

152299

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANAEROBİK ARITMADA AMONYAK İNHİBİSYONU

DOKTORA TEZİ
Y. Müh. Nursen ÖZ ELDEM
(501962040)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 31 Ağustos 2004
Tezin Savunulduğu Tarih : 11 Kasım 2004

Tez Danışmanı :

Prof.Dr. İzzet ÖZTÜRK

Diğer Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Ahmet DEMİR (Y.T.Ü.)

Prof.Dr. Fatoş G. BABUNA (İ.T.Ü.)

Prof.Dr. Hasan Ali SAN (İ.T.Ü.)

Prof.Dr. Ömer AKGİRAY(M.Ü.)

ARALIK 2004

ÖNSÖZ

Bu çalışmayı, bana bugün sahip olduğum değerleri kazandıran, yaşamları boyunca tüm rahatsızlıklarına rağmen çocuklarını yetiştirmek için sonsuz emek ve her türlü fedakârlığı gösteren sevgili annem Hayriye ÖZ ve sevgili babam Muzaffer ÖZ'ün aziz anılarına ithaf ederek, kendilerine sonsuz teşekkürü bir borç bilirim. Ruhunuz şad olsun, rahat uyuyun canım anneciğim, babacığım.

Bu çalışmaya görüşleri ve katkıları ile ışık tutan, çalışmanın tamamlanmasında her türlü desteği esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr. İzzet ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi arz ederim.

Değerli katkılarından dolayı hocalarım Prof.Dr. Hasan Z. SARIKAYA, Prof.Dr. Hasan Ali SAN, Prof.Dr. Ahmet DEMİR, Prof.Dr. Fatoş GERMİRLİ BABUNA'a teşekkür ederim.

Çalışmamın her aşamasında yanımda olan ve sonsuz desteklerini esirgemeyen arkadaşım Araş.Gör. Elif SOYER'e ve hocam Prof.Dr. Ömer AKGİRAY'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında değerli katkıları ve yardımlarından dolayı sevgili yeğenim Dr. Özlem ÖZ TECER'e ve değerli arkadaşım Doç.Dr. Kadir ALP'e teşekkür ederim. Deneysel çalışmalarım sırasında her türlü yardım ve desteği esirgemeyen Öğr.Gör.Dr. Barış ÇALLI'ya ve Doç.Dr. Bülent İNANÇ'a, deney düzeneğinin hazırlanmasında yardımcı olan hocam Yard.Doç.Dr. İbrahim DEMİR ve arkadaşım Kim.Müh. Cengiz BASKE'ye, deneylerim sırasında kullandığım Gaz Kromatografisi cihazı ile ilgili teknik desteği sunan Kimyager Yaşar ÇİFTÇİ'ye teşekkür ederim.

Çalışmam süresince maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim sevgili eşim Nuri ELDEM, canım kızlarım İpek ve Lale'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2004

Nursen ÖZ ELDEM

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
SEMBOL LİSTESİ	xvii
ÖZET	xviii
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ	1
1.1. Konunun Anlam ve Önemi	1
1.2. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı	2
2. ANAEROBİK ARITMA ve AMONYAK İNHİBİSYONUNUN ESASLARI	4
2.1. Anaerobik Arıtmanın Esasları	4
2.1.1. Giriş	4
2.1.2. Anaerobik arıtma prosesinin kademeleri	5
2.1.3. Anaerobik arıtma prosesinde etkili mikrobiyal gruplar ve aralarındaki ilişkiler	8
2.2. Anaerobik Arıtmada Çevresel Faktörler	15
2.2.1. Sıcaklık	15
2.2.2. pH ve alkalinite	17
2.2.3. Nütrient ihtiyacı	22
2.2.4. İnhibitör ve toksik maddeler	26
2.2.4.1. Uçucu asitler	29
2.2.4.2. Alkali ve toprak alkali tuz toksisitesi	30
2.2.4.3. Organik bileşikler	31
2.2.4.4. Sülfür	34
2.2.4.5. Ağır metaller	37
2.2.4.6. Amonyak	40
2.3. İnhibisyon Türleri ve Mekanizmaları	43
2.3.1 Giriş	43
2.3.2 Enzimler	44
2.3.2.1. Enzim kinetikleri	46
2.3.3 Anaerobik arıtmada kullanılan inhibisyon modellerinden örnekler	60
2.4. Anaerobik Arıtmada Amonyak İnhibisyonu	63
2.4.1 Giriş	63

2.4.2 Amonyak karakterizasyonu	64
2.4.3 Amonyak anaerobik arıtma üzerine etkisi	67
2.4.4 Amonyak kaynakları	68
2.4.5 Amonyak farklı anaerobik mikrobiyal gruplara etkisi	69
2.4.6 Amonyak inhibisyonunda pH'ın etkisi	76
2.4.7 Amonyak inhibisyonunda sıcaklığın etkisi	80
2.4.8 Amonyak inhibisyonunda şok yükleme ve yüksek amonyak düzeylerine kademeli olarak alıştırma	81
2.4.9 Amonyak inhibisyonunun tersinebilirlik yapısı	85
2.4.10 Saf kültürlerde amonyak inhibisyonu ve inhibisyon mekanizmaları	85
2.4.11 Amonyak inhibisyonunu azaltmak için uygulanan yöntemler	88
2.4.12 Moleküler mikrobiyoloji teknikleri	90
2.4.13 Metanojenik aktivite testleri ile inhibisyonun belirlenmesi	92
2.4.14 Amonyak inhibisyon çalışmalarında kullanılan metanojenik aktivite test düzenekleri	96
3. MATERYAL VE METOT	98
3.1. Deney Düzeneklerinin Tanımlanması	98
3.1.1. Seyreltme çözeltilisinin hazırlanması ve transfer reaktörüne ilavesi	98
3.1.2. Serum şişelerine seyreltme çözeltilisinin transferi	102
3.1.3. Numune alma ve izleme	103
3.2. Parametreler, Analiz Yöntemleri ve Ölçüm Sıklıkları	104
3.2.1. pH	105
3.2.2. Çözünmüş organik karbon	105
3.2.3. Toplam alkalinite, AKM, UAKM ve TAN	106
3.2.4. Uçucu yağ asitleri	106
3.2.5. Biyogaz bileşiminin belirlenmesi	106
3.2.6. Metanojen türlerinin belirlenmesi	107
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	109
4.1. Giriş	109
4.2. Granüler Anaerobik Arıtma Çamuru ile Yapılan Deneysel Çalışmalar	109
4.3. Floküler Anaerobik Arıtma Çamuru ile Yapılan Deneysel Çalışmalar	116
5. DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI VE DEĞERLENDİRME	124
5.1. Giriş	124
5.2. Eklenik Metan Üretim Eğrilerinin Elde Edilmesi	124
5.3. Eklenik Metan Üretim Eğrilerinin Modellenmesi	127
5.3.1. Gompertz modeli	127
5.3.1.1. Bakteri çoğalma eğrisi	128

5.3.1.2. Bakteri çoğalma modelleri ve model parametreleri	128
5.4. Eklenik Metan Üretim Eğrilerinin Değerlendirilmesi	133
5.5. Amonyak ve pH İnhibisyonunun Modellenmesi	143
5.5.1. Amonyak – amonyum dağılımı	143
5.5.2. Amonyak ve pH inhibisyonunun modellenmesi ile elde edilen sonuçlar ve değerlendirme	150
5.5.2.1. Maksimum metan üretim hızında % 50 azalmaya yol açan amonyak konsantrasyonlarının bulunması	152
5.5.2.2. Optimum pH	154
5.6. Diğer Parametrelerin Değerlendirilmesi	156
5.6.1. pH, uçucu yağ asitleri ve alkalinite	156
5.6.2. Çözünmüş organik karbon	161
5.6.3. Toplam amonyak azotu	163
5.6.4. Biyogazdaki CH ₄ oranı	163
5.6.5. FISH tekniği çalışma sonuçlarının yorumlanması	163
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	165
KAYNAKLAR	171
EKLER	185
ÖZGEÇMİŞ	264

KISALTMALAR

TAN	: Toplam Amonyak Azotu
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
AKM	: Askıda Katı Madde
UAKM	: Uçucu Askıda Katı Madde
ÇOK	: Çözünmüş Organik Karbon
UYA	: Uçucu Yağ Asidi
TUM	: Toplam Uçucu Madde
TKM	: Toplam Katı Madde
FISH	: Fluorescent In-Situ Hybridization
RNA	: Ribonükleik asit
SAN	: Serbest Amonyak Azotu
UK	: Uçucu Katı
AA	: Asetik Asit
PA	: Propiyonik Asit
BA	: Bütirik Asit
İVA	: İzo Valerik Asit
İBA	: İzo Bütirik Asit
VA	: Valerik Asit
ATP	: Adenozintrifosfat
UKM	: Uçucu Katı Madde
UASB	: Upflow Anaerobic Sludge Blanket
DNA	: Deoksiribonükleik asit
rRNA	: ribozomal Ribonükleik asit
rDNA	: ribozomal Deoksiribonükleik asit
GC	: Gas Chromatography
FID	: Flame Ionization Detector
TCD	: Thermal Conductivity Detector
APHA	: American Public Health Association
TOK/TK	: Toplam Organik Karbon/Toplam Karbon
TK	: Toplam Katı
TKN	: Toplam Kjeldahl Azotu
SMA	: Spesifik Metanojenik Aktivite
ARCH 915	: Arke oligonükleotit probu
EUB 338	: Bakteri oligonükleotit probu
MB 1174	: Methanobacteriales oligonükleotit probu
MC 1109	: Methanococcales oligonükleotit probu
MG 1200	: Methanomicrobiaceae oligonükleotit probu
MS 821	: Methanosarcina oligonükleotit probu
MX 825	: Methanosaeta oligonükleotit probu
FLUOS	: 5(6)-carboxyfluorescein-N-hydrosuccinimide ester boyası
Cy3	: Indocarbocyanine boyası
TRITC	: Tetramethylrhodamine isothiocyanate boyası

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1	Metanojenlerin sınıflandırılması 12
Tablo 2.2	İzole edilmiş metanojenler ve bunların substratları 13
Tablo 2.3	Anaerobik arıtmada gerekli nutrientler 23
Tablo 2.4	Anaerobik arıtmada çeşitli organik maddeler için, teorik biyokütleye dönüşüm katsayıları (Y) ve optimum KOİ/N/P oranları 24
Tablo 2.5	Alkali ve toprak alkali katyonların uyarıcı ve inhibitör konsantrasyonları 30
Tablo 2.6	Anaerobik proseslere organik bileşenlerin inhibitör konsantrasyonları 32
Tablo 2.7	Anaerobik proseslere organik bileşenlerin rölatif konsantrasyonu 33
Tablo 2.8	Zenginleştirilmiş metanojenik kültürler tarafından metabolize edilen petrokimyasallar 34
Tablo 2.9	Substrat inhibisyonu ile ilgili modeller 58
Tablo 2.10	Ürün inhibisyonu ile ilgili modeller 60
Tablo 2.11	Amonyaga duyarlılık ve toleranslarına göre metanojenlerin sınıflandırılması 73
Tablo 2.12	Metanojenik aktivitenin belirlenmesinde kullanılan deneysel şartlar 94
Tablo 2.13	Amonyak inhibisyon çalışmalarında metanojenik aktivitenin belirlenmesinde kullanılan deneysel şartlar 97
Tablo 3.1	Seyreltme suyunun kimyasal içeriği 100
Tablo 3.2	Farklı KOİ konsantrasyonlardaki atıksuların iz element ihtiyacı 100
Tablo 3.3	Çalışmada kullanılan iz element çözeltisi 100
Tablo 3.4	İçme suyunun içeriği 101
Tablo 3.5	Stok substrat çözeltisinin içeriği 102
Tablo 3.6	Deneylerde kullanılan parametreler ve ölçüm yöntemleri 105
Tablo 3.7	Floresanlı hibritleşme tekniğinde kullanılan oligonükleotid probalar 108
Tablo 4.1	pH 6,8; 7,4; 7,8; 8,4'de çalıştırılan granüler aşı çamuruna ait transfer reaktörlerindeki seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi ve sisteme dolaylı yoldan verilen Na ⁺ miktarları 112
Tablo 4.2	Sisteme dolaylı olarak eklenen Cl ⁻ konsantrasyonları (granüler aşı çamuru) 113
Tablo 4.3	Granüler çamurun pH 6,8'de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH ₄ değerleri 115
Tablo 4.4	Granüler çamurun pH 7,4'de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH ₄ değerleri 115
Tablo 4.5	Granüler çamurun pH 7,8'de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH ₄ 115

	değerleri	115
Tablo 4.6	Granüler çamurun pH 8,4'de farklı zamanlarda ölçülmüş %CH ₄ değerleri	116
Tablo 4.7	Floküler aşı çamuru ile yapılan ön çalışmada UYA değişimi	117
Tablo 4.8	pH 6,8; 7,4; 7,8; 8,4'de çalıştırılan floküler aşı çamuruna ait transfer reaktörlerindeki seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi ve sisteme dolaylı yoldan verilen Na ⁺ miktarları	119
Tablo 4.9	Sisteme dolaylı olarak eklenen Cl ⁻ konsantrasyonları (floküler aşı çamuru)	120
Tablo 4.10	Floküler çamurun pH 6,8'de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH ₄ değerleri	122
Tablo 4.11	Floküler çamurun pH 7,4'de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH ₄ değerleri	122
Tablo 4.12	Floküler çamurun pH 7,8'de dört farklı zamanda ölçülmüş %CH ₄ değerleri	123
Tablo 4.13	Floküler çamurun pH 8,4'de dört farklı zamanda ölçülmüş %CH ₄ değerleri	123
Tablo 5.1	Granüler aşı çamuru için doğrusal olmayan regresyon sonucunda hesaplanan parametre değerleri	134
Tablo 5.2	Floküler aşı çamuru için doğrusal olmayan regresyon sonucunda hesaplanan parametre değerleri	135
Tablo 5.3	Granüler ve floküler kontrol reaktörlerinde R _m değerlerinin pH ile değişimi	137
Tablo 5.4	Granüler aşı çamuru için β değerleri (gün)	142
Tablo 5.5	Floküler aşı çamuru için β değerleri (gün)	143
Tablo 5.6	Çalışmada kullanılan pH değerleri için her iki aşı çamuruna ait TAN ₅₀ konsantrasyonları	154
Tablo C.1	Seyreltme suyunun kimyasal içeriği	225
Tablo C.2	Farklı konsantrasyonlardaki atıksuların iz element ihtiyacı	225
Tablo C.3	Çalışmada kullanılan iz element çözeltisi	225
Tablo C.4	İçme suyunun içeriği	225
Tablo C.5	Stok substrat çözeltisinin içeriği	226
Tablo C.6	Seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi	226
Tablo C.7	pH düzeltmeleri sırasında sisteme dolaylı olarak eklenen Na ⁺ konsantrasyonları	226
Tablo C.8	pH'ın zamana bağlı olarak değişimi	227
Tablo C.9	Alkalinite, pH ve UYA parametrelerinin başlangıç ve sonuç değerleri	227
Tablo C.10	Parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	229
Tablo C.11	Metan, karbondioksit yüzdeleri	230
Tablo D.1	Granüler aşı çamuru ile pH 6,8'de yapılan deneylerde ölçülen başlangıç ve sonuç parametre değerleri	231
Tablo D.2	Granüler aşı çamuru ile pH 7,4'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	232
Tablo D.3	Granüler aşı çamuru ile pH 7,8'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	233
Tablo D.4	Granüler aşı çamuru ile pH 8,4'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	234

Tablo D.5	Floküler aşı çamuru ile pH 6,8’de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	235
Tablo D.6	Floküler aşı çamuru ile pH 7,4’de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	236
Tablo D.7	Floküler aşı çamuru ile pH 7,8’de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	237
Tablo D.8	Floküler aşı çamuru ile pH 8,4’de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri	238



ŞEKİL LİSTESİ

		<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1	Anaerobik işlemlerin çok kademeli yapısı	6
Şekil 2.2	Atıkların anaerobik çürütülmesinde görev yapan metabolik mikrobiyal gruplar	9
Şekil 2.3	Anaerobik arıtmada bikarbonat alkalinitesi, pH ve CO ₂ yüzdesi arasındaki ilişki	19
Şekil 2.4	Anaerobik proseslerde sıvı fazın bikarbonat alkalinitesindeki değişim etkilerinin ve/veya gaz fazın CO ₂ içeriğinin pH üzerine etkisi	21
Şekil 2.5	Biyolojik proseslerdeki reaksiyon hızı üzerine bir inhibitör konsantrasyonunun etkisi	27
Şekil 2.6	Kloroforma gaz üretiminin yanıtı	28
Şekil 2.7	Anaerobik arıtma sırasında gaz üretimi ve pH'ın bir fonksiyonu olarak sıvı fazda kalan çözünür sülfürün fraksiyonu	37
Şekil 2.8	100 mg/l serbest amonyak konsantrasyonu oluşturmak için gerekli TAN konsantrasyonu üzerine sıcaklık ve pH'ın etkileri	42
Şekil 2.9	Bir kofaktör gerektiren enzim kataliz reaksiyonunun mekanizması	45
Şekil 2.10	Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burke (b) çizimleri	48
Şekil 2.11	Maksimum aktivite aralığı reaksiyon ortamının içerdiği enzimlere, bu enzimlerin aktivitesi de pH'a oldukça fazla bağlı olmaktadır	48
Şekil 2.12	Enzim inhibisyonunun tipleri. a. kompetitif inhibisyon. b. non-kompetitif inhibisyon. c. un-kompetitif inhibisyon	53
Şekil 2.13	Mikroorganizmanın spesifik çoğalma hızı üzerine substrat konsantrasyonunun etkisi	56
Şekil 2.14	AF- kompetitif inhibisyon, BC- un-kompetitif inhibisyon	63
Şekil 2.15	Azot çevrimi	65
Şekil 2.16	pH ve sıcaklığın, çözeltideki amonyak gazı ve amonyum iyonunun dağılımı üzerine etkisi	67
Şekil 2.17	Anaerobik proseslerde mevcut besinsel gruplar üzerine amonyanın etkisi	74
Şekil 2.18	Amonyak inhibisyonu evreleri	75
Şekil 2.19	Amonyanın fonksiyonu olarak spesifik çoğalma hızında azalma	76
Şekil 2.20	M. Hungatei hücreleri ile amonyanın iki farklı etkileşimini göstermek için öne sürülen model	86
Şekil 3.1	Çoklu manometre düzeneği	99
Şekil 3.2	Çalışmanın deneysel plan matrisi	99
Şekil 3.3	Seyreltme çözeltilisinin serum şişelerine transfer düzeneği	101
Şekil 3.4	Seyreltme çözeltilisinin serum şişelerine transferi	103
Şekil 3.5	Serum şişelerinin çoklu manometre düzeneğine bağlantılarının	104

	yapılması	
Şekil 4.1	Granüler çamura FISH tekniği uygulanması sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri	110
Şekil 4.2	Granüler çamurun pH 6,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	113
Şekil 4.3	Granüler çamurun pH 7,4'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	114
Şekil 4.4	Granüler çamurun pH 7,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	114
Şekil 4.5	Granüler çamurun pH 8,4'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	114
Şekil 4.6	Floküler çamura FISH tekniği uygulanması sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri	117
Şekil 4.7	Floküler çamurun pH 6,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	121
Şekil 4.8	Floküler çamurun pH 7,4'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	121
Şekil 4.9	Floküler çamurun pH 7,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	121
Şekil 4.10	Floküler çamurun pH 8,4'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği	122
Şekil 5.1	Granüler çamur pH 6,8 için eklenik metan üretim eğrileri	125
Şekil 5.2	Granüler çamur pH 7,4 için eklenik metan üretim eğrileri	125
Şekil 5.3	Granüler çamur pH 7,8 için eklenik metan üretim eğrileri	125
Şekil 5.4	Granüler çamur pH 8,4 için eklenik metan üretim eğrileri	126
Şekil 5.5	Floküler çamur pH 6,8 için eklenik metan üretim eğrileri	126
Şekil 5.6	Floküler çamur pH 7,4 için eklenik metan üretim eğrileri	126
Şekil 5.7	Floküler çamur pH 7,8 için eklenik metan üretim eğrileri	127
Şekil 5.8	Floküler çamur pH 8,4 için eklenik metan üretim eğrileri	127
Şekil 5.9	Çoğalma eğrisi	128
Şekil 5.10	Eklenik metan üretimi (Eşitlik 5.21 ile elde edilen) eğrisinin şematik gösterimi	132
Şekil 5.11	Metan üretim verileri ve bu verilere uygulanan Gompertz modeli (granüler çamur; pH 7,4 ve TAN = 3000 mg/l)	133
Şekil 5.12	Floküler aşı çamurunda pH 8,4 ve TAN 262 mg/l için model ve deneysel datanın değişimi	139
Şekil 5.13	Floküler aşı çamuru pH 8,4 ve TAN 1000 mg/l için model ve deneysel data. Kesikli eğri tüm deney datasının kullanılması ile, sürekli eğri ise başlangıç hörgücü datası haricindeki deney datasının kullanılması ile elde edilmiştir	139
Şekil 5.14	Tek kademeli β duraklama süresinin görüldüğü granüler çamur pH 8,4 ve TAN 1000 mg/l deney datası	142
Şekil 5.15	İki kademeli β duraklama süresinin görüldüğü granüler çamur pH 8,4 ve TAN 1500 mg/l deney datası	142
Şekil 5.16	Normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu	145
Şekil 5.17	Granüler aşı çamuru için Tablo 5.1'de verilen hız değerleri ve Eşitlik (5.29) uyarınca elde edilen model eğrileri	148
Şekil 5.18	Floküler aşı çamuru için Tablo 5.2'de verilen hız değerleri ve Eşitlik (5.29) uyarınca elde edilen model eğrileri	149
Şekil 5.19	Granüler aşı çamuru için TAN ve pH'nın bir fonksiyonu olarak	

