher, ABD) kullanılmış olup, kitin toprak örnekleri için tavsiye edilen DNA izolasyon prosedürü takip edilmiştir. İzole edilebilecek DNA konsantrasyonunun 10-15 ng/µL’dir.

DNA İzolasyonu için; aktif çamur popülasyonundan alınan 50 mL örnek, santrifüjle çöktüldükten sonra, pelet 2 kez steril fosfat tamponlu salin solüsyonuyla yıkanıp, 1X TE (Tris-EDTA) solüsyonunda çözülmüştür. Çizelge 3.4’te gösterilen TE tampon çözeltisi içeriği 100mL distile suda çözülüp otoklav ile steril edilerek hazırlanmıştır. Fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) ise Çizelge 3.5’te verilen içeriklerin 1 L distile suda çözülüp, pH’sı 7.4’e ayarlandıktan sonra otoklavda steril edilmesiyle hazırlanmıştır. TE tamponunda hazırlanan solüsyondan 1mL aktif çamur örneği alınacak ve 6000 rpm’de 20 dakika çöktürüldükten sonra üstte kalan sıvı atılmış ve pelet 600µL kit içeriğinde bulunan lizis tampon çözeltisiyle karıştırılmış, üstüne 100µL lizisi artıran tampon çözeltisi eklenmiş ve kısa bir süre vorteks ile karıştırılmıştır. Sonrasında 65°C’de

su banyosunda 10 dakika bekletilmiş ve vorteksle en yüksek hızla 10 dakika homojenize edilip 14.000 rpm’de 5 dakika santrifüjlenerek çöktürülmüştür.

Çizelge 3.4. Fosfat tamponlu salin çözeltisi içeriği

| İçerik | Miktar |
|----------------------------------|--------|
| NaCl | 8 g |
| KCl | 0.2 g |
| Na ₂ HPO ₄ | 1.44 g |
| KH ₂ PO ₄ | 0.24 g |

Çizelge 3.5. TE Tampon çözeltisi içeriği (10mM Tris, 1mM EDTA)

| İçerik | Miktar |
|-----------------------------|--------|
| 1 M Tris-HCl stok solüsyonu | 1 mL |
| 0.5 M EDTA solüsyonu | 0.2 mL |

Üstte kalan sıvı fazdan 400 µL alınarak yeni bir mikrosantrifüj tüpüne konup 250 µL kitin temizleme tampon çözeltisi eklenip derhal karıştırılmış, 10 dakika buzda bekletilip 14.000 rpm hızında 1 dakika santrifüjlenmiş ve üst sıvı fazdan 500 µL yeni bir mikrosantrifüj tüpüne alınmıştır. Üzerine 900 µL bağlanma tamponu eklenmiştir. Oluşan 1400 µL çözeltinin yarısı kitle verilen kolonlu tüpe konulmuş, 14.000 rpm’de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Kolonun altına geçen sıvı atıldıktan sonra, geride kalan çözelti aynı şekilde kolonlu tüpe konup aynı hızda 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bu aşamayla örnekteki DNA kolona yapışarak izolasyonu gerçekleştirmiştir. DNA’nın konsantrasyonunu ve saflığını belirlemek için NABİLTEM’de küçük hacimli, spektrofotometre ile 260 nm’de ölçüm yapılmıştır. Ayrıca yine NABİLTEM’de DNA’ların kırksız olduğunu göstermek için de %2 konsantrasyonlu agaroz jelde DNA örnekleri içeriği Çizelge 3.6’da verilen 1X TBE (Tris borik asik EDTA) tamponu kullanılarak 180 volt elektrik akımında 30 dakika yürütülmüş, referans olarak kullanılan 100 baz çiftlik markör DNA ile karşılaştırılarak kırık olup

olmadığı gösterilmiştir. Görüntüleme için etidyum bromid boyası kullanılmıştır. 30 dakikanın sonunda jel UV ışığı altında görüntülenmiş (Infinity 1100, Vilber Lourmart) ve fotoğrafı çekilmiştir.

Çizelge 3.6. 1L TBE Tampon çözeltisi (10X) içeriği, pH 8.3

| İçerik | Miktar |
|----------------------|--------|
| Tris | 54.0 g |
| Borik asit | 25.5 g |
| Na ₂ EDTA | 7.44 g |

İyi kalitede olduğu belirlenen DNA örneklerinde hangi türlere ait kaç kopya DNA olduğunun belirlenmesi için numuneler yeni nesil sekanslama yapılacak laboratuvara gönderilene kadar -20°C'de saklanmış ve kronik etkinin belirlendiği 50. Gün numunesi de alındıktan sonra ilgili laboratuvara iletilmiştir.

3.3.2. Yeni nesil sekanslama

DNA izolasyonundan sonra yeni nesil sekanslama hizmeti için firmaya gönderilen DNA örneklerinin kalitesi kontrol edilmektedir. Metagenom çalışmaları için örneklerin DNA miktarı ve kalitesi belli standartlara uymalıdır. DNA miktarı tespiti, Qubit 3 florometre cihazında yapılmaktadır. Picogreen boyası sadece çift zincirli DNA'ya bağlanır. Genomik DNA dışında, normal spektroskopik metodlarda konsantrasyonun normalden fazla görünmesine yol açan RNA kalıntıları veya diğer kontaminantlar Picogreen ile etkileşmez ve daha doğru sonuçlar elde edilir. Dokudan elde edilen DNA örnekleri için beklenen konsantrasyon 50 ng/uL'dir. Eğer DNA konsantrasyonu 50 ng/uL'den az ise, DNA izolasyonu tekrar edilmektedir.

DNA izolasyonundan sonraki aşamalarda ilk olarak; PCR aşamasında tür tespitinde en sık kullanılan değişken bölge, 16S ribozomal RNA geninin V3 ve V4 bölgeleridir. V3 ve V4 bölgelerinin çoğaltılması için kullanılacak ileri ve geri yönlü primer dizileri aşağıdaki gibidir:

- 16S Amplicon PCR Forward Primer = 5'

TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG

- 16S Amplicon PCR Reverse Primer = 5'

GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC

Bu primer çifti yaklaşık 460 bazlık bir bölgeyi çoğaltır. Yeni nesil dizileme okumasından önce, amplicon kütüphanesi hazırlığı sırasında PCR ile örnekteki 16S V3 ve V4 bölgeleri çoğaltılır. PCR koşulları ve kullanılan malzemeler; 2.5 µl Mikrobiyal DNA (5 ng/µl), 5 µl ileri yönlü primer 1 µM, 5 µl geri yönlü primer 1 µM, 2X KAPA HotStart PCR karışımı 12.5 µl olmak üzere toplam 25 µl hacindedir. PCR koşulları 95 °C'de 3 dakika, takip eden 25 döngü için sırasıyla 95 °C'de 30 saniye, 55 °C'de 30 saniye, 72 °C'de 30 saniye, daha sonra 72 °C'de 5 dakikadır. Örnekler 4 °C'de saklanır.

İkinci olarak; PCR ürünü temizliği aşamasında AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar kullanılarak, primer dimerler ve serbest primerler uzaklaştırılır. Bu aşama iki adımda gerçekleşir. İlk adımda, her örneğe 20 mikrolitre AMPure XP manyetik boncuk eklenir ve pipetlenerek karıştırılır. Manyetik stand kullanılarak istenilen PCR ürünlerinin manyetik boncuklara tutunması sağlanır. İkinci adımda ise, kontaminasyonu önlemek için, 200 mikrolitre %80'lik etanol ile manyetik boncuk ekli örnekler 2 kere yıkanır. Yıkandıktan sonra saf PCR ürünü, 50 mikrolitre 10 Mm pH 8.5 Tris solüsyonunda saklanır.

Üçüncü olarak; indeks PCR aşamasında PCR ürünlerine, yeni nesil dizileme okuması sırasında farklı örneklerin ayırt edilebilmesi ve birden fazla örneğin tek okumada sonuç verebilmesi için "indeks barkod" görevi gören özel baz dizileri ve PCR ürünlerinin yeni nesil dizileme cihazındaki özel oligo bağlanma bölgelerine tutunabilmesini sağlayan "adaptör" dizileri eklenir. Nextera XT indeks kiti kullanılarak yapılan bu işlemde her örneğe 2 indeks barkod bölgesi, aşağıdaki kısa PCR koşullarında bağlanır. Kullanılan malzemeler; 5 µl DNA, 5 µl Nextera XT İndeks Primer 1(N7xx), 5 µl Nextera XT İndeks Primer 2 (S5xx), 25 µl 2X KAPA HotStart PCR Karışımı ve 10 µl su olmak üzere toplam 50 µl hacindedir. PCR koşulları 95 °C'de 3 dakika, takip eden 8 döngü için sırasıyla 95 °C'de 30 saniye, 55 °C'de 30 saniye, 72 °C'de 30 saniye, daha sonra 72 °C'de 5 dakikadır. Örnekler 4 °C'de saklanır.

Dördüncü olarak; 2. kez gerçekleştirilen PCR ürünü temizliği aşamasında AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar kullanılarak, primer dimerler ve serbest primerler uzaklaştırılır. Bu aşama iki adımda gerçekleşir. İlk adımda, her örneğe 56 µl AMPure XP manyetik boncuk eklenir ve pipetlenerek karıştırılır. Manyetik stand kullanılarak istenilen PCR ürünlerinin manyetik boncuklara tutunması sağlanır. İkinci adımda ise, kontaminasyonu önlemek için, 200 mikrolitre %80'lik etanol ile manyetik boncuk ekli örnekler 2 kere yıkanır. Yıkandıktan sonra saf PCR ürünü, 25 mikrolitre 10 Mm pH 8.5 Tris solüsyonunda saklanır.

Beşinci olarak; kütüphane miktar tayini, normalizasyon ve birleştirilmesi aşamasında Illumina MiSeq cihazından yüksek kalitede veri elde etmek için, cihazdaki her akışkan hücre üzerinde optimum kümelenmeyi sağlamak gerekir. Bu yüzden kütüphane miktar tayininin daha hassas tespiti için, spektroskopi yerine Real Time PCR tekniğiyle oluşturulan kütüphanelerin kantifikasyonu yapılır.

Kütüphanelerin birleştirilmeden önce eşit oranda temsili için normalizasyon aşaması, manyetik boncuklar kullanılarak gerçekleştirilir. Manyetik boncukların kütüphaneye tutunma kapasitesi benzer olduğundan, her örnek, kütüphaneler birleştirilince eşit oranda temsil edilmektedir.

Son olarak; MiSeq okuması aşamasında ise MiSeq cihazında sekanslama yapılarak sonuçlar okunur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Kontrol Reaktörünün Aklımasyon Çalışmaları

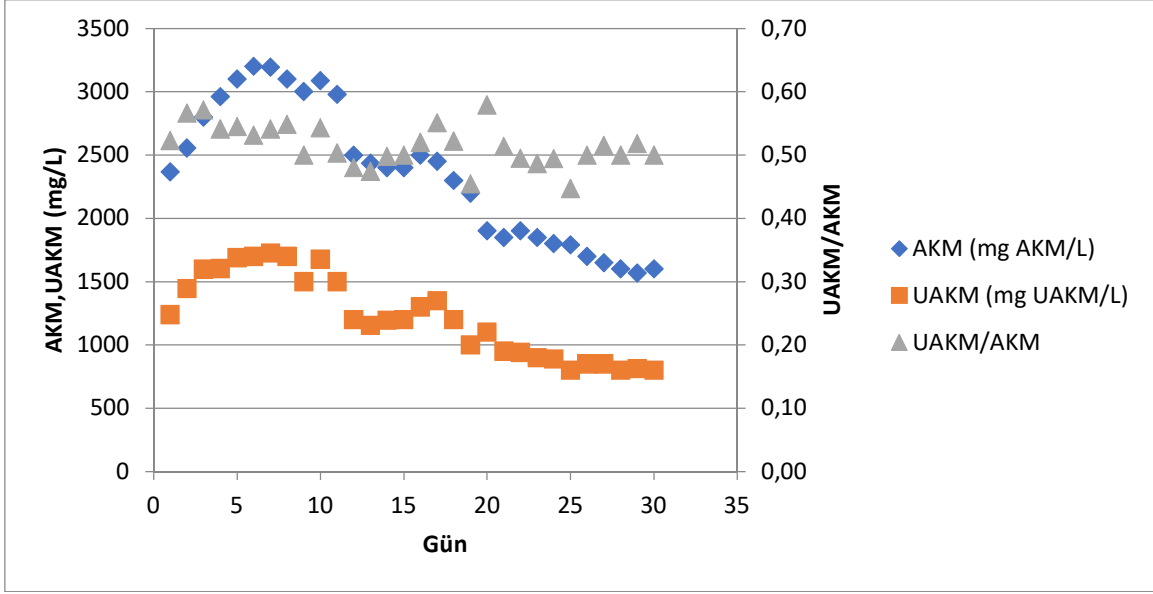
Aklımasyon çalışmalarına başlamadan önce Çorlu Evsel Atıksu Arıtma Tesisi dengeleme havuzundan alınan evsel atıksu için karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Karakterizasyon parametreleri Çizelge 4.1’de gösterilmektedir. Bu parametrelere dayanarak, çalışmada kullanılan atıksuyun genel evsel atıksu özellikleriyle paralel karakterde olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1. Aklımasyon çalışmalarında kullanılan evsel atıksu karakterizasyon parametreleri

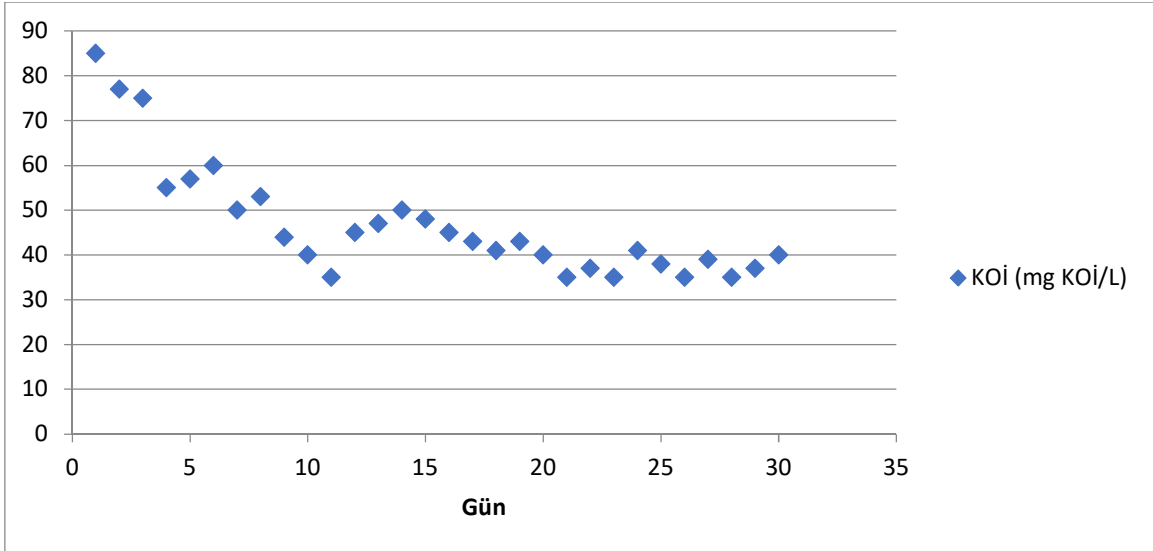
| Parametre | Değer |
|---------------------------|-------|
| KOİ (mg/L) | 700 |
| Çözünmüş KOİ (mg/L) | 450 |
| AKM (mg/L) | 250 |
| TKN (mg/L) | 50 |
| NH ₃ -N (mg/L) | 23 |
| TP (mg/L) | 8,5 |
| pH | 6,5 |

Aklımasyon çalışmalarında aktif çamur kararlı hale getirilmek adına 30 gün boyunca F/M oranı 0.35 olacak şekilde hem evsel atıksu hem de pepton ile iki ayrı reaktörde beslenmiştir. Evsel atıksu ile besleme yapılan reaktöre evsel atıksu reaktörü, pepton ile besleme yapılan reaktöre pepton reaktörü isimleri verilmiştir. Kararlı halin tespiti amacıyla, AKM ve UAKM parametrelerinin yanı sıra reaktör çıkış suyunda KOİ parametresi izlenmiş ve bu parametreler zamanla stabil hale gelmiştir.

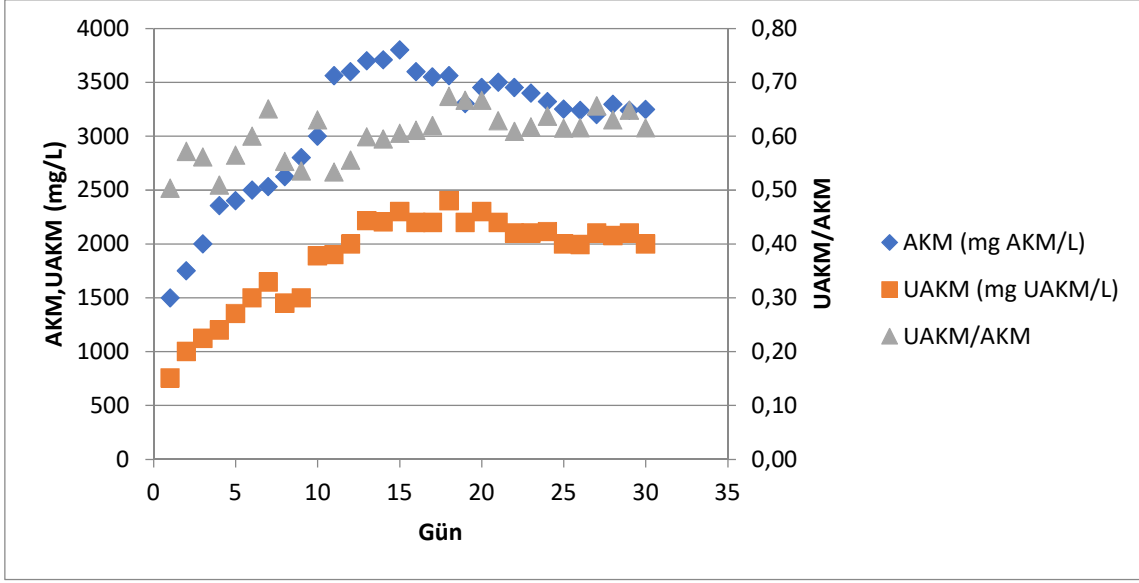
Aktif çamurun evsel atıksuya gerçekleştirilen aklımasyonu sırasında ölçülen 30 günlük AKM, UAKM ve çıkış suyu KOİ parametreleri sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Aktif çamurun peptona gerçekleştirilen aklımasyonu sonucu ölçülen 30 günlük AKM, UAKM ve çıkış suyu KOİ parametreleri sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’te gösterilmiştir.



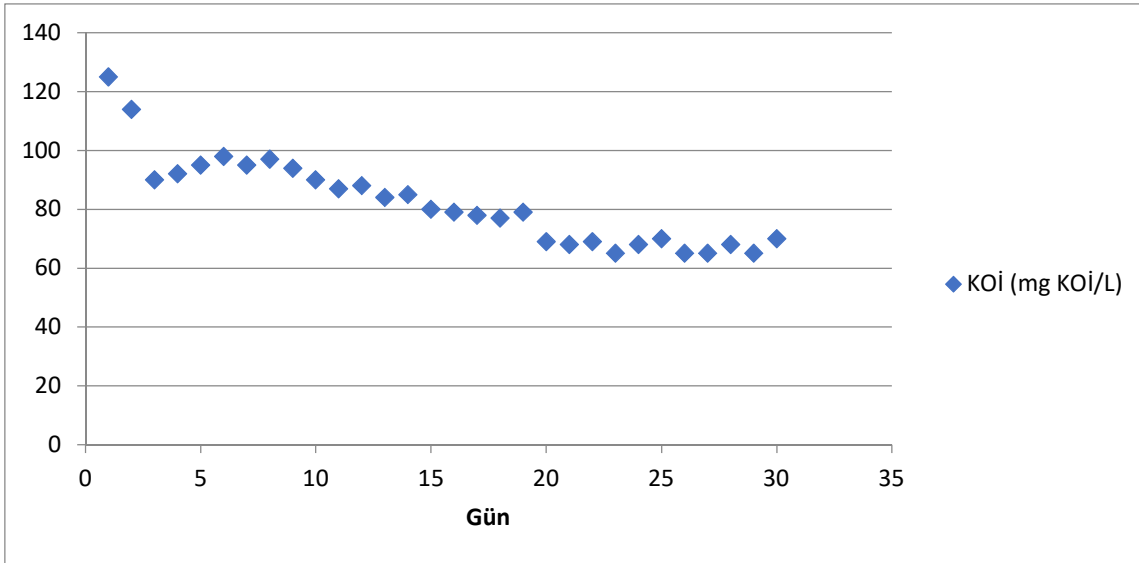
Şekil 4.1. Eysel atıksu için aklımasyon süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri



Şekil 4.2. Eysel atıksu için aklımasyon süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi



Şekil 4.3. Pepton için aklımasyon süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri



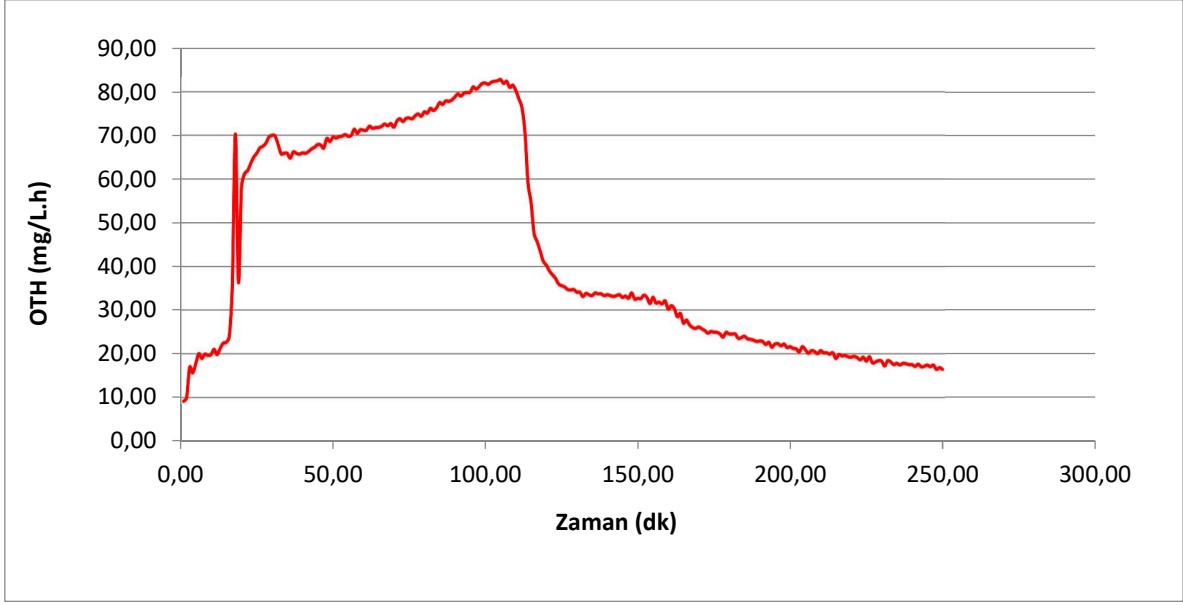
Şekil 4.4. Pepton için aklımasyon süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi

Doldur-boşalt reaktörlerde beslenen iki ayrı aktif çamur numunesi 10 günlük çamur yaşında 30 günlük süre zarfında kararlı hale gelmiştir. Kararlı hal koşullarında evsel atıksu reaktöründe UAKM 800 mg/L ve AKM 1600 mg/L olarak, pepton reaktöründe UAKM 2000 mg/L ve AKM

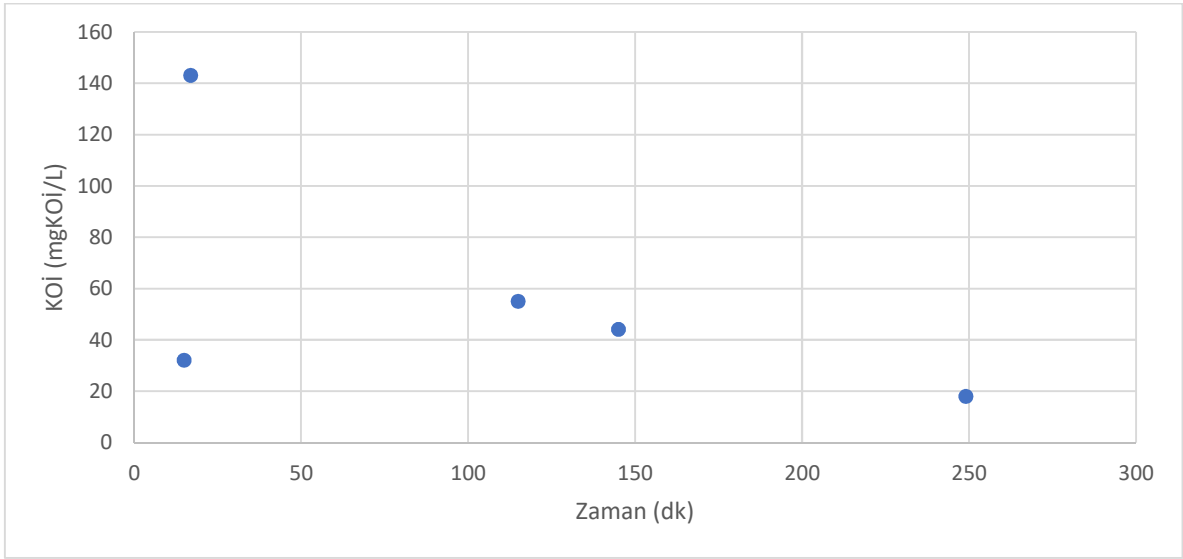
3250 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu değerlere göre evsel atıksu reaktöründe UAKM/AKM değeri %50, pepton reaktöründe ise %60'tır. Kararlı koşullar altında reaktörlerde çıkış suyu KOİ parametresi değerleri evsel atıksu ve pepton reaktörü için sırasıyla 35-40 mg/L ve 70-75 mg/L olarak ölçülmüştür.