	R'nin (metan üretim hızı) model tahminleri	152
Şekil 5.20	Floküler aşı çamuru için TAN ve pH'nın bir fonksiyonu olarak R'nin (metan üretim hızı) model tahminleri	152
Şekil 5.21	Granüler aşı çamuru için pH'nın bir fonksiyonu olarak TAN ₅₀ değerleri	154
Şekil 5.22	Floküler aşı çamuru için pH'nın bir fonksiyonu olarak TAN ₅₀ değerleri	154
Şekil 5.23	Granüler ve floküler aşı çamurları için TAN'ın bir fonksiyonu olarak optimum pH değerleri	156
Şekil 5.24	Granüler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için pH değişimi	157
Şekil 5.25	Granüler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için pH değişimi	157
Şekil 5.26	Floküler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için pH değişimi	157
Şekil 5.27	Floküler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için pH değişimi	158
Şekil 5.28	Granüler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için alkalinite değişimi	158
Şekil 5.29	Granüler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için alkalinite değişimi	158
Şekil 5.30	Floküler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için alkalinite değişimi	159
Şekil 5.31	Floküler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için alkalinite değişimi	159
Şekil 5.32	Floküler aşı çamuru pH 8,4 1500 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi	160
Şekil 5.33	Floküler aşı çamuru pH 8,4 2000 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi	160
Şekil 5.34	Floküler aşı çamuru pH 8,4 2500 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi	161
Şekil 5.35	Floküler aşı çamuru pH 8,4 3000 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi	161
Şekil 5.36	Granüler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için ÇOK değişimi	162
Şekil 5.37	Granüler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için ÇOK değişimi	162
Şekil 5.38	Floküler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için ÇOK değişimi	162
Şekil 5.39	Floküler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için ÇOK değişimi	163
Şekil A.1	M. Hungatei hücreleri ile amonyağın iki farklı etkileşimini göstermek için öne sürülen model	189
Şekil C.1	Zamana karşı biyogaz oluşumu	228
Şekil E.1	Cargill pH 6,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	239
Şekil E.2	Cargill pH 6,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	239
Şekil E.3	Cargill pH 6,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	239
Şekil E.4	Cargill pH 6,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	239
Şekil E.5	Cargill pH 6,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	239
Şekil E.6	Cargill pH 6,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	239
Şekil E.7	Cargill pH 7,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	240

Şekil E.8	Cargill pH 7,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	240
Şekil E.9	Cargill pH 7,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	240
Şekil E.10	Cargill pH 7,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	240
Şekil E.11	Cargill pH 7,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	240
Şekil E.12	Cargill pH 7,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	240
Şekil E.13	Cargill pH 7,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	241
Şekil E.14	Cargill pH 7,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	241
Şekil E.15	Cargill pH 7,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	241
Şekil E.16	Cargill pH 7,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	241
Şekil E.17	Cargill pH 7,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	241
Şekil E.18	Cargill pH 7,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	241
Şekil E.19	Cargill pH 8,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	242
Şekil E.20	Cargill pH 8,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	242
Şekil E.21	Cargill pH 8,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	242
Şekil E.22	Cargill pH 8,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	242
Şekil E.23	Cargill pH 8,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	242
Şekil E.24	Cargill pH 8,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	242
Şekil E.25	Uzay Gıda pH 6,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	243
Şekil E.26	Uzay Gıda pH 6,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	243
Şekil E.27	Uzay Gıda pH 6,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	243
Şekil E.28	Uzay Gıda pH 6,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	243
Şekil E.29	Uzay Gıda pH 6,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	243
Şekil E.30	Uzay Gıda pH 6,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	243
Şekil E.31	Uzay Gıda pH 7,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	244
Şekil E.32	Uzay Gıda pH 7,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	244

Şekil E.33	Uzay Gıda pH 7,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	244
Şekil E.34	Uzay Gıda pH 7,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	244
Şekil E.35	Uzay Gıda pH 7,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	244
Şekil E.36	Uzay Gıda pH 7,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	244
Şekil E.37	Uzay Gıda pH 7,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	245
Şekil E.38	Uzay Gıda pH 7,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	245
Şekil E.39	Uzay Gıda pH 7,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	245
Şekil E.40	Uzay Gıda pH 7,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	245
Şekil E.41	Uzay Gıda pH 7,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	245
Şekil E.42	Uzay Gıda pH 7,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	245
Şekil E.43	Uzay Gıda pH 8,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	246
Şekil E.44	Uzay Gıda pH 8,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	246
Şekil E.45	Uzay Gıda pH 8,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	246
Şekil E.46	Uzay Gıda pH 8,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	246
Şekil E.47	Uzay Gıda pH 8,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	246
Şekil E.48	Uzay Gıda pH 8,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli	246
Şekil F.1	Cargill pH 6,8 kontrol – başlangıç UYA değişimi	248
Şekil F.2	Cargill pH 6,8 kontrol – bitiş UYA değişimi	248
Şekil F.3	Cargill pH 6,8 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	248
Şekil F.4	Cargill pH 6,8 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	248
Şekil F.5	Cargill pH 6,8 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	248
Şekil F.6	Cargill pH 6,8 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	248
Şekil F.7	Cargill pH 6,8 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	249
Şekil F.8	Cargill pH 6,8 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	249
Şekil F.9	Cargill pH 6,8 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	249
Şekil F.10	Cargill pH 6,8 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	249
Şekil F.11	Cargill pH 6,8 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	249
Şekil F.12	Cargill pH 6,8 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	249
Şekil F.13	Cargill pH 7,4 kontrol – başlangıç UYA değişimi	250
Şekil F.14	Cargill pH 7,4 kontrol – bitiş UYA değişimi	250
Şekil F.15	Cargill pH 7,4 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	250
Şekil F.16	Cargill pH 7,4 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	250
Şekil F.17	Cargill pH 7,4 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	250
Şekil F.18	Cargill pH 7,4 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	250

Şekil F.19	Cargill pH 7,4 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	251
Şekil F.20	Cargill pH 7,4 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	251
Şekil F.21	Cargill pH 7,4 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	251
Şekil F.22	Cargill pH 7,4 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	251
Şekil F.23	Cargill pH 7,4 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	251
Şekil F.24	Cargill pH 7,4 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	251
Şekil F.25	Cargill pH 7,8 kontrol – başlangıç UYA değişimi	252
Şekil F.26	Cargill pH 7,8 kontrol – bitiş UYA değişimi	252
Şekil F.27	Cargill pH 7,8 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	252
Şekil F.28	Cargill pH 7,8 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	252
Şekil F.29	Cargill pH 7,8 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	252
Şekil F.30	Cargill pH 7,8 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	252
Şekil F.31	Cargill pH 7,8 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	253
Şekil F.32	Cargill pH 7,8 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	253
Şekil F.33	Cargill pH 7,8 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	253
Şekil F.34	Cargill pH 7,8 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	253
Şekil F.35	Cargill pH 7,8 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	253
Şekil F.36	Cargill pH 7,8 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	253
Şekil F.37	Cargill pH 8,4 kontrol – başlangıç UYA değişimi	253
Şekil F.38	Cargill pH 8,4 kontrol – bitiş UYA değişimi	254
Şekil F.39	Cargill pH 8,4 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	254
Şekil F.40	Cargill pH 8,4 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	254
Şekil F.41	Cargill pH 8,4 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	254
Şekil F.42	Cargill pH 8,4 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	254
Şekil F.43	Cargill pH 8,4 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	255
Şekil F.44	Cargill pH 8,4 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	255
Şekil F.45	Cargill pH 8,4 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	255
Şekil F.46	Cargill pH 8,4 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	255
Şekil F.47	Cargill pH 8,4 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	255
Şekil F.48	Cargill pH 8,4 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	255
Şekil F.49	Uzay Gıda pH 6,8 kontrol – başlangıç UYA değişimi	256
Şekil F.50	Uzay Gıda pH 6,8 kontrol – bitiş UYA değişimi	256
Şekil F.51	Uzay Gıda pH 6,8 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	256
Şekil F.52	Uzay Gıda pH 6,8 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	256
Şekil F.53	Uzay Gıda pH 6,8 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	256
Şekil F.54	Uzay Gıda pH 6,8 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	256
Şekil F.55	Uzay Gıda pH 6,8 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	257
Şekil F.56	Uzay Gıda pH 6,8 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	257
Şekil F.57	Uzay Gıda pH 6,8 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	257
Şekil F.58	Uzay Gıda pH 6,8 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	257
Şekil F.59	Uzay Gıda pH 6,8 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	257
Şekil F.60	Uzay Gıda pH 6,8 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	257
Şekil F.61	Uzay Gıda pH 7,4 kontrol – başlangıç UYA değişimi	258
Şekil F.62	Uzay Gıda pH 7,4 kontrol – bitiş UYA değişimi	258
Şekil F.63	Uzay Gıda pH 7,4 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	258
Şekil F.64	Uzay Gıda pH 7,4 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	258
Şekil F.65	Uzay Gıda pH 7,4 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	258
Şekil F.66	Uzay Gıda pH 7,4 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	258
Şekil F.67	Uzay Gıda pH 7,4 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	259
Şekil F.68	Uzay Gıda pH 7,4 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	259

Şekil F.69	Uzay Gıda pH 7,4 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	259
Şekil F.70	Uzay Gıda pH 7,4 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	259
Şekil F.71	Uzay Gıda pH 7,4 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	259
Şekil F.72	Uzay Gıda pH 7,4 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	259
Şekil F.73	Uzay Gıda pH 7,8 kontrol – başlangıç UYA değişimi	260
Şekil F.74	Uzay Gıda pH 7,8 kontrol – bitiş UYA değişimi	260
Şekil F.75	Uzay Gıda pH 7,8 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	260
Şekil F.76	Uzay Gıda pH 7,8 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	260
Şekil F.77	Uzay Gıda pH 7,8 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	260
Şekil F.78	Uzay Gıda pH 7,8 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	260
Şekil F.79	Uzay Gıda pH 7,8 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	261
Şekil F.80	Uzay Gıda pH 7,8 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	261
Şekil F.81	Uzay Gıda pH 7,8 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	261
Şekil F.82	Uzay Gıda pH 7,8 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	261
Şekil F.83	Uzay Gıda pH 7,8 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	261
Şekil F.84	Uzay Gıda pH 7,8 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	261
Şekil F.85	Uzay Gıda pH 8,4 kontrol – başlangıç UYA değişimi	262
Şekil F.86	Uzay Gıda pH 8,4 kontrol – bitiş UYA değişimi	262
Şekil F.87	Uzay Gıda pH 8,4 1000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	262
Şekil F.88	Uzay Gıda pH 8,4 1000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	262
Şekil F.89	Uzay Gıda pH 8,4 1500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	262
Şekil F.90	Uzay Gıda pH 8,4 1500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	262
Şekil F.91	Uzay Gıda pH 8,4 2000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	263
Şekil F.92	Uzay Gıda pH 8,4 2000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	263
Şekil F.93	Uzay Gıda pH 8,4 2500 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	263
Şekil F.94	Uzay Gıda pH 8,4 2500 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	263
Şekil F.95	Uzay Gıda pH 8,4 3000 mg/l TAN – başlangıç UYA değişimi	263
Şekil F.96	Uzay Gıda pH 8,4 3000 mg/l TAN – bitiş UYA değişimi	263

SEMBOL LİSTESİ

TAN_{50}	: Maksimum metan üretim hızında %50 azalmaya neden olan Toplam Amonyak Azotu konsantrasyonu
T	: Sıcaklık (°C veya Kelvin)
t	: Zaman (gün)
t_0	: Başlangıç zamanı (gün)
A	: Günlük metan üretimi (ml metan/gün)
B	: Üretilen biyogaz miktarı (ml biyogaz/gün)
C	: Biyogazdaki metan yüzdesi (%metan/biyogaz)
$\sum_0^t A$	: t süresine kadar elde edilen toplam metan üretimi (ml metan)
M	: Eklenik spesifik metan miktarı (mlCH ₄ /grUAKM)
V	: Reaktör aktif hacmi (litre)
X	: Reaktörde teste tabi tutulan biyokütle konsantrasyonu (grUAKM/L)
λ	: Gecikme fazı süresi (gün)
e	: Ekspansiyon (l)
R_m	: Maksimum metan üretim hızı (mlCH ₄ /grUAKM.gün)
R	: Verilen bir pH ve TAN değerindeki maksimum hız (mlCH ₄ /grUAKM.gün)
P	: Metan üretim potansiyeli (mlCH ₄ /grUAKM)
β	: Kısmi aklımasyon süresi (gün)
K_a	: Amonyum iyonunun iyonizasyon sabiti
R_0	: İnhibitör ilavesiz durum için metan üretim hızı (mg/l)
F	: Toplam amonyak azotunun serbest amonyak azotu fraksiyonu
C	: Amonyum veya serbest amonyak konsantrasyonu (mg/l)
C^*	: Reaksiyonun daha fazla devam etmediği kritik amonyum veya serbest amonyak konsantrasyonu (mg/l)
n	: Sabit
K_m, K_m'	: Belirtilen bir TAN konsantrasyonunda maksimum spesifik metan üretim hızı (mlCH ₄ /grUAKM.gün)
pK_1, pK_2	: Metanojenik aktivitenin %50 azaldığı en düşük ve en yüksek pH değerleri
a, b	: Sabitler
a', b', c'	: Sabitler
r^2	: Korelasyon katsayısı

ANAEROBİK ARITMADA AMONYAK İNHİBİSYONU

ÖZET

Bu çalışmada anaerobik arıtmada metan üretimi üzerine pH ve amonyanın inhibisyon etkileri, asetik, propiyonik ve bütirik asit karışımının substrat olarak kullanıldığı (1000 mg/l KOİ konsantrasyonunun %70'i asetik asit, %15'i bütirik asit, %15'i propiyonik asitten karşılanmıştır) 37±1 °C'de çalıştırılan kesikli reaktörlerde incelenmiştir. Deneyler, iki farklı tam ölçekli endüstriyel anaerobik reaktörden temin edilen aşı çamurları kullanılarak yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan aşı çamurlarından biri, mısır işlenerek gıda sektörü için ara maddeler üreten Cargill Orhangazi Mısır İşletme Tesisindeki granüler çamurlu ve yukarı akışlı genişlemiş anaerobik çamur yatağından temin edilmiştir. Floküler yapıdaki diğer aşı çamuru, Uzay Gıda Patates Cipsi Üretim Tesisindeki yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörden alınmıştır. Deneyler, dört farklı pH değerinde (6,8 - 7,4 - 7,8 - 8,4) yürütülmüştür. Her pH değeri için 6 farklı Toplam Amonyak Azotu (TAN) konsantrasyonunda (262 mg/l (kontrol), 1000, 1500, 2000, 2500, 3000) çalışılmıştır. Biyokütle tarafından üretilen biyogaz miktarı su deplasmanı tekniği kullanılarak ölçülmüştür. Her farklı pH ve TAN konsantrasyonu için üç adet serum şişesi kullanılmıştır. İnhibisyon deneylerinde kullanılan aşı çamurları deneyler öncesinde herhangi bir kademedeki yüksek amonyak azotu seviyelerine alıştırmamıştır.

Deneylerde pH, alkalinite, TAN, AKM (Askıda Katı Madde), UAKM (Uçucu Askıda Katı Madde), ÇOK (Çözünmüş Organik Karbon), UYA (Uçucu Yağ Asitleri), biyogaz miktarı ve biyogaz bileşimi parametreleri izlenmiştir. Biyogaz miktarı deney süresince günde iki kez, biyogaz bileşimi deney süresince ortalama üç kez ölçülürken, diğer parametreler deney başlangıcı ve sonunda alınan numunelerde ölçülmüştür.

Her iki aşı çamuru için dört farklı pH ve her pH değeri için altı farklı TAN değerlerinde zamana karşı çizilen biyogaz üretim eğrileri kullanılarak eklenik metan üretim eğrileri elde edilmiştir. Eklenik metan üretim eğrilerinin modellenmesi ve bunun sonucunda metan üretim potansiyelinin (P, mlCH₄/grUAKM), maksimum metan üretim hızının (R, mlCH₄/grUAKM-gün) ve gecikme (lag) fazı süresinin (λ, gün) bulunması amacıyla modifiye edilmiş Gompertz eşitliği (Denklem 1) kullanılmıştır.

$$M = P \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

Burada, M eklenik metan miktarını (mlCH₄/grUAKM), t zamanı (gün) ve e exponansiyel 1'i göstermektedir.

Değerlendirmeler sonucunda Gompertz modelinin, deneysel verilerin çok büyük bir kısmına iyi uyum gösterdiği bulunmuştur. Bununla birlikte bazı yüksek pH ve yüksek TAN konsantrasyonları kombinasyonları için eklenik metan üretim verileri,

Gompertz eşitliği ile temsil edilemeyen bir “başlangıç hörgücü” göstermiştir. Bu durum floküler aşı çamurunda pH $\geq 7,8$ ve TAN $\geq 1500-2000$ mg/l’de görülürken, granüler aşı çamurunda sadece pH 8,4 ve TAN ≥ 1000 mg/l değerlerinde gözlenmiştir. Her iki aşı çamuru için, bahsedilen hörgücün gözlemlendiği durumlarda ikinci periyotta (hörgüç sonrası) gözlenen maksimum metan üretim hızları, birinci periyotta (hörgüç öncesi) gözlenen metan üretim hızlarından daha yüksektir. Bununla birlikte floküler aşı çamurunda pH 8,4 ve 2000, 2500, 3000 mg/l TAN değerleri için altı aylık inkübasyon süresinden sonra dahi metan üretimi gözlenmemiştir. Böyle durumlarda, bu çalışmada bahsedilen “başlangıç hörgücü”, deney süresinin tamamına yayılmış ve metanojenik aktivite hiç başlamamıştır.