4.2. Respirometrik Deney Sonuçları

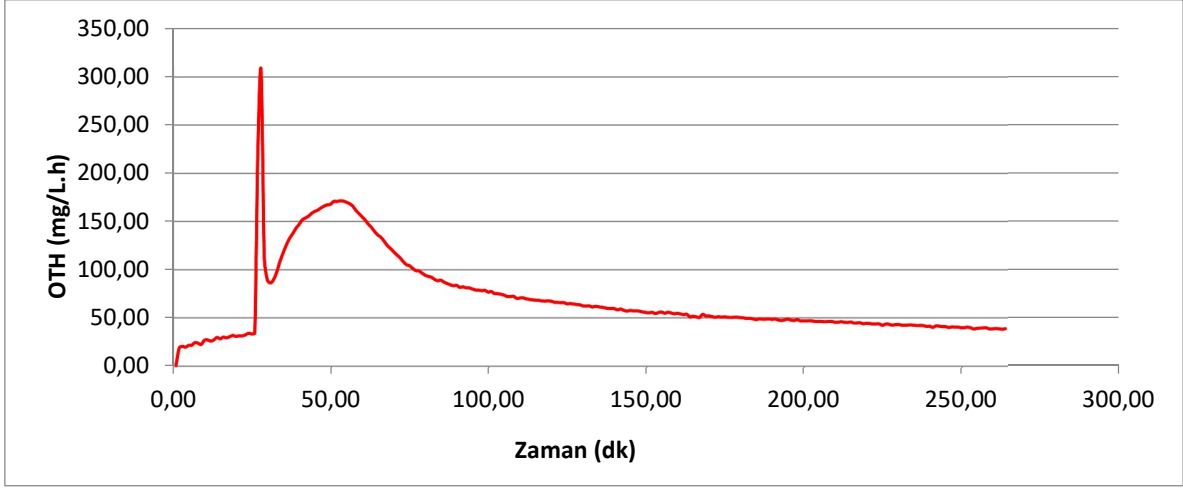
İlk olarak, kontrol reaktörlerinin performanslarını incelemek amacıyla gerçekleştirilen respirometrik deneyler, nanopartiküler madde ilavesi olmaksızın sadece aktif çamurdan alınan örnek ile seçili karbon kaynağının respirometrenin reaktörüne ilave edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, nitrifikasyondan kaynaklı O₂ tüketiminin önüne geçmek amacıyla 1 mg/L konsantrasyonunda nitrifikasyon inhibitörü ilave edilmiştir. Evsel atıksu aktif çamuru için yapılan kontrol deneyinde; F/M değeri 0,18 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 170 mg/L ve UAKM değeri 950 mg/L olarak belirlenmiştir. Pepton aktif çamuru için yapılan kontrol deneyinde ise, F/M değeri 0,15 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 300 mg/L ve UAKM değeri 2000 mg/L olarak belirlenmiştir. Evsel atıksu aktif çamuru için gerçekleştirilen respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ profilleri sırasıyla Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Pepton aktif çamuru için gerçekleştirilen respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ profilleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Pepton reaktöründe KOİ giderim verimi %90, evsel atıksu reaktöründe ise KOİ giderim verimi %87,3'tür.



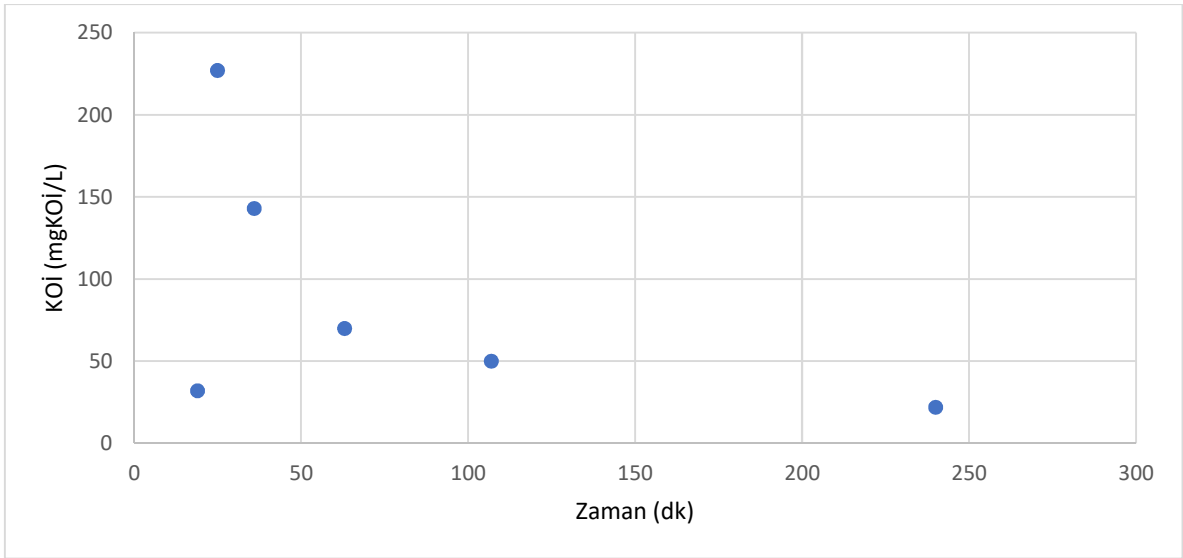
Şekil 4.5. Evsel atıksu kontrol deneyi OTH grafiği



Şekil 4.6. Evsel atıksu kontrol deneyi KOİ grafiği



Şekil 4.7. Pepton kontrol analizi OTH grafiği



Şekil 4.8. Pepton kontrol analizi KOİ grafiği

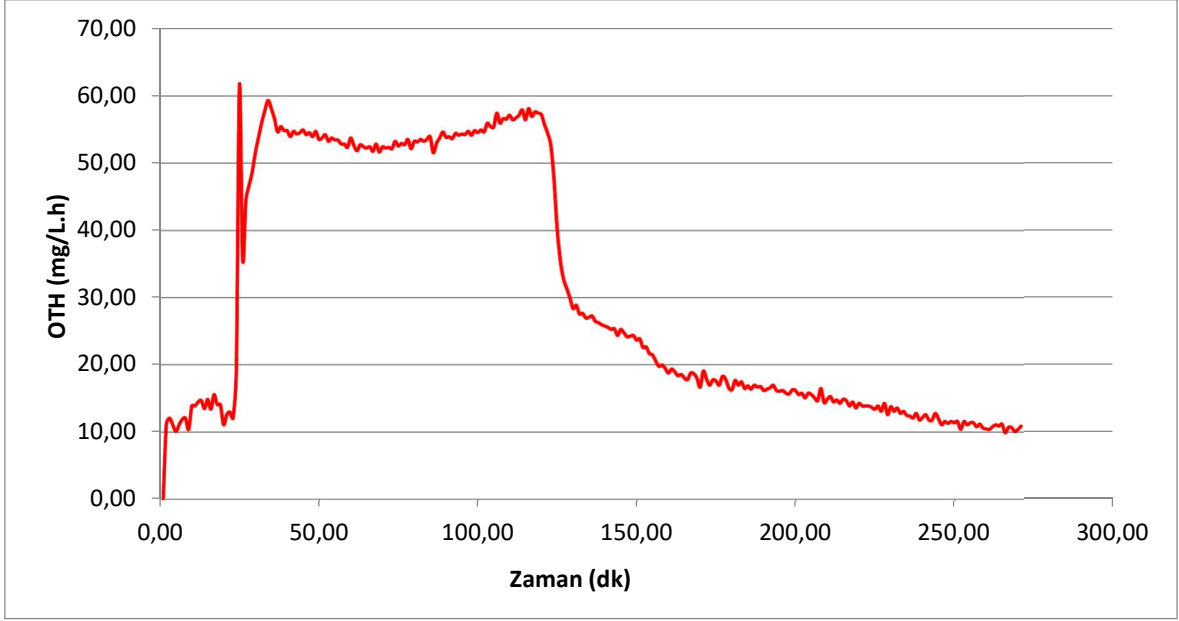
OTH eğimi altında kalan alan substrat kullanımında tüketilen oksijen ve içsel solumunla tüketilen oksijen (DO_{End}) miktarlarının toplamını vermektedir (DO_{Total}). Buradan hareketle evsel atıksu aktif çamuru için gerçekleştirilen kontrol deneyinde, DO_{Total} 171 mg/L ve DO_{End} 67 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 128 mg/L'si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır. Aynı zamanda pepton aktif çamuru için gerçekleştirilen

kontrol deneyinde, DO_{Total} 294 mg/L ve DO_{End} 168 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 141 mg/L'si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır.

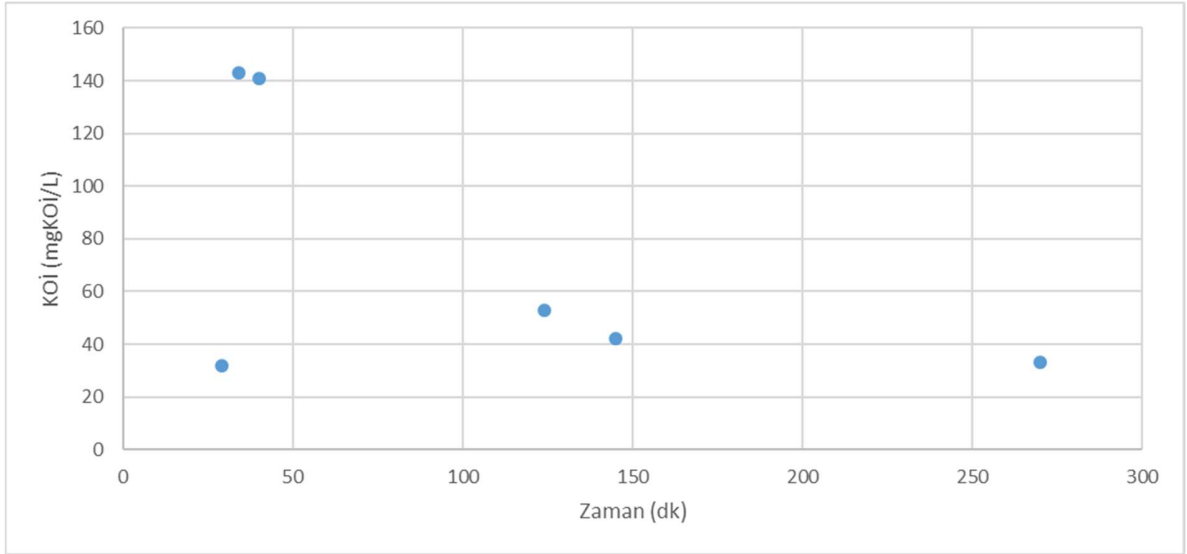
4.2.1. Akut deneyler

Akut deneylerde respirometrenin reaktörüne nitrifikasyondan kaynaklı O_2 tüketiminin önüne geçmek amacıyla 1 mg/L konsantrasyonunda nitrifikasyon inhibitörü ilave edilmiştir. Buna ek olarak, antibiyotik gideriminde efektif konsantrasyonu 2,25 mg/L olarak bilinen NFC-doplu TiO_2 respirometrenin reaktörüne substrat ile birlikte ilave edilmiştir. Evsel atıksu ile gerçekleştirilen respirometrik deneyde, F/M değeri 0,18 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 170 mg/L ve UAKM değeri 950 mg/L olarak belirlenmiştir. Pepton ile gerçekleştirilen respirometrik deneyde, F/M değeri 0,18 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 300 mg/L ve UAKM değeri 2000 mg/L olarak belirlenmiştir.

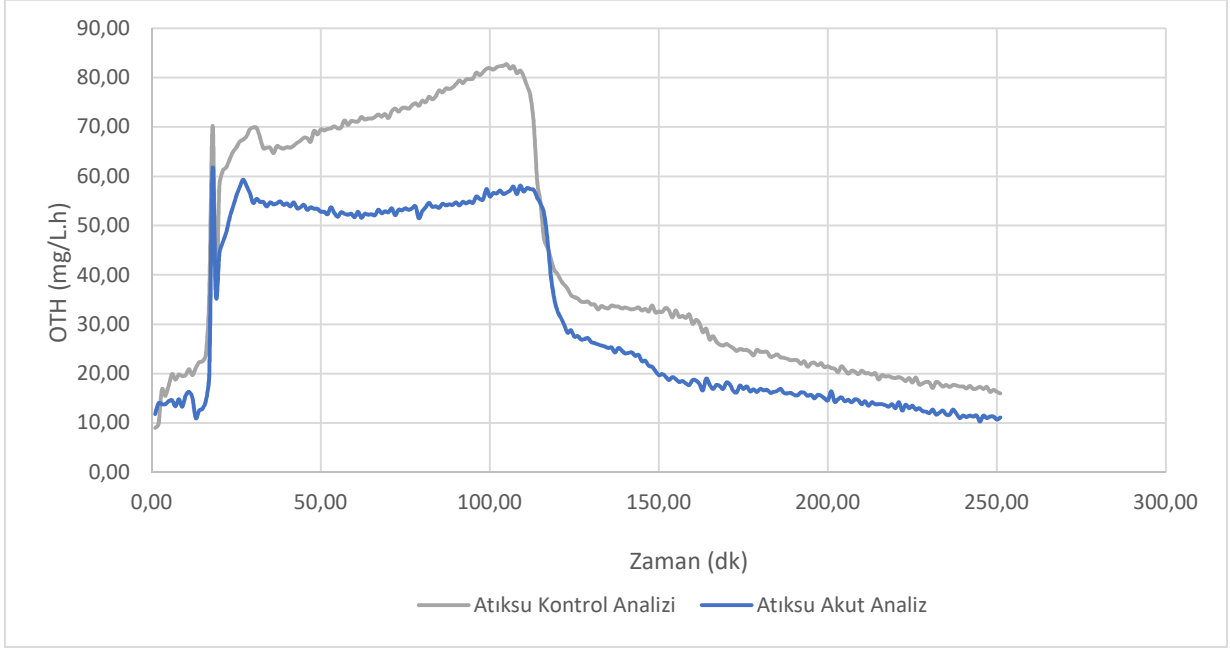
Evsel atıksu için gerçekleştirilen akut respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ grafikleri sırasıyla Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir. Maksimum O_2 tüketim hızı kontrol reaktörüne kıyasla, 82.7 mg/L.h'den 61.6 mg/L.h'ye düşmüştür. DO_{Total} 132 mg/L ve DO_{End} 48 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 94 mg/L'si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır. Kontrol deneyine kıyasla DO_{Total} 39 mg/L, DO_{End} ise 19 mg/L azalmıştır. Buradan hareketle, toplam tüketilen O_2 miktarında azalma gözlemlenmiştir. Toplam tüketilen oksijende, içsel solunumda tüketilen O_2 miktarının payı yaklaşık %3 azalmıştır. Bu bilgiler ışığında, bakteri aktivitesinde dramatik bir inhibisyonun gözlemlenmediği ancak tüketebildikleri substrat miktarının azalmış olduğu gözler önüne serilmiştir. KOİ giderim verimi, evsel atıksu biyodegradasyonu açısından değerlendirildiğinde %87,3'ten %76.8'e düşmüştür. Evsel atıksu için kontrol ve akut analiz sonucu elde edilen OTH grafikleri Şekil 4.11'de beraber verilmiştir.



Şekil 4.9. Atıksu akut analiz OTH grafiği

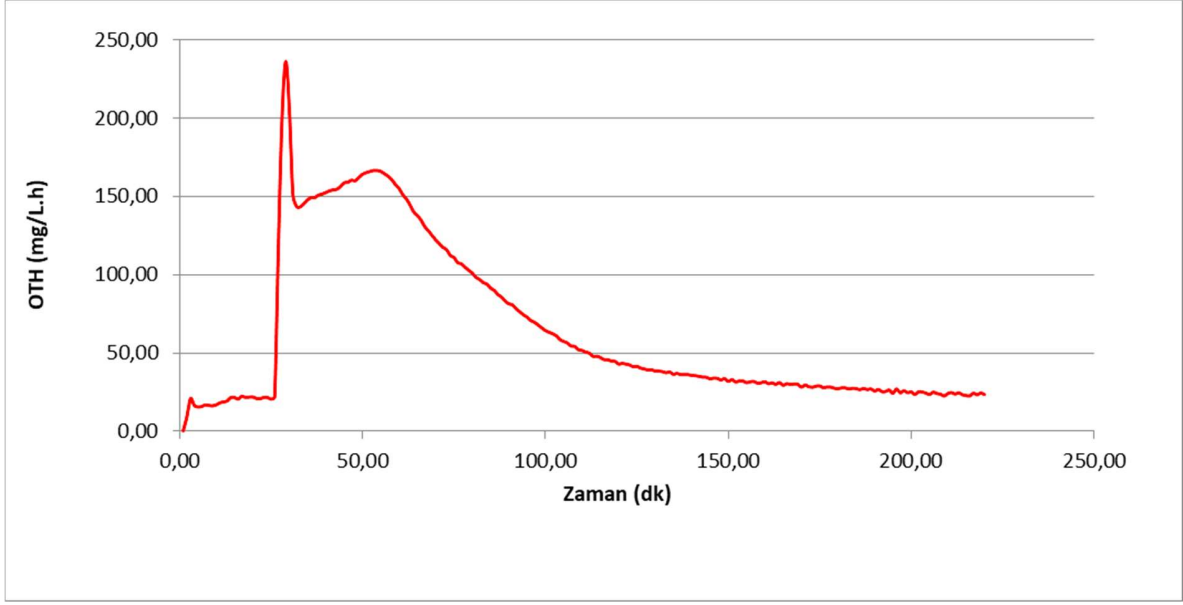


Şekil 4.10. Atıksu akut analiz KOİ grafiği

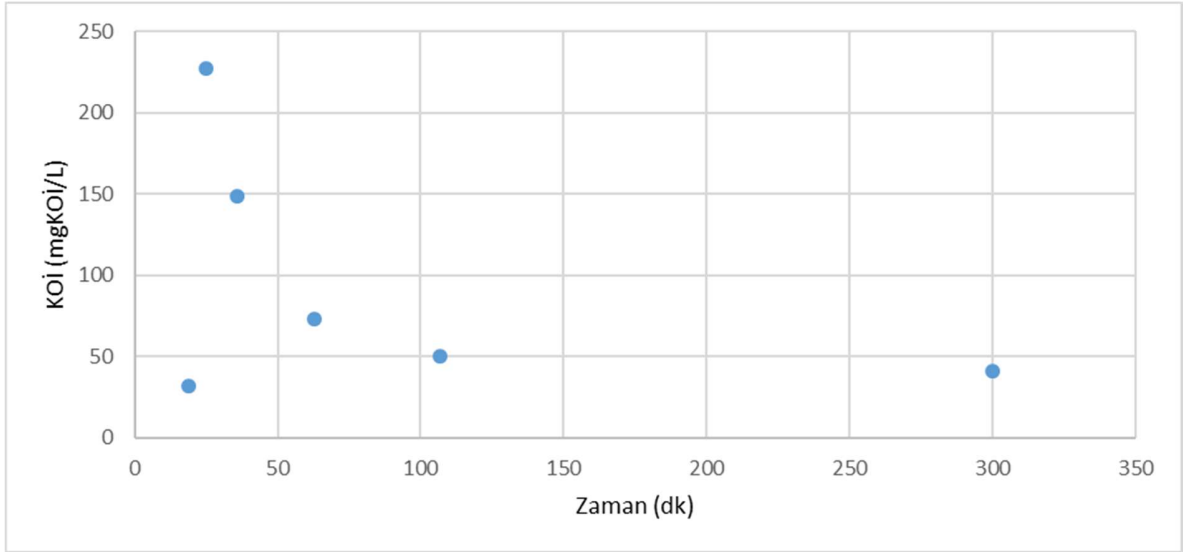


Şekil 4.11. Atıksu kontrol ve akut analiz OTH grafikleri

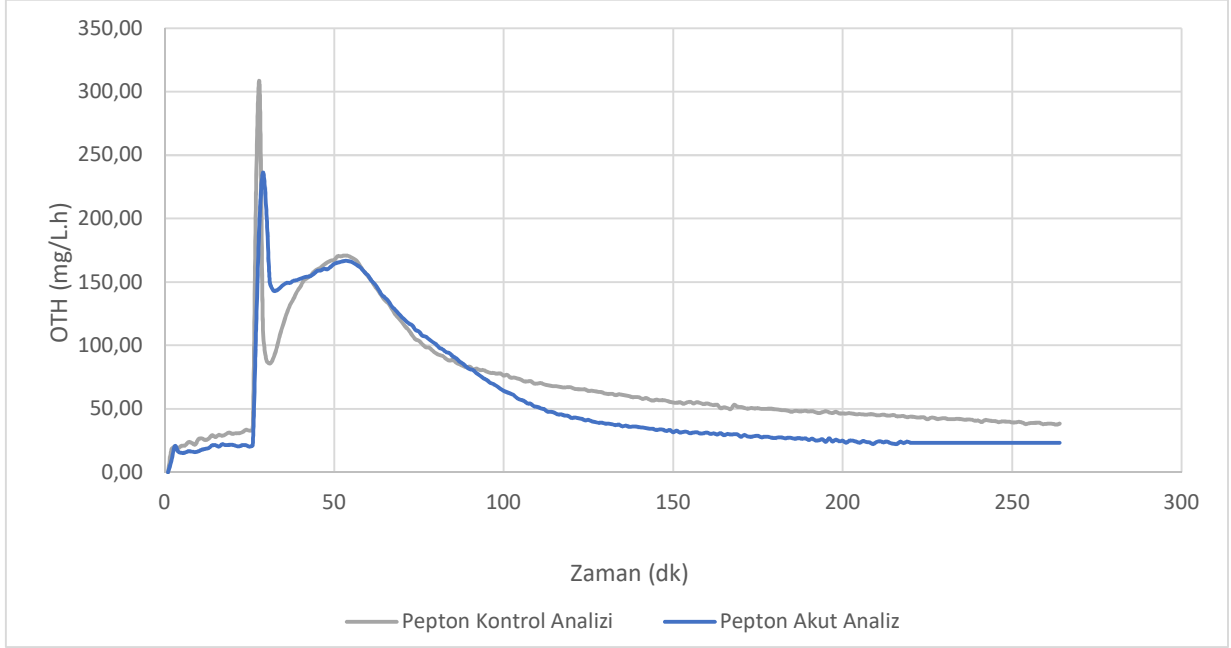
Pepton için gerçekleştirilen akut respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ grafikleri sırasıyla Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'de verilmiştir. Maksimum O_2 tüketim hızı kontrol reaktörüne kıyasla 305,6 mg/L.h'ten 236,2 mg/L.h'e düşmüştür. DO_{Total} 226 mg/L ve DO_{End} 85 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 171 mg/L'si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır. Kontrol deneyine kıyasla DO_{Total} 68 mg/L, DO_{End} ise 83 mg/L azalmıştır. Buradan hareketle, toplam tüketilen O_2 miktarında azalma gözlemlenmiştir. Toplam tüketilen oksijende, içsel solunumda tüketilen O_2 miktarının payı yaklaşık %20 azalmıştır. Bu bilgiler ışığında hem bakteri aktivitesinde hem de aktif çamurun tüketebildiği substrat miktarında azalma olduğu gözler önüne serilmiştir. KOİ giderim verimi, pepton biyodegradasyonu açısından değerlendirildiğinde ise %90'dan %81,7'ye düşmüştür. Pepton için kontrol ve akut analiz sonucu elde edilen OTH grafikleri Şekil 4.14'de beraber verilmiştir.



Şekil 4.12. Pepton akut analiz OTH grafiği



Şekil 4.13. Pepton akut analiz KOİ grafiği



Şekil 4.14. Pepton kontrol ve akut analiz OTH grafikleri

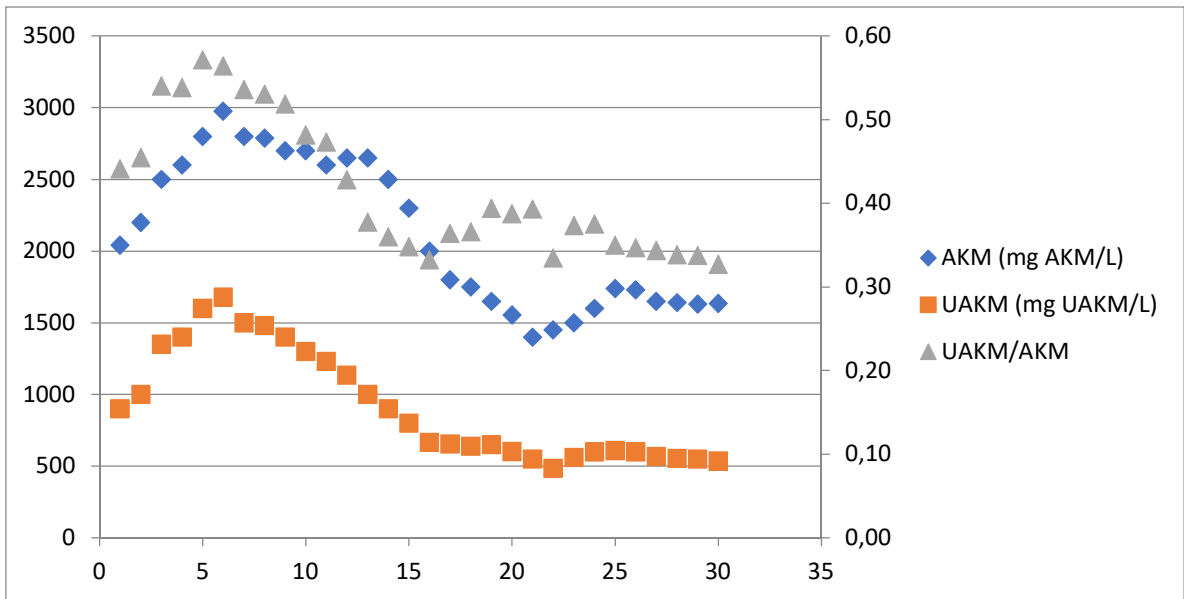
Grafiklerden de anlaşılacağı üzere, düşük konsantrasyonda olsa dahi her iki substrat kaynağı için gerçekleştirilen respirometrik analizlerde de NFC-doplu TiO_2 fotokatalisti OTH'nı az da olsa inhibe etmiştir ancak KOİ giderim verimlerine bakıldığında, reaktörlerin performansı dramatik ölçüde değişmemiştir.

4.2.2. Kronik deneyler

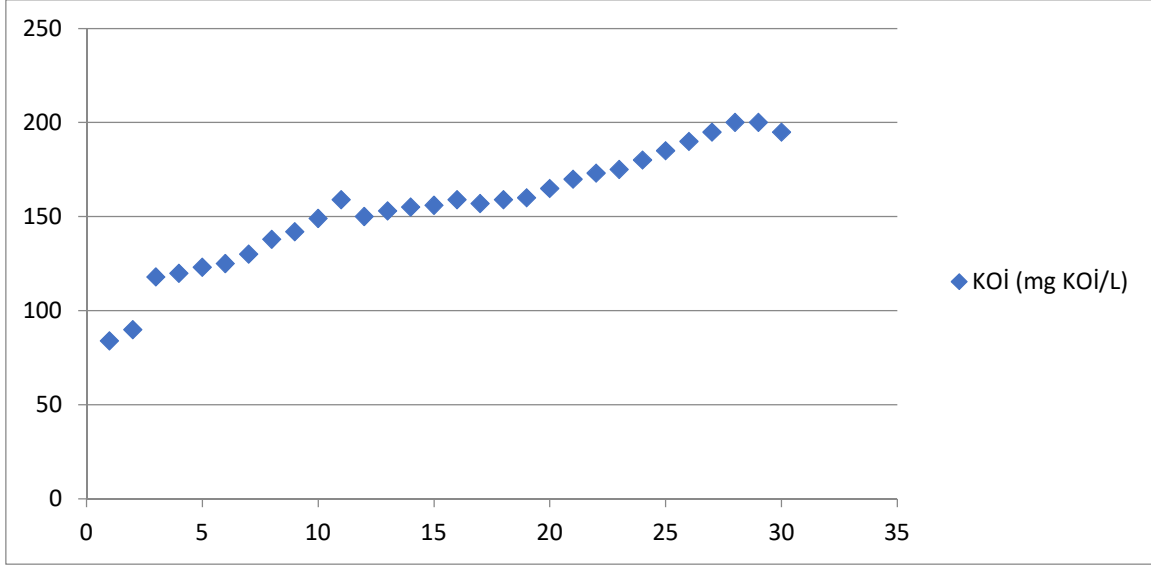
NFC-doplu TiO_2 fotokatalistinin evsel atıksu ve pepton biyodegradasyonu üzerindeki kronik etkisini belirleme amacı ile iki farklı doldur-boşalt reaktör kurulmuştur. Reaktörler 30 günlük süre zarfında F/M oranı 0.35 olacak şekilde seçili substrat kaynağına ilave olarak 2,25 mg/L konsantrasyonunda NFC-doplu TiO_2 fotokatalisti ile beslenmiştir. 30 gün boyunca reaktör performansları, AKM ve UAKM parametrelerinin yanı sıra reaktör çıkış suyu KOİ parametresi izlenerek değerlendirilmiştir. 30 gün sonunda evsel atıksu reaktöründe UAKM 535 mg/L ve AKM 1635 mg/L olarak, pepton reaktöründe UAKM 840 mg/L ve AKM 1487 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu değerlere göre evsel atıksu reaktöründe UAKM/AKM değeri %32, pepton reaktöründe ise %56'tır. 30 gün sonunda reaktörlerde çıkış suyu KOİ parametresi değerleri evsel atıksu ve pepton reaktörü için sırasıyla 170-175 mg/L ve 115-120 mg/L olarak ölçülmüştür. 30 günlük süre sonunda,

her iki reaktör için de UAKM/AKM yani canlılık oranında ve KOİ giderim veriminde düşüş gözlemlenmiştir. 30. gün sonunda her iki reaktörden de aktif çamur numunesi alınarak kronik etkiyi belirlemek adına respirometrik analiz gerçekleştirilmiştir.

Aktif çamurun evsel atıksu ile beraber fotokatalistle beslenmesi sırasında ölçülen 30 günlük AKM, UAKM değerleri ve KOİ giderim verimi sırasıyla Şekil 4.15 ve Şekil 4.16’te gösterilmiştir. 30 günlük süre boyunca UAKM/AKM oranı evsel atıksu reaktöründe %50’den %32’ye, KOİ giderim verimi ise %87’den %9’a düşmüştür. UAKM/AKM oranındaki azalma ilk 15 gün oldukça hızlı gerçekleşmiştir. 15 günün ardından devam eden süreçte daha yavaş bir azalma söz konusudur. Canlılık oranındaki bu azalma ilk 15 gün AKM konsantrasyonunun nispeten sabit kalmasına karşın UAKM konsantrasyonunun azalmasından kaynaklanmaktadır. KOİ giderim verimi ise canlılık oranının azalmasını takiben ilk 15 günün ardından daha hızlı trende geçmiştir.

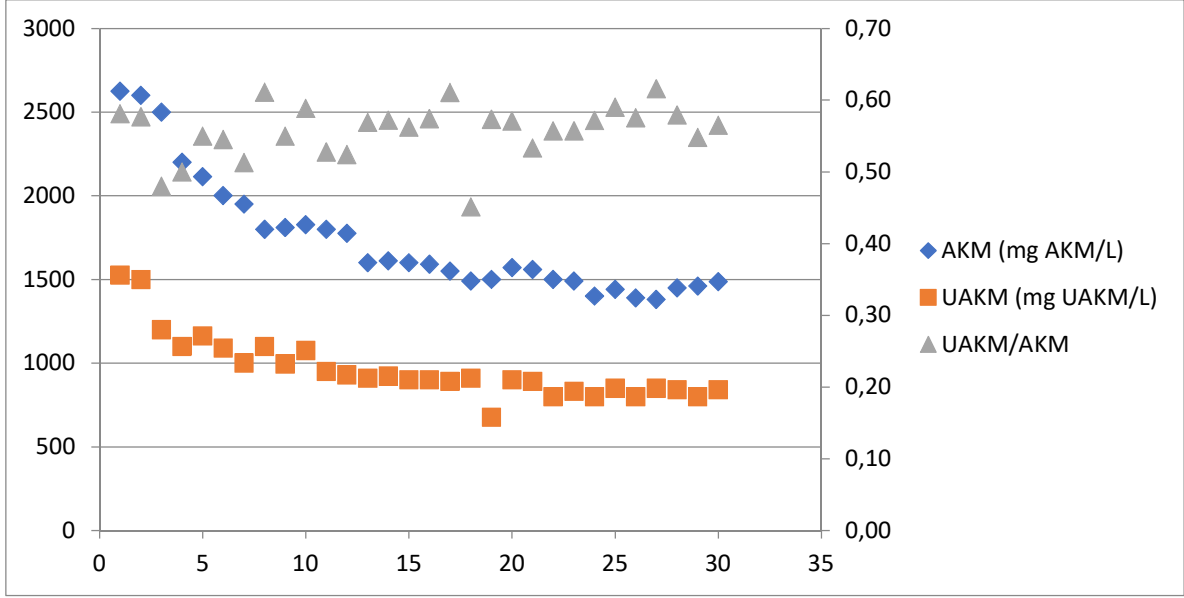


Şekil 4.15. Evsel atıksu için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri

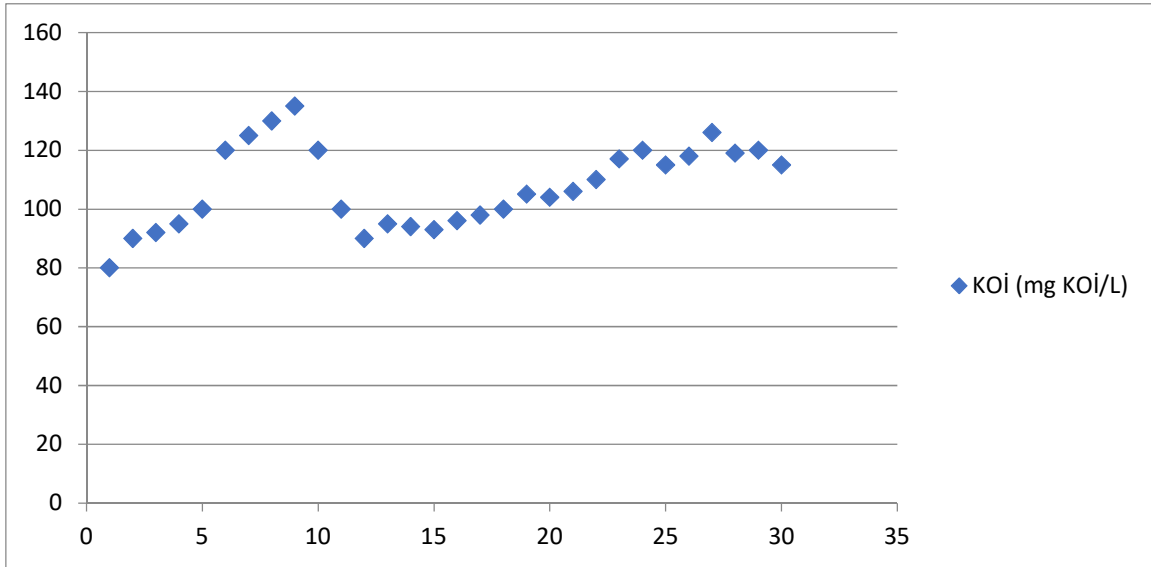


Şekil 4.16. Evsel atıksu için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi

Aktif çamurun pepton ile beraber fotokatalistle beslenmesi sırasında ölçülen 30 günlük AKM, UAKM değerleri ve KOİ giderim verimi sırasıyla Şekil 4.17 ve Şekil 4.18’de gösterilmiştir. 30 günlük süre boyunca UAKM/AKM oranı pepton reaktöründe %60’tan %56’ya, KOİ giderimi ise %90’dan %60’a düşmüştür. UAKM/AKM oranında 30 günlük kronik besleme zarfında dramatik bir değişim gözlemlenmemiştir. Bunun nedeni, UAKM ve AKM konsantrasyonlarının birbirine paralel olarak azalmasıdır. Canlılık oranında büyük bir değişim gözlemlenmemesine karşın, KOİ giderim verimi ilk 10 günlük besleme süresince hızlı bir şekilde azalmıştır. KOİ giderim verimindeki azalma ilk 10 günün ardından daha yavaş seyretmiştir.



Şekil 4.17. Pepton için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri

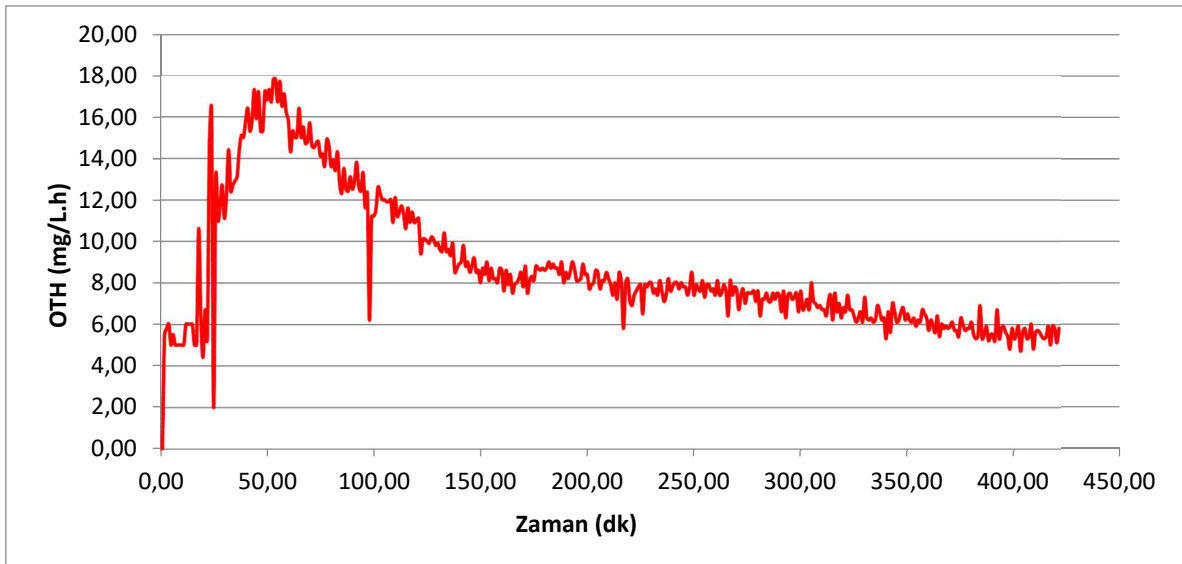


Şekil 4.18. Pepton için 30 günlük fotokatalist beslemesi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi

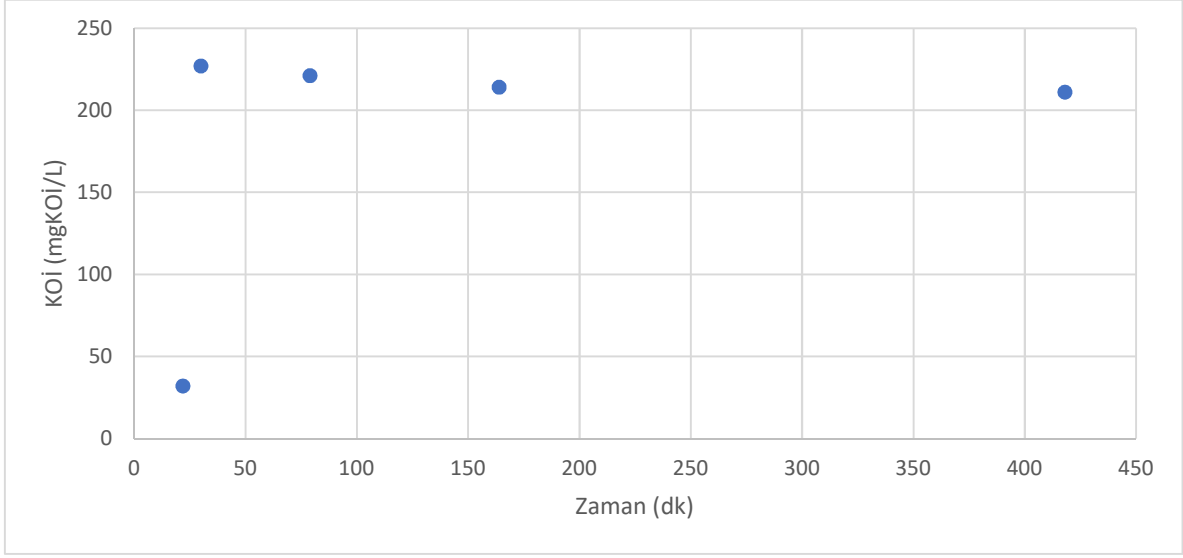
Kronik deneylerde respirometrenin reaktörüne nitrifikasyondan kaynaklı O₂ tüketiminin önüne geçmek amacıyla 1 mg/L konsantrasyonunda nitrifikasyon inhibitörü ilave edilmiştir. Buna

ek olarak, antibiyotik gideriminde efektif konsantrasyonu 2,25 mg/L olarak bilinen NFC-doplu TiO₂ respirometrenin reaktörüne substrat ile birlikte ilave edilmiştir. Evsel atıksu ile gerçekleştirilen kronik deneyde, F/M değeri 0,24 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 300 mg/L ve UAKM değeri 1222 mg/L olarak belirlenmiştir. Pepton ile gerçekleştirilen respirometrik deneyde, F/M değeri 0,15 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 225 mg/L ve UAKM değeri 1500 mg/L olarak belirlenmiştir.

Evsel atıksu biyodegradasyonunun kronik inhibisyonunu belirlemek için gerçekleştirilen respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ grafikleri sırasıyla Şekil 4.19 ve Şekil 4.20’de verilmiştir. DO_{Total} 59 mg/L ve DO_{End} 40 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 30 mg/L’si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır. Kontrol deneyine kıyasla DO_{Total} 113 mg/L, DO_{End} ise 27 mg/L azalmıştır. Buradan hareketle, toplam tüketilen O₂ miktarında oldukça büyük bir azalma gözlemlenmiştir. Toplam tüketilen oksijende, içsel solunumda tüketilen O₂ miktarının payı yaklaşık %30 artmıştır. Bu bilgiler ışığında, bakteri aktivitesinin devam ettiği ancak substrat miktarının neredeyse tamamının biyodegrade edilemediği görülmüştür. KOİ giderim verimi, evsel atıksu biyodegradasyonu açısından değerlendirildiğinde kontrol deneyine göre %87,3’ten %7’ye düşmüştür.

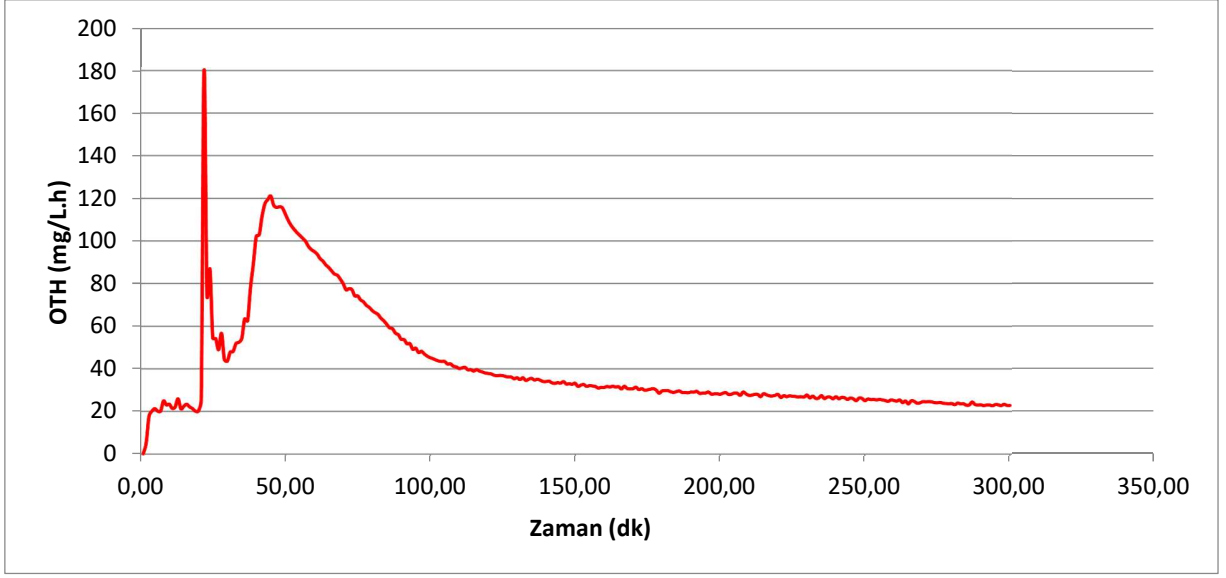


Şekil 4.19. Atıksu kronik analiz OTH grafiği

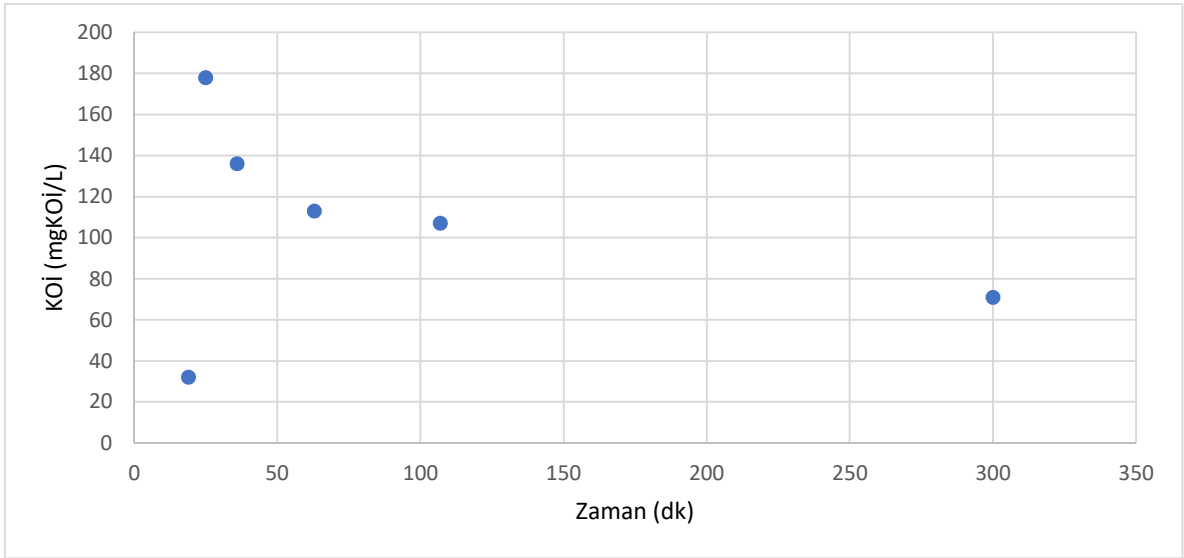


Şekil 4.20. Atıksu kronik analiz KOİ grafiği

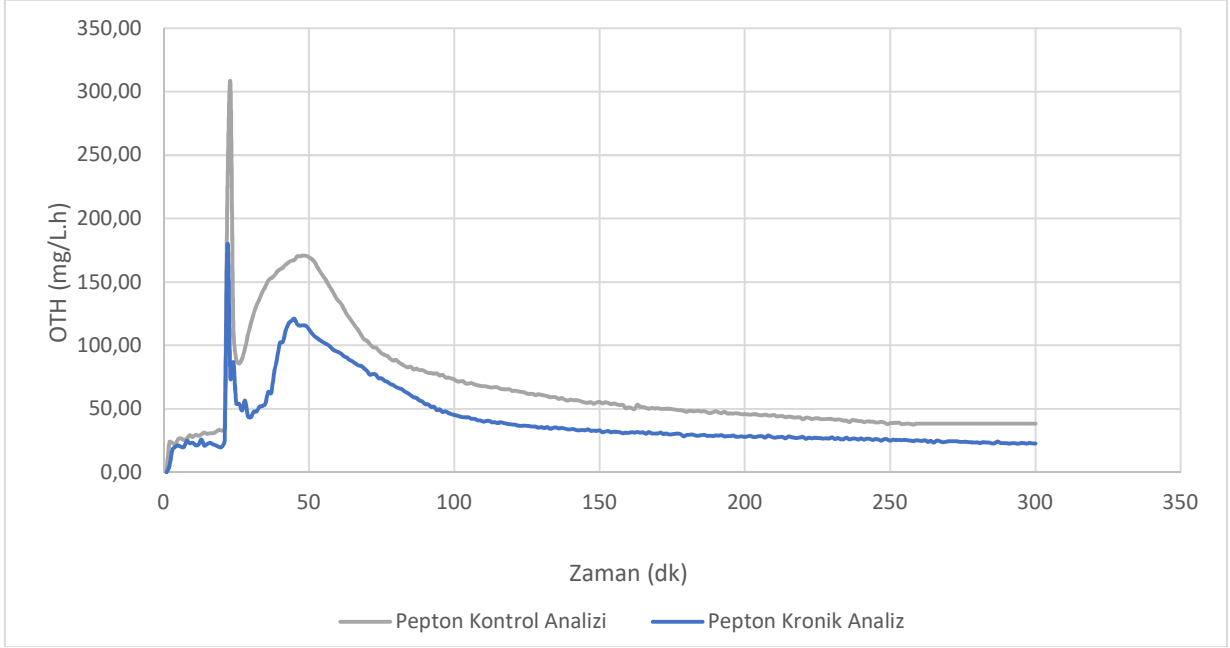
Pepton biyodegradasyonunun kronik inhibisyonunu belirlemek için gerçekleştirilen respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ grafikleri sırasıyla Şekil 4.21 ve Şekil 4.22’de verilmiştir. DO_{Total} 200 mg/L ve DO_{End} 113 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 102 mg/L’si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır. Kontrol deneyine kıyasla DO_{Total} 94 mg/L, DO_{End} ise 55 mg/L azalmıştır. Buradan hareketle, toplam tüketilen O_2 miktarında oldukça büyük bir azalma gözlemlenmiştir. Toplam tüketilen oksijende, içsel solunumda tüketilen O_2 miktarının payı hemen hemen aynı kalmıştır. KOİ giderim verimi, pepton biyodegradasyonu açısından değerlendirildiğinde kontrol deneyine göre %90’dan %60’a düşmüştür. Pepton için gerçekleştirilen kontrol ve kronik analiz sonucu elde edilen OTH grafikleri Şekil 4.23’de beraber verilmiştir.



Şekil 4.21. Pepton kronik analiz OTH grafiği



Şekil 4.22. Pepton kronik analiz KOİ grafiği



Şekil 4.23. Pepton kontrol ve kronik analiz OTH grafikleri

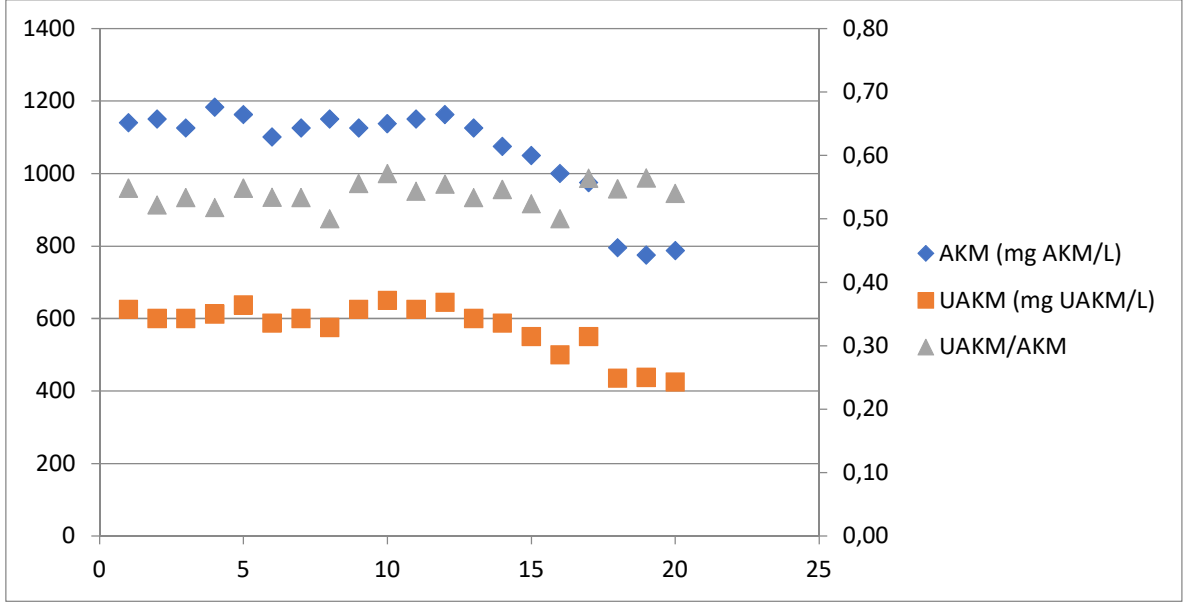
Evsel atıksu biyodegradasyonunda aktif çamur NFC-doplu TiO_2 fotokatalistinden pepton biyodegradasyonuna göre oldukça yüksek oranda inhibe olmuştur. Ancak bu inhibisyon aynı zamanda evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticilere de atfedilebilir. Atıksu içeriğinde yalnızca fotokatalist olduğu varsayılırsa pepton biyodegradasyonunda olduğu gibi toplam KOİ giderim verimi %30 azalmış olacaktır. Bu azalma yüzdesi çıkış suyu KOİ standartlarını sağlamak açısından nispeten çok yüksek değildir. Buradan hareketle, atıksuyun içerdiği mikrokirletici çeşitliliği ve konsantrasyonu konvansiyonel aktif çamur ve ileri oksidasyon prosesini barındıran kombine arıtma sistemlerinde oldukça büyük bir öneme sahiptir. Buna ek olarak uygulanacak potansiyel kombine arıtma tesisinde, evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticiler ileri oksidasyon prosesi ile giderileceğinden, bu mikrokirleticiler aktif çamur için inhibisyon kaynağı olmaktan çıkacaktır. Bu durumda, pepton biyodegradasyonunda gözlemlendiği gibi, fotokatalist KOİ giderim verimini tamamen inhibe etmeyecektir.