Her iki aşı çamuru deneyler öncesinde amonyağa alıştırılmadığı halde gecikme fazı süreleri, çalışılan tüm TAN ve pH değeri kombinasyonları için granüler aşı çamurunda sıfır, floküler aşı çamurunda ise iki günden az olarak bulunmuştur. Bununla birlikte bazı yüksek pH ve yüksek TAN konsantrasyonlarında metanojenik aktivite yaklaşık 1-3 ay içerisinde bitmiş ve ardından aktivite tekrar başlayarak bu periyot sonrasında metan üretim hızı maksimum değerine ulaşmıştır. Deneylerin bu uzun periyot boyunca izlenmiş olması, mikroorganizmaların tekrar aktif hale gelme durumlarının da gözlenmesine imkan vermiştir. Bu deneylerde gözlenen alışmanın, aşı çamurlarında zaten dominant olan metanojenik arke türündeki metabolik değişim dolayısıyla veya amonyağa daha dirençli yeni mikroorganizmaların türemesi sonucu olabileceği tahmin edilmektedir.

Amonyak ve amonyumun artan konsantrasyonları ile eksponansiyel olarak azalan metan üretim hızı gözlemlerine dayanarak amonyak/amonyum inhibisyonu için basit ve kullanışlı bir eksponansiyel model önerilmiştir. pH’ın direkt inhibitör etkisinin modellenmesinde normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu kullanılmıştır. Eksponansiyel ifade ve normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu, toplam etkiyi yansıtacak modeli oluşturmak üzere basit ve kullanışlı bir denklem (Denklem 2) verecek şekilde birleştirilmiştir.

$$R = R_m \exp[-(aF + b(1-F))TAN] \frac{(1 + 2 \times 10^{0.5(pK_1 - pK_2)})}{1 + 10^{(pH - pK_2)} + 10^{(pK_1 - pH)}} \quad (2)$$

Burada R_m , inhibitör olmadığında ve $pH = (pK_1 + pK_2)/2$ de gözlenen maksimum metan üretim hızını; TAN, amonyak ve amonyumun toplamını göstermektedir. R_m , pK_1 , pK_2 , a ve b, pH ve TAN konsantrasyonlarından bağımsız gerçek sabitlerdir. F serbest amonyak fraksiyonunu göstermektedir ve $F = (1 + 10^{(pK_a - pH)})^{-1}$ eşitliği ile temsil edilmektedir. Burada K_a amonyum iyonunun iyonizasyon sabitidir. pK_1 ve pK_2 model parametreleri kontrol datasına (TAN=262 mg/l) doğrusal olmayan regresyon analizinin uygulanması ile hesaplanmıştır. Bu yaklaşım, bu TAN konsantrasyonunda pH ile metanojenik aktivitenin değişiminin pH’ın direkt etkisinden kaynaklandığı kabulüne dayanılarak yapılmıştır. Ardından R_m , a ve b parametreleri tüm TAN değerlerini içeren data kullanılarak belirlenmiştir. Granüler aşı çamuru için R_m değeri 123 mlCH₄/grUAKM-gün iken floküler aşı çamuru için R_m 19 mlCH₄/grUAKM-gün olarak bulunmuştur.

Önerilen yeni model (Denklem 2) ile serbest amonyak, pH ve amonyum iyonunun inhibitör etkileri, amonyak ve amonyum arasındaki denge ilişkisi korunarak, ayrı ayrı ortaya koyulmuştur. Bütün verilerin tek bir denklem ve gerçek sabitler kullanılarak hesabı TAN₅₀ (metanojenik aktivitede %50 azalmaya neden olan TAN

konsantrasyonu) ve optimum pH değerlerinin (granüler aşı çamuru için optimum pH 6,8; floküler aşı çamuru için optimum pH 7,5) tahminine imkan vermiştir. Böyle basit ve kullanışlı bir model ile datanın kolaylıkla analizi ve bu analizden birçok farklı faydalı neticenin çıkartılması mümkün olmaktadır.

Her iki aşı çamurda etkin olan metanojenik türlerin belirlenmesi amacıyla floresanlı yerinde hibritleşme (FISH) tekniği kullanılarak çamurların arkeyal popülasyonunun yapısı bulunmaya çalışılmıştır. Bu deneyler sonucunda, granüler aşı çamurunda floküler aşı çamuruna göre çok daha fazla sayıda metanojen tür olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, floküler aşı çamurundaki metanojenlerin dağınık halde bulundukları, granül aşı çamurunda ise granül yapının verdiği avantaj ile metanojenlerin kümelenmiş halde ve daha aktif oldukları gözlenmiştir. Aşı amuru olarak floklu çamurun kullanıldığı deneylerde serbest amonyak inhibisyonu, granül aşı çamuru kullanılan deneylere göre daha düşük pH ve amonyak değerlerinde gözlenmiştir. FISH deneyleri ile floküler aşı çamurunda daha az sayıda metanojenin tespit edilmesi de bu sonucu desteklemektedir.



AMMONIA INHIBITION IN ANAEROBIC TREATMENT

SUMMARY

In this study the influences of pH and ammonia on methane production in the anaerobic treatment of an acetic-propionic-butyric acid mixture (70% of the 1000mgCOD/l of the substrate came from acetic acid, whereas 15% from butyric acid, and 15% from propionic acid) in batch reactors operated at 37 ± 1 °C were investigated. Two independent sets of experiments were carried out using seeds from two different full-scale industrial anaerobic treatment reactors. One of the seeds (Uzay Gıda) was obtained from an upflow anaerobic sludge-blanket (UASB) reactor treating the waste from a potato chips production plant. The second sludge seed (Cargill) was from an expanded granular sludge-blanket (EGSB) reactor treating a corn processing waste. Experiments were carried out at four different pH values (6.8, 7.4, 7.8, 8.4) and with six different TAN (Total Ammonia Nitrogen) values (262 mg/L (control), 1000, 1500, 2000, 2500, 3000). The biogas produced by the biomass was measured by using a water displacement technique. Three vials (triple runs) were used for each pH and TAN value. The sludge seeds used in the inhibition tests were not exposed to high levels of ammonia at any stage before the tests.

pH, Alkalinity, TAN, SS (Suspended Solids), VSS (Volatile Suspended Solids), SOC (Soluble Organic Carbon), VFAs (Volatile Fatty Acids), biogas quantity and its composition were monitored in the study. Biogas quantity was monitored twice a day and the biogas composition was monitored approximately three times during the experiment whereas other parameters were measured at the beginning and the end of the study.

Cumulative methane production curves for both of the sludge seeds were obtained using the biogas production curves at four different pH values and six different TAN values. The following modified Gompertz equation (Eq.1) was employed to fit the data for cumulative methane production and to investigate the methane production potential (P, mlCH₄/gr VSS), maximum methane production rate (R, mLCH₄/grVSS-day), and lag-phase time (λ , days):

$$M = P \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

where M = cumulative methane production, mlCH₄/(gr VSS); t = time, days and e = exp(1).

It was found that this equation fits a large fraction of the data very well. At certain combinations of high pH and high TAN values, however, the cumulative methane production data manifested an initial “hump” that cannot be predicted using the Gompertz equation. With floccular sludge seed, this happened at $\text{pH} \geq 7.8$ and with $\text{TAN} \geq 1500\text{-}2000$ mg/l. With granular sludge seed, this phenomenon was observed only at $\text{pH} = 8.4$ and with $\text{TAN} \geq 1000$ mg/l. With both sludges, the maximum rate

in the second period (observed after hump) of methane formation was always larger than the maximum rate measured during the first period (observed before hump) whenever such an initial hump was observed. For floccular sludge seed at pH 8.4 and TAN values of 2000, 2500, and 3000 mg/L, however, methane formation did not recover even after six months of incubation. In these cases, what is referred to as the “initial hump” in this work spread over the entire duration of the experiments and methanogenic activity never restarted.

Although neither sludge was acclimated to ammonia, the lag-phase times were less than two days for floccular sludge seed and essentially zero for granular sludge seed for all TAN and pH values. At certain high pH and high TAN values, however, methanogenic activity ceased within about 1 to 3 months; and then activity restarted and methane formation rate reached its maximum values after this period. If the experiments had not been continued following this period, this reactivation phenomenon would not have been detected. It may be speculated that the adaptation observed in these experiments may be the result of a metabolic change in the methanogenic archaea already dominant in the sludge seeds or the growth of new microorganisms that are more resistant to ammonia.

For both sets of data obtained in this work, the methanogenic activity decreased exponentially with increasing TAN values. It was decided therefore to use the exponential expressions to model the inhibitory effects of ammonia and ammonium ion on the methanogenic activity. The normalized Michaelis pH function is employed to model the direct inhibitory effect of pH. The exponential expression and the normalized Michaelis pH function are combined into a single equation (Eq.2) to be used as the overall model:

$$R = R_m \exp[-(aF + b(1 - F))TAN] \frac{(1 + 2 \times 10^{0.5(pK_1 - pK_2)})}{1 + 10^{(pH - pK_2)} + 10^{(pK_1 - pH)}} \quad (2)$$

Where R_m denotes the maximum methane production rate, i.e. the rate that would be observed in the absence of the inhibitor and at $pH = (pK_1 + pK_2)/2$; TAN is the sum of ammonia and ammonium; R_m , pK_1 , pK_2 , a and b are model parameters and are true constants independent of pH and TAN concentration. Here F is the fraction of free ammonium given by $F = \left(1 + 10^{(pK_a - pH)}\right)^{-1}$ where K_a = ionization constant of the ammonium ion. The model parameters pK_1 ve pK_2 were determined first by nonlinear regression based on the control data (TAN=262 mg/l). This approach is based on the assumption that the variation of methanogenic activity with pH at this TAN concentration is due to the direct inhibitory effect of pH only. The parameters R_m , a and b were determined next by using the data for all TAN values. R_m values for granular and floccular sludge seeds were found as 123 and 19 mlCH₄/grVSS-days, respectively.

The proposed model (Eq.2) accounts for the inhibitory effects of free ammonia, ammonium ion and pH separately, while satisfying the equilibrium relationship between ammonia and ammonium. It is shown that using such an overall model with parameters that are true constants facilitates the analysis of the experimental data considerably. For example the application of the model to calculate various quantities of interest (such as TAN₅₀ (TAN concentration which decreases the methanogenic activity 50%) and optimal pH) is explained. The optimal pH values for granular and floccular sludge seeds were found as 6.8 and 7.5, respectively.

Methanogen species in the sludge seeds were tried to investigate by using FISH (*fluoresan in-situ hybridization*) technique. It was found that granular sludge seed contains much more methanogen species when compared to floccular sludge seed. In addition, methanogen species in floccular sludge seed are dispersed whereas methanogen species in granular sludge seed were more intensified and active because of their granular character. Inhibition due to the inhibitory effects of free ammonia was observed at lower pH and ammonia levels in floccular sludge seed when compared with granular sludge seed. This result is supported with the fact that, granular sludge seed contains much more methanogen species when compared to floccular sludge seed.

*Sevgili annem Hayriye ÖZ ve
sevgili babam Muzaffer ÖZ'ün
aziz anılarına...*

1. GİRİŞ

1.1 Konunun Anlam ve Önemi

Yüksek azot içeriği, önemli oranlarda protein içeren organik atıkların tipik bir özelliğidir. Deniz ürünleri işleme, ekmek mayası, patates nişastası ve afyon alkaloidleri endüstrisi atıksuları başta olmak üzere katı atık sızıntı suları, katı atıkların organik kısmı ve çiftlik atıkları yüksek oranda azot içeren atıklardır. Bu tür atıkların anaerobik arıtımı esnasında, hidroliz sonucu organik azot bileşeninin de dönüşümüyle toplam amonyak azotu ($\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NH}_3\text{-N}$) kritik seviyelere ulaşabilmektedir. Amonyak, anaerobik mikroorganizmalar için gerekli bir makro besin maddesi olmakla birlikte, yüksek konsantrasyonlarda ortamın pH ve sıcaklığının da bir fonksiyonu olarak inhibisyona yol açabilir.

Yüksek azot içeren atıkların anaerobik arıtımında amonyak inhibisyonu, özellikle metanojenik mikroorganizmalar üzerinde kuvvetli inhibisyona yol açarak, biyogaz üretimini çok önemli oranda düşürebilmektedir. Biyogaz üretiminin düşmesi karbonlu organik madde giderimini olumsuz yönde etkileyerek sistemin verimini azaltmaktadır. Bu yüzden, amonyak inhibisyonunun anaerobik biyokimyasal arıtma sürecine olan etkileri ile uygun kontrol yönteminin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Amonyak azotunun iki türü olan serbest amonyak (NH_3) ile amonyum iyonu (NH_4^+) ortamın pH ve sıcaklığına bağlı olarak anaerobik reaktör sıvı fazında aşağıdaki denklem uyarınca denge halinde bulunur.



Anaerobik biyokimyasal arıtmada amonyak inhibisyonu bugüne kadar pek çok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Araştırmacılar, amonyağın 50-200 mgTAN/l seviyelerinde anaerobik mikroorganizmalar için yararlı bir makro besin maddesi iken 1500-3000 mg/l seviyelerinde pH>7,4 için inhibitör, 3000 mg/l'den yüksek konsantrasyonlarda ise toksik etki gösterdiğini belirlemişlerdir (McCarty ve Mc

Kinney, 1961; McCarty, 1964). Bu konuda daha sonra yapılan başka çalışmalarda da özellikle NH_4^+ ve NH_3 inhibisyonunun pH'a bağlı olarak farklı anaerobik mikroorganizma kültürlerine (özellikle metanojenler) olan etkileri araştırılmıştır (Sprott ve Patel, 1986; Wiegant ve Zeeman, 1986; Bhattacharya ve Parkin, 1989; Heinrichs ve diğ., 1990; Poggi-Varaldo ve diğ., 1991; Angelidaki ve Ahring, 1993; Borja ve diğ., 1996; Gallert ve Winter, 1997; Krylova ve diğ., 1997; Poggi-Varaldo ve diğ., 1997; Gallert ve diğ., 1998; Hansen ve diğ., 1998; Sterling ve diğ., 2001). Ancak söz konusu çalışmalarda pH, amonyak ve amonyumun inhibitör etkileri, bu türlerin birbirlerine göre göreceli önemlerini verecek tarzda sistematik olarak çalışılmamıştır. Ayrıca, toplam amonyak inhibisyonunun yeterli düzeyde modellenmesi konusunda da inhibitör tarafından etkilenen metabolik yolun tespit edilmesinin zorluğundan kaynaklandığı belirtilen farklı ve bazen çelişkili yaklaşımlar söz konusudur (Heinrichs ve diğ., 1990; Poggi-Varaldo ve diğ., 1991; Angelidaki ve Ahring, 1993; Vavilin ve diğ., 1995; Poggi-Varaldo ve diğ., 1997; Hansen ve diğ., 1998; Lay ve diğ., 1998; Aspe ve diğ., 2001; Liu ve Sung, 2002; Sung ve Liu, 2003). Dolayısıyla, anaerobik arıtmada amonyak inhibisyonu, gerek deneysel ve gerekse teorik modelleme çalışmaları bakımından hala araştırılması ve aydınlatılması gereken bir alan durumundadır.

1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu çalışmanın temel amacı, tam olarak aynı deneysel koşullar (substrat, sıcaklık, pH, TAN konsantrasyonları ve deneysel düzenek) altında pH ve TAN'ın çeşitli kombinasyonları için farklı aşı çamurlarının davranışının açıklanmasıdır.

Çalışmanın ikinci amacı ise metanojenezis (metan üretim fazı) üzerine amonyak inhibisyonunu açıklayan basit ve kullanışlı bir modeli geliştirmek için datanın üretilmesidir.

Bu amaçlar doğrultusunda çalışma, aşağıda belirtilen araştırmaları kapsamak üzere planlanmıştır.

- Amonyakın inhibe edici konsantrasyonlarına alıştırmamış flokül ve granüler aşılarla karakterize edilen farklı anaerobik mikroorganizma gruplarının mezofilik şartlarda amonyak inhibisyonu karşısındaki davranışları, geniş bir perspektif içerisinde deneysel olarak araştırılmıştır. Bu

araştırmalarda özellikle daha önceki çalışmalarda girişimlere yol açtığı tesbit edilen Na^+ , uçucu yağ asitleri, Cl^- gibi amonyak dışı inhibitörleri ortadan kaldırmak üzere farklı bir deneysel çalışma planlaması yapılmıştır.

- Anaerobik arıtmada pH ve amonyak inhibisyonunun birlikte ve yeni bir modelleme yaklaşımı ile modellenmesi sağlanmıştır. Bu modelde, daha önceden yapılan çalışmalarda dikkat edilmeyen serbest amonyak ve amonyum iyonu arasındaki denge ilişkisi sağlanarak, iyonize olmamış amonyak ve amonyumun inhibitör etkileri ayrı ayrı dikkate alınmıştır. pH'ın direkt inhibitör etkisinin modellenmesinde normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu (Bölüm 5.5.1 Denklem 5.25b) kullanılmıştır.
- Geliştirilen bu yeni model yardımıyla mikrobiyal aktivitede %50 azalma ile sonuçlanan toplam amonyak azotu konsantrasyonu (TAN_{50}) seviyeleri ve sistemin optimum pH'ları literatürden farklı bir şekilde tahmin edilmiştir.
- Deneysel çalışmalarda kullanılan anaerobik aşılardaki baskın türler moleküler tekniklerle belirlenmiş ve amonyak inhibisyonu ile olan ilişkileri araştırılmıştır.
- Amonyak inhibisyonunun ÇOK, UYA, alkalinite, pH gibi yardımcı parametrelerle olan ilişkileri ortaya konmuştur. TAN inhibisyonunun UYA giderimi veya birikimi ile ilişkisi yorumlanmıştır.

2. ANAEROBİK ARITMA ve AMONYAK İNHİBİSYONUNUN ESASLARI

Bu bölümde anaerobik arıtmanın esasları, anaerobik arıtma için gerekli en uygun çevre şartları, anaerobik arıtmada inhibisyon, inhibisyon türleri ve mekanizmaları ile özellikle amonyak inhibisyonu detaylı bir şekilde anlatılmıştır.

2.1 Anaerobik Arıtmanın Esasları

2.1.1 Giriş

Anaerobik arıtma, organik atıkların oksijensiz ortamda biyokimyasal süreçlerle parçalanmak suretiyle, CH_4 , CO_2 , NH_3 , ve H_2S gibi son ürünlere dönüştürülmesi olarak tanımlanmaktadır.

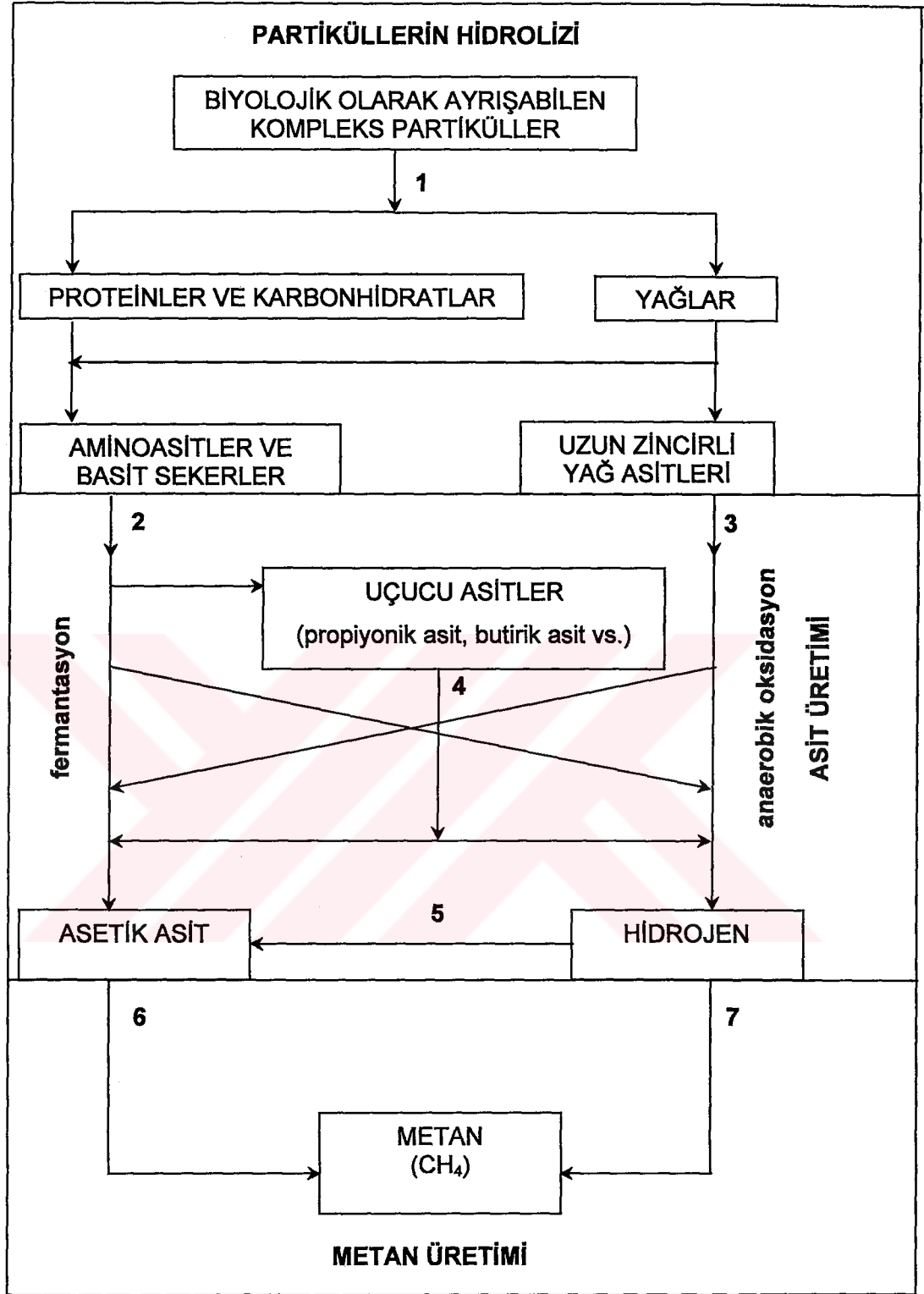
Aerobik arıtma proseslerine göre, daha az enerji ve nütrient ihtiyacı, daha az çamur oluşumu, daha yüksek organik yükleme hızlarının uygulanabilmesi, metan gibi yüksek enerjili ürünün oluşması avantajlarına sahip olan anaerobik arıtma sistemleri, yakın zamana kadar sadece biyolojik arıtma çamurlarının çürütülmesinde uygulanırken, son 20 yılda, anaerobik metabolizmanın biyokimyasıyla ilgili çalışmalarda büyük ilerlemeler, işlemdeki en duyarlı basamakların tanımlanmasını ve anaerobik arıtma sistemlerinin çalışma stabilitesini arttırmak için stratejilerin geliştirilmesini sağlamıştır. Yavaş çoğalan mikroorganizmaların, yüksek organik yüklemelerde bile reaktörde tutulduğu yeni anaerobik reaktörler geliştirilmiştir. Bu ilerlemelerle, artık hemen hemen her tür organik atığın anaerobik olarak arıtılabileceğine inanılmaktadır.

Anaerobik arıtma, farklı mikroorganizma gruplarının rol aldığı oldukça karmaşık bir biyokimyasal süreçtir. Anaerobik ayrışma süreci sonunda açığa çıkan CH_4 , CO_2 , H_2 ve H_2S gibi son ürünler çeşitli bakteri gruplarının rol oynadığı oldukça karmaşık biyokimyasal reaksiyonlar sonucu meydana gelirler. Anaerobik ayrışma prosesindeki bir üst kademe ürünleri bir sonraki safha için besin maddesi durumundadır ve sistemin başarısı, olayda rolü olan mikroorganizma topluluklarının son derece organize ve birlikte çalışmalarına bağlıdır. Bu nedenle, anaerobik sistemlerin tasarım ve işletilmesinde aktif biyokütle büyük öneme sahiptir.

2.1.2 Anaerobik arıtma prosesinin kademeleri

Anaerobik biyokimyasal işlemlerin çok kademeli yapısı Şekil 2.1’de verilmiştir. Çözünmeyen karmaşık organik maddelerin (nükleik asitler, proteinler, lipidler, polisakkaritler gibi), aerobik sistemlerde olduğu gibi tüketilmeleri öncesinde çözünebilir forma dönüşmeleri gerekir. Bunun yanında, büyük boyutlu çözünebilir organik moleküller de hücre membranından geçebilecek boyutlara indirilmelidir. Çözünme ve daha küçük boyutlara indirilme aşamasından sorumlu reaksiyonlar genelde hidrolitiktir ve bakteriler tarafından üretilen hücre dışı enzimlerle katalizlenir. Gerçekte, selüloz, amilaz ve proteaz gibi birçok enzim bu reaksiyonlarda görev alır. Bunlar, ikinci kademe olan asidojenesisin (asit üretim fazı) önemli bir bileşeni olan fermantatif bakteriler tarafından üretilirler. Bunların tümü hidroliz reaksiyonları olarak (Reaksiyon 1) Şekil 2.1’de gruplanmıştır. Hidroliz aşaması nispeten yavaştır ve lignin gibi biyolojik olarak ayrıştırmayı zorlaştıran organik maddelerin anaerobik çürütülmesinde hız kısıtlayıcı olabilir.

Asit üretim fazı, bakteriler tarafından yürütülür. Aminoasitler, nükleotidler, şekerler, yağ asitleri ve gliserol gibi çözünen monomer moleküller, organik bileşiklerin elektron alıcısı/vericisi olarak görev yaptığı fermantatif reaksiyonlarla (Reaksiyon 2) parçalanırlar. Reaksiyon 2’nin temel ürünleri, organik asitler (formik, asetik, propiyonik, bütirik, valerik, laktik ya da süksinik asit), alkoller (etanol, metanol gibi), ketonlar (aseton gibi), CO₂, H₂ ve amonyaktır. Fermentatif asidojenik bakteriler bu fazı yürütmekten sorumludur. Fermantatif reaksiyonlar yoluyla piruvatın dehidrojenasyonu sonucu üretilen H₂ miktarı azdır. Buna karşılık, üretilen toplam H₂’nin büyük çoğunluğu uçucu ve uzun zincirli yağ asitlerinin asetik aside oksidasyonu (Reaksiyon 3 ve 4) ile elde edilir ve anaerobik oksidasyon olarak adlandırılan, indirgenmiş taşıyıcılardan direkt hidrojen iyonlarına elektronların transferi prosesi ile gerçekleşir. Bu reaksiyon, termodinamiği gereğince H₂’nin yüksek kısmi basınçları ile inhibe edilir fakat piruvattan H₂ üretimi için böyle bir durum söz konusu değildir.



Şekil 2.1 Anaerobik işlemlerin çok kademeli yapısı

Reaksiyon 4 ile (sintrofik aşama), asetojenik bakteriler geriye kalan çözünebilir organik maddeleri (organik asitler, alkoller, ketonlar gibi) asetik aside ve H₂'e dönüştürür. Bu aşama, anaerobik ayrışmanın son aşaması olan metan oluşumuyla iyi dengelenmiş olmalıdır. Sintrofi ya da bir grubun diğerine karşılıklı bağımlılığı, H₂

konsantrasyonuyla ilişkilidir. Kısa zincirli organik asitlerin asetik aside ayrışması sadece düşük hidrojen kısmi basıncında gerçekleşir, aksi durumda propiyonat ve etanole tam olmayan dönüşüme neden olur. Hidrojen kullanan metanojenik bakteriler (hidrojenotroflar) hidrojen konsantrasyonunu, asetoklastik (asetat kullanan) metanojenler için substrat olan asetik asidin asetojenik (asetat üreten) bakteriler tarafından verimli üretiminin yürütülmesini sağlayacak bir düzeyde tutmaktan sorumludurlar. Türler arasındaki bu ilişki, türler arası hidrojen transferi olarak adlandırılır ve toplam substrat-ürün dengesinde önemli bir rol oynar. Bu olgunun karmaşıklığı, birçok metanojenik bakterinin spesifik çoğalma hızlarının, asidojenik (asit üreten) bakterilerinkinden daha düşük olması gerçeği ile daha da artar (Speece, 1996).

pH değerinin düşmesindeki en yaygın neden, metanojenlerle asidojenik bakteriler arasındaki dengesizlik (hızlı uçucu yağ asitleri üretimine karşılık metana dönüşümün yavaş olması) durumudur (Koster, 1986).

Bütirik asitin ayrışması, propiyonik asitin ayrışmasının izin verdiği hidrojen seviyesinden biraz daha yüksek hidrojen seviyesinde gerçekleşebilir. Deneyler uzun süre devam ederse, hidrojenotrofik metanojenik popülasyonun sadece bütirik asitin ayrışmasına değil, aynı zamanda propiyonik asitin ayrışmasına da izin verecek kadar düşük hidrojen seviyesi sağlaması gerekir.

Amonyak inhibisyonundan dolayı özellikle propiyonik asit birikimi olur. Bu asitin birikmesi, hidrojenotrofik metanojenlerin, hidrojen birikiminin bir sonucu olarak aşırı yüklendiğini gösterir. Hidrojen birikimi, bakterinin propiyonik asiti ayrıştırmasını termodinamik olarak imkânsız kılar. Hidrojen kullanan metanojenlerin inhibe olmasının nedeni olarak hidrojen birikiminin, propiyonatın birikimine yol açtığı, bununda, asetat kullanan metanojenlerin inhibitörü olarak görev aldığı düşünülmektedir (Wiegant ve Zeeman, 1986).

Reaksiyon 5’de görüldüğü gibi H_2 ’nin bir kısmı, H_2 oksitleyen asetojenlerce asetik asit oluşturmak üzere karbondioksit ile birleştirilebilir. Ancak asetik asit metanojenler için bir substrat görevi gördüğünden bu reaksiyonun etkisinin az olduğu düşünülmektedir.

Asidojenik reaksiyonların ürünleri (asetik asit ve H_2) Arke sınıfına ait metanojenlerce metan gazı üretmek için kullanılırlar. Burada iki grup söz konusudur:

(1) asetiklastik metanojenler: asetik asidi metan ve karbondioksit'e dönüştürürler (Reaksiyon 6)

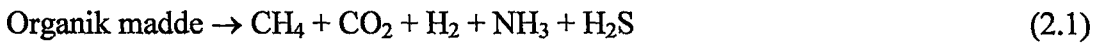
(2) H₂ oksitleyen metanojenler: karbondioksiti indirgerler (Reaksiyon 7)

Genel olarak birincil çamurun anaerobik çürütülmesi sonucu elde edilen metanın yaklaşık üçte ikisinin asetik asitten (Reaksiyon 6), geri kalanının ise H₂ ve CO₂'den (Reaksiyon 7) geldiği ortaya konmuştur. Hücre maddesine katılan elektronlar haricinde, artılan sıvıdan ayrılan enerjinin tamamı metan olarak geri kazanılır.

Anaerobik proseslerin kontrolü, içerdiği karmaşık mikrobiyal ilişkiler dolayısıyla zordur. Sıcaklıktaki aşırı değişiklikler, şok organik yüklemeler, toksik madde varlığı veya besleme özelliğindeki değişimler, metanojenesisini engelleyen reaksiyonların oluşmasına, metan üretiminin durmasına, yağ asitleri ve hidrojenin birikmesine neden olabilir. Prosesi sağlıklı bir şekilde çalıştırmak için anaerobik prosesin biyokimyasal durumunun izlenmesi gerekir (Gallert ve diğ., 1998; Sterling ve diğ., 2001).

2.1.3 Anaerobik arıtma prosesinde etkili mikrobiyal gruplar ve aralarındaki ilişkiler

Yüksek molekül ağırlıklı kompleks organik bileşiklerin metana dönüşümünde başlıca bakteriler olmak üzere birçok mikroorganizma topluluğu görev yapar. Herhangi bir organik maddenin net anaerobik dönüşüm reaksiyonu aşağıda verildiği gibidir:



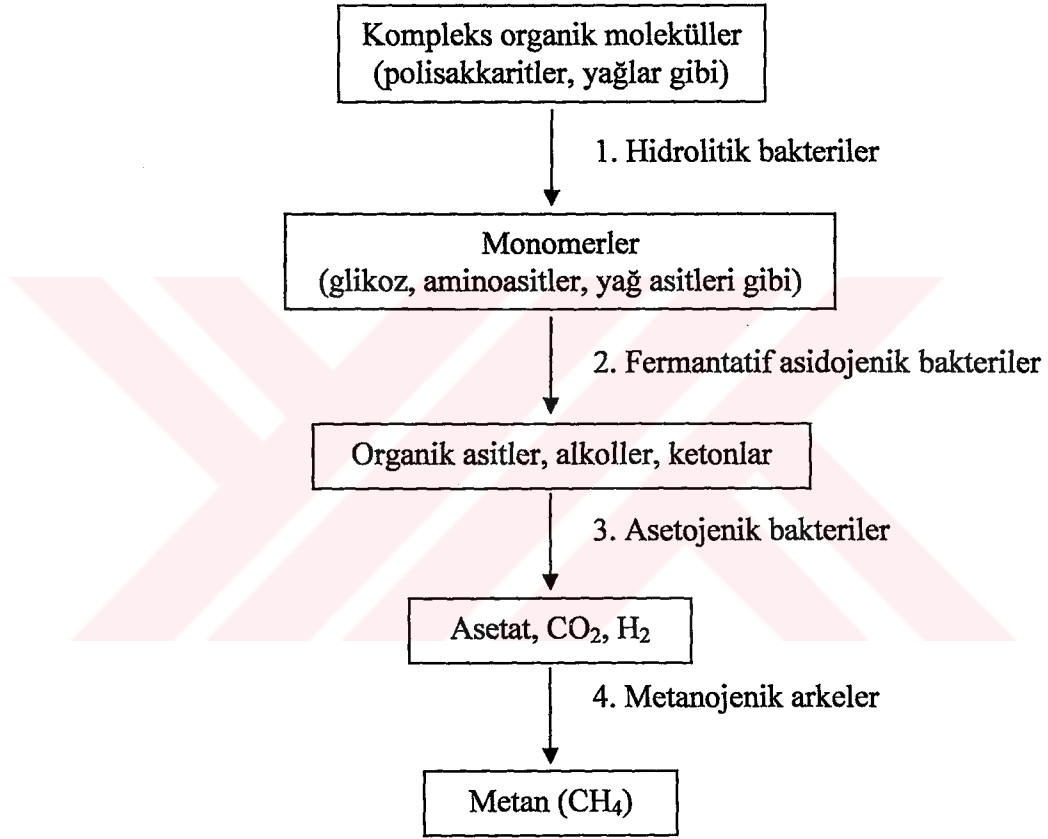
Bazı mantarlar ve protozoa anaerobik çürütücülerde bulunabilirse de, baskın olan mikroorganizmalar şüphesiz bakterilerdir. Organik bileşiklerin hidrolizi ve fermentasyonuna çok sayıda zorunlu ve fakültatif anaerobik bakteri (ör. *Bacteriodes*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*) katılır.

Kompleks maddelerin, metan ve karbondioksit gibi basit moleküllere dönüşümüne katılan dört bakteri kategorisi vardır (Şekil 2.2) (Bitton, 1994).

1. Grup: hidrolitik bakteriler

Hidrolitik ve fermentatif bakteriler, fakültatif ve zorunlu anaerobik bakterilerin daha geniş bir grubunu oluşturur. Gerçekte fakültatif bakteriler baskın olarak düşünülse de, yapılan araştırmalar bu durumun tersinin doğru olduğunu göstermiştir. En

azından evsel çamur çürütücülerinde zorunlu anaerobların sayısı 100 kat daha fazladır. Bu, fakültatif bakterilerin önemsiz olduğu anlamına gelmemelidir. Çünkü giriş akımının çok fazla sayıda fakültatif bakteri içermesi veya biyoreaktöre kolay fermante olan substratların şok yüklemeleri durumlarında, fakültatif bakterilerin diğer bakterilere göre sayıları artabilir. Ayrıca, birçok önemli hidrolitik ve fermentatif reaksiyon, her ne kadar substratın yapısı ortamda bulunacak türleri belirlese de *Bacteroides*, *Clostridia* ve *Bifidobacteria* gibi zorunlu anaeroblar tarafından gerçekleştirilir.



Şekil 2.2 Atıkların anaerobik çürütülmesinde görev yapan metabolik mikrobiyal gruplar (Bitton, 1994)

2. Grup: fermentatif asidojenik bakteriler

Asidojenik bakteriler (ör. *Clostridium*), şekerleri, amino asitleri ve yağ asitlerini organik asitlere (ör. asetik, propiyonik, formik, laktik, bütirik ya da süksinik asitlere), alkollere ve ketonlara (ör. etanol, metanol, gliserol, aseton), asetata, CO₂' ye ve H₂' ye dönüştürürler. Asetat, karbonhidrat fermentasyonunun ana ürünüdür. Oluşan ürünler, kültür koşullarının (sıcaklık, pH, redoks potansiyeli) yanısıra bakteri tipiyle de değişir.

Asidojenesisin temel son ürünü olarak asetik asidin üretiminde H_2 'nin rolü oldukça önemlidir. Uzun zincirli yağ asitlerinin, uçucu asitlerin, aminoasitlerin ve karbonhidratların asetik asit ve hidrojene dönüşüm reaksiyonları standart koşullar altında termodinamik açıdan elverişsizdir (standart serbest enerjileri pozitifdir). Bu nedenle, H_2 kısmi basıncı yüksek olduğunda bu reaksiyonlar devam etmez ve bu reaksiyonların yerine fermentasyon gerçekleşir. Bununla birlikte, H_2 'nin kısmi basıncının 10^{-4} atmosfer veya daha düşük olduğu koşullar altında reaksiyonlar gerçekleşmesi muhtemel hale gelir ve metana dönüşebilecek son ürünlerin (asetik asit ve H_2) oluşmasına neden olur. Bu durum, H_2 üreten bakterilerin H_2 'yi kullanacak metanojenlere zorunlu olarak bağımlı olduğu anlamına gelir. Sadece, metanojenlerin sürekli bir şekilde metan üreterek H_2 'yi gidermesi durumunda H_2 kısmi basıncı, asidojenesisin son ürünleri olarak asetik asit ve H_2 oluşumuna izin verecek kadar düşük tutulacaktır. Aynı şekilde, metanojenler asidojenesisini gerçekleştiren bakterilere zorunlu olarak bağımlıdır çünkü asidojenler, metanojenler için gerekli substratları üretirler. İki mikrobiyal grup arasındaki bu tarz bir ilişki zorunlu sintrofi olarak adlandırılır.