4.2.3. Yenilenebilirlik deneyleri

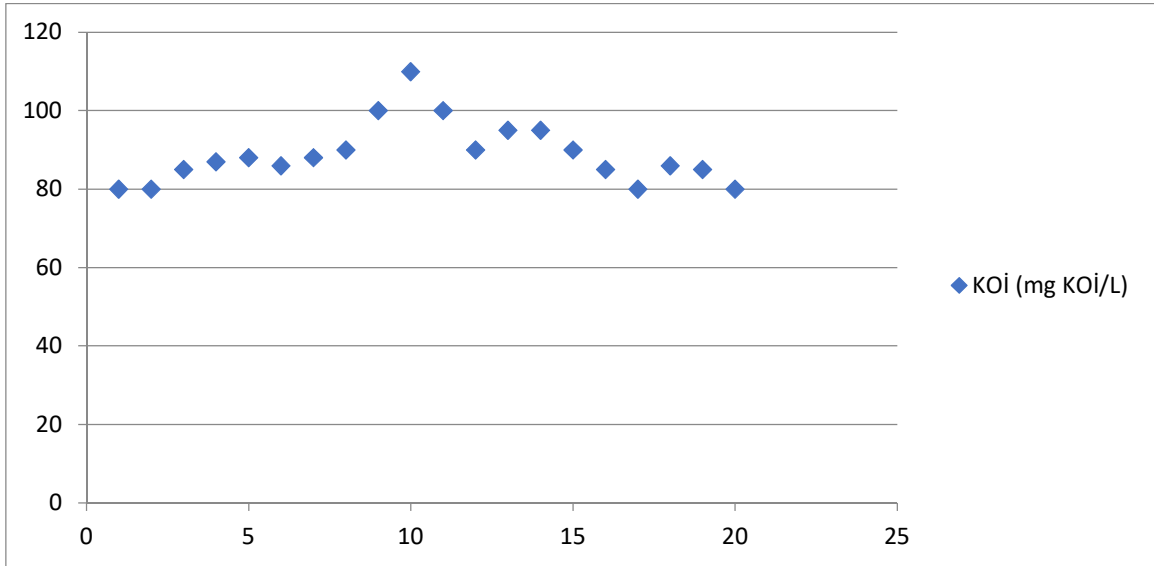
NFC-doplu TiO_2 fotokatalistin evsel atıksu ve pepton biyodegradasyonu üzerindeki inhibisyon etkinin belirlenmesinin ardından 20 gün süre zarfında reaktörlere fotokatalist beslemesi

durdurulmuş ve sadece seçili substrat kaynağı ile beslenmiştir. Böylece inhibitör etki sonunda mikroorganizmaların performanslarının hangi ölçüde düzeldiği gözlemlenmiştir. 20 gün sonunda evsel atıksu reaktöründe UAKM 425 mg/L ve AKM 788 mg/L olarak, pepton reaktöründe UAKM 725 mg/L ve AKM 1450 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu değerlere göre evsel atıksu reaktöründe UAKM/AKM değeri %54, pepton reaktöründe ise %50'dir. 20 gün sonunda reaktörlerde çıkış suyu KOİ parametresi değerleri evsel atıksu ve pepton reaktörü için sırasıyla 135-140 mg/L ve 50-55 mg/L olarak ölçülmüştür. 20 gün sonunda KOİ giderimi, evsel atıksu biyodegradasyonu açısından değerlendirildiğinde verim %85, pepton biyodegradasyonu açısından değerlendirildiğinde ise %12'dir.

Aktif çamurun evsel atıksu ile beraber fotokatalist ilavesi olmaksızın beslenmesi sırasında ölçülen 20 günlük AKM, UAKM değerleri ve KOİ giderim verimi sırasıyla Şekil 4.24 ve Şekil 4.25'de gösterilmiştir. 20 günlük süre boyunca UAKM/AKM oranı evsel atıksu reaktöründe %50 civarında sabit kalmıştır, KOİ giderim verimi ise %12 ve %7 arasında kalmıştır. Evsel atıksu ile beslenemeyen aktif çamurda KOİ giderim verimi açısından herhangi bir iyileşme gözlemlenmemiştir. Aklimasyon sonuçlarına göre evsel atıksu biyodegradasyonunda aktif çamurun iyileşemediği gözlemlenmiştir. Bunun nedeni ise fotokatalist beslemesinin durdurulmasına karşın, evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticilerden de aktif çamurun etkilenmesidir.

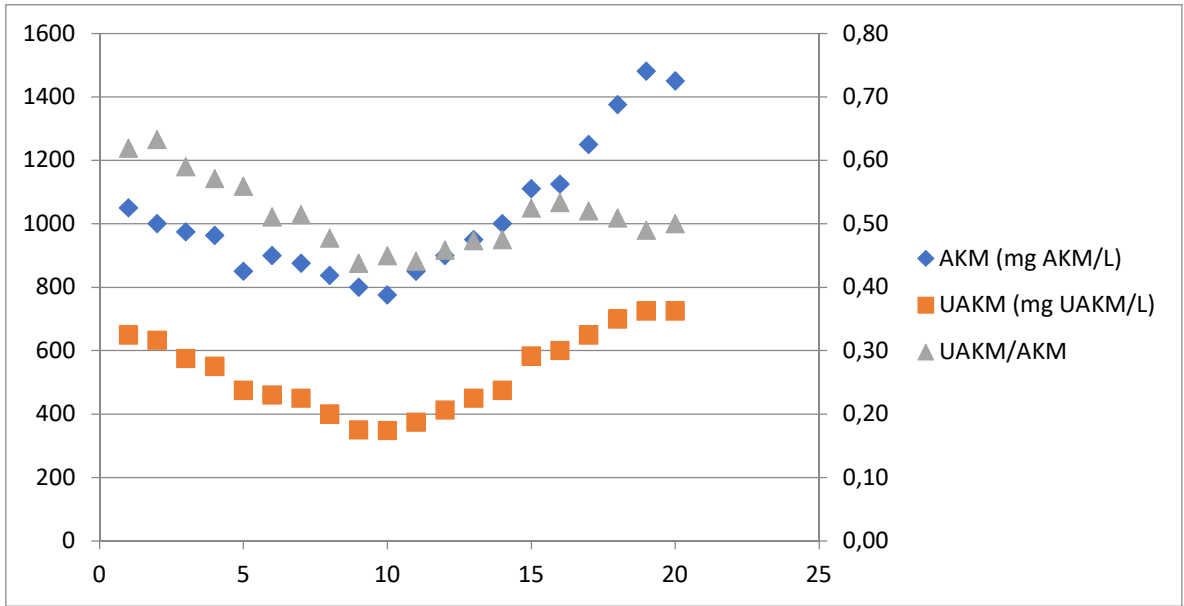


Şekil 4.24. Eysel atıksu için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri

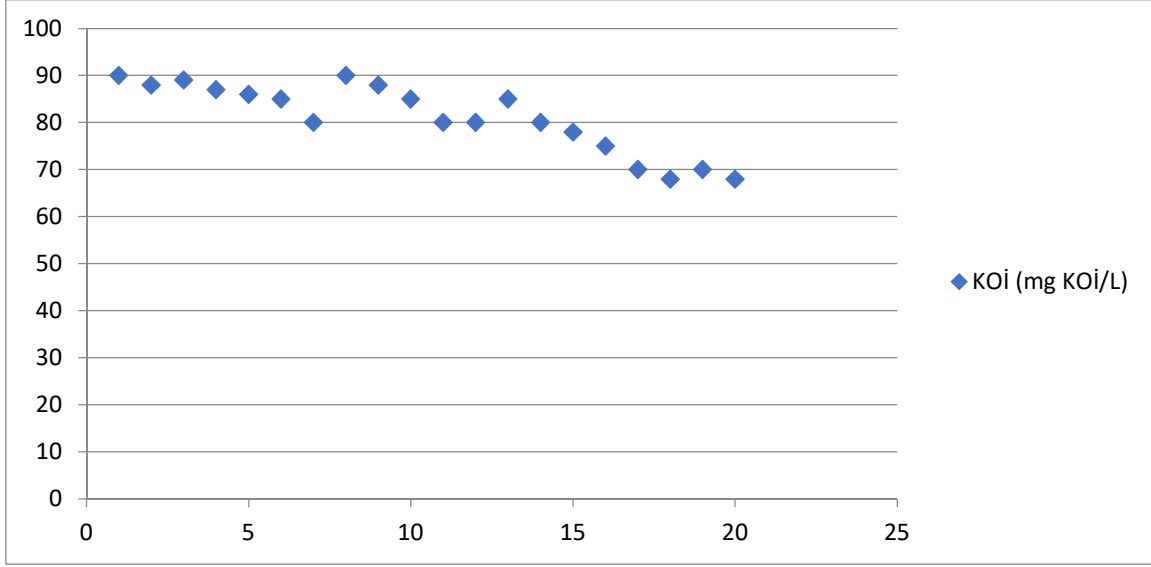


Şekil 4.25. Eysel atıksu için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi

Aktif çamurun pepton ile beraber fotokatalistle beslenmesi sırasında ölçülen 20 günlük AKM, UAKM değerleri ve KOİ giderim verimi sırasıyla Şekil 4.26 ve Şekil 4.27’de gösterilmiştir. 30 günlük süre boyunca UAKM/AKM oranı pepton reaktöründe %60’lardan %50 civarına düşmüştür, KOİ giderimi ise %60’tan %79’a yükselmiştir. Aktif çamur canlılığında %10’luk bir azalma gözlemlenmesine karşın, KOİ giderim verimi oldukça yükselmiştir. 20 günlük sürenin ilk 10 gününde UAKM/AKM oranı AKM ve UAKM konsantrasyonları azalmaya devam etmiştir ancak AKM ve UAKM konsantrasyonları ilk 10 günün ardından artışa geçmiştir. KOİ giderim verimi AKM ve UAKM konsantrasyonlarının yükselmesini takiben ilk 10 günün ardından artışa geçmiştir. Aklimasyon sonuçlarına göre pepton biyodegradasyonunda aktif çamurun iyileşebildiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.26. Pepton için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen AKM ve UAKM parametreleri

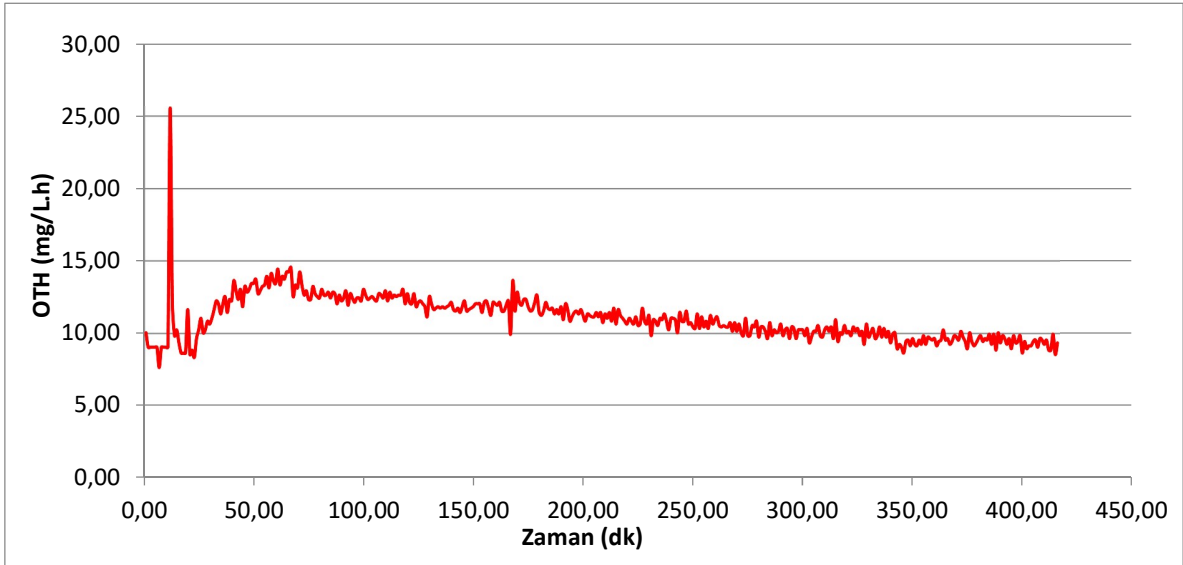


Şekil 4.27. Pepton için 20 günlük yenilenebilirlik süresi boyunca izlenen çıkış suyu KOİ parametresi

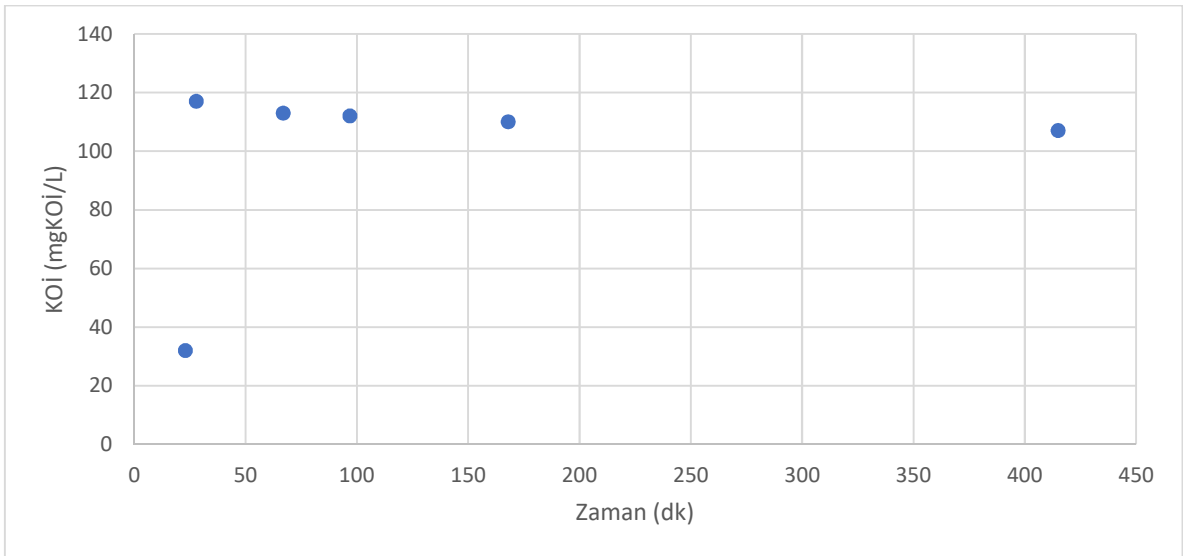
20 günün sonunda her iki reaktörden aktif çamur numunesi alınmış ve yenilenebilirliğin gözlemlenmesi için respirometrik analiz gerçekleştirilmiştir. Yenilenebilirlik deneylerinde respirometrenin reaktörüne nitrifikasyondan kaynaklı O_2 tüketiminin önüne geçmek amacıyla 1 mg/L konsantrasyonunda nitrifikasyon inhibitörü ilave edilmiştir. Evsel atıksu ile gerçekleştirilen yenilenebilirlik deneyinde, F/M değeri 0,18 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 175 mg/L ve UAKM değeri 975 mg/L olarak belirlenmiştir. Pepton ile gerçekleştirilen respirometrik deneyde, F/M değeri 0,15 mg KOİ/mg UAKM, KOİ değeri 195 mg/L ve UAKM değeri 1300 mg/L olarak belirlenmiştir.

Evsel atıksu biyodegradasyonunun ne ölçüde iyileştiğini belirlemek için gerçekleştirilen respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ grafikleri sırasıyla Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'da verilmiştir. DO_{Total} 76 mg/L ve DO_{End} 64 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 49 mg/L'si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır. Kronik deneye kıyasla DO_{Total} 10 mg/L, DO_{End} ise 24 mg/L artmıştır. Buradan hareketle, toplam tüketilen O_2 miktarında önemli bir artış gözlemlenmemiştir. Toplam tüketilen oksijende, içsel solunumda tüketilen O_2 miktarının payı yaklaşık %20 artmıştır. Bu bilgiler ışığında, bakteri aktivitesinde iyileşme olduğu görülmesine karşın KOİ giderim veriminde bir iyileşme gözlemlenmemiş olup giderim verimi

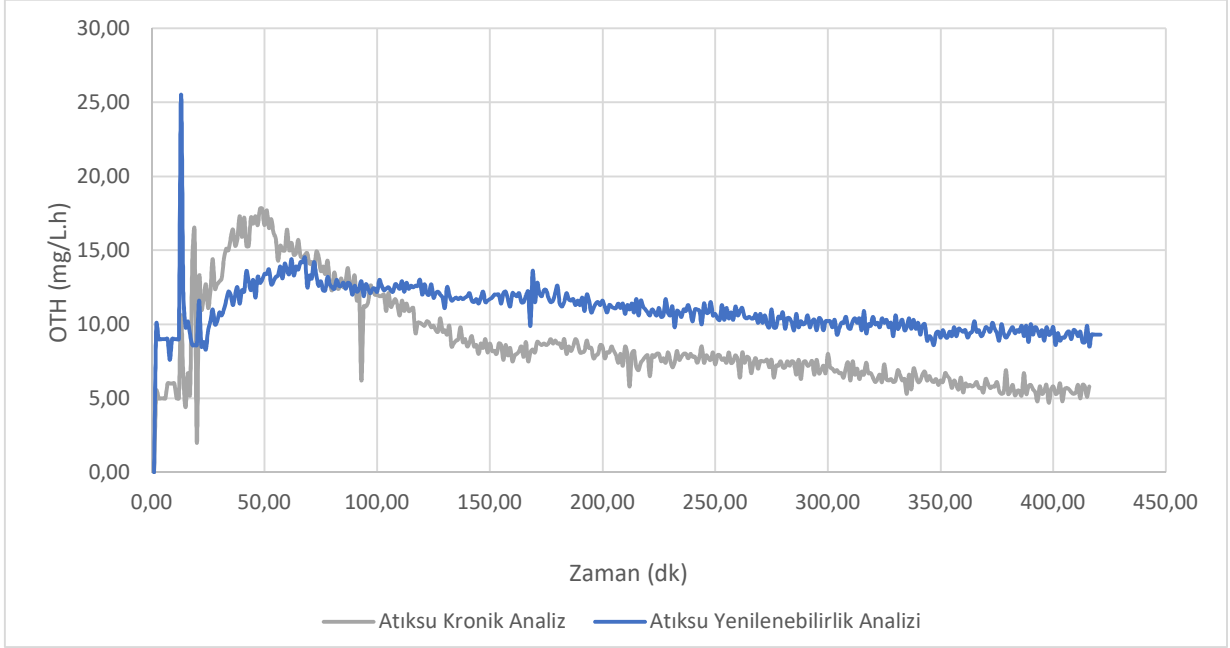
%8'dir. Evsel atıksu için gerçekleştirilen kronik ve yenilenebilirlik analizi sonucu elde edilen OTH grafikleri Şekil 4.30'da beraber verilmiştir.



Şekil 4.28. Atıksu yenilenebilirlik analizi OTH grafiği

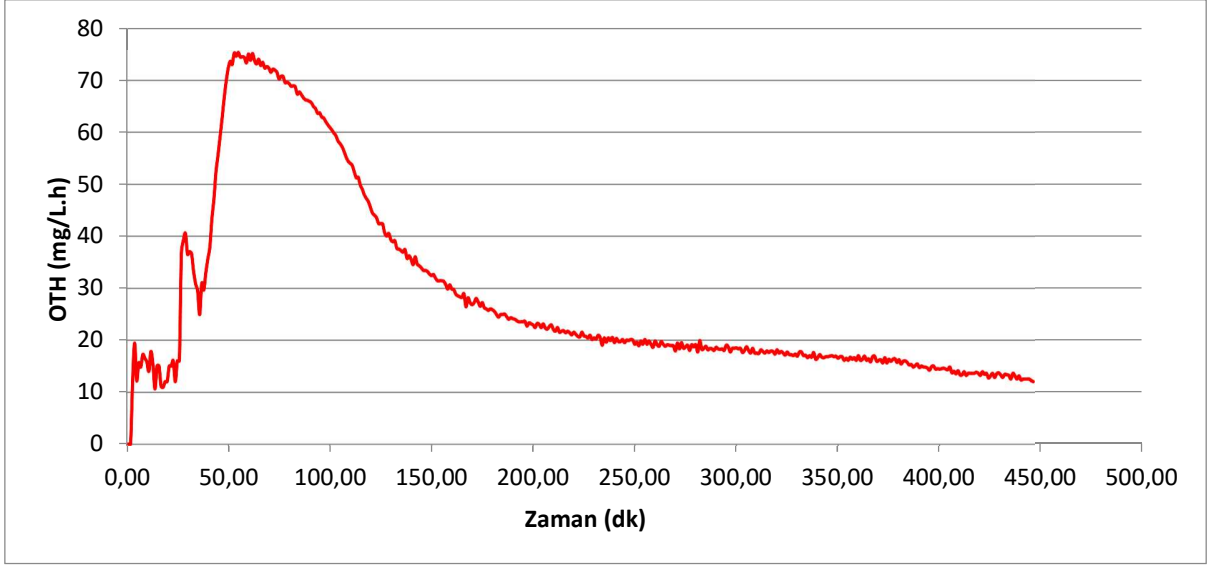


Şekil 4.29. Atıksu yenilenebilirlik analizi KOİ grafiği

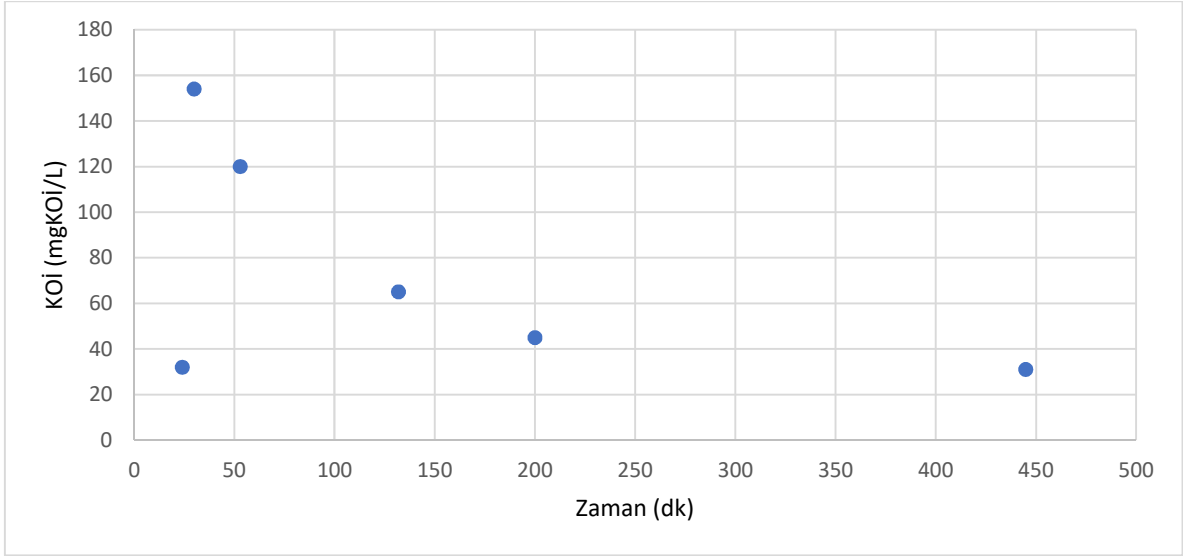


Şekil 4.30. Atıksu kronik ve yenilenebilirlik analizi OTH grafikleri

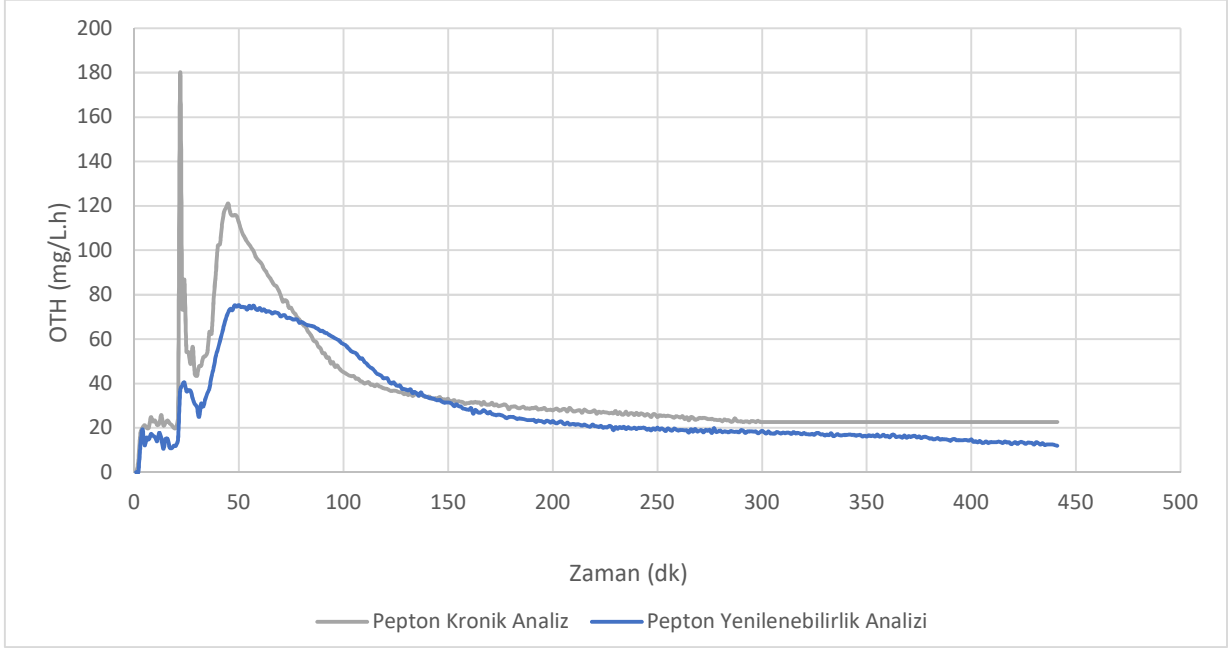
Pepton biyodegradasyonunun ne ölçüde iyileştiğini belirlemek için gerçekleştirilen respirometrik deney sonucu elde edilen OTH ve KOİ grafikleri sırasıyla Şekil 4.31 ve Şekil 4.32’de verilmiştir. DO_{Total} 205 mg/L ve DO_{End} 89 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tüketilen toplam oksijenin 105 mg/L’si kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunda kullanılmıştır. Kronik deneye kıyasla DO_{Total} sabit kalmış, DO_{End} ise 24 mg/L azalmıştır. Toplam tüketilen oksijende, içsel solunumda tüketilen O_2 miktarının payı %13 artmıştır. Bu bilgiler ışığında, toplam tüketilen O_2 miktarındaki artışın substrat biyodegradasyonunda kullanıldığı görülmüştür. KOİ giderim verimi, pepton biyodegradasyonu açısından değerlendirildiğinde kronik deneye göre %60’tan %79’a yükselmiştir. Pepton için gerçekleştirilen kronik ve yenilenebilirlik analizi sonucu elde edilen OTH grafikleri Şekil 4.33’de beraber verilmiştir.



Şekil 4.31. Pepton yenilenebilirlik analizi OTH grafiği



Şekil 4.32. Pepton yenilenebilirlik analizi KOİ grafiği



Şekil 4.33. Pepton kronik ve yenilenebilirlik analizi OTH grafikleri

Pepton reaktörüne fotokatalist beslemesi durdurulduğunda 20 günlük süre zarfında aktif çamur performansı büyük ölçüde iyileşmiştir. Evsel atıksuda iyileşme gözlemlenmemesinin sebebi evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticilerden de aktif çamurun etkilenmesidir. Uygulanacak bir kombine sistemde, ileri oksidasyon prosesi ile evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticiler giderileceğinden, sadece konvansiyonel sistemle arıtma ihtiyacı doğduğunda ileri oksidasyon prosesi devre dışı bırakılabilir ve bu durumda aktif çamurun biyodegradasyon performansı iyileşecektir.

4.2.4. Toplam tüketilen O₂ miktarındaki inhibisyonun hesaplanması ve sonuçların yorumlanması

Evsel atıksu ve pepton biyodegradasyonunu değerlendirmek adına yürütülen respirometrik analizler sonucu elde edilen OTH grafiklerinden, seçili dakikalarda toplam tüketilen O₂ miktarı ve toplam tüketilen O₂ miktarındaki inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır. Ancak seçilen bu zamanlar her bir deney için farklı ayrışma kinetiklerine denk gelebilmektedir. OTH grafiğindeki ilk kambur kolay ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunu, ilk kamburdan sonra gelen eğri ise yavaş ayrışabilir KOİ biyodegradasyonunu yansıtmaktadır.

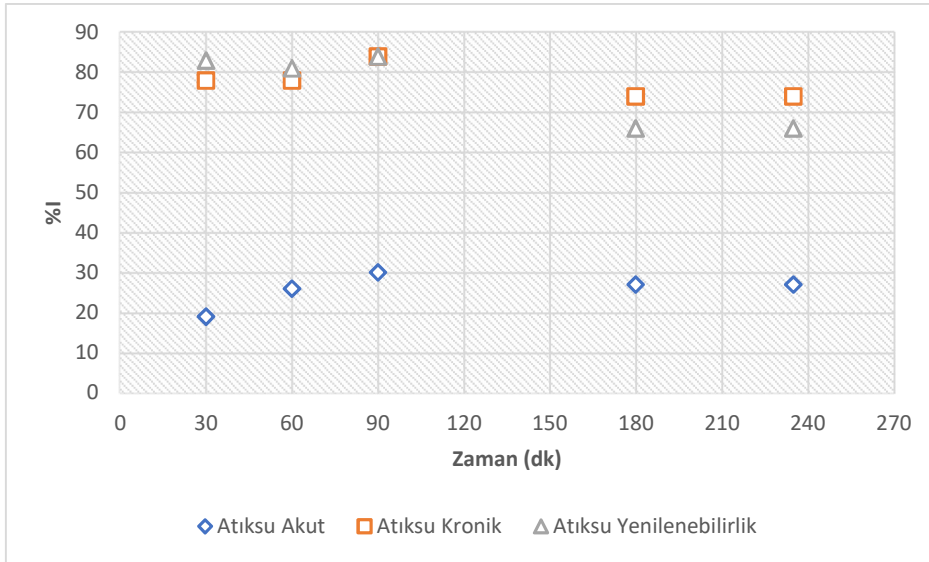
Evsel atıksu için seçili zamanlarda hesaplanan %I değerleri aynı ayrışma kinetiklerini yansıtmaktadır. Pepton için seçili zamanlarda hesaplanan %I değerleri, her bir deney için farklı ayrışma kinetiklerini yansıtmaktadır. Bu nedenle pepton biyodegradasyonu üzerindeki inhibisyonun hesaplanmasında, farklı zamanlara denk gelen kolay ayrışabilir KOİ ve yavaş ayrışabilir KOİ fraksiyonları için %I değerleri hesaplanmıştır. Evsel atıksu için hesaplanan inhibisyon değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Evsel atıksu için toplam tüketilen O₂ miktarı ve yüzde inhibisyon değerleri

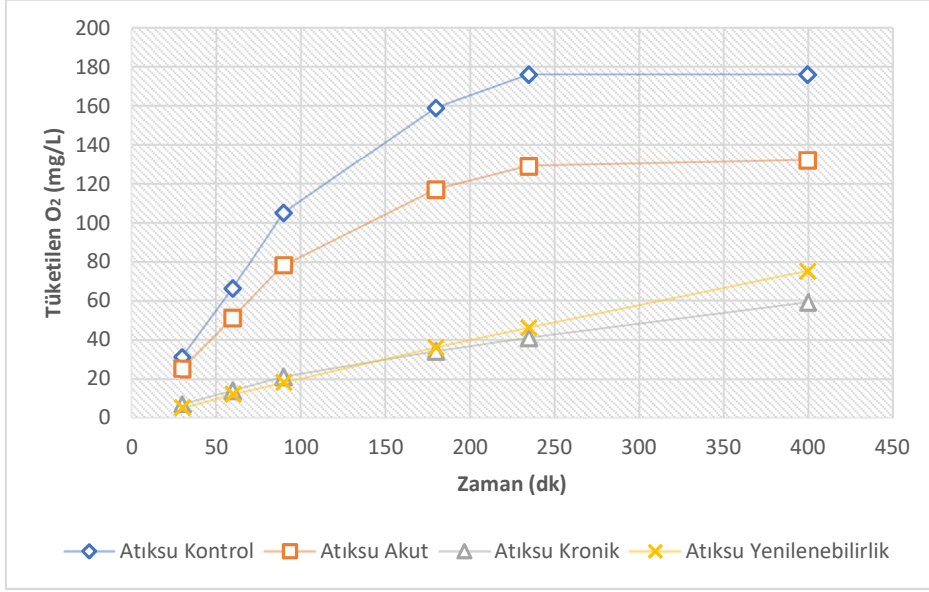
| Hesaplama Zamanı (dk) | Tüketilen O ₂ (mg/L) | | | | | | İnhibisyon Yüzdesi (%I) | | | | |
|-------------------------|---------------------------------|----|-----|-----|-----|-----|-------------------------|----|----|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 | 180 | 235 | 400 | 30 | 60 | 90 | 180 | 235 |
| Atıksu Kontrol | 31 | 66 | 105 | 159 | 176 | 176 | - | - | - | - | - |
| Atıksu Akut | 25 | 51 | 78 | 117 | 129 | 132 | 19 | 26 | 30 | 27 | 27 |
| Atıksu Kronik | 7 | 14 | 21 | 34 | 41 | 59 | 78 | 78 | 84 | 74 | 74 |
| Atıksu Yenilenebilirlik | 5 | 12 | 18 | 36 | 46 | 75 | 83 | 81 | 84 | 66 | 66 |

Çizelgeden de anlaşılacağı üzere, aktif çamur mikroorganizmaları evsel atıksu biyodegradasyonunda fotokatalist maruziyet süresinin artması ile inhibe olmuşlardır. Akut inhibisyon, respirometrik analizin ilk 90 dakikasında her 30 dakikada %10’luk bir artış göstermesine karşın ilerleyen dakikalarda sabit kalmıştır. 30 günlük kronik maruziyetin ardından ise inhibisyon oldukça yükselmiştir. Respirometrik analizin ilk 60 dakikasında yaklaşık %80 civarında sabit kalmış, daha sonra %10 azalarak sabit devam etmiştir. 20 gün boyunca fotokatalist beslemesi kesilmesinin ardından, respirometrik analizin ilk 90 dakikasında inhibisyon kronik analize kıyasla yaklaşık %10 civarında artış göstererek sabit devam etmiştir. Buna karşın ilerleyen dakikalarda inhibisyon yaklaşık %20 oranında azalarak sabit devam etmiştir. Seçili zaman aralıklarında gözlemlenen farklı inhibisyon değerlerinin sebebi her bir zaman aralığına denk gelen farklı biyokimyasal reaksiyonlardır. Respirometrik deneyin ilk 10 dakikasında ilk mikroorganizma büyümesi ve substrat depolanması gerçekleşmektedir. Takip eden 180 dakikaya kadar kolay ayrışabilir KOİ, 180. dakikadan sonra ise yavaş ayrışabilir KOİ fraksiyonunun biyodegradasyonu gerçekleşmiştir.

Toplam tüketilen O₂ miktarı ise fotokatalist maruziyet süresinin uzaması ile artarak inhibe olmuş, fotokatalist beslemesi kesilmesinin ardından inhibisyon devam etmiştir. İnhibisyonda iyileşme gözlemlenmemesinin, aksine inhibisyonun artmasının nedeni ise evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticilerden kaynaklanmaktadır. Ancak kronik maruziyet sonucu oluşan toplam tüketilen O₂ miktarındaki inhibisyon, fotokatalist beslemesi kesilmesinin ardından meydana gelen inhibisyondan oldukça yüksektir. Buradan hareketle, atıksuyun içerdiği mikrokirleticilerden kaynaklı inhibisyon fotokatalistten kaynaklanan inhibisyona göre oldukça düşüktür. Şekil 4.34 ve Şekil 4.35’de zamana karşı sırasıyla toplam tüketilen O₂ miktarı ve inhibisyon yüzdesi verilmiştir. Pepton için hesaplanan inhibisyon değerleri ise Çizelge 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.34. Atıksu için zamana karşı hesaplanan %I değerleri



Şekil 4.35. Atıksu için zamana karşı hesaplanan toplam tüketilen O₂ miktarı

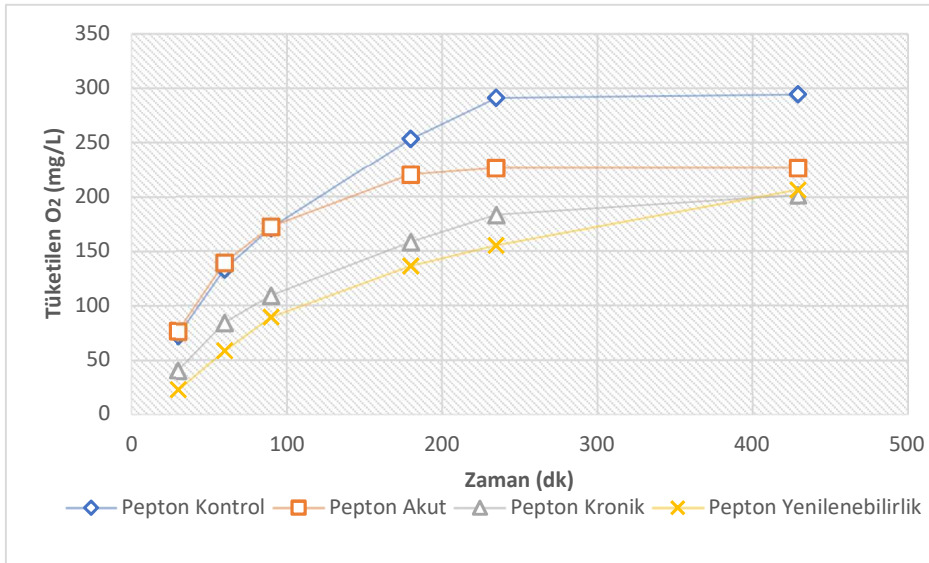
Çizelge 4.3. Pepton için toplam tüketilen O₂ miktarı ve yüzde inhibisyon değerleri

| Hesaplanan KOİ Fraksiyonu | Tüketilen O ₂ (mg/L) | | | Toplam Süre (saat) | İnhibisyon Yüzdesi (%I) | |
|---------------------------|---------------------------------|-----------------------|--------|--------------------|-------------------------|-----------------------|
| | Kolay Ayrışabilir KOİ | Yavaş Ayrışabilir KOİ | Toplam | | Kolay Ayrışabilir KOİ | Yavaş Ayrışabilir KOİ |
| Pepton Kontrol | 141 | 153 | 294 | 4,5 | - | - |
| Pepton Akut | 171 | 55 | 226 | 4 | 10 | 42 |
| Pepton Kronik | 102 | 99 | 201 | 5 | 40 | 44 |
| Pepton Yenilenebilirlik | 105 | 100 | 205 | 7,5 | 57 | 63 |

Pepton biyodegradasyonunda OTH akut maruziyet sonrasında kolay ayrışabilir KOİ fraksiyonunda, %10'luk bir inhibisyon gözlemlenmiştir. Buna karşın yavaş ayrışabilir KOİ fraksiyonunda yaklaşık %40'luk bir inhibisyon gözlemlenmiştir. Kronik maruziyet sonrası hem kolay hem de yavaş ayrışabilir KOİ fraksiyonlarında inhibisyon yaklaşık %40 civarında sabit

kalmıştır. Buna göre, kronik maruziyet sonrası kolay ayrışabilir KOİ fraksiyonunda inhibisyon %30 artmış, yavaş ayrışabilir KOİ fraksiyonundaki inhibisyon ise hemen hemen değişmemiştir. Fotokatalist beslemesinin kesilmesinin ardından kolay ayrışabilir KOİ fraksiyonunda inhibisyon yaklaşık %15 artmış, yavaş ayrışabilir KOİ fraksiyonundaki inhibisyon artışı ise yaklaşık %20 olarak hesaplanmıştır. Buradan hareketle, fotokatalist beslemesinin kesilmesine karşın inhibisyon devam etmiş ve OTH parametresine iyileşme gözlemlenmemiştir.

Toplam tüketilen O₂ miktarı akut ve kronik maruziyet sonrası azalmıştır. Yenilenebilirlik deneyinde ise OTH parametresinde meydana gelen inhibisyon toplam tüketilen O₂ miktarına yansımamakla beraber toplam tüketilen O₂ miktarında artış gözlemlenmiştir. Buradan hareketle, OTH parametresinin inhiye olmasına ve iyileşme gözlemlenmemesine karşın mikroorganizmalar tarafından daha uzun süre zarfında daha fazla substrat tüketilmiş ve substrat biyodegradasyonunda iyileşme gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Şekil 4.36'de toplam tüketilen O₂ miktarı verilmiştir.



Şekil 4.36. Pepton için zamana karşı hesaplanan toplam tüketilen O₂ miktarı

Respirometrik analizler sonucu elde edilen KOİ verimleri ve tüketilen oksijen miktarları Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'de verilmiştir. KOİ biyodegradasyonunda her iki substrat kaynağı için de yaklaşık %10 oranında bir akut inhibisyon gözlemlenmiştir. Bu inhibisyon yüzdesi deşarj

standardı KOİ konsantrasyonunu sağlamak adına nispeten çok etkili değildir. Her iki substrat kaynağı için gerçekleştirilen respirometrik analizlerde de, maksimum oksijen tüketim hızı ve tüketilen toplam oksijen miktarı nispeten az da olsa azalmıştır. Buradan hareketle, aktif çamurun fotokatalistle ilk karşılaştığında uğradığı inhibisyon tolere edilebilecek düzeydedir. 30 günlük fotokataliste maruziyetinin ardından gerçekleştirilen respirometrik analizlerde KOİ giderim verimi evsel atıksuda %7'dir. KOİ giderimi neredeyse tamamen ortadan kalkmıştır. Peptonla gerçekleştirilen respirometrik analizde ise KOİ giderim veriminin %30 azaldığı görülmüştür. Toplam tüketilen oksijen miktarı evsel atıksu biyodegradasyonunda pepton biyodegradasyonuna göre büyük ölçüde azalmış ve tüketilen toplam oksijenin yaklaşık %70'i içsel solunum için kullanılmıştır. Evsel atıksu ve pepton ile beslenen aktif çamurlarda gözlemlenen bu fark evsel atıksuyun içerdiği diğer inhibitör etki gösteren mikrokirleticilere atfedilebilir. Atıksu içeriğinde yalnızca fotokatalist olduğu varsayılırsa pepton biyodegradasyonunda olduğu gibi toplam KOİ giderim verimi %30 azalmış olacaktır. Uygulamaya koyulacak ileri oksidasyon prosesi ve konvansiyonel aktif çamur sisteminden oluşan arıtma tesislerinde, ileri oksidasyon prosesi ile evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticiler giderileceğinden tıpkı peptonunda olduğu gibi KOİ giderim verimi %30 dolaylarında azalacaktır. Bu durumda uygulanacak olası bir kombine arıtma sisteminde evsel atıksu giriş KOİ konsantrasyonu oldukça büyük önem oluşturmaktadır. Giriş KOİ parametresi yaklaşık %60 verimle giderildiğinde evsel atıksu deşarj standardı karşılanabiliyorsa kombine arıtma tesisi uygulanabilir. Aktif çamurun yenilenebilirliği değerlendirildiğinde ise atıksu ile beslenen aktif çamurla pepton ile beslenen aktif çamur farklı davranmışlardır. Pepton ile beslenen aktif çamurda KOİ giderim veriminin yaklaşık %20 iyileşmesine karşın evsel atıksuda herhangi bir iyileşme gözlemlenmemiştir. Evsel atıksu biyodegradasyonunda tüketilen oksijenin yaklaşık %90'ı içsel solunum için kullanılmıştır. Pepton biyodegradasyonunda ise tüketilen toplam oksijen artmış ve tüketilen toplam oksijendeki içsel solunumda tüketilen oksijenin payı azalmıştır. Bunun farkın nedeni ise fotokatalist beslemesinin durdurulmasına karşın, evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticilerden de aktif çamurun etkilenmesidir.

Çizelge 4.4. Respirometrik analizler sonucu hesaplanan KOİ verimleri

| Deney | KOİ verimi (%) |
|-------------------------------|----------------|
| Evsel Atıksu Kontrol | 87 |
| Evsel Atıksu Akut | 76 |
| Evsel Atıksu Kronik | 7 |
| Evsel Atıksu Yenilenebilirlik | 8 |
| Pepton Kontrol | 90 |
| Pepton Akut | 82 |
| Pepton Kronik | 60 |
| Pepton Yenilenebilirlik | 79 |

Çizelge 4.5. Respirometrik analizler sonucu tüketilen oksijen miktarları

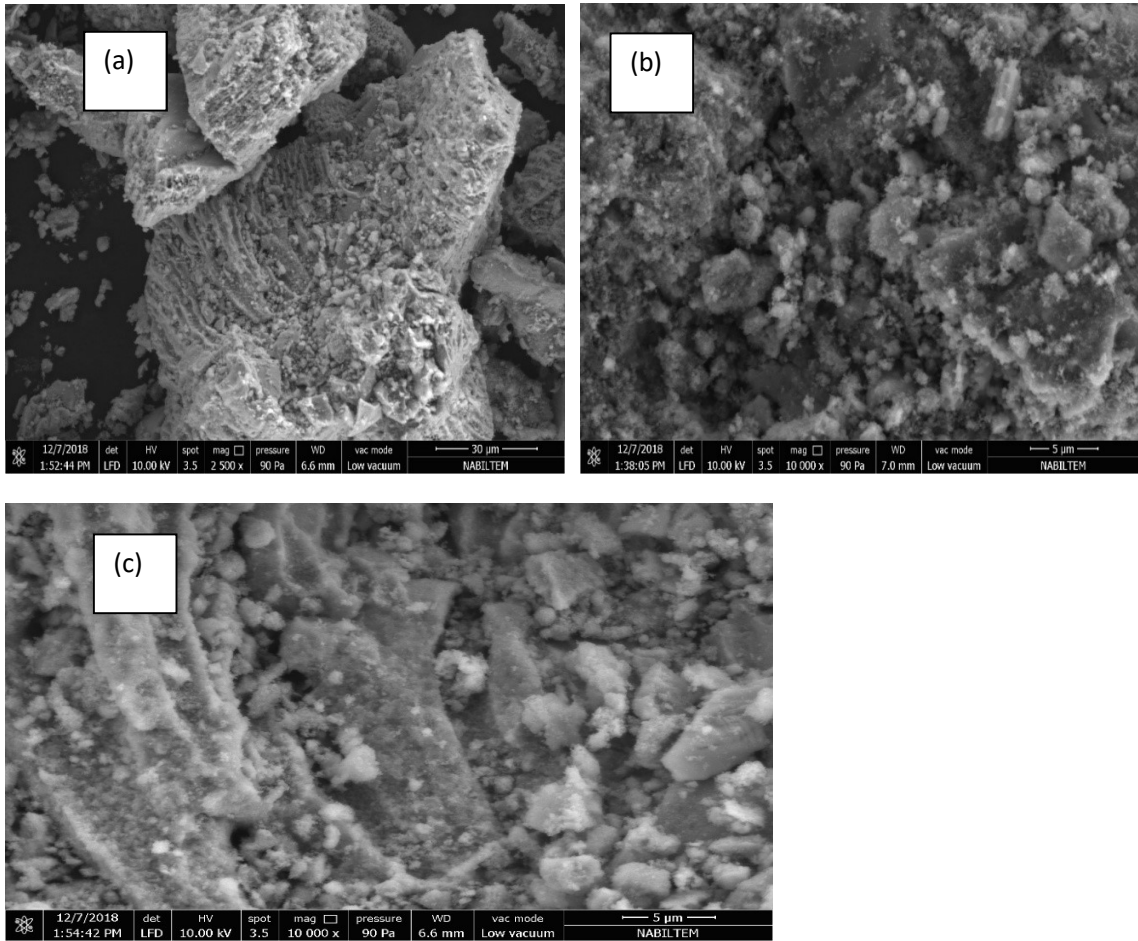
| Deney | DO _{Total} (mg/L) | DO _{End} (mg/L) | % DO _{End} (toplam tüketilen oksijen miktarında, içsel solunumda tüketilen oksijenin yüzdesi) |
|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--|
| Evsel Atıksu Kontrol | 171 | 67 | 39 |
| Evsel Atıksu Akut | 132 | 48 | 36 |
| Evsel Atıksu Kronik | 58 | 40 | 69 |
| Evsel Atıksu Yenilenebilirlik | 76 | 64 | 84 |
| Pepton Kontrol | 294 | 168 | 57 |
| Pepton Akut | 226 | 85 | 38 |
| Pepton Kronik | 200 | 113 | 57 |
| Pepton Yenilenebilirlik | 205 | 89 | 43 |

4.2.5. Hazırlanan Fotokatalistin Karakterizasyonu için SEM Tarama ve Raman Spektrumu Sonuçları

Çalışmada akut ve kronik etki tayininde kullanılmak üzere hazırlanan NFC-doplu TiO₂ fotokatalistin karakterizasyonu yapılarak, antibiyotikler gibi evsel atıksuda yüksek oranlarda

bulunduğu bilinen mikrokirleticilerin gideriminde etkin olduğu belirlenen fotokatalist yapısında olup olmadığı doğrulanmıştır.

Bu amaçla bu çalışmada kapsamında hazırlanan fotokatalistin boyutu ve fiziksel yapısını gösteren SEM taraması NABİLTEM laboratuvarında bulunan FEİ-QUANTA FEG 250 cihazında yürütülmüş olup, tarama sonuçları Şekil 4.37’de verilmiştir.



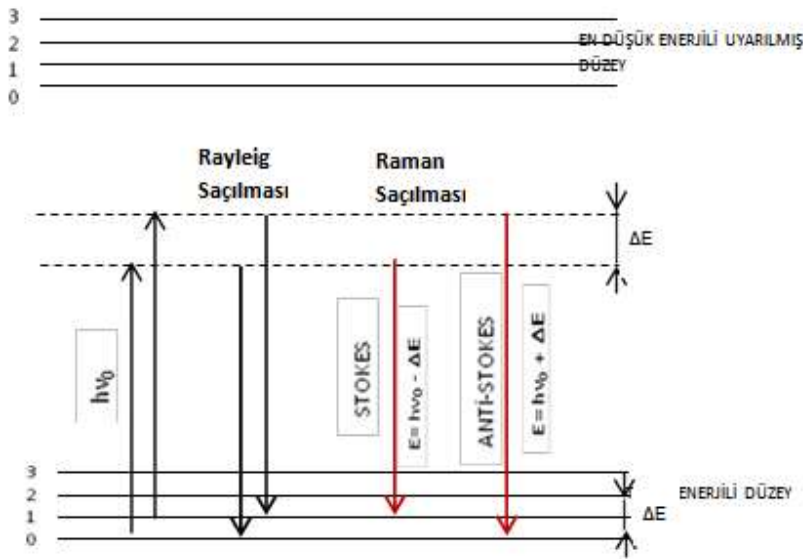
Şekil 4.37. Fotokatalistin boyutu ve fiziksel yapısını gösteren SEM tarama sonuçları a-) 2.500 x, b-) 10.000 x ve c-) 10.000 x

Şekil 4.37’de verilen tarama sonuçları incelendiğinde; fotokatalistin fotokatalitik oksidasyon için oldukça yüksek düzeyde gözenekli yapı sergilediği, 5 µm çözünürlük ve 10000 kat büyütmede çok hassas ölçekte NFC doplamasının etkilerinin görüldüğü anlaşılmaktadır.

Bu çalışmada hazırlanan fotokatalistelerin Raman saçılmaları; NABİLTEM laboratuvarında bulunan, 150–1000 cm^{-1} aralığında uzaysal çözünürlüğü 1 μm ve derinlik çözünürlüğü 2 μm olan 532-785 nm lazer ile kombine edilmiş Dispersif Raman Spektroskopisi cihazı ile (Thermo, DXR Raman) belirlenmiştir.

Raman saçılması, ışıkla etkileşen maddenin moleküllerinin titreşim enerji düzeyleri arasındaki enerji farklılıklarını ortaya çıkarır. Raman saçılması esnasında saçılan ışığın enerjisi ile etkileşen maddenin moleküllerinin yaydığı ışığın enerjisi arasında fazlalık yada azlık moleküllerin titreşim enerji düzeyleri hakkında bilgi verdiği için Raman Spektroskopisi spektroskopik ölçümlerde tercih edilen bir yöntemdir. Raman Spektroskopisi inorganik, organik ve biyolojik sistemlerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılır. (Ohsaka vd., 1978).

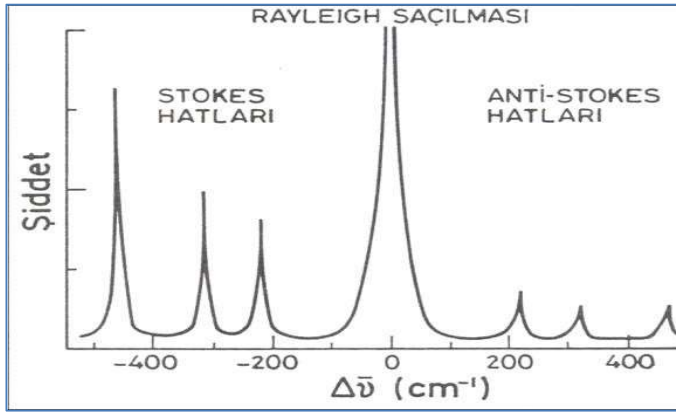
Raman saçılmasının molekül enerji diyagramı ile açıklanması Şekil 4.38’de verilmiştir (Ohsaka vd., 1978).



Şekil 4.38. Raman saçılmasının molekül enerji diyagramı ile açıklanması (Ohsaka vd., 1978)

Şekil 4.38’de görüldüğü gibi; $h\nu_0$ enerjili bir foton, ölçümü yapılan maddenin molekülleri ile etkileştiğinde saçılmadan önce enerjilerinin bir kısmını moleküllere ve moleküllerden fotona

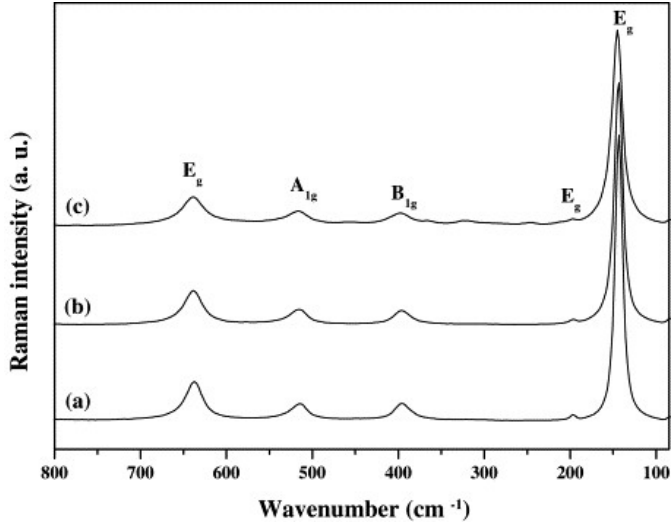
aktarır. Bu enerji aktarımı olayı sonucu moleküller fotonla etkileştikten sonra farklı titreşim enerji düzeylerinde bulunurlar ve bu durum o maddeye ait moleküllerin enerji düzeyleri hakkında bilgi edinilmesini sağlar. Şekil 4.39'de ise gönderilen fotonun enerjisinin bir kısmının moleküle aktarıldığı durumlarda “Stokes Hatları” (şiftler), molekülden bir miktar enerjinin fotona aktarıldığı durumlarda ise “Anti-Stokes Hatları” meydana gelir (Ohsaka vd., 1978).