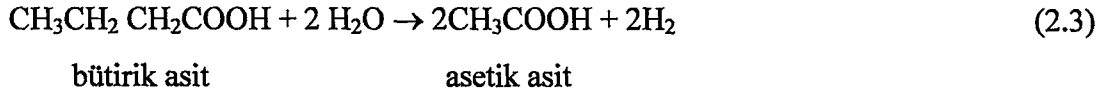
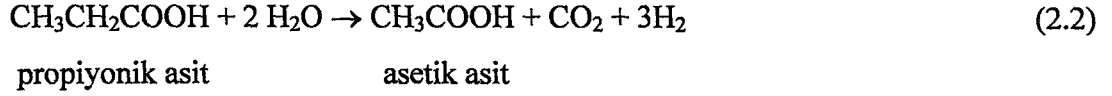
3. Grup: asetojenik bakteriler

Fermantatif reaksiyonlardan sorumlu bakteriler iyi karakterize edilmiş iken H_2 üreten asetojenik bakteriler hakkında daha az şey bilinmektedir. Bu durum kısmen, H_2 üretiminde etkili enzim sisteminin H_2 tarafından oldukça sıkı kontrol altında tutulmasına bağlanabilir. Anaerobik biyokimyasal işlemlerde H_2 kısmi basınçları düşük tutulduğu için, H_2 üreten bakteriler önemli rol oynarlar. Bu nedenle bu bakteriler son yıllarda yapılan detaylı araştırmalara da konu olmuştur. Yağ asitlerini oksitleyen *Syntrophomonas* cinsi ve propiyonat oksitleyen *Syntrophobacter* cinsi üyelerini içeren birçok tür tanımlanmış ve çalışılmıştır (Grady ve diğ., 1999).

Syntrophobacter wolinii ve *Syntrophomonas wolfei* gibi asetojenik bakteriler (asetat ve H_2 üreten bakteriler), yağ asitlerini (ör. propiyonik asit, bütirik asit) ve alkollerini, metanojenler tarafından kullanılan asetat, hidrojen ve karbondioksit çevirirler. Bu grup, yağ asidi dönüşümü için düşük hidrojen kısmi basıncına ihtiyaç duyar, bu nedenle, hidrojen konsantrasyonunun yakından takibi gereklidir. Görece olarak yüksek H_2 kısmi basıncında, asetat oluşumu azalır ve substrat, metan yerine, propiyonik asit, bütirik asit ve etanole çevrilir. Asetojenik bakteriler ve metanojenler

arasında simbiyotik (ortak yaşam) bir ilişki vardır. Metanojenler, asetojenik bakterilerin ihtiyaç duyduğu düşük hidrojen basıncını sağlamaya yardım ederler.

Propiyonik asit ve bütirik asit, asetojenik bakteriler tarafından, aşağıdaki reaksiyonlar uyarınca, asetik aside çevrilirler (Bitton, 1994).



Anaerobik işlemlerdeki başlıca rahatsızlık verici organizma, atıksuyun önemli konsantrasyonlarda sülfat içermesi durumunda problem olabilecek sülfat indirgeyen bakterilerdir. Sülfat indirgeyen bakteriler zorunlu anaeroblardır. Bu bakteriler morfolojik olarak çok çeşitlidir fakat sülfatı elektron vericisi olarak kullanabilme genel özelliğine sahiptirler. Grup I sülfat indirgeyicileri, elektron vericileri olarak çeşitli organik bileşikleri kullanabilirler. Bu organik bileşikleri, asetata oksitleyerek sülfatı sülfüre indirgerler. Anaerobik biyokimyasal işlemlerde sıklıkla bulunan bir cins *Desulfovibrio*'dur. Grup II sülfat indirgeyicileri, sülfatı sülfüre indirgerken yağ asitlerinin ve özellikle asetatin karbondioksit oksidasyonunda özelleşmişlerdir. Bu gruptaki önemli bir cins *Desulfobacter*'dir.

4. Grup: metanojenler

Metanojenler iki alt kategoriye ayrılır:

Hidrojenotrofik metanojenler (hidrojen kullanan kemolitotroflar) hidrojen ve karbondioksidi metana çevirirler:



Hidrojen kullanan metanojenler, uçucu asitlerin ve alkollerin asetata dönüşmesi için gerekli olan çok düşük düzeydeki kısmi basınçları sağlamaya yardım ederler.

Asetoklastik metanojenler ya da asetat-ayırıştırıcı arkeler olarak da adlandırılan *asetotrofik metanojenler*, asetati metan ve CO₂'e çevirirler.



Asetoklastik metanojenler (çoğalma süresi: birkaç gün), asit oluşturan bakterilere (çoğalma süresi: birkaç saat) göre çok daha yavaş büyürler.

Balch ve diğ. (1979) tarafından önerilen Metanojenlerin genel sınıflandırılması Tablo 2.1'deki gibidir. Metanojenler üç takıma ayrılırlar: Methanobacteriales (ör. *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanothermus*), Methanomicrobiales (ör. *Methanomicrobium*, *Methanogenium*, *Methanospirillum*, *Methanosarcina* ve *Methanococcoides*) ve Methanococcales (ör. *Methanococcus*). En az 49 tür metanojen tanımlanmıştır. İzole edilmiş bazı metanojenler ve substratları Tablo 2.2'deki gibidir (Bitton, 1994).

Tablo 2.1 Metanojenlerin sınıflandırılması

Takım	Aile	Cins	Tür
Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobacterium	<i>M.formicicum</i>
			<i>M.bryanti</i>
			<i>M.thermoautotrophicum</i>
		Methanobrevibacter	<i>M.ruminantium</i>
			<i>M.arboriphilus</i>
			<i>M.smithii</i> <i>M.vannielli</i>
Methanococcales	Methanococcaceae	Methanococcus	<i>M.voltae</i>
		Methanomicrobium	<i>M.mobile</i>
Methanomicrobiales	Methanomicrobiaceae	Methanogenium	<i>M.cariaci</i>
			<i>M.marisnigri</i>
		Methanospirillum	<i>M.hungatei</i>
			<i>M.barkeri</i>
	Methanosarcinaceae	Methanosarcina	<i>M.mazei</i>

Bu mikroorganizmaların oldukça geniş bir kısmı, anaerobik çürütücülerden kültür olarak elde edilir. Örneğin *Methanobacteriales* takımından *Methanobrevibacter* ile *Methanobacterium* cinsleri ve *Methanomicrobiales* takımından *Methanospirillum* ile *Methanogenium* cinsleri kültür olarak elde edilir. Bunların tümü, enerjilerini başlıca olarak H₂ oksidasyonundan ve karbonu ise karbondioksitten elde eden zorunlu anaeroblardır. Bu tarz ototrofik yaşam şekli dolayısıyla, birim kullanılan H₂ başına sentezlenen hücre maddesi miktarı azdır. Metabolizmaları sırasında, son elektron alıcısı olarak aynı zamanda karbondioksiti kullanarak proste metan gazı üretirler (Denklem 2.4).

Tablo 2.2 İzole edilmiş metanojenler ve bunların substratları

Bakteri	Substrat	Bakteri	Substrat
<i>Methanobacterium bryantii</i>	H ₂	<i>Methanogenium caryaci</i>	H ₂ ve HCOOH
<i>F. formicicum</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>M. marisnigri</i>	H ₂ ve HCOOH
<i>M.thermoautotrophicum</i>	H ₂	<i>M. tatii</i>	H ₂ ve HCOOH
<i>M.alcaliphilum</i>	H ₂	<i>M.olentangyi</i>	H ₂
<i>M. paynteri</i>	H ₂	<i>M.thermophilicum</i>	H ₂ ve HCOOH
<i>Methanobrevibacter arboriphilus</i>	H ₂	<i>M.bourgense</i>	H ₂ ve HCOOH
<i>M. ruminantium</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>M.aggregans</i>	H ₂ ve HCOOH
<i>M. smithii</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>Methanococcoides</i>	CH ₃ NH ₂ ve CH ₃ OH
<i>M. endosymbiosus</i>	H ₂	<i>methylutens</i>	
<i>Methanococcus vannielii</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>Methanotherix</i>	CH ₃ COOH
<i>M. voltae</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>soehngenii</i>	
<i>M. deltae</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>M. concilii</i>	CH ₃ COOH
<i>M.maripaludis</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>Methanothermus</i>	H ₂
<i>M. jannaschii</i>	H ₂	<i>fervidus</i>	
<i>M. thermolithoautotrophicus</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>Methanolobus tindarius</i>	CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂
<i>M. frisius</i>	H ₂ , CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂ ve (CH ₃) ₃ N		(CH ₃) ₂ NH ve (CH ₃) ₃ N
<i>Methanomicrobium mobile</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>Methanosarcina</i>	CH ₃ OH, CH ₃ COOH,
<i>Methanospirillum hungatei</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>barkeri</i>	H ₂ , CH ₃ NH ₂ , (CH ₃) ₂ NH ve (CH ₃) ₃ N
<i>Methanoplanus limicola</i>	H ₂ ve HCOOH	<i>Methanosarcina</i>	CH ₃ OH, CH ₃ COOH,
		<i>thermophila</i>	H ₂ , CH ₃ NH ₂ , (CH ₃) ₂ NH ve (CH ₃) ₃ N

Arke'nin elektron vericileri genelde H₂ ve format olarak oldukça kısıtlıdır. Bazı durumlarda, kısa zincirli alkoller de kullanılabilirler. Metana giden asetiklastik yolun (Şekil 2.1. Reaksiyon 6) önemine rağmen çok az asetoklastik metanojen kültürü elde edilmiş ve tanımlanmıştır. Bunların tümü iki aile (*Methanosarcinaceae* ve *Methanosaetaceae*) içeren *Methanosarcinales*'dir. Birinci aileden olan ve substrat olarak H₂, karbondioksit, metanol, metilaminler ve asetik asidi kullanabilmesi dolayısıyla bilinen metanojenlerin en değerli cinsi olarak bilinen *Methanosarcina* anaerobik işlemler sırasında kültür olarak elde edilebilir. Asetik asit substrat

olduğunda, metil karbonundan metanı ve karboksil karbonundan karbondioksiti oluşturmak üzere parçalanır.



Methanosarcina yüksek asetik asit konsantrasyonlarında, bu konsantrasyonlarda olan değişikliklere çok duyarlı olması ile birlikte, nispeten hızlı bir şekilde çoğalır. Bununla beraber H₂, asetik asit tüketiminde düzenleyici bir etki gösterir (H₂ kısmi basıncı arttığında bu tüketimi durdurur). *Methanosaetaceae* ailesi tek bir cins içerir: *Methanosaeta* (eski adıyla *Methanothrix*). *Methanosaeta*'nın üyeleri, elektron ve karbon vericisi olarak sadece asetik asidi kullanırlar. Yüksek asetik asit konsantrasyonlarında *Methanosarcina*'dan çok daha yavaş bir şekilde çoğalırlar, fakat bu konsantrasyondan çok şiddetli olarak etkilenmez ve konsantrasyon düşük olduğunda etkili bir biçimde rekabet edebilirler. Sonuç olarak, bir anaerobik işlemin dizayn ve işletme şekli, baskın asetiklastik metanojenleri belirler (Grady ve diğ.,1999).

Arke sınıfına ait metanojenler prokaryotlardan aşağıdaki özelliklerle ayrılırlar:

1. Hücre duvarı bileşimleri değişiktir; örneğin, metanojenlerin hücre duvarında muramik asit bulunmaz.
2. Metabolizmada elektron taşıyıcı olarak görev yapan spesifik bir koenzimleri (F₄₂₀) vardır. Oksitlenmiş formu 420 nm'de ışığı absorbe eder. Bu mavi-yeşil floresan koenzimin, karışık kültürlerdeki metanojenlerin nitelendirilmesinde kullanılması önerilmiştir. Hücre ekstraktlarında F₄₂₀ saptanması, floresan ölçümü ya da florimetrik saptamalı yüksek performans likid kromatografisi tarafından izlenen ekstraksiyon ile yürütülür. Metanojenik koloniler, metanojenik olmayanlardan floresan mikroskopisi ile ayrılabilirler. Bununla birlikte, metanojenik topluluk için F₄₂₀ kullanılmasının, asetoklastik metanojenik aktivitenin saptanması söz konusu olduğunda yanlış yönlendirici olabileceği bulunmuştur. Diğer bir nikel içeren koenzim, F₄₃₀ da metanojenlere özgüdür.
3. Metanojenler, diğer prokaryotlarınkinden farklı olan ribozomal RNA dizilerine sahiptirler (Bitton, 1994).

2.2 Anaerobik Arıtmada Çevresel Faktörler

Anaerobik reaktörlerdeki mikroorganizmalarca kullanılan organik maddeler hücre sentezi için karbon ve enerji kaynağıdır. Anaerobik ayrışma süreci sonucu açığa çıkan son ürünler olan CH_4 ve CO_2 , çeşitli mikroorganizma gruplarının rol oynadığı oldukça karmaşık biyokimyasal reaksiyonlar sonucu elde edilirler.

Anaerobik proseslerden istenilen performansın alınabilmesi için bu süreçte rolü olan tüm mikroorganizma gruplarının birbirleriyle uyum içerisinde faaliyet göstermeleri gerekir. Anaerobik arıtmayı gerçekleştiren mikroorganizma gruplarının kapasitesinden yararlanabilmek için anaerobik arıtma sürecinde optimum çevresel şartlarının sağlanması gerekir.

Bu bölümde, anaerobik süreçler üzerinde etkili olan çevresel faktörler ele alınmıştır.

2.2.1 Sıcaklık

Sıcaklık, anaerobik arıtma prosesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir.

Anaerobik mikroorganizmaların çoğaldığı ve yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebildiği üç sıcaklık aralığı vardır.

- sakrofilik ($<20^{\circ}C$)
- mezofilik ($20-45^{\circ}C$)
- termofilik ($50-65^{\circ}C$)

$45-50^{\circ}C$ arası, mezofilik ve termofilik şartlar arasında bir geçiş fazı olduğundan bu sıcaklık aralığında stabil olmayan işletme koşulları meydana gelebilir.

Termofiller için optimum sıcaklık $55^{\circ}C$ iken, mezofiller için $\sim 35^{\circ}C$ 'dir. Sakrofilik mikroorganizmalar için optimum sıcaklık $\sim 17^{\circ}C$ 'dir (Lens ve diğ., 2001).

Sakrofiliklerin hücre zarları, zarın akışkanlığını muhafaza etmesine yardımcı olan yüksek konsantrasyonda doymamış yağ asitlerini içerdiğinden, sakrofilikler düşük sıcaklıklarda çoğalırlar. Oysa, termofillerin hücre zarlarının yüksek seviyede doymuş yağ asitlerini içermesi onların yüksek sıcaklıklarda işlev görmesini sağlar (Bitton, 1994).

Anaerobik proseslerin genellikle, çevresel şartların ani değişimlerine karşı çok hassas oldukları bilinir (Lau ve Fang, 1997). Optimum sıcaklık aralıklarına ilaveten sıcaklıktaki ani değişiklikler, uygun sıcaklık aralığı içinde kalsa dahi metanojenlerin aktivitelerini son derece olumsuz etkiler. Grady ve diğ. (1999) prosesin olumsuz

yönde etkilenmesinin önüne geçmek için sıcaklık değişiminin günde 1⁰C'den daha az olması gerektiğini vurgulamışlardır.

Sıcaklığın şok etkisi, uygulanan sıcaklığın derecesine, maruz kalma süresine ve çamurun bakteriyal kompozisyonu gibi faktörlere bağlıdır. Çoğalma için gerekli maksimum değeri aşan sıcaklıklarda, çamurun aktivitesinde azalma olacak, dolayısıyla reaktörün giderim kapasitesi düşecektir. Sıcaklıktaki şok bir değişim, dolaylı olarak pH'ta da bir değişime neden olur. Çünkü sıcaklıktaki değişim ile reaktördeki substratın ayrışmasındaki değişim pH'ıda etkiler (Visser ve diğ., 1993).

Anaerobik arıtmada sıcaklık etkisi çamur yaşıyla da ilgilidir. Çamur yaşı arttıkça, anaerobik sistemler daha düşük sıcaklıklarda KOİ giderim verimlerini muhafaza edebilirler. Dolayısıyla reaktörlerdeki biyokütle miktarı arttıkça sistemin düşük sıcaklık etkilerini dengeleme kapasitesi de artar (Öztürk, 1999).

Çoğalma hızları metanojenlere göre daha yüksek olan asit bakterileri, sıcaklık değişimlerine daha çabuk uyum sağlarken, metanojenler bu değişime aynı hızla uyum göstermedikleri için sistemde dengesizlik ve uçucu asit birikimi gözlenir (Öztürk, 1999).

Asetat'dan metan üretiminden sorumlu iki önemli metanojenin (*Methanothrix* ve *Methanosarcina*) aktivitesi sıcaklıktan ciddi şekilde etkilenir. Her iki metanojen için optimum sıcaklık 35-40⁰C aralığındadır. 10-15⁰C sıcaklıkta *Methanothrix soengeni*'nin aktivitesinin, 35⁰C'deki aktivitesinden 10 ile 20 kez daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Asetoklastik metanojenlerin aktivitesi üzerinde inhibitör etkiye sahip düşük sıcaklıktaki anaerobik arıtmada, asetat konsantrasyonlarındaki artış önemli olabilmektedir (Lens ve diğ., 2001).

Anaerobik prosesleri kontrol eden kinetikler (özellikle metanojenesisdeki yarı doygunluk sabiti K_s) sıcaklık değişimlerine karşı çok hassastırlar. Örneğin yapılan bir çalışmada, asetatin metana dönüşümünde K_s değeri, sıcaklığın 35⁰C'den 25⁰C'e düşmesiyle 164 mg/l'den 930 mg/l'e arttığı gözlenmiştir. K_s değerindeki böyle bir değişim, önemli derecede biyokütle aktivitesini ve çıkış suyu kalitesini etkiler (Speece, 1996).

2.2.2 pH ve alkalinite

Bütün biyokimyasal işlemlerde olduğu gibi pH anaerobik proseslerin performansı üzerinde önemli etkiye sahiptir. pH'ın enzimatik aktiviteyi etkilediği bilinir. Çünkü, her enzim spesifik ve dar bir pH aralığında aktiftir ve optimum pH'da maksimum aktivite gösterir. pH'ın optimum değerden sapması ile birlikte aktivite azalır. pH, kimyasalların iyonizasyonunu etkilediğinden hücre içine nutrientlerin ve toksik maddelerin nüfuz etmesinde de önemli rol oynar (Bitton, 1994).

pH özellikle anaerobik prosesler için çok önemlidir çünkü metanojenler pH'dan, mikrobiyal topluluktaki diğer mikroorganizmalara göre daha fazla etkilenirler. Sonuç olarak, metanojenik aktivite, pH'ın metanojenlerin optimum pH değerinden sapması ile düşer. 6,8 ile 7,4 arasındaki pH değerleri metanojenler için genellikle optimum şartları sağlar. Bununla birlikte, 6,4 ve 7,8 arasındaki pH değerlerinin de yeterli aktiviteyi muhafaza etmek için gerekli olduğu düşünülmektedir (Grady ve diğ., 1999). McCarty (1964) metanojenler için optimum pH aralığının 6,6-7,6 olduğunu ileri sürerken, Anderson ve diğ. (1982) 6,5-8,2 arasındaki pH değerlerinin metanojenler için uygun olduğunu belirtmişlerdir.

pH aynı zamanda asidojenik bakterilerin aktivitesini de etkiler; fakat bu etki metanojenlere göre daha az önemlidir ve öncelikle asidojenik bakterilerin ürünlerinin yapısını etkiler. Asidojenler için optimum pH aralığı 5,0-6,0 arasında olup bu pH aralığı metanojenler için gerekli olandan daha düşüktür (Henze ve Harremous, 1983).

pH'daki bir azalma daha yüksek moleküler ağırlıklı UYA'lerinin üretimini arttırır. Asetik asit yerine, özellikle propiyonik ve bütirik asidin artmasına neden olur. Bölüm 2.1.2'de bahsedildiği gibi bu duruma neden olan mekanizmalardan biri sistemdeki H₂ artışıdır. H₂'nin metanojenlerce kullanımı yavaşladığında birikmeye başlar bu durum ise asetik asidin asidojenler tarafından üretimini yavaşlatır ve asidojenlerin metabolizmasını diğer UYA'leri yönüne kaydırır. Hidrolitik mikroorganizmaların aktivitesi pH'ın nötral değerlerden sapmasından en az derecede etkilenir.