Şekil 4.39. Raman saçılmasının grafiksel açıklaması (Ohsaka vd., 1978)

Moleküller fotonla etkileştikten sonra farklı titreşim enerji düzeylerinin ortaya çıkmasından dolayı, Raman saçılmasının belirli dalga boylarında olması maddelerin tanınırlığında kullanılmasını sağlayan önemli unsurdur. Şekil 4.40'da TiO₂'e ait tipik Raman saçılmalarının gözlemlendiği dalga boyları verilmiştir (Ohsaka vd., 1978). Bu çalışmada hazırlanan fotokatalistin raman saçılmalarına ilişkin sonuçlar detaylı olarak Şekil 4.41'da sunulmuştur.

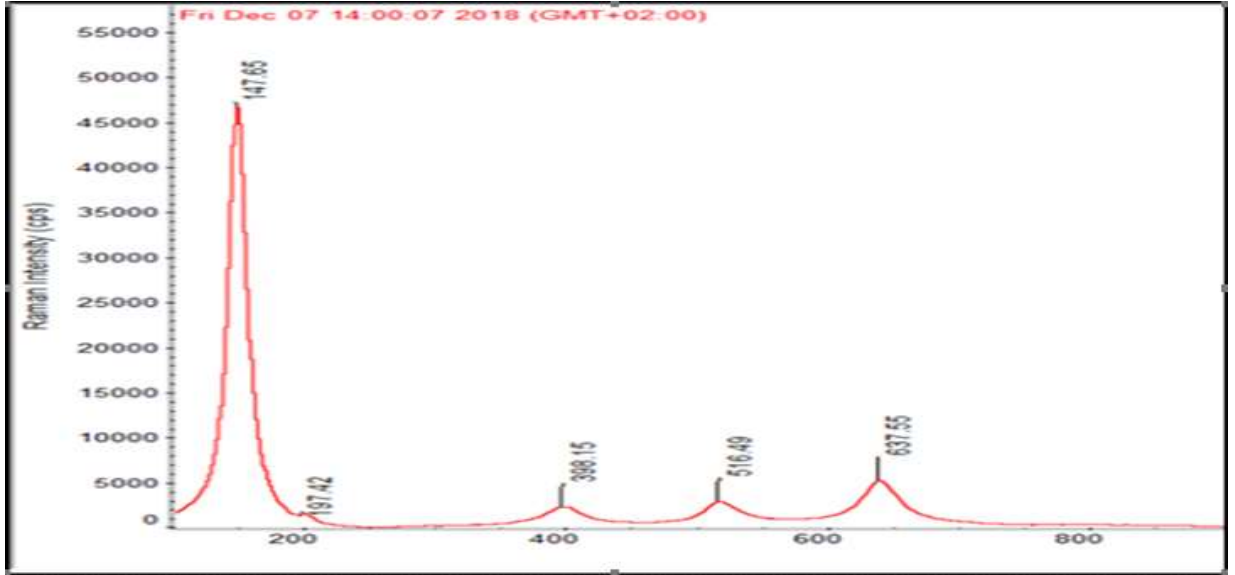
a-)



b-)

| | | | | | |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | E | E | B | A | E |
| TiO2 | 143 | 196 | 396 | 514 | 637 |

Şekil 4.40. a-) Raman Saçılması olaylarında dalga boyları (Ohsaka vd., 1978) b-) Toz formda NFC-doplu fotokatalistlerin Raman Spektrum ölçüm sonuçları



Şekil 4.41. Toz formda NFC-doplu fotokatalistlerin Raman Spektrum ölçüm sonuçları

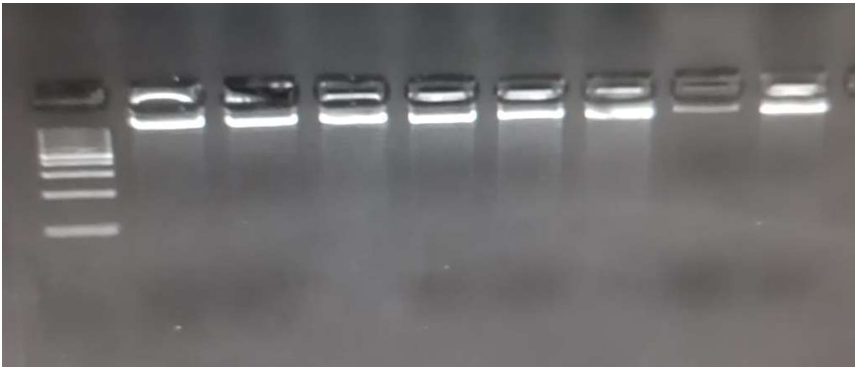
Şekil 4.41’da görülen tipik Raman saçılmaları ve 147, 197, 398, 516, and 637 cm^{-1} dalga boyları, Şekil 4.40’da verilen raman saçılmalarına çok benzemektedir. Şöyleki; C partiküllerinin adsorbsiyon katkısıyla da TiO_2 ’in fotokatalitik aktivitesinin artırılmasının amaçlandığı TiO_2 ’nin NFC ile doplanması sonucunda, TiO_2 ’in 3.2 eV değerindeki yüksek band aralık enerjisinin 2,5 eV a düşürüldüğünü ve görünür ışığı absorblayabilir hale getirildiğini anlaşılmaktadır. Dolayısıyla, bu sonuç bu çalışmada hazırlanan NFC-doplu TiO_2 fotokatalistinin anataz formda olduğunu göstermiştir.

4.3. DNA İzolasyonu ve Yeni Nesil Sekanslama

İzole edilen DNA’lar arasında düşük konsantrasyonlu olanlar veya 260/280 oranı 2.0’ın üzerinde olanlar kullanılmamış ve o koşullar için izolasyonlar tekrarlanmıştır. DNA’lar agaroz jelde yürütülmüş ve kırksız ve sağlam olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada izole edilen ve sekanslamaya gönderilen DNA’ların konsantrasyonları ve 260/280 oranı Çizelge 4.6’de verilmiştir. Duplike olarak çalışılan örneklerin jel görüntüleri Şekil 4.42 ve Şekil 4.43’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. DNA konsantrasyonları ve 260/280 oranları

| Örnek adı | Örnek numarası | DNA konsantrasyonu (ng/μL) | 260/280 oranı |
|-------------------------|----------------|-------------------------------|---------------|
| Pepton kontrol | 1 | 79.9 | 1.96 |
| Pepton kontrol | 2 | 101.0 | 1.85 |
| Pepton akut | 3 | 84.5 | 1.96 |
| Pepton akut | 4 | 65.1 | 1.95 |
| Pepton kronik | 5 | 81.4 | 1.93 |
| Pepton kronik | 6 | 84.4 | 1.95 |
| Pepton yenilenebilirlik | 7 | 12.9 | 1.87 |
| Pepton yenilenebilirlik | 8 | 67.2 | 1.91 |
| Atıksu kontrol | 9 | 96.6 | 1.91 |
| Atıksu kontrol | 10 | 70.9 | 1.79 |
| Atıksu akut | 11 | 49.2 | 1.85 |
| Atıksu akut | 12 | 82.2 | 1.88 |
| Atıksu kronik | 13 | 60 | 1.91 |
| Atıksu kronik | 14 | 53 | 1.90 |
| Atıksu yenilenebilirlik | 15 | 50.8 | 1.76 |
| Atıksu yenilenebilirlik | 16 | 29.9 | 1.74 |



Şekil 4.42. Pepton ile beslenen reaktörden alınan çamurdan izole edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.43. Gerçek atıksu ile beslenen reaktörden alınan çamurdan izole edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü

Bu sonuçlara göre pepton ile beslenmiş reaktörden alınan örneklerden 2, 3, 6 ve 8 numaralı olanlar ve gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörden alınan 9, 12, 13 ve 15 numaralı örnekler kaliteleri daha uygun olduğundan seçilerek yeni nesil dizileme için hizmet alımı yapılacak firmaya gönderilmiştir.

MiSeq cihazında yapılan sekanslama sonrası oluşan veri QIIME2 biyoenformatik platformuna aktarılmış ve analiz edilmiştir (Bolyen vd., 2018). İlk olarak sekanslama sırasında kullanılan primer ve barkod dizileri ayıklanmıştır. Bu işlemde sonra elde edilen örnek başına düşen okuma (sekans) sayıları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Örnek başına düşen okuma sayısı

| Örnek | Örnek isimleri | Okuma (Sekans) sayısı |
|-------|--|-----------------------|
| S1 | Pepton kontrol | 142254 |
| S2 | Pepton akut | 134961 |
| S3 | Pepton kronik 30. gün | 152001 |
| S4 | Pepton yenilenebilirlik 50. Gün | 135645 |
| S5 | Gerçek atıksu kontrol | 141272 |
| S6 | Gerçek atıksu akut | 150580 |
| S7 | Gerçek atıksu kronik 30. Gün | 136285 |
| S8 | Gerçek atıksu yenilenebilirlik 50. gün | 144948 |

Okuma kalitesi toplam okumalardan rastgele seçilen 100.000 adet okumanın ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Genel olarak okuma kalitesinin 30 Phred üzerinde olduğu görülmüştür. Bu, 1000 okumada 1 yanlış bazdan daha düşük hata payı ile okuma yapıldığını ve bu haliyle de oldukça kaliteli okuma yapıldığını göstermektedir. Daha sonraki aşamada hatalı okumalar temizlenip ayıklanmış, kimerik sekanslar ve singleton'lar çıkarılmış, birbirine %97'den daha yüksek benzerlik gösteren okumalar kümeleme yöntemiyle birleştirilerek tek bir sekansa dönüştürülmüştür. Bu işlemler sonucunda ortlaması 412.71 baz olan toplam 2333 adet sekans okunmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Sekans uzunluk istatistikleri

| Sekans (okuma) sayısı | Minimum uzunluk | Maksimum uzunluk | Ortalama uzunluk | Standart sapma |
|-----------------------|-----------------|------------------|------------------|----------------|
| 2333 | 262 | 428 | 412.71 | 10.55 |

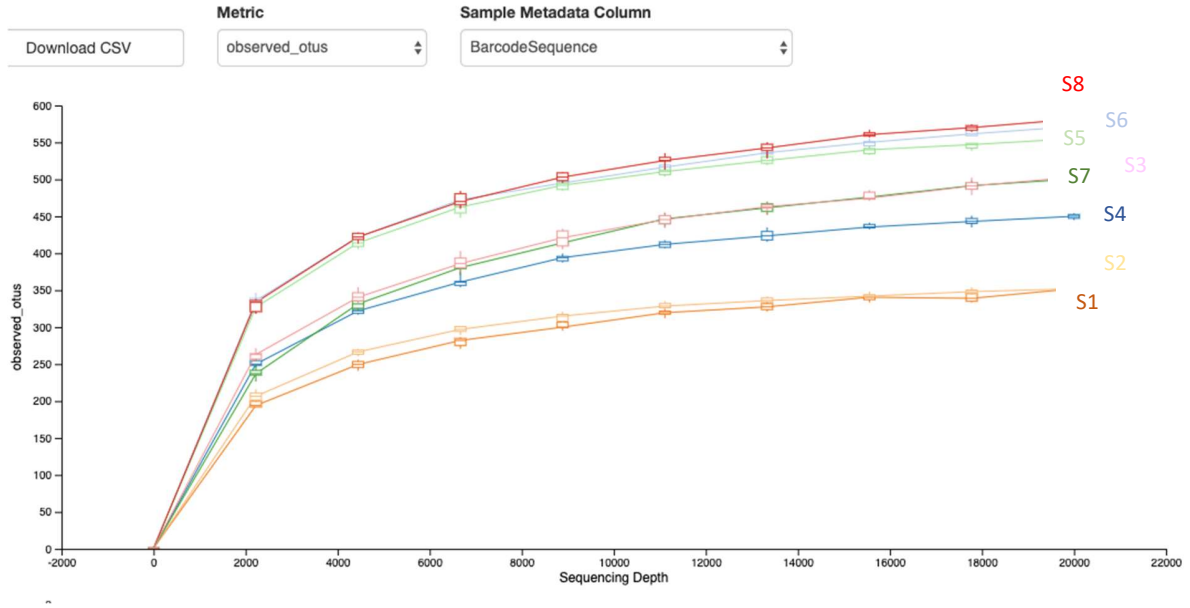
Bu ayıklama ve kümeleme işlemleri sonucu operasyonel taksonomik üniteler (OTU) belirlenmiştir. OTU elde yalnız DNA sekans verisi olan çalışmalarda türleri ya da tür gruplarını

temsil eden terimdir. Bu çalışmada da olduğu gibi farklı koşullardaki tür/cins/ filum düzeyindeki farklılıklar OTU'lara bakılarak belirlenir, bu bağlamda OTU mikrobiyal çeşitlilik birimidir (X. Wang, 2016). Yeni sekanslama ve analiz metotları sekanslanan gen bölgelerindeki tek nükleotid değişikliğini bile ayırt edebilecek düzeye gelmiştir ve bu sayede ampikon sekans varyantları (ASV) birbirinden ayrılabilir. ASV tıpkı OTU gibi mikrobiyal çeşitlilik birimidir ve gelişen teknoloji ile artık OTU yerine ASV kullanılması tavsiye edilmektedir (Callahan, McMurdie, & Holmes, 2017). Illumina MiSeq cihazı verisi de ASV'leri tespit edilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada da analizler OTU ve ASV düzeyinde yapılmıştır. Her bir örnekteki ASV/OTU sayısı Çizelge 4.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Her bir örnekteki kimerik olmayan ASV/OTU sayıları

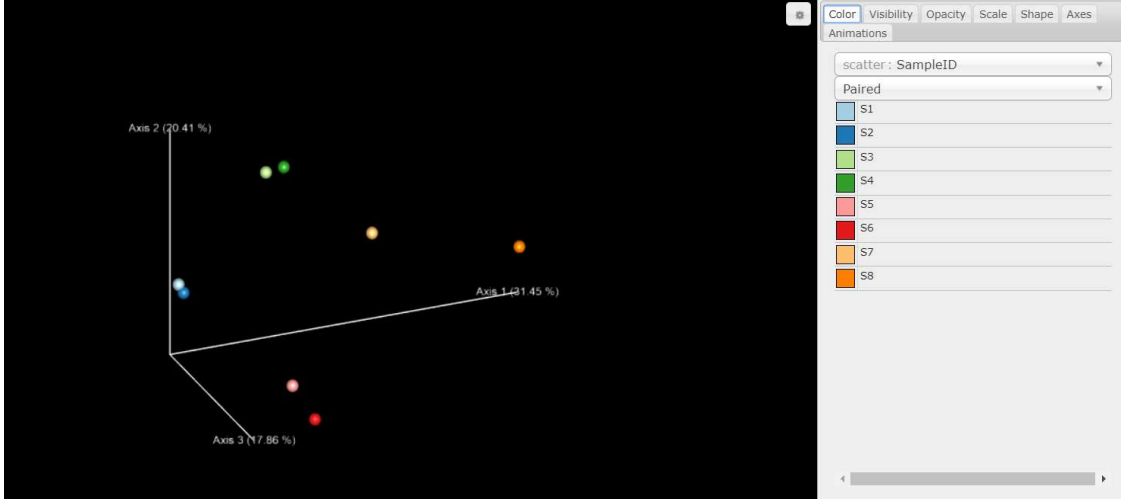
| Örnek | Kimerik olmayan ASV/OTU sayısı |
|-------|--------------------------------|
| S1 | 32579 |
| S2 | 35598 |
| S3 | 61017 |
| S4 | 57178 |
| S5 | 43492 |
| S6 | 28241 |
| S7 | 63489 |
| S8 | 32560 |

Örneklere mikrobiyal tür zenginliği/çeşitliliğini belirlemek için iki yöntem kullanılır: Alfa ve Beta çeşitlilik. Alfa çeşitlilik bir örnekteki OTU sayıları ile kaç tür olduğunu hesaba katarak bir örneğin kendi içindeki tür zenginliğini hesaplar. Beta çeşitlilik ise örnekler, mikrobiyal komüniteler veya ekosistemler arasındaki benzerlikleri hesaba katarak çeşitliliği ölçer. Bu çalışmadaki Alfa çeşitlilik Şekil 4.44'deki Alfa rarefaction grafiği ile gösterilmiştir.



Şekil 4.44. Alfa Rarefaction grafiği

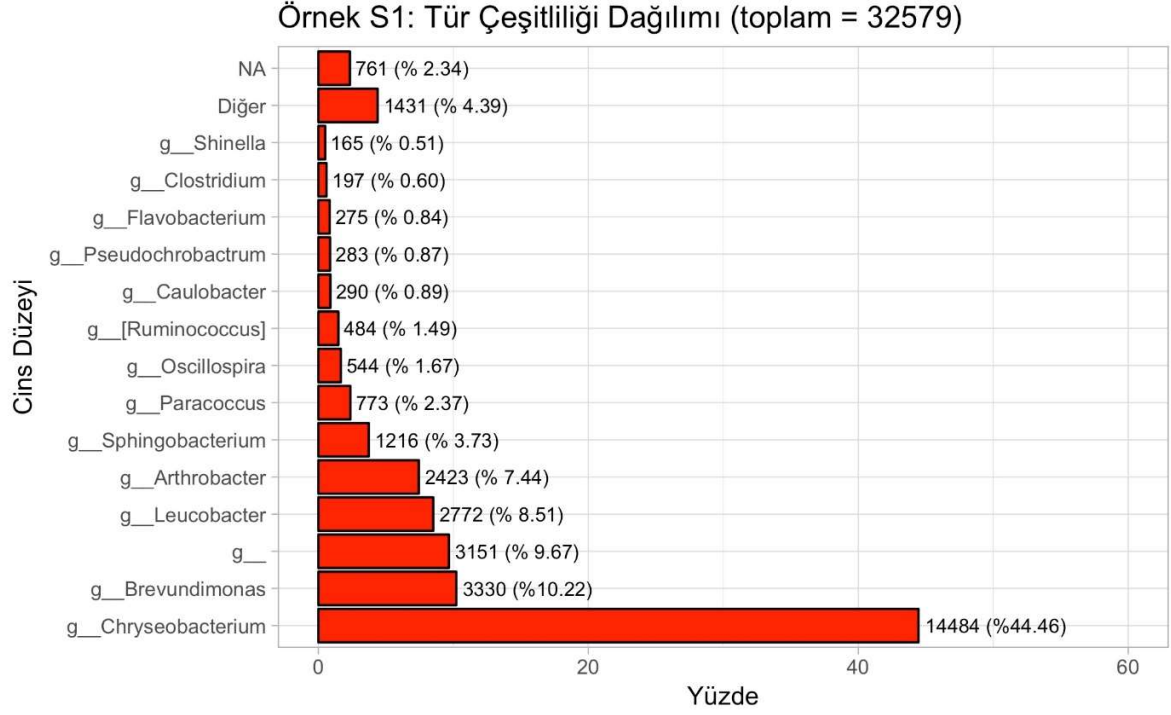
Alpha Rarefaction grafiğindeki eğriler ilgili örneğin okuma derinliğine göre gözlemlenen özellik (ASV) sayısını göstermektedir. Eğrilerin okuma derinliği arttıkça gözlemlenen çeşitliliğin sabitlenmesi (eğrilerin x-eksenine paralel hale gelmesi) örneklerdeki olası mikrobiyom çeşitliliğin tamamının tespit edilebildiğini ve okuma sayısının analiz için yeterli olduğunu göstermektedir. Bu grafik pepton ile beslenen reaktördeki S1 ve S2 örneklerindeki çeşitliliğin birbirine çok yakın olduğunu, S3 ve S4 örneklerindeki çeşitliliğin birbirine daha yakın ve ilk iki örnekten daha fazla olduğunu göstermektedir. Bu grafik Çizelge 4.9'daki OTU sayılarını da doğrulamıştır. Gerçek atıksu ile beslenen reaktörden alınan örneklerde ise kontrol ve akut etki (S5 ve S6) örneklerindeki Alfa çeşitlilik düzeyi birbirine yakın, bir sonraki örnek olan kronik etki örneği bunlardan daha düşük görünmektedir. S8 örneği, gerçek atıksu ile beslenen reaktörde uygulanan nanopartiküler madde sonrası yenilenebilirliğe bakıldığında Alfa çeşitlilik düzeyi diğer örneklerden daha yüksek olduğu görünmektedir. Ancak Alfa çeşitlilik örneklerin kendi içindeki çeşitliliği göstermektedir. Örnekleri birbirleriyle karşılaştırmak için Beta çeşitlilik grafiği yani temel koordinatlar analizi (principal coordinates analysis, PcoA) incelenmelidir (Şekil 4.45).



Şekil 4.45. Beta çeşitlilik grafiği (Temel koordinatlar analizi)

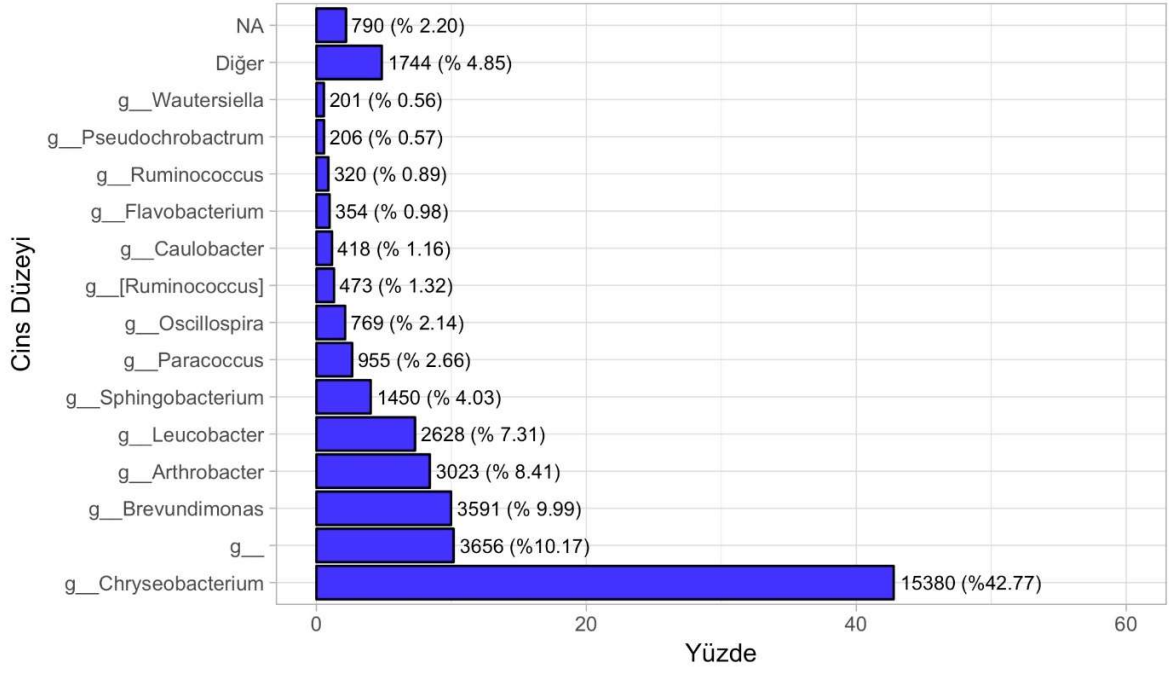
Beta çeşitlilik örnekler arasındaki tür benzerliğini göstermektedir. Farklı örnekler arasındaki tür çeşitliliği değişimi hakkında fikir vermektedir. Buna göre tür çeşitliliği bakımından pepton ile beslenen reaktördeki kontrol örneği ile akut etki örnekleri birbirine çok benzemektedir. Yine aynı reaktörden alınan kronik etki örneği ile yenilenebilirlik örneği tür çeşitliliği birbirine yakın ancak ilk iki örnekten oldukça farklıdır. İlk bakışta, pepton beslenen reaktöre uygulanan nanopartiküler maddenin aktif çamur üzerinde kısa sürede ciddi bir etki oluşturmadığı ancak uzun dönem uygulandığında kontrol durumundan oldukça farklı bir tür çeşitliliğine sebep olduğunu düşündürmektedir. Gerçek atıksu ile beslenen reaktörde ise akut olarak nanopartiküler madde uygulanması aktif çamurdaki tür çeşitliliğine bir miktar etki ederken, nanopartiküler maddenin aktif çamur tür çeşitliliği üzerindeki kronik etkisi dikkate değerdir. Bu reaktörde nanopartiküler madde uygulanması son bulduktan sonra aktif çamurdaki tür çeşitliliği kontrol örneğinden de kronik etki örneğinden de çok farklıdır. Bu sonuç gerçek atıksuda nanopartiküler madde varlığının aktif çamuru ciddi anlamda etkilediğini ve aktif çamurun yenilenebilirliğini düşürdüğünü göstermektedir. Bu etkilerin tür düzeyinde analizi için örneklerin alemden türe kadar taksonomik kompozisyonlarını çıkarabilmek amacıyla her bir ASV/OTU için taksonomik atıflandırma yapılması gerekmektedir. Taksonomik kıyaslama ve atıflandırma GreenGenes veritabanı kullanılarak yapılmıştır (DeSantis vd., 2006). Her bir örnekteki cins düzeyindeki tür çeşitliliği dağılımı Şekil 4.46, Şekil 4.47, Şekil 4.48, Şekil 4.49, Şekil 4.50, Şekil 4.51, Şekil 4.52, Şekil 4.53

ve Şekil 4.54’de verilmiştir. Bu şekiller R İstatistiki Hesaplama ve Programlama Platformu’nda (R Development Core Team, 2011) ggplot2 isimli R paketi (Wickham, 2009) kullanılarak çizilmiştir.



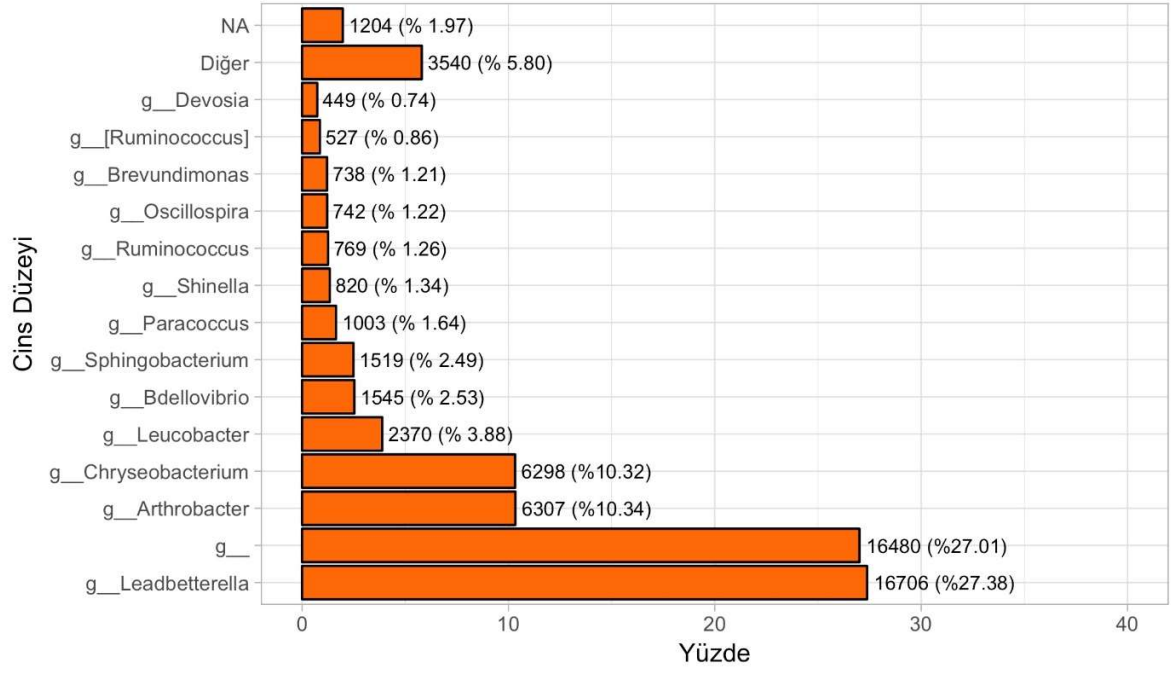
Şekil 4.46. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistine akut maruziyetin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine etkisi

Örnek S2: Tür Çeşitliliği Dağılımı (toplam = 35958)



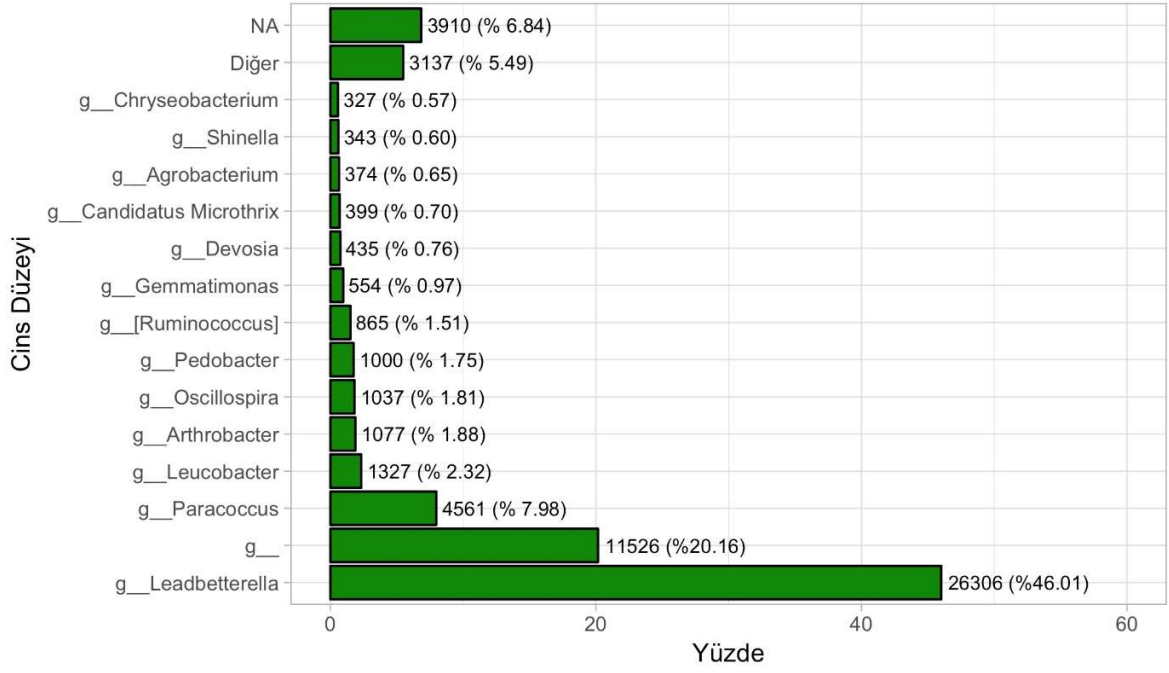
Şekil 4.47. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistine akut maruziyetin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine etkisi

Örnek S3: Tür Çeşitliliği Dağılımı (toplam = 61017)



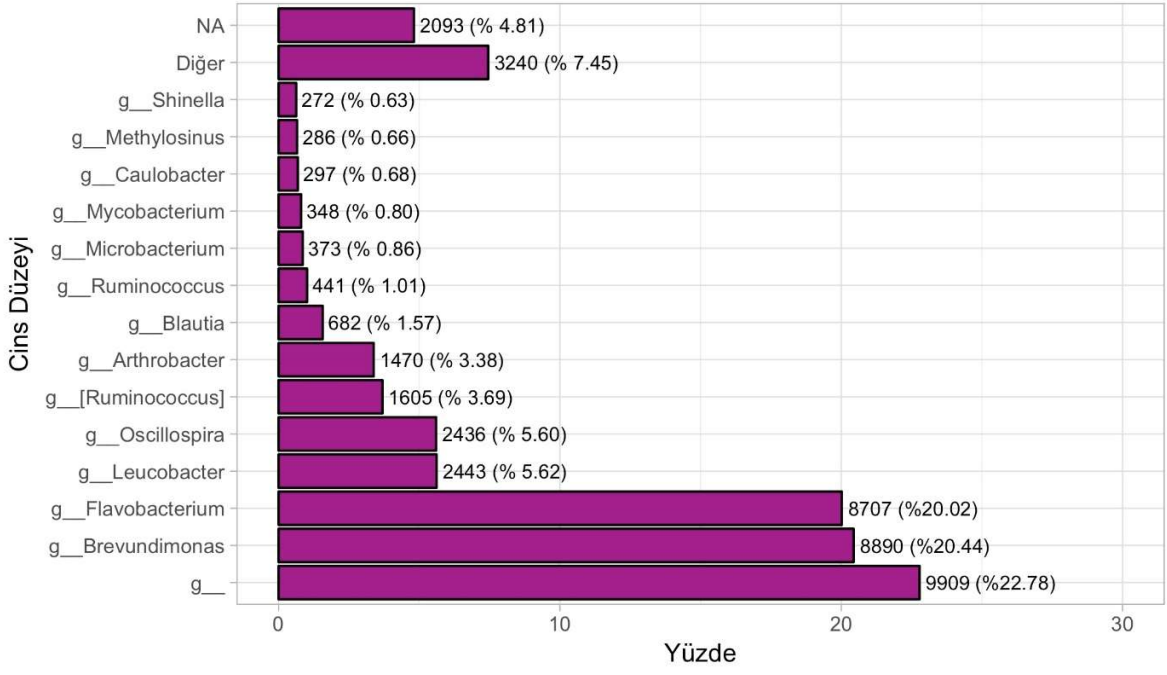
Şekil 4.48. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistine kronik maruziyetin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine etkisi (30. gün örneği)

Örnek S4: Tür Çeşitliliği Dağılımı (toplam = 57178)



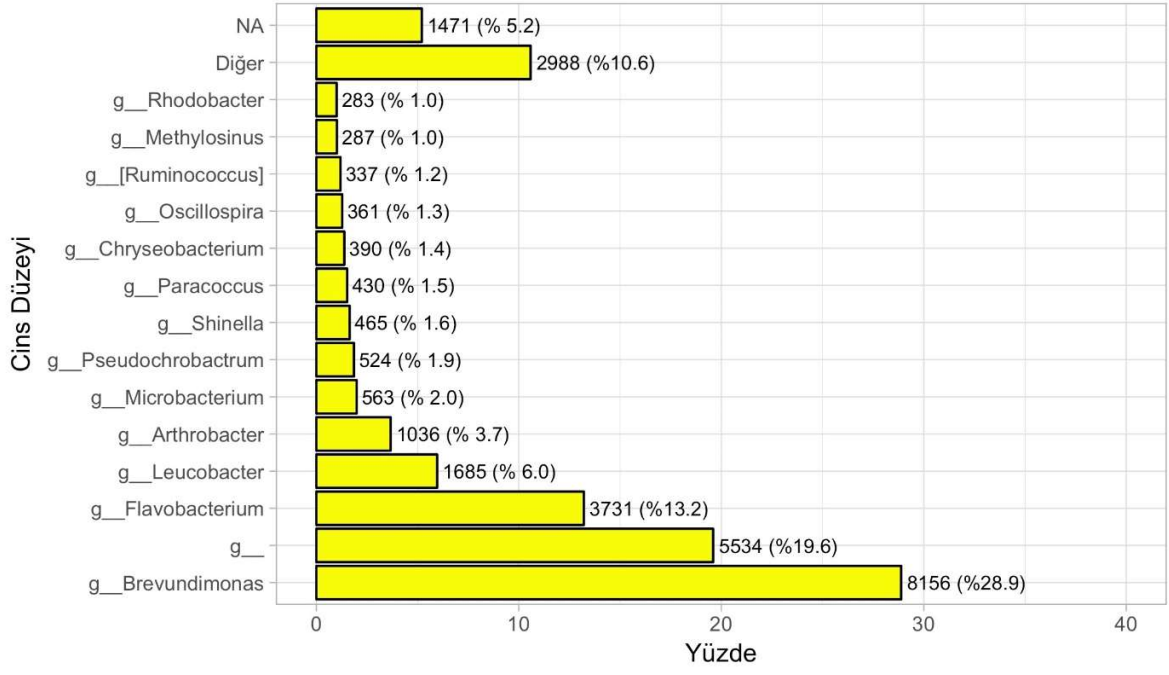
Şekil 4.49. Pepton sentetik atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğinin yenilenebilirliği (50. Gün örneği)

Örnek S5: Tür Çeşitliliği Dağılımı (toplam = 43492)



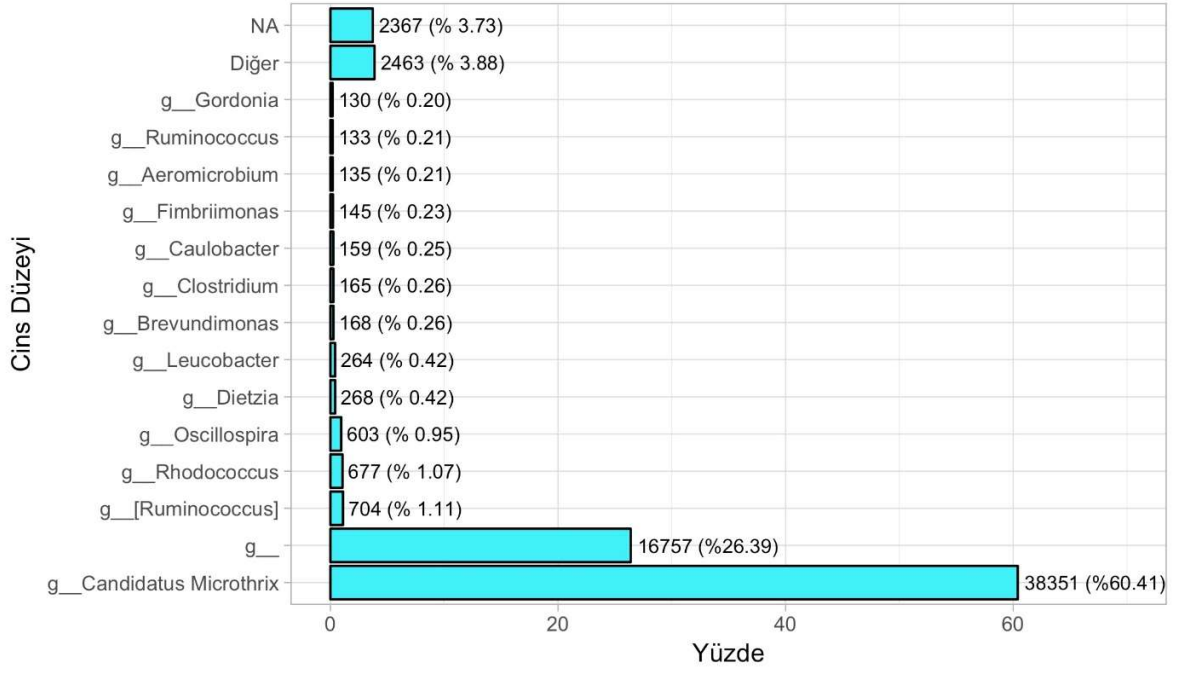
Şekil 4.50. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörden alınan kontrol örneğinde cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

Örnek S6: Tür Çeşitliliği Dağılımı (toplam = 28241)



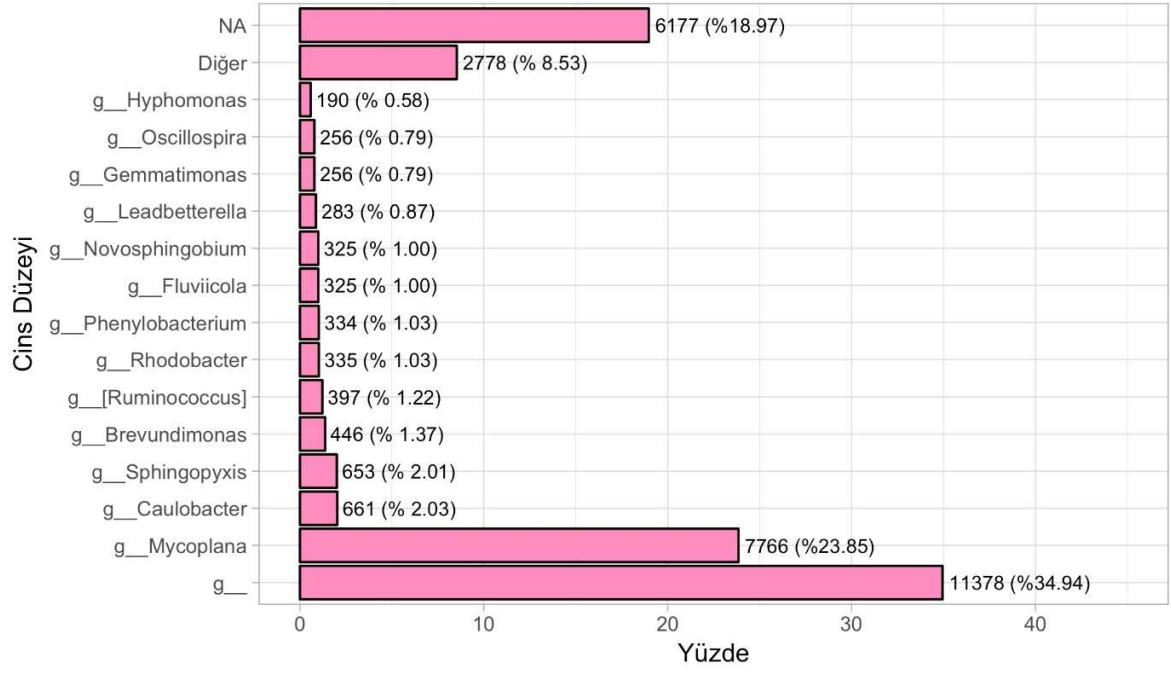
Şekil 4.51. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine akut etkisi

Örnek S7: Tür Çeşitliliği Dağılımı (toplam = 63489)

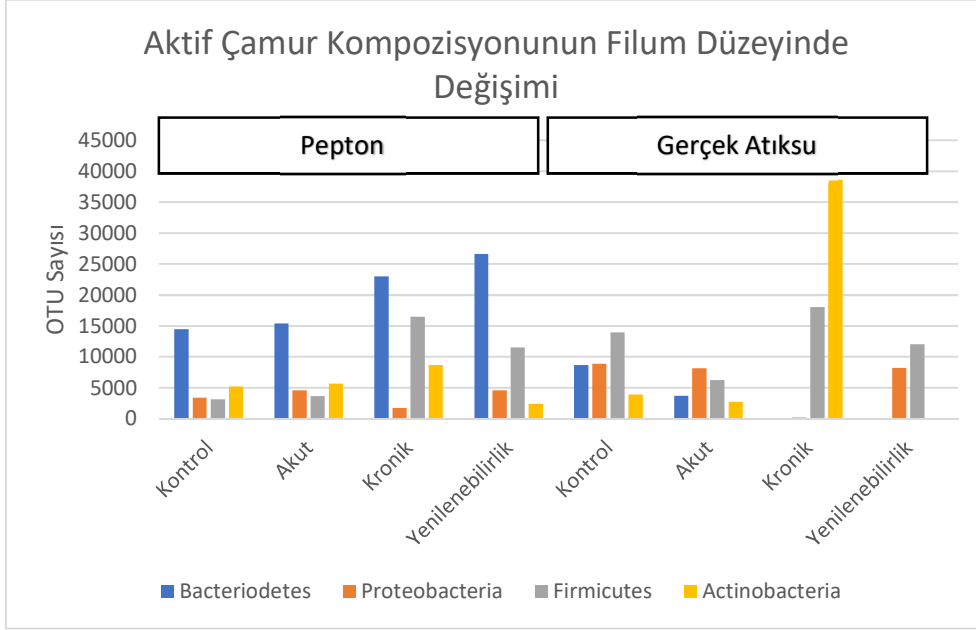


Şekil 4.52. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğine kronik etkisi (30. gün örneği)

Örnek S8: Tür Çeşitliliği Dağılımı (toplam = 32560)



Şekil 4.53. Gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörde NFC-doplu TiO₂ Fotokatalistin aktif çamurun cins düzeyindeki mikrobiyal çeşitliliğinin yenilenebilirliği (50. gün örneği)



Şekil 4.54. Sentetik atıksu ve gerçek atıksu ile beslenmiş reaktörlerdeki aktif çamur kompozisyonunun filum düzeyinde değişimi

Literatürde yakın zamanlı çalışmalarda belirtildiğine göre, atıksu arıtımında kullanılan aktif çamurlarda genel olarak Bacteroidetes, Proteobacteria ve Firmicutes filumlarına ait bakteriler baskın haldedir (Nascimento vd., 2018; Silva-Bedoya vd., 2016; Yang vd., 2014). Bu çalışmada da bu filumlar hem pepton hem de gerçek atıksu ile beslenen reaktördeki aktif çamurun kontrol koşullarında baskın durumdadır. Kontrol koşullarındaki farklılık deney öncesi aktif çamurların eş zamanlı olarak pepton ve gerçek atıksuya ayrı ayrı aklime olmasından kaynaklanmaktadır.

Sentetik atıksu ile beslenen kontrol reaktöründe ve nanopartiküler maddenin akut etkisinin incelendiği örneklerdeki aktif çamurda baskın olarak Bacteroidetes filumuna ait Chryseobacterium cinsi dikkat çekmektedir (Şekil 4.46 ve Şekil 4.47). Bacteroidetes filumuna ait bakteriler özellikle sulak ortamlarda bol bulunurlar. Kompleks biyopolimerleri yıkabilme becerileriyle dikkat çekerler (Abt vd., 2011). Bu cinse ait bakteriler fostat çözücü bakterilerdendir ve endüstriyel aktivitelerin olduğu alanlardan ve dehidre çamurlardan izole edilmişlerdir (Pires vd., 2010; Skraban vd., 2018). Bu haliyle de aktif çamurlarda sık rastlanan organizmalardır. Ayrıca bu cinse ait bakterilerin organoklorin pestisit ve DDT’i kontamine topraklardan temizlediği gösterilmiştir (Qu vd., 2015). Bu cinse ait mikroorganizmalar nanopartiküler maddenin 30 gün uygulanmasıyla ciddi anlamda

azalmıştır. Bu cinse ait OTU sayısı kontrolde 14484, kısa süreli nanopartiküler madde uygulaması sonucu 15380 iken, nanopartiküler maddenin 30 gün uygulanması sonucu 6298'e düşmüş, 50 gün uygulanması ile ise sayısı iyice azalmış ve 327'ye düşmüştür. Nanopartiküler maddenin kronik etkisi ile sayısı ciddi düzeyde artan ancak kontrol ya da akut etki örneklerinde sayısı önemsiz derecede düşük olan bakteri cinslerinden biri *Bacterioidetes* filumuna ait *Leadbetterella* cinsi bakterilerdir. Kontrol ve akut etki örneklerinde baskın halde bulunan *Chryseobacterium* da *Bacterioidetes* filumuna aittir. Bu çalışmada eklenen fotokatalist ile *Bacterioidetes* filumuna ait bir bakteri cinsi sayısı azalırken diğeri artmaktadır. *Leadbetterella* cinsine ait bakteriler fenolik maddelerin olduğu bir reaktörde uzun dönemde (42. günden sonra) aktif çamurun yaklaşık yarısını oluşturarak, en başta baskın olan ve çoğunluğunu *Brevudimonas*'ın oluşturduğu *Proteobacter* grubunu elimine ederek baskın hale geçmiştir (Gómez-Acata vd., 2017). Bu çalışmada da olduğu gibi, aktif çamur degrade edilebilir kompleks moleküllere maruz kalınca, *Leadbetterella* cinsi bakteriler ortamı domine edebilmektedir.

Proteobacteria filumuna ait *Brevudimonas* cinsine ait mikroorganizmalar da pepton ile beslenen reaktördeki aktif çamurun içeriğinde benzer şekilde değişmiştir. Kontrol ve akut etki örneklerinde sırasıyla 3330 ve 3591 OTU ile temsil edilirken, 30. Gün örneğinde 738 düşmüş ve 50. Gün örneğinde daha da fazla azalmıştır. Bu durum, nanopartiküler maddenin bu cinse ait bakterileri neredeyse tamamen yok ettiğini gösterir. *Brevudimonas* cinsine ait bir bakteri organik maddelerin atıksudan uzaklaştırdığı gösterilmiş ve bu bakterinin atıksu arıtımı için önemli bir bakteri olduğu gösterilmiştir (Pastore & Sforza, 2018). Başka bir çalışmada da bu cinse ait bakterilerin sullfametoksazol antibiyotiğine aklime olmuş aktif çamurda bu antibiyotiği tamamen degrade ettiğini göstermiştir (Herzog vd., 2013). Başka bir çalışmada ise ileri fosfor giderim reaktöründen izole edilen bakterilerden birinin bu cinse ait olduğu ortaya çıkmıştır (Ryu vd., 2007). Bu cinsin fosfat giderimi için de önemli olduğu ortaya konmuştur. Bu da bu cinsin atıksu arıtımındaki önemini göstermektedir.

Nanopartiküler maddenin kronik etkisi ile sayısı ciddi düzeyde artan ancak kontrol ya da akut etki örneklerinde sayısı önemsiz derecede düşük olan bakteri cinslerinden bir diğeri de *Firmicutes* filumuna ait *Lachnospiraceae* familyasına ait bakterilerdir. Bu filuma ait bakteriler, kontrol ve akut etki örneklerinde 3151 ve 3656 OTU ile temsil edilirken, kronik etki koşulunda ciddi artış göstererek 16480 OTU sayısına ulaşmış, yenilenebilirlik örneğinde 11526 OTU sayısı ile

ikinci en baskın türü oluşturmuşlardır. Firmicutes filumuna ait bakteriler endospor oluşturabilen bakterilerdir. Endospor bakterilerin zor koşullarda yaşayabilmesini sağlamaktadır. İlk iki koşulda baskın olan türlerin sayısı azalınca bu bakteriler baskın hale geçebilmiş olabilir. Firmicutes ve Bacterioidetes filumuna ait bakteriler ve aynı zamanda filament oluşturabilirler. Filamentler ile yüzey alanını artırarak daha fazla besin maddesine erişebilirler ancak filamentli bakteriler reaktörlerde soruna yol açabilir, kabarmaya ve yavaş çökmeye sebep olabilirler (Martins vd., 2004). Bu nedenle filamentli bakterilerin aktif çamur içeriğinde bir miktar olması tercih edilirken, aşırı artması teknik problemlere sebep olacağından tercih edilen bir durum değildir.

Peptonla beslenen reaktörde nanopartiküler maddenin 50 gün uygulanmasıyla Firmicutes filumuna ait bakteriler artmış, ancak uygulama durdurulduktan sonra miktarları azalmıştır. Bu pepton ile beslenen reaktördeki aktif çamurun kendinin az da olsa yenileyebildiğini göstermektedir. Aynı zamanda cins düzeyinde değişiklikler olsa da Bacterioidetes filumu bu örneklerde baskın durumdadır. Bu da peptonlu reaktördeki KOİ veriminin artmasını açıklamaktadır.

Gerçek atıksu ile çalıştırılan reaktörde, peptonlu reaktörün aksine Firmicutes filumu ve Lachnospiraceae familyasına ait bakteriler kontrol koşulunda dahi 9909 ve 8890 OTU ile temsil edilecek kadar çok bulunmaktadır. Bunun sebebi gerçek atıksuda, sentetik atıksuyun aksine kompleks polimerlerin varlığı olabilir. Kontrol ve akut etki örneklerinde Firmicutes, Proteobacter, Bacterioidetes filumlarının baskın olduğu görülmektedir. Bu durum literatürde bahsedildiği gibidir (Nascimento vd., 2018; Silva-Bedoya vd., 2016; Yang vd., 2014). Ancak fotokatalistin eklenmesinden 30 gün sonunda Firmicutes filumuna ve Lachnospiraceae familyasına ait bakterilerin OTU sayısı akut etkiye göre 3 kattan fazla artmıştır ve 16757'ye çıkmıştır. Bu grup bakteriler fotokatalist uygulanması durdurulduktan 20 gün sonra da oldukça yoğun bir biçimde bulunmaktadır ve OTU sayısı 11378'dir. Bu haliyle sayısı kontrol koşulunda olan 9909 OTU sayısına yaklaşmıştır.

Kontrol ve akut etki örneklerinde sayısı oldukça az olan Actinobacteria filumuna ait Candidatus microthrix genusundaki bakterilerin sayısı çok fazla artarak 38351 OTU sayısına ulaşmıştır. Bu bakteriler lipid biriktiren ve yüzlerce mikrometre filamentler oluşturan bakterilerdir ve atıksu arıtım tesislerinden alınan aktif çamurda görülmektedir (Blackall vd., 2009; Jon McIlroy vd., 2013). Aktif çamurun ayrılma problemine sebep olarak görülmektedir ve reaktörde kabarma

problemine sebep olmaktadır. Bu bakterilerin fosfat granülleri oluşturarak kabarma (bulking) sırasında fosfat giderimini yaptığı düşünülmektedir (Wang vd., 2014). Fotokatalist uygulaması sonra erdirildikten 20 gün sonra alınan ve aktif çamurun yenilebilirliğinin incelendiği örnekte bu bakterilere rastlanılmaması da aktif çamurun gerçek atıksu ile çalıştırılan reaktörde kendini bir miktar yenileyebildiğini göstermektedir. 50. Gün örneğinde dikkat çeken, diğer örneklerde miktarı çok az olan bir bakteri cinsi de Proteobacteria filumuna ait Mycoplana cinsidir. Yine kontrol be akut etki örneklerinde olduğu gibi Proteobacteria filumuna ait bakteriler 50. Gün örneğinde yeniden görülmeye başlamıştır, ancak KOİ değerlerine bakıldığında yenilenebilirliğin belirgin bir biçimde artmadığı görülmektedir. Bunun sebebi, Firmicutes filumuna ait bakterilerin de ortamda baskın olmasıyla muhtemel filamentlerden dolayı diğer bakterilerin organik maddeye erişiminin yeterli olmaması olabilir.