UYA'lerinin organik maddenin stabilizasyonundaki ara ürünler olması ve metanojenlerin pH'a hassasiyeti, pH değerinde görülecek bir düşüşe karşı anaerobik sistemlerin kararsız tepkiler vermesine neden olabilir. Bu kararsız tepkiler, asidojenik bakteriler tarafından üretilen UYA artışı ile sonuçlanan yüksek hacimsel organik yükleme nedeniyle gerçekleşebilir. Artan UYA üretim hızı asetik asit ve hidrojeni

kullanan metanojenlerin maksimum kapasitesini aşarsa aşırı UYA birikmeye başlar ve pH'ın düşmesine neden olur. pH'daki düşme metanojenlerin aktivitesini azaltarak metanojenlerin asetik asit ve hidrojen kullanımını düşürür. Bu durum ise UYA'nın daha fazla miktarda birikmesine ve pH'ın daha fazla azalmasına neden olur. Bu koşullar düzeltilmezse, pH'daki düşüş çok hızlı olur, daha yüksek moleküler ağırlıklı UYA'leri birikir ve metanojenik aktivite neredeyse tamamen durur. Asidojenik bakteri ve metanojenler arasındaki dengesizliğe neden olan çevresel faktörleri çözmek suretiyle önceki safhalarda bu durum düzeltilebilir. UYA üretim hızının UYA maksimum tüketim hızından daha az olduğu noktaya kadar hacimsel organik yüklemenin azaltılması suretiyle bu durumun üstesinden gelinebilir. Bu uygulama sistemdeki aşırı UYA'lerinin tüketilmesine izin verecek, dolayısıyla pH'ın tekrar eski nötral değerine dönmesine sebep olacak ve metanojenlerin aktivitesi artacaktır. Ardından prosesin kendini iyileştirmesi ile hacimsel organik yükleme artırılabilir. Ekstrem koşullar altında, yüklemedeki azalma yanında aşağıda açıklandığı gibi pH ayarı için kimyasal ilavesinin de yapılması gerekir.

Kabul edilebilir pH aralığı içerisinde anaerobik prosesin işler durumda olması için pH'ın öncelikle bikarbonat tamponlama sistemi tarafından kontrol edilmesi gerekir. Bikarbonat alkalinitesi, azot içeren organik maddenin bozunması ve reaksiyonda üretilen CO₂ ile serbest kalan amonyak azotunun reaksiyonu sonucu üretilir (Parkin ve Owen, 1986).

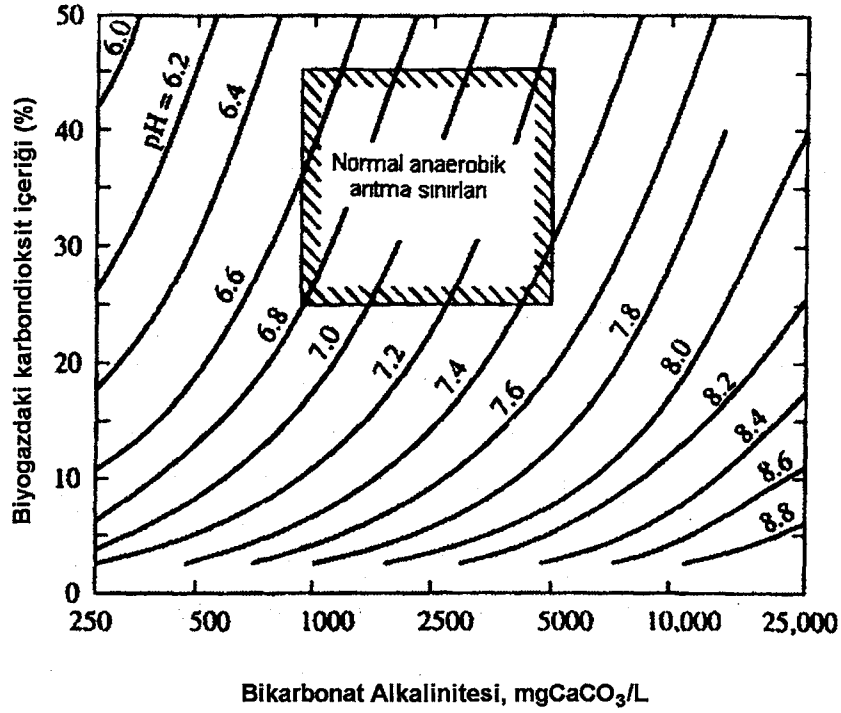


Çözeltideki bikarbonat alkalinitesinin konsantrasyonu, biyoreaktörün pH'ı ve gaz fazın CO₂ içeriği ile bağıntılıdır.

$$S_{Bik.Alk.} = 6,3 \times 10^{-4} \left(\frac{P_{CO_2}}{10^{-pH}} \right) \quad (2.8)$$

Bu eşitlikte; $S_{Bik.Alk.}$ = mg/l CaCO₃ olarak bikarbonat alkalinitesi, P_{CO_2} = atmosfer olarak gaz fazındaki CO₂'in kısmi basıncını göstermektedir.

Bu ilişki, anaerobik proseslerin, 1000 ile 5000 mg/l CaCO₃ aralığındaki bikarbonat alkalinitesi ve %25 ile %45 CO₂ kısmi basıncında çalıştığı farzedilerek Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3 Anaerobik arıtmada bikarbonat alkalitesi, pH ve CO₂ yüzdesi arasındaki ilişki (Parkin ve Owen, 1986)

UYA'leri anaerobik proseslerde birikmeye başladığında mevcut bikarbonat alkalitesi ile nötralize edilir. Asetik asit, iyonize olmamış formda asidojenik bakteri tarafından serbest bırakılır fakat, nötral pH'da asetat iyonu olarak bulunur. Asetik asitin bikarbonat alkalitesi ile asetata dönüşüm reaksiyonu Eşitlik (2.9)'da verildiği gibidir.



Burada, HAc = iyonize olmamış asetik asit, Ac⁻ = asetat iyonunu göstermektedir.

Tolam alkalinite, UYA'leri ile bikarbonat iyonunun toplam konsantrasyonunu gösterir. Eğer, UYA'lerinin konsantrasyonu bilinir ve asetik asit olarak ifade edilirse bikarbonat alkalitesi toplam alkaliteden hesaplanabilir.

$$S_{\text{Bik.Alk.}} = S_{\text{Top.Alk.}} - 0,71 (S_{\text{UYA}}) \quad (2.10)$$

Burada $S_{\text{Top.Alk.}}$ = CaCO₃ olarak toplam alkalinite, S_{UYA} = asetik asit olarak ifade edilen UYA'lerinin konsantrasyonu, 0,71 = asetik asit olarak ifade edilen UYA konsantrasyonunun CaCO₃'ta dönüşüm faktörüdür.

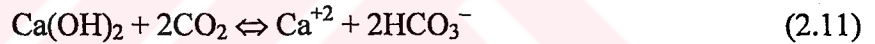
Stabil olmayan çalışma şartları altında UYA'leri bikarbonat alkalitesi ile reaksiyona girerek bikarbonat alkalitesinin konsantrasyonunu azaltır. Bunun

yanında CO₂ üretimi dolayısıyla gaz fazın CO₂ içeriği artar (Eşitlik 2.9). Bikarbonat alkalinitesinin nispeten yüksek konsantrasyonda tutulmasıyla, artan UYA üretiminin bioreaktör pH'ında minimum bir azalma ile tolere edilmesi anaerobik proseslerin stabil çalışması için yapılan bir uygulamadır.

pH değişimleri uygun kimyasalların ilavesiyle düzeltilebilir fakat kimyasalların seçimi dikkatle yapılmalıdır çünkü ilave edilen bu kimyasallar reaktörde ilave toksik etkiye neden olabilir. Genelde kullanılan kimyasallar, sodyum bikarbonat, sodyum karbonat, kireç, sodyum ve potasyum hidroksit ve amonyaktır.

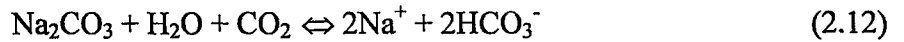
pH düzeltmesinde sodyum bikarbonat tercih edilir çünkü etkisi daha uzun sürelidir ve toksisite potansiyeli düşüktür. Sodyum bikarbonat (dolayısıyla bikarbonat iyonları) ilavesiyle Şekil 2.3'de görüldüğü gibi gaz fazın CO₂ içeriği değiştirilmeden pH arttırılacaktır.

Kireç, sodyum veya potasyum hidroksit eklenmesi (dolayısıyla OH⁻ iyonlarının ilavesi) pH'ı değiştirir çünkü OH⁻ iyonu bikarbonat oluşturmak için CO₂ ile reaksiyona girer. Örneğin pH düzeltmesi için kireç kullanıldığında aşağıda Eşitlik (2.11)'de görülen reaksiyon gerçekleşir.

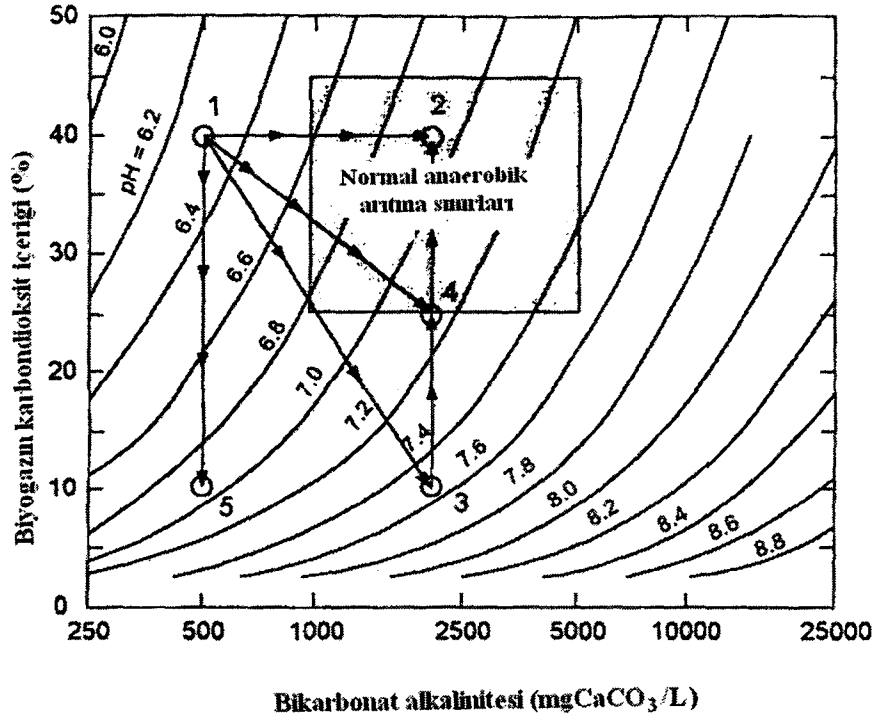


Bu reaksiyon, gaz fazın CO₂ içeriğinde bir azalma ve bunun sonucunda biyoreaktör pH'ının artışı beraberinde getirir. Bununla beraber, prosesteki mikroorganizmalar tarafından üretilen CO₂, gaz fazın orjinal CO₂ içeriğinin geri dönmesine neden olacak ve pH düşecektir.

Karbonat bazlı kimyasalların kullanımı, pH değişim büyüklüğünü aşağıdaki Eşitlik (2.12)'de görüldüğü gibi azaltır.



Eşitlik (2.11) ile karşılaştırıldığında, hidroksitten 2 mol HCO₃⁻ üretmek için 2 mol CO₂ gerekirken, karbonattan 2 mol HCO₃⁻ üretmek için sadece 1 mol CO₂ gerekmektedir. Bu nedenle, karbonat bazlı kimyasallar, pH düzeltmesi için kullanıldığında gaz fazdan CO₂'in tüketimi, hidroksil bazlı kimyasalların kullanılması halinde tüketiminin yarısı olacaktır. pH'daki bu değişimler Şekil 2.4'de gösterilmiştir.



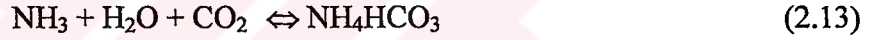
Şekil 2.4 Anaerobik proseslerde sıvı fazın bikarbonat alkalinitesindeki değişim etkilerinin ve/veya gaz fazın CO_2 içeriğinin pH üzerine etkisi (Grady ve diğ., 1999)

Örnek olarak gaz fazındaki CO_2 içeriğinin %40 ve bikarbonat alkalinitesinin 500 mg/l CaCO_3 olduğu, pH'ın yaklaşık 6,3'e karşılık geldiği başlangıç durumunda (1. nokta), biyoreaktör bikarbonat alkalinitesini 2100 mg/l CaCO_3 'a yükseltmek için yeterli NaHCO_3 ilavesiyle biyoreaktör pH'ı yaklaşık olarak 6,9'a yükselecektir (2. nokta). Hidroksil bazlı kimyasalın eşdeğer miktarda ilavesi ile 2100 mg/l CaCO_3 bikarbonat alkalinitesinde sadece bir artış olmayacak aynı zamanda gaz fazın CO_2 içeriğini de derhal azaltacaktır. Çünkü hidroksil bazlı kimyasal bikarbonat üretmek üzere CO_2 'i giderir (Eşitlik 2.11).

Gazın CO_2 içeriğindeki azalma, biyoreaktördeki rölatif gaz ve sıvı hacimlerine bağlı olacaktır. Eğer, karbondioksit ihtiyacı mevcut miktara göre oldukça fazla ise negatif bir basınç meydana gelerek havanın gaz fazın içine girmesine neden olur ve oksijen ile metanın patlayıcı bir karışımı meydana gelir. Ekstrem şartlar altında, CO_2 'in giderimi yapının (reaktör çatısının) çökmesi için yeterli kuvvette negatif bir basıncın oluşmasına neden olabilir. Kimyasal ilavesi sonrası pH hızla yaklaşık 7,5 değerine ulaşır (3. nokta). Bununla birlikte, biyokütle tarafından üretilen ilave CO_2 , gaz fazın içeriğini denge oranı olan %40'a kadar yükseltecek ve pH 6,9'a düşecektir (3 – 2 çizgisi). pH'daki bu ani değişimler, (6,3'den (1. nokta) 7,5'a (3. nokta) ardından

tekrar 6,9'a (2. nokta)) prosese zarar verebilir. Ayrıca, çalışma sırasında pH kontrolü zordur. Çünkü ilave edilen kimyasal - pH ilişkisi çok açık değildir. Na₂CO₃ gibi karbonat bazlı kimyasal ilavesinin etkisi, Şekil 2.4'de 4. nokta ile belirtilmiştir. Bu noktada, Na₂CO₃'ün ilavesinden hemen sonra pH'nın yaklaşık 7,1 olduğu gözlenmiştir. pH, CO₂ üretildiği için 6,9'a düşecek ve gazın CO₂ içeriği %40'a geri dönecektir (2. nokta). Böylece, karbonat bazlı kimyasalların ilavesinin, hidroksit bazlı kimyasalların ilavesi ile karşılaştırıldığında, pH'da daha az salınımlara sebep olduğu görülebilir.

pH ayarında kullanılan kimyasalların katyonları da aynı zamanda anaerobik prosesleri etkileyebilir. Kireç kullanımı kalsiyum konsantrasyonunu artırır ve daha yüksek konsantrasyonlarda CaCO₃ çökmesiyle biyoreaktörün etkili hacmi azalabilir. Ayrıca, Na⁺, K⁺ ve Ca⁺⁺ konsantrasyonlarının belirli değerleri aşıldığında bu katyonlar toksik etki gösterir. Amonyak, aynı zamanda amonyum bikarbonat oluşturmak için CO₂ ile reaksiyona girdiğinden pH ayarında da kullanılabilir (Reaksiyon 2.13).



Bununla birlikte amonyak ilavesi de hidroksit kimyasalları gibi pH'da değişikliklere neden olacaktır. Ayrıca, amonyak yüksek konsantrasyonlarda toksiktir. pH>8,0 değerlerinde aktivitenin aniden düşmesi ortamdaki iyonize olmamış amonyak miktarı ile ilgilidir. Tüm bu nedenlerden dolayı, pH ayarında kullanılabilecek ideal kimyasal yoktur ve bu kimyasalların herhangi biri kullanıldığında duruma bağlı bazı önlemlerin alınması gereklidir.

Gaz fazındaki CO₂'in giderimiyle de pH kontrolü gerçekleştirilebilir. Şekil 2.4'deki 5. noktada görüldüğü gibi, 2100 mg/l CaCO₃ olarak bikarbonat ilavesi ile elde edilen aynı pH seviyesini oluşturmak için gazın CO₂ içeriğini yaklaşık %10'a indirmek gerekecektir. Bu işlem, gaz fazdan sürekli olarak CO₂ giderimi gerektirir (Grady ve diğ., 1999).

2.2.3 Nütrient ihtiyacı

Tüm diğer biyokimyasal proseslerde olduğu gibi, anaerobik proseste var olan mikroorganizmalar da çoğalma ve enzim aktiviteleri için nutrientlere gereksinime duyarlar. Anaerobik proseslerde giderilen KOİ'nin sadece yaklaşık %4-10'u

biyokütleye dönüştüğünden gerekli nutrient miktarı aerobik proseslere göre çok daha düşük olacaktır (Grady ve diğ., 1999). Anaerobik mikroorganizmaların nutrient gereksinimleri Tablo 2.3’de verilmiştir.

Tablo 2.3 Anaerobik arıtmada gerekli nütrientler (Ritmann ve McCarty, 2001)

Element	Gerekli nütrient mg/gr KOİ	Müsade edilen aşırı konsantrasyon mg/l	Genel formül
Makro nutrientler			
Azot	5-15	50	NH ₃ , NH ₄ Cl, NH ₄ HCO ₃
Fosfor	0,8-2,5	10	NaH ₂ PO ₄
Sülfür	1-3	5	MgSO ₄ .7H ₂ O
Mikro nutrientler			
Demir	0,03	10	FeCl ₂ .4 H ₂ O
Kobalt	0,003	0,02	CoCl ₂ .2 H ₂ O
Nikel	0,004	0,02	NiCl ₂ .6 H ₂ O
Çinko	0,02	0,02	ZnCl ₂
Bakır	0,004	0,02	CuCl ₂ .2 H ₂ O
Mangan	0,004	0,02	MnCl ₂ .4 H ₂ O
Molibden	0,004	0,05	NaMoO ₄ .2 H ₂ O
Selenyum	0,004	0,08	Na ₂ SeO ₃
Tungsten	0,004	0,02	NaWO ₄ .2 H ₂ O
Bor	0,004	0,02	H ₃ BO ₃
Genel Katyonlar			
Sodyum		10-200	NaCl, NaHCO ₃
Potasyum		200-400	KCl
Kalsiyum		100-200	CaCl ₂ .2 H ₂ O
Magnezyum		75-250	MgCl ₂

Evsel atıksular ve arıtma tesisi çamurları çoğalma için gerekli tüm nütrientleri içerirler. Fakat, çoğu endüstriyel atıksuların anaerobik arıtımında genellikle dışardan besi maddesi ilavesine gerek duyulur.

Çoğalma için gerekli inorganik nütrientler arasında azot ve fosfor temel besi maddeleridir. Hücre ağırlığının %12’sini azot, %2’sini ise fosforun içerdiği tesbit edilmiştir (Ritmann ve McCarty, 2001). Azot ve fosfor ihtiyacı üre, fosforik asit gibi kimyasallardan karşılanabilir.