Bu çalışmada kullanılan reaktörlerin ikisinde de baskın olan filumlardan biri de rekabetçi ortamlarda yüksek hayatta kalma becerisi gösteren Actinobacteria filumudur. Bu filuma ait bakteriler fosfat giderimi için önemli olsalar da bazı cinslerine ait bakteriler filament oluşturmaları nedeniyle reaktörde köpürmeye sebep olabilmektedirler (Kragelund vd., 2008; Nielsen vd., 2009; Seviour vd., 2008). Gerçek atıksuda nanopartiküler maddenin kronik etkisi ile bu bakteri filumunun artmasının sebebi, diğer bakterilerin azalması ile bu filumdaki bakterilerin hayatta kalma becerisiyle ortamı ele geçirmesi olabilir. Nanopartiküler madde ortamdan çekildikten sonra hayatta kalan diğer bakterilerin sayısının artmasıyla Actinobacteria filumuna ait bakterilerin sayısı ciddi anlamda azalmıştır, onların yerini de Proteobacteria filumuna ait bakteriler almış görünmektedir. Pepton reaktöründe Actinobacteria filumunun hiçbir zaman gerçek atıksu reaktörünün kronik etki örneğindeki kadar baskın olmaması diğer bakterilerin bu filuma kolaylıkla baskın hale gelebileceğini düşündürmektedir. Genel olarak bakıldığında nanopartiküler maddenin gerçek atıksu ile yürütülen reaktörde, pepton ile beslenen reaktörle karşılaştırıldığında aktif çamura daha fazla zarar verdiği görülmektedir. Bunun nedeni gerçek atıksuda var olan mikrokirleticiler olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Evsel atıksu arıtma tesislerine giriş yapan mikrokirleticiler ve bunların gideriminde kullanılan fotokatalistler aktif çamuru inhibe ederek konvansiyonel aktif çamur sistemlerinin verimini etkilerler. Bu çalışmada antibiyotik gideriminde verimli olduğu bilinen, NFC-doplu TiO₂ nanopartiküllerinin gerçek evsel atıksu ve pepton biyodegradasyonunda aktif çamur üzerindeki akut ve 30 günlük kronik etkisinin değerlendirilmesini takiben fotokatalist maruziyeti sonrası 20 günlük süre zarfındaki yenilenebilirliği değerlendirilmiştir.

Gerçek evsel atıksu ile beslenen aktif çamur içerdiği mikrokirleticiler nedeniyle pepton ile beslenen aktif çamura göre TiO₂ nanopartikülünden daha fazla etkilenmiştir. Evsel atıksu ile beslenen aktif çamurun KOİ giderim verimi akut maruziyet sonrası %11, pepton ile beslenen aktif çamurun ise %8 azalmıştır. Oksijen tüketim hızları her iki reaktördeki aktif çamur örneklerinde de inhibisyona uğramıştır. Tür analizi açısından değerlendirildiğinde kontrol örneğinde dahi gerçek atıksudaki mikrokirleticilerin varlığı aktif çamurda bulunması tercih edilmeyen filamentli bakterilerin ortamda bulunmasına sebep olmuşlardır. 30 günlük nanopartiküler madde maruziyetinin ardından KOİ giderim verimi evsel atıksu reaktöründe %7'ye kadar düşmüş olup KOİ giderimi neredeyse tamamen ortadan kalkmıştır. Pepton reaktöründe ise kronik maruziyet sonrası KOİ giderim verimi %60 civarındadır. Bu farkın nedeni evsel atıksu reaktörünün 30 günlük süre zarfında nanopartiküler maddelerin yanı sıra evsel atıksuda bulunan mikrokirleticilere de maruz kalması olabilir. Kronik maruziyet sonrası oksijen tüketim hızı her iki reaktörde de inhibisyona uğramıştır ancak evsel atıksu reaktöründeki inhibisyon pepton reaktöründeki inhibisyona göre oldukça yüksektir. Kronik maruziyet sonrası aktif çamurda fazla miktarda bulunması istenmeyen ve çökme problemine yol açan filamentli bakteriler her iki reaktörde de ortamda baskın hale gelmişlerdir. Pepton reaktörü kontrol numunelerinde bulunan ve aktif çamurda bulunması istenen *Bacterioidetes* filumuna ait *Chryseobacterium* cinsi ciddi anlamda azalmıştır. Nanopartiküler madde maruziyetinin 20 günlük süre zarfında kesilmesinin ardından yenilenebilirliğin değerlendirildiği analiz sonuçlarına göre pepton reaktörünün nanopartiküler maddeyi evsel atıksu reaktörüne göre oldukça yüksek mertebede tolere edebildiği görülmüştür. Atıksu reaktöründe KOİ giderim veriminde herhangi bir iyileşme görülmemiş ve oksijen tüketim hızındaki inhibisyonda artış gözlemlenmiştir. Pepton reaktöründe ise oksijen tüketim hızındaki

inhibisyon devam etmiştir ancak mikroorganizmalar daha uzun süre zarfında daha fazla organik maddeyi tüketmiş ve KOİ giderim veriminde %19'luk bir iyileşme gözlemlenmiştir. Tür analizi açısından değerlendirildiğinde yine KOİ giderim verimine paralel bir sonuç gözlemlenmiş, evsel atıksu reaktörü mikroorganizmalarının yenilenebilirliği pepton reaktörü mikroorganizmalarına göre oldukça düşük kalmıştır. Peptonla beslenen reaktörde Firmicutes filumuna ait bakteriler azalmıştır. Bu filament oluşturan bakterilerin azalması, pepton reaktörü aktif çamurunun kendisini az da olsa yenileyebildiğini göstermektedir. Aynı zamanda cins düzeyinde değişiklikler olsa da aktif çamurda bulunması istenen Bacteroidetes filumu yenilenebilirlik örneklerinde baskın durumdadır. Bu da pepton reaktöründeki KOİ veriminin artmasını açıklamaktadır. Evsel atıksu reaktöründe 20 gün boyunca nanopartiküler madde maruziyetinin kesilmesinin ardından aktif çamurda bulunması istenen mikroorganizmalarda artış gözlemlenmiştir ancak bu mikroorganizmalar filamentli bakterilerin ortamda hala baskın olması nedeniyle organik maddeye ulaşamamıştır ve tür düzeyindeki iyileşmenin KOİ giderim verimine yansımamasına sebep olmuşlardır.

Sonuç olarak, NFC-doplu TiO₂'in fotokatalist olarak kullanıldığı ileri oksidasyon prosesi ile desteklenecek potansiyel bir konvansiyonel aktif çamur arıtma tesisinin ham suyunun karakterini belirlemek oldukça önemlidir çünkü pepton reaktörüne göre evsel atıksu reaktöründe gözlemlenen yüksek inhibisyon ve aktif çamurun oldukça az yenilenmesi evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticilerden kaynaklanabilir. Uygulanacak bir kombine sistemde ileri oksidasyon prosesi ile evsel atıksuyun içerdiği mikrokirleticiler giderileceğinden, gerçek atıksuda da peptonda gözlemlendiği düzeyde inhibisyon gözlemlenebilir. Aynı zamanda sadece konvansiyonel aktif çamur prosesiyle arıtma ihtiyacı olduğunda ileri oksidasyon prosesi devre dışı bırakılabilir ve bu durumda aktif çamurun KOİ giderim verimi pepton reaktörü analiz sonuçlarında gözlemlendiği gibi iyileşebilir. Bu bilgiler ışığında, potansiyel bir kombine arıtma tesisinde KOİ giderim veriminde meydana gelecek olası %30'luk bir inhibisyonla evsel atıksu deşarj standartları sağlanıyorsa kombine arıtma sistemlerinin kullanılması uygun olabilir. Genellikle evsel atıksu arıtma tesisleri ham su KOİ yükü düşük olduğundan, kombine sistemler uygulanabilecek bir alternatif olarak değerlendirilebilir. İhtiyaç duyulduğunda, örneğin kombine arıtma tesisinde belli sezonlarda giriş KOİ yükü arttığında ve yüksek verimle KOİ giderimi gerçekleştirilmesi gerektiğinde ileri oksidasyon prosesi devre dışı bırakılabilir ve 20 günlük süre zarfında KOİ

giderimi veriminde artış gözlemlenebilir. Böylece mevsimsel değişimler gözlemlenen evsel atıksularda da kombine sistemler uygulanabilir ve giriş KOİ yükünün artış gösterdiği sezonlarda ileri oksidasyon prosesi devre dışı bırakılarak değarj standartları sağlanabilir.

6. KAYNAKLAR

- Abt, B., Teshima, H., Lucas, S., Lapidus, A., del Rio, T. G., Nolan, M., ... Kyrpides, N. C. (2011). Complete genome sequence of *Leadbetterella byssophila* type strain (4M15 T). *Standards in Genomic Sciences*, 4(1), 2–12. <http://doi.org/10.4056/sigs.1413518>
- Albek, M., Yetis, Ü. Gokcay, C. F. (1997). Effects of Ni(II) on respirometric oxygen uptake, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 636-641.
- Anonim-3, 2017, <https://www.kimyadersi.org/titanyum.html> Erişim Tarihi: 01.03.2019
- Ata, R., (2018), ‘Removal of conventionally treated domestic and industrial wastewater discharged into Meric-Ergene basin after characterization of colour and antibiotic residues’, PhD thesis, Institute of science of Namık Kemal University, , Env.Eng.Department.
- Ata, R., Yildiz Tore G. (2019), ‘Characterization and removal of antibiotic residues by NFC-doped photocatalytic oxidation from domestic and industrial secondary treated wastewaters in Meric-Ergene Basin and reuse assessment for irrigation’, *Journal of Environmental Management*, Volume 233, pp. 673-680. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.11.095>
- Bakheet, B., Yuan, S., Li, Z., Wang, H., Zuo, J., Komarneni, S., Wang, Y., 2013.
- BELTRAN FJ, GARCÍA-ARAYA JF, FRADES J, ALVAREZ P, GÍMENO O, Effects of single and combined ozonation with hydrogen peroxide or UV radiation on the chemical degradation and biodegradability of debittering table olive industrial wastewater, *Wat. Res.*, 33(3), 723-732, 1999.
- Bennett, S.: Solexa Ltd. *Pharmacogenomics*. 5, 433–438 (2004). doi:10.1517/14622416.5.4.433
- Bioresource Technology*, Volume 225, 279-285. Illumina: An introduction to Next-Generation Sequencing Technology.
- Blackall, L. L., Stratton, H., Bradford, D., Del Dot, T., Sjørup, C., Seviour, E. M., & Seviour, R. J. (2009). ‘*Candidatus Microthrix parvicella*,’ a Filamentous Bacterium from Activated Sludge Sewage Treatment Plants. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(1), 344–346. <http://doi.org/10.1099/00207713-46-1-344>
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C., Al-Ghalith, G. A., ... Caporaso, J. G. (2018). QIIME 2: Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science. <http://doi.org/10.7287/peerj.preprints.27295v2>
- Brar S. K., Verma M., Tyagi R. D., Surampalli R. Y., (2010). Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge -Evidence and impacts, *Waste Management*, 30, 504-520.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal*, 11(12), 2639–2643. <http://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Peña, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D.,

- Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunenko, T., Zaneveld, J., Knight, R.: QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods*. 7, 335–336 (2010). doi:10.1038/nmeth.f.303
- Cervantes-Avilés, Pabel, et al. "Influence of wastewater type on the impact generated by TiO₂ nanoparticles on the oxygen uptake rate in activated sludge process." *Journal of environmental management* 190 (2017): 35-44.
- Cokgor, E.U., Demir, S., Karahan, O., Insel, G., Orhon, D. (2007). Critical appraisal of respirometric methods for metal inhibition on activated sludge. *J. Haz. Mat.* 139(2), 332-339.
- DeSantis, T. Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E. L., Keller, K., ... Andersen, G. L. (2006). Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 5069–72. <http://doi.org/10.1128/AEM.03006-05>
- Ellis, T.G.; Barbeau, D.S.; Smets, B.F.; Grady, C.P.L. (1996). Respirometric technique for determination of extant kinetic parameters describing biodegradation. *Wat. Env. Res.* 68(5), 917-926.
- Elmolla, Emad S., and Malay Chaudhuri. "The feasibility of using combined TiO₂ photocatalysis-SBR process for antibiotic wastewater treatment." *Desalination* 272.1-3 (2011): 218-224.
- Escobar-Zepeda, A., De León, A.V.P., Sanchez-Flores, A.: The road to metagenomics: From microbiology to DNA sequencing technologies and bioinformatics. *Front. Genet.* 6, 1–15 (2015). doi:10.3389/fgene.2015.00348
- Glenn, T.: The 2016 Next-Generation Sequencing Field Guide Preview: Zombie Systems and New Hope |, <https://www.molecularecologist.com/2016/03/2016-ngs-field-guide-preview/>
- Gómez-Acata, S., Esquivel-Ríos, I., Pérez-Sandoval, M. V., Navarro-Noya, Y., Rojas-Valdez, A., Thalasso, F., ... Dendooven, L. (2017). Bacterial community structure within an activated sludge reactor added with phenolic compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(8), 3405–3414. <http://doi.org/10.1007/s00253-016-8000-z>
- Guissésola, A.; Baeza, J.A.; Carree, J.; Casas, C.; Lafuente, J. (2003). An offline respirometric procedure to determine inhibition and toxicity of biodegradable compounds in biomass from industrial WWTP, *Wat. Sci. Tech.* 48(11-12), 267-275.
- Gutiérrez M, Etxebarria J, de las Fuentes L (2002) Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between Microtox and activated sludge oxygen uptake inhibition. *Water Res* 36:919–924
- Herzog, B., Lemmer, H., Horn, H., & Müller, E. (2013). Characterization of pure cultures isolated from sulfamethoxazole-acclimated activated sludge with respect to taxonomic identification and sulfamethoxazole biodegradation potential. *BMC Microbiology*, 13(1), 276. <http://doi.org/10.1186/1471-2180-13-276>
- Hou J., You G., Xu Y., Wang C., Wang P., Miao L., Ao Y., Li Y. , LV. Bowen, Yang Y. (2016) Impacts of CuO nanoparticles on nitrogen removal in sequencing batch biofilm reactors

- after short-term and long-term exposure and the functions of natural organic matter, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23:22116–22125.
- Hu, Z., Lu, X., Sun, P., Hu, Z., Wang, R., Lou, C., & Han, J. (2017). Understanding the performance of microbial community induced by ZnO nanoparticles in enhanced biological phosphorus removal system and its recoverability. *Illumina: MiSeq™ System*. (2011)
- Insel, G., Karahan, O., Ozdemir, S., Pala, L., Katipoglu, T., Cokgor, E.U., Orhon, D. (2006). Unified basis for the respirometric evaluation of inhibition for activated sludge. *J. Environ. Sci. Heal. A*, 41(9), 1763-1780.
- Janda, J.M., Abbott, S.L.: 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *J. Clin. Microbiol.* 45, 2761–2764 (2007). doi:10.1128/JCM.01228-07
- Jon McIlroy, S., Kristiansen, R., Albertsen, M., Michael Karst, S., Rossetti, S., Lund Nielsen, J., ... Nielsen, P. H. (2013). Metabolic model for the filamentous ‘Candidatus *Microthrix parvicella*’ based on genomic and metagenomic analyses. *The ISME Journal*, 7(6), 1161–1172. <http://doi.org/10.1038/ismej.2013.6>
- Jünemann, S., Kleinbölting, N., Jaenicke, S., Henke, C., Hassa, J., Nelkner, J., Stolze, Y., Albaum, S.P., Schlüter, A., Goesmann, A., Sczyrba, A., Stoye, J.: Bioinformatics for NGS-based metagenomics and the application to biogas research. *J. Biotechnol.* 261, 10–23 (2017). doi:10.1016/j.jbiotec.2017.08.012
- Kelly, C. N., Tumsaroj, N., Lajoie, C. A. Assessing wastewater metal toxicity with bacterial bioluminescence in a bench-scale wastewater treatmentsystem, *Water Res.* (38) (1997) 423–431.
- Klaine S. J., Alvarez P. J. J., Batley G. E., Fernandes T. F., Handy R. D., Lyon D. Y., Mahendra S., Mclaughlin M. J., and Lead J. R., 2008. Nanomaterials In The Environment: Behavior, Fate, Bioavailability, And Effects, *Environmental*
- Kor-Bicakci G., Pala-Ozkok İ., Ural A., Jonas D. , Orhon D., Ubay-Cokgor E. (2016), Is the chronic impact of sulfamethoxazole different for slow growing culture? The effect of culture history *Bioresource Technology*, Volume 206, 65-76.
- Kragelund, C., Levantesi, C., Borger, A., Thelen, K., Eikelboom, D., Tandoi, V., ... Nielsen, P. H. (2008). Identity, abundance and ecophysiology of filamentous bacteria belonging to the Bacteroidetes present in activated sludge plants. *Microbiology*, 154(Pt 3), 886–894. <http://doi.org/10.1099/mic.0.2007/011684-0>
- Lewandowski, Z.; Janta, K.; Mazierski, J. (1985). Inhibition coefficient determination in activated sludge. *Wat. Res.* 19, 671-674.
- Li, Zhiwei, et al. "Long-term impacts of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) on performance and microbial community of activated sludge." *Bioresource technology* 238 (2017): 361-368.
- Liu, X., Xu, Q., Wang, D., Wu, Y., Yang, Q., Liu, Y., Wang, Q., Li, X., Li, H., Zeng, G., Yang, G.: Unveiling the mechanisms of how cationic polyacrylamide affects short-chain fatty

- acids accumulation during long-term anaerobic fermentation of waste activated sludge. *Water Res.* 155, 142–151 (2019). doi:10.1016/j.watres.2019.02.036
- Luther W., (2004). International Strategy and Foresight Report on Nanoscience and Nanotechnology, March.
- MANTZAVINOS D, PSILLAKIS E, Review Enhancement of Biodegradability of Industrial Wastewaters by Chemical Oxidation Pre-Treatment, *Journal of Chem. Technology and Biotechnology*, 79, 431, 2004.
- Martins, P., Pagilla, K., Heijnen, J. J., & Van Loosdrecht, M. C. M. (n.d.). Critical review Filamentous bulking sludge-a critical review <http://doi.org/10.1016/j.watres.2003.11.005>
- Meli, K., Kamika, I., Keshri, J., & Momba, M. N. B. (2016). The impact of zinc oxide nanoparticles on the bacterial microbiome of activated sludge systems. *Scientific reports*, 6, 39176.
- Nascimento, A. L., Souza, A. J., Andrade, P. A. M., Andreote, F. D., Coscione, A. R., Oliveira, F. C., & Regitano, J. B. (2018). Sewage Sludge Microbial Structures and Relations to Their Sources, Treatments, and Chemical Attributes. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1462. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01462>
- Nevim, G. E. N. Ç. (2008). Atıksu Ve Aritma Çamurlarının Biyolojik Parçalanabilirliğinin Geliştirilmesinde Ön Aritimin Önemi. *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1), 15-24.
- Nielsen, P. H., Kragelund, C., Seviour, R. J., & Nielsen, J. L. (2009). Identity and ecophysiology of filamentous bacteria in activated sludge. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(6), 969–998. <http://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00186.x>
- Ohsaka, T., Izumi, F., & Fujiki, Y. (1978). Raman spectrum of anatase, TiO₂. *Journal of Raman spectroscopy*, 7(6), 321-324.
- Orhon, D., Artan, N., (1994). Modelling of Activated Sludge Systems. Technomic Press, Lancaster, PA.
- Pastore, M., & Sforza, E. (2018). Exploiting symbiotic interactions between *Chlorella* protothecoides and *Brevundimonas diminuta* for an efficient single-step urban wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 78(1), wst2018155. <http://doi.org/10.2166/wst.2018.155>
- Pires, C., Carvalho, M. F., De Marco, P., Magan, N., & Castro, P. M. L. (2010). *Chryseobacterium palustre* sp. nov. and *Chryseobacterium humi* sp. nov., isolated from industrially contaminated sediments. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY*, 60(2), 402–407. <http://doi.org/10.1099/ijs.0.010348-0>
- Pruesse, E., Peplies, J., Glöckner, F.O.: SINA: Accurate high-throughput multiple sequence alignment of ribosomal RNA genes. *Bioinformatics*. 28, 1823–1829 (2012). doi:10.1093/bioinformatics/bts252
- Qiu, Guanglei, Meng-Jun Au, and Yen-Peng Ting. "Impacts of Nano-TiO₂ on system performance and bacterial community and their removal during biological treatment of wastewater." *Water, Air, & Soil Pollution* 227.10 (2016): 386.

- Qu, J., Xu, Y., Ai, G.-M., Liu, Y., & Liu, Z.-P. (2015). Novel *Chryseobacterium* sp. PYR2 degrades various organochlorine pesticides (OCPs) and achieves enhancing removal and complete degradation of DDT in highly contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 161, 350–357. <http://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2015.07.025>
- R Development Core Team, R. (2011). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing (Vol. 1). <http://doi.org/10.1007/978-3-540-74686-7>
- Ricco G, Tomei MCMC, Ramadori R, Laera G (2004) Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox. *Water Res* 38:2103–2110. doi:10.1016/j.watres.2004.01.020.
- Ryu, S. H., Park, M., Lee, J. R., Yun, P.-Y., Jeon, C. O., Ok, C., & Kr, J. C. A. (2007). *Brevundimonas aveniformis* sp. nov., a stalked species isolated from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 1561–1565. <http://doi.org/10.1099/ijs.0.64737-0>
- Salimi, Maryam, et al. "Contaminants of emerging concern: a review of new approach in AOP technologies." *Environmental monitoring and assessment* 189.8 (2017): 414.
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Horn, D.J. Van, Weber, C.F.: Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–7541 (2009). doi:10.1128/AEM.01541-09
- Scientific, T.F.: DNA quantification in micro-liter volumes with Thermo Scientific μ Drop Plate (2011).
- Seviour, R. J., Kragelund, C., Kong, Y., Eales, K., Nielsen, J. L., & Nielsen, P. H. (2008). Ecophysiology of the Actinobacteria in activated sludge systems. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94(1), 21–33. <http://doi.org/10.1007/s10482-008-9226-2>
- Shannon, C.E.: A Mathematical Theory of Communication. 27, 379–423 (1948).
- SIMPSON, E.H.: Measurement of Diversity. *Nature*. 163, 688–688 (1949). doi:10.1038/163688a0
- Silva-Bedoya, L. M., Sánchez-Pinzón, M. S., Cadavid-Restrepo, G. E., & Moreno-Herrera, C. X. (2016). Bacterial community analysis of an industrial wastewater treatment plant in Colombia with screening for lipid-degrading microorganisms. *Microbiological Research*, 192, 313–325. <http://doi.org/10.1016/J.MICRES.2016.08.006>
- Skraban, J., Kyrpides, N. C., Shapiro, N., Whitman, W. B., & Trček, J. (2018). Genome Announcement Draft genome sequence of *Chryseobacterium limigenitum* SUR2 T (LMG 28734 T) isolated from dehydrated sludge. <http://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.03.009>
- Stasinakis, AS; Mamais, D; Thomaidis, NS.; Lekkas, TD. (2002). Effect of Chromium (VI)-addition on bacterial kinetics of heterotrophic biomass of activated sludge. *Wat. Res.* 36, 3341-3349.
- Streit, W.R., Schmitz, R.A.: Metagenomics – the key to the uncultured microbes. *Curr. Opin. Microbiol.* 7, 492–498 (2004). doi:10.1016/J.MIB.2004.08.002

- Supha, Chitpisud, et al. "Long-term exposure of bacterial and protozoan communities to TiO₂ nanoparticles in an aerobic-sequencing batch reactor." *Science and technology of advanced materials* 16.3 (2015): 034609
- Toxicology and Chemistry, Vol. 27, No.9, pp. 1825–1851.
- Wang, J., Qi, R., Liu, M., Li, Q., Bao, H., Li, Y., ... Yang, M. (2014). The potential role of 'Candidatus *Microthrix parvicella*' in phosphorus removal during sludge bulking in two full-scale enhanced biological phosphorus removal plants. *Water Science and Technology*, 70(2), 367–375. <http://doi.org/10.2166/wst.2014.216>
- WANG, Jianlong; WANG, Shizong. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: a review. *Journal of environmental management*, 2016, 182: 620-640.
- Wang, X. (2016). *Next Generation Sequencing Data Analysis*. Boca Racaon, Florida: CRC Press.
- Wickham, H. (2009). *Ggplot2 : elegant graphics for data analysis*. Springer.
- Willems and van der Willenberg (W & W), (2005). *NRM Nanoroadmap Project: Roadmap Report on Nanoparticles*, November.
- Xu, G., Han, Y., Li, L., Liu, J.: Characterization and source analysis of indoor/outdoor culturable airborne bacteria in a municipal wastewater treatment plant. *J. Environ. Sci.* 74, 71–78 (2018). doi:10.1016/j.jes.2018.02.007
- Yang, Y., Yu, K., Xia, Y., Lau, F. T. K., Tang, D. T. W., Fung, W. C., ... Zhang, T. (2014). Metagenomic analysis of sludge from full-scale anaerobic digesters operated in municipal wastewater treatment plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(12), 5709–5718. <http://doi.org/10.1007/s00253-014-5648-0>
- Yildiz Tore, G., Güngör R. (2011). " COD fractionation based biological treatability assessment of segregated & recovered wastewater streams from denim processing plant" *Desalination and Water Treatment*, Volume 28, pp. 385–394.
- Zhang, H., He, H., Chen, S., Huang, T., Lu, K., Zhang, Z., Wang, R., Zhang, X., Li, H.: Abundance of antibiotic resistance genes and their association with bacterial communities in activated sludge of wastewater treatment plants: Geographical distribution and network analysis. *J. Environ. Sci.* 82, 24–38 (2019). doi:10.1016/j.jes.2019.02.023

ÖZGEÇMİŞ

Gökçe Faika MERDAN 02 Temmuz 1991 tarihinde Beykoz/İstanbul'da doğdu. Lise hayatını Erenköy Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 2013 yılında Namık Kemal Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü lisans programını bitirmesinin ardından 2015 yılında yine Namık Kemal Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine devam etmiştir. Yüksek lisans eğitimi esnasında, bir inşaat firmasında Çevre Mühendisi olarak çalışmıştır. Şu an İSKİ Ömerli İçme Suyu Arıtma Tesisi'nde İşletme Mühendisi olarak çalışmaktadır.