Genellikle öncelikli nütrientler en yüksek konsantrasyona sahiptir ve Y ile belirtilen biyokütle sentez hızı üzerinden oranlanır. Uygulamalarda, C:N oranı substrat özelliği ile etkileşir ve KOİ cinsinden ölçülür (Speece, 1996).

Makro nütrientler için hesaplanan teorik biyokütle dönüşüm sabitleri ve optimum KOİ/N/P oranlarının farklı organik maddelere göre değişimi Tablo 2.4’de verilmiştir.

Tablo 2.4 Anaerobik arıtmada çeşitli organik maddeler için, teorik biyokütle dönüşüm katsayıları (Y) ve optimum KOİ/N/P oranları (Öztürk,1999)

	Y(grUKM/grKOİ _{gid.})	Optimum KOİ/N/P
Asetik asit	0,038	1420/607/1
Propiyonik asit	0,12	451/6,7/1
Butirik asit	0,16	338/6,7/1
Uzun zincirli yağ asitleri	0,14	386/6,7/1
Karbonhidratlar	0,22	246/6,7/1
Yağlar	0,14	386/6,7/1
Proteinler	0,13*	-

*gr/gr protein

Toplam KOİ esas alındığında Tablo 2.4'deki değerlerin daha düşük seviyelerde tutulması gerekir. Ayrıca çamur yaşının çok uzun tutulduğu durumlarda KOİ/N/P oranı da (nütrient ilavesi) uygun şekilde düşürülmelidir. Biyokütle oluşumunun hızlı olduğu işletmeye alma dönemlerinde KOİ/N/P oranı 300/5/1 – 500/5/1 aralığında tutulur. Kararlı işletme hallerinde 700/5/1 oranı uygulanabilir (Öztürk,1999). Bununla beraber bazı araştırmacılar tarafından, optimum gaz üretimi için C:N oranının 25-30/1 olması gerektiği tartışılmaktadır (Bitton, 1994).

Nitrat ve nitrit, anaerobik arıtmada denitrifikasyon yoluyla muhtemelen giderileceğinden azot, anaerobik arıtmada indirgenmiş formda (NH₃ veya organik amino-azot) bulunur. Çoğalma için gerekli konsantrasyonda azotun reaktörde bulunması, hız kısıtlayıcı faktör olmaması için gereklidir. 50 mg/l'yi aşan bir konsantrasyonda azot, hız kısıtlayıcı durumun yaşanmaması için yeterli olacaktır (Ritmann ve McCarty, 2001).

Metanojenler, en az fosfor kadar sülfüre gereksinim duyarlar. Orjinal atıksularda mevcut sülfat yoluyla, sülfür ihtiyacı genellikle karşılanabilir. Eğer, sülfür yetersizse, sülfat ilave edilebilir. Fakat sisteme aşırı sülfat dozlaması yapılmamalıdır. Çünkü sülfatın varlığında sülfat indirgeyici bakteriler hidrojen ve asetat gibi substratlar için metanojenlerle rekabete girerek metan üretimini sınırlarlar, sülfatın sülfüre indirgenmesi sistemde birçok olumsuz etkilere neden olabilir. 50-200 mg/l'i aşan iyonize olmamış sülfür seviyeleri metanojenler için toksik olsa da, iyonize olmamış sülfüre metanojenler tarafından temel bir kükürt kaynağı olarak ihtiyaç duyulur (Speece, 1983).

Anaerobik sistemlerde özellikle metanojenlerin temel enzimlerini etkinleştirmek için iz metallere ihtiyaç duyulur.

Araştırmacılar anaerobik proseslerin performansını arttırmak için Fe, Ni, Co, Mo, Zn, Se, Mg, Ca, Cu, Mn'ı gerekli önemli metaller olarak rapor etmişlerdir (Shen ve diğ.,1993). Gerekli iz metallerin listesi Tablo 2.3'de verilmiştir

Her iz elementin gerekli miktarı konusunda literatürde farklı yaklaşımlar söz konusudur. Genellikle, 40 mg/l'e kadar yüksek konsantrasyonda demire ihtiyaç duyulurken, diğer iz elementlerin 1 mg/l veya daha az konsantrasyonları yeterli olabilir. Nikel 10 µM kadar düşük konsantrasyonda metan üretimini anlamlı derecede artırır (Williams ve diğ., 1986).

Fe, Ni, Co ve Mo'ın metanojenlerin temel enzimleri için gerekli olduğu bilinir ve etkili bir anaerobik arıtma için her zaman bu metallerin mevcut olması gerekir. Fe, Co ve Ni gibi iz metallerin varlığı *Methanosarcina*'ın baskın olması için önemli bir faktördür (Speece, 1996)

Nikel ilavesi, metanojenlerin asetat kullanım oranını günde gr UAKM başına 2 gr'dan 10 gr asetata kadar arttırabilir (Speece ve diğ., 1983).

Florencio ve diğ. (1994), metanol ayrıştıran anaerobik mikroorganizmalardaki her besinsel grubun üzerine kobaltın etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, Co ilavesinden sadece metilotrofik metanojenlerin ve asetanojenlerin etkilendiğini oysa, H₂ ve CO₂ veya asetat gibi ara ürünleri kullanan diğer besinsel grupların fazla etkilenmediklerini bulmuşlardır. Anaerobik mikroorganizmaların nütrient gereksinimleri, kullanılan substrata ve türlere göre değişebilir.

Maya ekstresi ilavesinin anaerobik proseste uyarıcı etki yaptığı belirlenmiştir (Streicher ve diğ., 1990; Shen ve diğ., 1993). Maya ekstresi çeşitli vitaminleri özellikle suda çözünen B vitaminlerini içerir. Shen ve diğ. (1993), yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktöre maya ekstresi ilave edildiğinde, bakteriyel çoğalma hızının yükseldiğini, muhtemelen mikroorganizmaların iki katı kadar çoğalması için gerekli süreyi azalttığından dolayı reaktör içinde daha fazla bakterinin kaldığını belirlemişlerdir. Sonuç olarak, KOİ giderim hızı yükselmiştir. Fakat, araştırmacılar maya ekstresinin mikroorganizmanın spesifik aktivitesini arttırmadığını not etmişlerdir.

Günümüzde nütrientlerin önemi oldukça iyi bir şekilde anlaşılmış olmasına rağmen, gerekli nütrientlerin yokluğundan dolayı hala düşük verimle çalışan prosesler söz konusu olabilmektedir. Örneğin Speece (1988) biyokütlede demir, kobalt ve/veya

nikel ilave edildiğinde, 30 anaerobik çamur çürütücünün 8'inde gaz üretimi ile birlikte gözlenen asetat ve propiyonat kullanımında %100'lük bir artış belirlemiştir.

Mikroorganizmalar çözünmüş formdaki nütrientleri kullanabildiklerinden çoğalma için gerekli sülfür ve metallerin çözünmeyen kompleksler oluşturması anaerobik arıtmada yaşanan temel zorluklar arasındadır.

Mikroorganizmalar ayrıca Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve Mg^{2+} gibi katyonların dengeli olarak bulunduğu bir ortama ihtiyaç duyarlar. Bu katyonların ihtiyaç duyulan minimum konsantrasyonları genellikle 40-60 mg/l aralığındadır. Fakat, eğer bu katyonlardan biri örneğin Na^+ , alkalinite ihtiyacını karşılamak için NaHCO_3 , NaCO_3 veya NaOH olarak ilave edilirse katyonlar arasındaki denge bozulabilir. Bu tür dengesizlik diğer katyonların, özellikle potasyumun arttırılmasıyla hafifletilebilir.

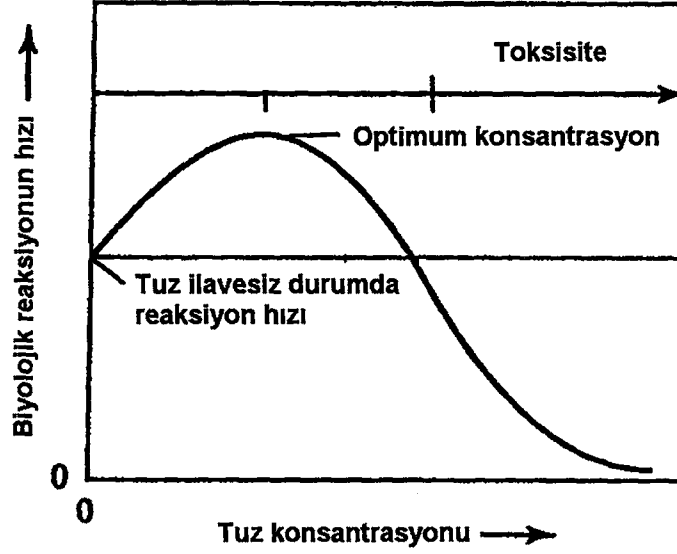
Literatürde yapılan çalışmalar göstermiştir ki; bakterilerin çoğalması için gerekli olan çok önemli nütrientler bile bazı atıksularda eksik olabilmekte ve bu nütrientlerin ilavesi mikrobiyal aktivitenin dengeli bir şekilde devamı için gerekli olmaktadır.

2.2.4 İnhibitör ve toksik maddeler

Anaerobik arıtma prosesine toksik veya inhibe edici yönde etki eden birçok madde vardır. Bu maddeler sisteme atıksu içeriği ile girebileceği gibi metabolik faaliyetler sonucu da üretilebilir.

Toksisite, iki nedenle aerobik arıtmaya kıyasla anaerobik arıtma için daha büyük bir problemdir. Birincisi, arıtılan organik madde konsantrasyonları genellikle çok daha fazladır ve daha yüksek konsantrasyonda atıksu organik maddesi ile birlikte inhibitörleri de içeren diğer maddelerin konsantrasyonları da daha yüksek olacaktır. İkincisi, anaerobik mikroorganizmaların özgül çoğalma hızları çok daha düşüktür. Düşük çoğalma hızları, ekonomik olarak kabul edilebilir olan biyolojik emniyet faktörünün daha düşük olduğu, bu nedenle anaerobik işlemi genel olarak çok büyük riske soktuğu anlamına gelmektedir. Ek olarak, yavaş çoğalma hızları nedeniyle iyileşme süresi de uzar (Ritmann ve McCarty, 2001).

“Toksik” terimi görecelidir ve bir maddenin toksik ve inhibitör etki gösterdiği konsantrasyon, bir mg/l'den binlerce mg/l'e kadar değişim gösterebilir. Şekil 2.5 biyolojik sistemlere eklenen birçok maddenin genel etkisini göstermektedir.



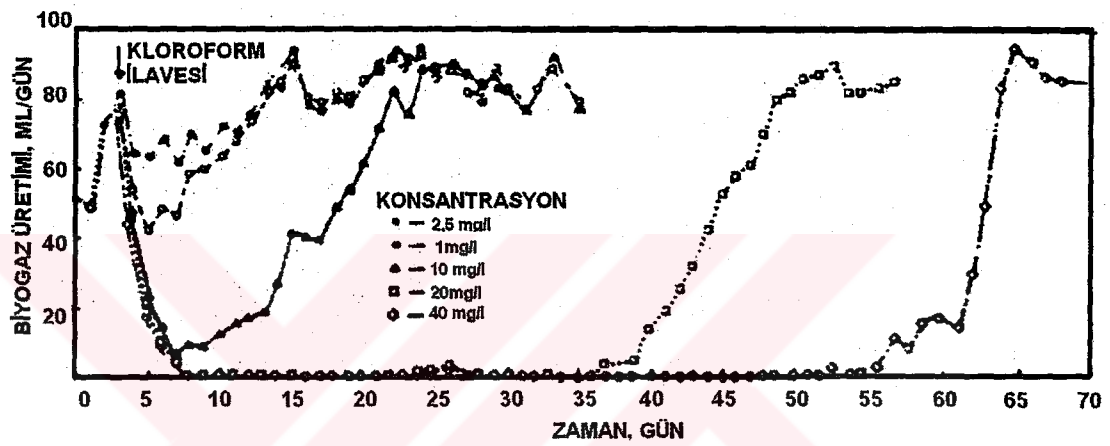
Şekil 2.5 Biyolojik proseslerdeki reaksiyon hızı üzerine bir inhibitör konsantrasyonunun etkisi (McCarty, 1964)

Aktiviteyi uyarıcı etki, ağır metal tuzları için sadece 1 mg/l gibi çok düşük konsantrasyonlar iken, Na^+ ve Ca^{2+} tuzları için bu etki 100 mg/l üzerindeki konsantrasyonlara değişebilir. Konsantrasyonun, uyarıcı konsantrasyon seviyesinin üzerine çıkmasıyla biyolojik aktivite hızı düşmeye başlar. İnhibisyonun belirgin olduğu noktaya ulaşıldığında, biyolojik aktivite hızı, inhibitör maddenin ortamda bulunmadığı durumlarda meydana gelenden daha azdır. Son olarak, oldukça yüksek konsantrasyonlarda ise biyolojik aktivite hızı sıfıra yaklaşır.

Toksosite, Şekil 2.5’den de görüldüğü gibi göreceli bir kavramdır. Çok fazla sayıda madde, düşük konsantrasyonda tetikleyici (uyarıcı) iken yüksek konsantrasyonlarda bulunduklarında performansta inhibisyona neden olurlar. Mikroorganizmalar, alışma süresi tanındığında, inhibitör maddelere bir miktar uyum sağlama yeteneğine sahiptirler. Bazı mikroorganizmalar, bazı inhibitör maddelere diğerlerine göre daha az duyarlıdır, bu nedenle, bu problemle kullanılacak daha iyi bir kültür bulunarak başa çıkılabilir. Mikrobiyal topluluklar değiştikleri ve uyum sağlayabildikleri için verilen maddelerin toksik konsantrasyonları ile ilgili sonuçlar çıkarmak zordur (Ritmann ve McCarty, 2001).

Metanojenler, tüm anaerobik mikroorganizmalar arasında, toksisiteye karşı en hassas gruptur. Metanojenesisin inhibisyonu, genellikle azalmış metan üretimi ve uçucu yağ asitlerinin artan konsantrasyonu ile belirlenebilir. Metanojenlerin birçok toksik maddeyi belirli düzeylere kadar tolere edebildiği de bilinmektedir. Ayrıca, belirli

konsantrasyonların altında birçok toksik maddenin anaerobik olarak arıtılabilir olması, toksik etkisini de azaltabilir. Anaerobik mikroorganizmaların toksik maddelere alıştırılabildiği ve toksik etkilerin belirli düzeylerin altında geri dönebilir olduğu da bir gerçektir (Speece, 1996). Yapılan çalışmalar, gaz üretimi sıfırlandığında metanojenlerin öldüğü varsayımının kesin olarak doğru olmadığını göstermiştir. Çalışmalarda test edilen 30 toksik maddenin çoğu için sistemler, yaklaşık 50 gün gibi ihmal edilebilir gaz üretiminin sonrasında hızla ve tamamen geri dönmüşlerdir. Bu durum toksisitenin tersinir olduğunun bir göstergesidir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Kloroforma gaz üretiminin yanıtı (Parkin ve Owen, 1986)

Anaerobik proseste uygun bir çamur yaşının muhafaza edilmesi, metanojenlerin toksik maddelere aklımasyonu açısından çok önemlidir. Çünkü proseste en hassas organizma olan metanojenler yavaş çoğalırlar ve toksik maddeler bakteriyal üreme süresini arttırarak onların çoğalma kinetiklerini değiştirirler. Eğer çamur yaşı çok düşükse, aktif olmayan metanojenler aklımasyon öncesi sistemden yıkanacaktır. Yapılan çalışmalar, uygun bir çamur yaşı ile aklime olmamış sistemlerde inhibisyona neden olan toksik madde konsantrasyonundan 20 ile 50 kez daha yüksek konsantrasyonların bile sistemin veriminde düşme olmadan tolere edilebildiği belirtilmiştir (Parkin ve Owen, 1986).

Bir maddenin toksik etkisi, ortamdaki konsantrasyonuna, sisteme verilmiş tarzına, mikroorganizmalarla temas süresine, çamur yaşına ve benzeri parametrelere bağlıdır.

İnhibisyon, mikroorganizmaların maksimum spesifik çoğalma hızlarında azalmaya neden olur. Bu nedenle, ortamda inhibitör yokken üretilen aynı kalitede çıkış suyunu oluşturmak için biyokimyasal sürecin çamur yaşını arttırmak gerekir. Fakat inhibitör

konsantrasyonu yeterli derecede yüksekse toksik etki gösterir ve mikroorganizmalar ölerek tüm prosesin başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olur.

Literatür, inhibisyon ve toksisite arasında açık bir farklılık gözetmemiştir. Bu nedenle, bu iki terim tam anlamıyla yorumlanamaz. Fakat genelde, bir bileşenin konsantrasyonu arttırılırken inhibisyon toksisite öncesi oluşur (Grady ve diğ., 1999).

İnhibitör etkiye sahip en önemli inorganik maddeler, alkali ve toprak alkali tuzlar, amonyak, sülfür ve ağır metallerdir. Ayrıca sülfat, sülfat gideren bakteri tarafından bir elektron alıcı olarak kullanılır. Elemental sülfür ve organik sülfür bileşikleri de oluşmakla birlikte, reaksiyon sonucu ara ürün olarak H_2S açığa çıkar. Sülfat gideren bakteriler, metanojenlerle aynı enerji kaynaklarını kullanırlar. Sülfat gideren bakteriler enerjetik olarak metanojenlere göre daha avantajlı olduklarından, metan üretimine doğru olan elektron akışını sülfat giderimine çevirerek reaktördeki metan üretiminin düşmesine yol açarlar.

Atıklardaki materyallerin anaerobik arıtmaya olası toksik etkileri, en iyi, anaerobik toksisite deneyi gibi laboratuvar biyodeney işlemleriyle saptanabilir (Owen ve diğ., 1979).

2.2.4.1 Uçucu asitler

Literatürde uçucu yağ asitlerinin metanojenleri doğrudan mı yoksa dolaylı olarak mı inhibe ettiği hala tartışılmaktadır (Parkin ve Owen, 1986).

Önceleri 2000 mg/l üzerindeki UYA konsantrasyonlarının metanojenlere inhibitör olduğu ileri sürülmesine rağmen pH'nın nötrale yakın aralıklarda tutulmasıyla ne asetik asitin ne de bütirik asitin 10,000 mg/l'e kadar konsantrasyonlarda metan oluşumunu inhibe etmediği (Hobson ve Show, 1976), 6000 mg/l propiyonik asitin asetonojenleri inhibe ettiği (McCarty ve McKinney, 1961) belirlenmiştir.

Andrews (1969) ve Kroker ve diğ. (1979) UYA'lerinin iyonize olmamış formlarının metanojenler için toksik olduğunu belirtmişlerdir. İnhibisyonun 30-60 mg/l iyonize olmamış UYA'leri seviyelerinde oluştuğunu rapor etmişlerdir.

UYA zayıf asitlerdir nötral pH'da çoğunlukla ayrışır. İyonize olmamış UYA konsantrasyonu anaerobik prosesin pH'ına bağlıdır. Örneğin; yaklaşık 5500 mg/l toplam asit konsantrasyonu pH 7,0'de 30 mg/l iyonize olmamış asetik asit konsantrasyonunun oluşması için gerekir. Diğer taraftan, pH 6,5'ta sadece 1800 mg/l

toplam asetik asit konsantrasyonu aynı iyonize olmamış asetik asit konsantrasyonunu oluşturur (Parkin ve Owen, 1986).

Heyes ve Hall (1981), inhibisyonun nedenini iyonize olmamış UYA'den çok asetojenesis sırasında üretilen H_2 'den kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Metanojenlerin çoğalması için pH değerleri normal aralık içersinde (6,8-7,4) kaldığı sürece uçucu asitlerin yüksek konsantrasyonlarının tolere edilebileceği açıktır. Bu aralığın altında kalan pH değerleri için pH'ın etkisi önemli olacaktır ve iyonize olmamış UYA'lerinin neden olduğu inhibisyonu şiddetlendirecektir (Grady ve diğ., 1999).

2.2.4.2 Alkali ve toprak alkali tuz toksisitesi

Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve Mg^{2+} gibi alkali ve toprak alkali metallerin tuzlarının konsantrasyonları endüstriyel atıksularda çok yüksek olabilir ve anaerobik arıtmanın verimsizliğine hatta çökmesine neden olabilir. Fakat, evsel atık çamurlarında bu tuzların konsantrasyonu, pH kontrolü için yüksek konsantrasyonda verilmedikçe toksik etkiye neden olmaz. Çok yüksek uçucu asit konsantrasyonları, $NaHCO_3$ ya da diğer Na^+ içeren bazların eklenmesiyle kontrol altına alınmaya çalışılırsa, oluşan yüksek tuz konsantrasyonu nedeniyle inhibisyon oluşabilir.

Toksisitenin, tuzun anyonundan çok katyonu ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Bu katyonların mikrobiyal çoğalma üzerinde inhibitör etkisinin yapısı çok komplekstir (McCarty, 1964; Parkin ve Owen, 1986).

Tablo 2.5'de bu tuzların katyonlarının anaerobik arıtmada uyarıcı ve inhibe edici konsantrasyonları verilmiştir.

Tablo 2.5 Alkali ve toprak alkali katyonların uyarıcı ve inhibitör konsantrasyonları (McCarty, 1964)

Katyon	Konsantrasyon mg/l		
	Uyarıcı	Orta derecede inhibitör	Kuvvetli inhibitör
Sodyum	100-200	3,500-5,500	8,000
Potasyum	200-400	2,500-4,500	12,000
Kalsiyum	100-200	2,500-4,500	8,000
Magnezyum	75-150	1,000-1,500	3,000

Uyarıcı olarak listede yer alan konsantrasyonlar, proste maksimum verime neden olacağından, sistemde bulunması arzu edilen konsantrasyonlardır. Orta derecede

inhibisyona neden olan konsantrasyonlar genellikle tolere edilebilir fakat mikroorganizmaların bu konsantrasyonlara alışması gerekir. Bu konsantrasyonlar sisteme ani olarak verildiğinde, prosesin birkaç günden bir haftaya kadar zaman periyotlarında önemli bir şekilde gecikmesine neden olabilir. Kuvvetli inhibitör olarak listelenmiş konsantrasyonlar ise genellikle proses veriminin hızla düşmesine neden olurlar ve etkili bir arıtma için gerekli süre aşırı uzun olabilir.

Bu katyonların birlikte bulunması söz konusu olduğunda, bazı katyonlar diğer katyonların etkisini azaltacak tarzda antagonistik olarak hareket ederlerken, diğerleri diğer katyonların toksik etkisini arttıracak tarzda sinerjistik etki gösterebilirler. Örneğin, iki katyon orta derecede inhibitör konsantrasyonlarında sistemde mevcutsa inhibisyon artabilir. Bu, sinerjistik etki olarak bilinir. Çünkü, iki hafif metal katyonunun birlikte etkisi, ayrı ayrı oluşturacakları inhibitör etkiden daha fazla olacaktır. İkinci olarak, bir hafif metal katyonunun neden olduğu inhibisyon, eğer diğer hafif metal katyonları onların uyarıcı konsantrasyonlarının altındaki konsantrasyonlarda mevcutsa artabilir. Son olarak, katyonların uyarıcı konsantrasyonları mevcutsa bunlar, orta derecede bir inhibitör konsantrasyonunda bulunan diğer herhangi bir katyonun sebep olduğu inhibisyonun miktarını azaltmaya yardım edecektir (Ritmann ve McCarty, 2001).

Na^+ ve K^+ bu amaca en uygun antagonistlerdir, uyarıcı konsantrasyonlarda çok etkili olurlar. Ca^{2+} ve Mg^{2+} genelde zayıf antagonistlerdir ve sisteme ilave edildiklerinde diğer katyonların neden olduğu toksik etkiyi azaltmaktan çok arttırabilirler. Fakat, eğer sistemde diğer antagonistik bir katyon mevcutsa bunlar uyarıcı olabilirler. Örneğin, 7000 mg/l Na^+ anaerobik arıtmanın gecikmesine neden olabilir, 300 mg/l K^+ sisteme ilave edilirse gecikme %80 düşebilir. Fakat, daha sonra 150 mg/l Ca^{2+} ilave edilirse inhibisyon tamamen giderilebilir. Ca^{2+} , K^+ içermeyen bir sisteme ilave edilirse, tüm sistemde faydalı etki oluşturmaz. Antagonistlerin klorür tuzları olarak ilavesi en uygundur. Eğer böyle ilaveler yeterli derecede yararlı değilse veya ekonomik değilse o zaman toksik tuz konsantrasyonları için en iyi çözüm atığın seyreltilmesidir (McCarty, 1964).

2.2.4.3 Organik bileşikler

Anaerobik proseslerde inhibisyona neden olan organik solventler, alkoller ve uzun zincirli yağ asitleri gibi bir çok organik madde vardır. Bu organik maddeler

genellikle kimya endüstrisi gibi bazı endüstriyel atıklarda mevcuttur. Yüksek konsantrasyonlarda anaerobik sistemlere toksik olan birçok organik kimyasal, düşük konsantrasyonlarda anaerobik mikroorganizmalar için besin kaynağı olarak işlev görebilir. Uygun bir tasarımla, bu tür kimyasallar anaerobik sistemlerde arıtılabilir. Fenol bu tür bir kimyasaldır. Anaerobik sistemde zararsız kimyasallara çevrilebilen, potansiyel olarak toksik olan diğer bir organik kimyasala örnek olarak kloroform verilebilir (Ritmann ve McCarty, 2001).

Organik içerikli atıklar, anaerobik sisteme sürekli olarak beslendiğinde bu maddeler reaktöre ilave edilir edilmez hızla ayrışır ve prosesteki konsantrasyonları, beslendiği konsantrasyonun çok altında muhafaza edilebilir (McCarty, 1964)

Organik kimyasalların yeterli aklımasyonu ile biyolojik olarak ayrıştırılması mümkün olabilir (McCarty, 1964; Blum ve diğ., 1986; Parkin ve Owen, 1986; Speece, 1996).

Tablo 2.6'da bazı organik bileşenlerin inhibitör konsantrasyonları verilmiştir.

Tablo 2.6 Anaerobik proseslere organik bileşenlerin inhibitör konsantrasyonları (Parkin ve Owen, 1986)

Bileşen	İnhibitör konsantrasyonu mg/l
Fomaldehit	50-200
Kloroform	0,5
Etil benzen	200-1,000
Etilen diklorür	5
Kerosen	500
Lineer ABS (deterjan)	Kuru ağırlıkça %1

Tablo 2.7'de birkaç organik bileşenin anaerobik proses üzerine rölatif etkileri verilmiştir. Bu tablolardan mevcut konsantrasyon aralıkları, anaerobik kültürlerin bu bileşenlere alıştırılmadan maruz kaldıklarında gösterdikleri tepkiyi göstermektedir. Fakat, aklımasyonla anaerobik kültürlerin bu değerlerin 20 ile 50 kez fazla konsantrasyonunu tolere edebildikleri bulunmuştur (Parkin ve Owen, 1986).

Tablo 2.8'de başlangıçta inhibitör iken aklımasyonla biyolojik olarak ayrıştırılabilen petrokimyasal atıksu bileşenlerinin listesi verilmiştir. Aklımasyon sırasında metanojenlerin aktivitesi bir miktar düşebilir. Fakat uzun bir periyottan (50 gün veya daha fazla) sonra bile mikroorganizmalar bu bileşeni ayrıştırma kabiliyetine sahip olabilirler.

Tablo 2.7 Anaerobik proseslere organik bileşenlerin göreceli konsantrasyonu (Parkin ve Owen, 1986)

Bileşen	%50 inhibisyona neden olan konsantrasyon, mM
1-Kloropropen	0,1
Nitrobenzen	0,1
Akrolein	0,2
1-Kloropropan	1,9
Formaldehit	2,4
Lorik asit	2,6
Etil benzen	3,2
Akrilonitril	4
3-Kloro-1,2-propandiyol	6
Krotonaldehit	6,5
2-Kloropropiyonik asit	8
Vinil asetat	8
Asetaldehit	10
Etil asetat	11
Akrilik asit	12
Kateşol	24
Fenol	26
Anilin	26
Resorsinol	29
Propanal	90

Klorlanmış alifatiklerin metanojenlere toksisitesi, aerobik heterotrofik mikroorganizmalara toksisitesinden çok daha fazladır (Blum ve Speece, 1992). Kloroform, metanojenlere çok toksiktir ve 1 mg/l'nin üzerindeki konsantrasyonlarda metan üretiminin tamamen durmasına neden olabilir (Hickey ve diğ., 1987). Bu bileşiğe aklımasyon, metanojenlerin toleransını 15 mg/l kloroforma kadar arttırabilir. Metanın tekrar oluşması, biyokütle konsantrasyonuna, çamur yaşına ve sıcaklığa bağlıdır (Yang ve Speece, 1986).

Metanojenlerin saf kültürleri, (*Methanothrix concilii*; *Methanobacterium espanolae*; *Methanobacterium bryantii*) benzen türevleri (benzen, toluen, fenol, pentaklorofenol) tarafından inhibe edilebilir. Pentaklorofenol, test edilen tüm benzen türevleri içinde en toksik olanıdır (Patel ve diğ., 1991). Fenolik bileşikler içersinde, metanojenesisini inhibisyon sırası; nitrofenoller > klorofenoller > hidroksifenoller olarak belirlenmiştir (Wang ve diğ., 1991).

Tablo 2.8 Zenginleştirilmiş metanojenik kültürler tarafından metabolize edilen petrokimyasallar (Parkin ve Owen, 1986)

Petrokimyasal		
Asetaldehit	Formaldehit	Fitalik asit
Aseton	Formik asit	Propanal
Adipik asit	Fumarik asit	Propanol
1-Amino-2-propanol	Glutarik asit	2-Propanol
4-Aminobutirik asit	Gliserol	Propiyonik asit
Benzoik asit	Hegzanoik asit	Propilen glikol
Butanol	Hidrokinon	Resorsinol
Butiraldehit	Isobutirik asit	2-butanol
Butirik asit	Maleik asit	2-butilamin
Kateşol	Metanol	Sorbik asit
Krotonaldehit	Metil asetat	Suksinik asit
Krotonik asit	Metil etil keton	3-butanol
Etil asetat	Nitrobenzen	Valerik asit
Etil akrilat	Fenol	Vinil asetat

Metanojenesisin 100 mg/l'lik bir formaldehit konsantrasyonunda ciddi şekilde inhibe olduğu fakat, daha düşük formaldehit konsantrasyonlarında iyileştiği görülmüştür (Hickey ve diğ.,1987; Parkin ve Speece, 1982).

Uzun zincirli yağ asitleri (kaprilik, kaprik, lorik, miristik, oleik asitler) asetat ile beslenen çamurda asetoklastik metanojenlerin (*Methanothrix spp.*) aktivitesini inhibe ederler (Koster ve Cramer, 1987).

Taninler; üzüm, muz, elma, kahve, fasulye ve tahıllardan kaynaklanan fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler genellikle metanojenlere toksik etki yaparlar. Gallotannik asit metanojenlere yüksek oranda toksik iken, monomerik türevleri, gallik asit ve pirogallol çok daha az toksiktir (Field ve Lettinga, 1987). Tanninlerin, metanojenleri, ulaşılabilir enzim bölgeleriyle etkileşerek inhibe ediyor olması olasıdır.

2.2.4.4 Sülfür

Sülfür toksisitesi, anaerobik atıksu arıtmasında tercihen bir elektron alıcısı olarak kullanılan (sülfüre dönüşen) sülfatı ve sülfür içeren organik maddeleri (proteinler) yüksek konsantrasyonlarda içeren atıksularda sık karşılaşılan bir problemdir.

Anaerobik arıtmada sülfat, sülfat gideren bakteri tarafından bir elektron alıcısı olarak kullanılır. Elementel sülfür ve organik sülfür bileşikleri de oluşmakla birlikte, reaksiyon sonucu ara ürün olarak H_2S açığa çıkar. Metanojenlerin başlıca enerji kaynakları asetik asit ve hidrojenidir. Sülfat gideren bakterilerde aynı enerji

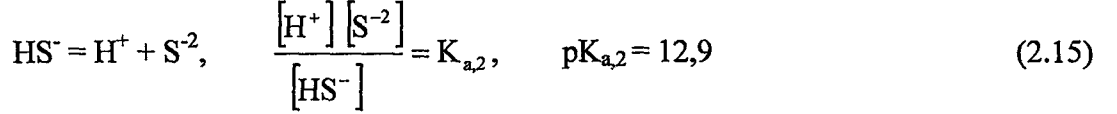
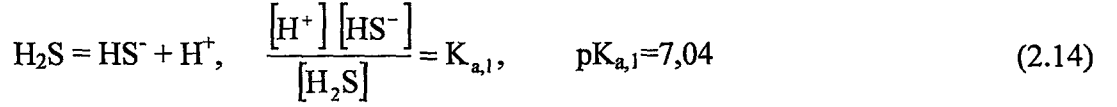
kaynaklarını kullanır ve aynı substrat için metanojenlerle rekabete girer. Sülfat gideren bakteriler enerjetik olarak metan bakterilerine göre daha avantajlı olduklarından metan üretimine doğru olan elektron akışını sülfat giderimine çevirerek reaktörde metan üretiminin düşmesine neden olurlar (Öztürk, 1999)

Anaerobik arıtmada üretilen sülfürler, onlarla ortak olan katyonlara bağlı olarak çözülmüş veya çözünmemiş formda bulunabilirler. Demir, çinko ve bakır gibi ağır metallerle kompleks yapan sülfür, çözeltiden çökerek ayrıldığından mikroorganizmalar için zararlı değildir. En fazla inhibitör olan çözünebilir form öncelikle iyonize olmamış H_2S formudur. Sadece çözünür sülfürler (H_2S , HS^- ve S^{2-}) inhibitördür ve 200 mg/l'nin üzerindeki konsantrasyonlarda kuvvetli inhibisyona neden olurlar. Oysa, 100 mg/l'e kadar konsantrasyonlarda çok az veya hiç aklımasyon gerektirmeden arıtmada tolere edilebilirler. 100-200 mg/l arasındaki konsantrasyonlarda, aklımasyon sonrası tolere edilebilirler (Lawrence ve McCarty, 1965; McCarty, 1964; Parkin ve Owen, 1986).

Asit oluşturan bakteriler metanojenlere göre H_2S 'e daha az duyarlıdır. Hidrojen oksitleyen metanojenlerin ise asetoklastik metanojenlere göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir (Bitton, 1994). 56 mg/l'den daha yüksek H_2S konsantrasyonlarının, selülozun metana dönüşümünü inhibe ettiği gözlenmiştir (Khan ve Trottier, 1978). Aynı araştırmacılar, sülfür bileşiklerinin zehirlilik etkilerini $H_2S > \text{Toplam çözünmüş sülfür} (H_2S + HS^- + S^{2-}) > \text{Sülfür} > \text{Tiosülfür} > \text{Sülfat}$ olarak sıralamışlardır. Koster ve diğ. (1986) pH'a bağlı olarak metanojenlerin aktivitesinin 7,4 mM (250 mg/l) H_2S konsantrasyonu veya 25,8 mM (825 mg/l) toplam çözünmüş sülfür konsantrasyonlarında %50 inhibe olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, 1,16 litre serum şişeleri kullanarak gerçekleştirdikleri deneyde, aşı olarak patates atığı arıtan yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörden aldıkları biyokütleyi ve substrat olarak asetat kullanmışlardır. Bu çalışmada, metanojenlerin aktivitesinin, düşük pH'da H_2S konsantrasyonuna, yüksek pH'da ise toplam çözünmüş sülfür konsantrasyonuna bağlı olduğunu bulmuşlardır.

H_2S , nispeten çözünmeyen bir gazdır ve normal gaz üretimi aracılığıyla çözeltiden kısmen ayrılır. Anaerobik arıtmada nötr bir pH için hemen hemen tüm çözünebilir sülfür ya H_2S ya da HS^- formundadır. Çözeltide asla yüksek konsantrasyonda bulunmasa da, birçok metalle çökelti oluşturduğundan S^{2-} de önemlidir.

Sülfürün farklı fazlar arasındaki dağılımı, karbondioksit/bikarbonat/karbonat etkileşimine benzer (Ritmann ve McCarty, 2001).

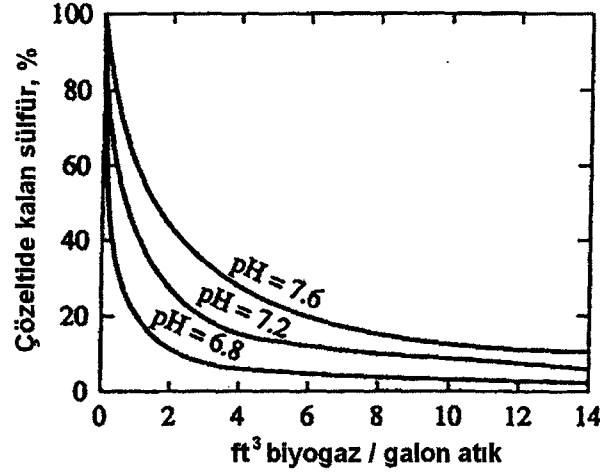


Sıvı fazdaki HS^- konsantrasyonu pH'a bağlıdır. Denklem (2.14) nötral bir pH'nın H_2S ve HS^- arasında yaklaşık eşit bir dağılım verdiğini ($\text{p}K_{a,1}=7,04$) göstermektedir. pH 7,5'ta toplam sülfürün %20'i H_2S 'tir. Bu nedenle, pH 7-8 aralığında iyonize olmamış H_2S konsantrasyonunda ani bir azalma gözlenebilir. Çözünmüş H_2S 'in bir kısmı sıvı fazdan gaz faza geçer, bu olayda etkili esas faktör, sıvı ve gaz fazındaki H_2S kısmi basınçları arasındaki farktır. Biyogaz üretimindeki artış gaz fazındaki H_2S kısmi basıncını düşürür ve sıvı fazdaki H_2S akışını hızlandırır (Öztürk, 1999). Birim atıksu hacmi başına daha yüksek gaz üretimi ve daha düşük pH, çözeltiden ayrılma lehinedir. Şekil 2.7 çözeltide kalan toplam çözünebilir sülfürlerin miktarını, pH ve gaz üretiminin bir fonksiyonu olarak göstermektedir.

Anaerobik arıtma tesisinin giriş akımında KOİ konsantrasyonu SO_4^{2-} konsantrasyonundan düşük olduğunda, sıvı fazdan üretilen sülfürü sıyırmak için yeterli metan gazı üretilmeyebilir. Bu durumda, çözünmüş sülfür konsantrasyonu toksik veya inhibitör olabilir. Parkin ve diğ. (1990) sülfür inhibisyonu ile $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranı arasında çok önemli bir ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir. Yapılan çalışmalar, yaklaşık 7,5'tan daha düşük oranda $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ içeren atıksular arıtıldığında inhibitör çözünür sülfür konsantrasyonlarının meydana gelebileceğini göstermiştir (Grady ve diğ., 1999).

Anaerobik mikroorganizmalara toksik olmasının yanısıra H_2S , toksik ve kokulu bir gazdır. Gazdaki H_2S %6'ı aştığında zehirlilik etkisi gözlenebilir (Öztürk, 1999). Anaerobik olarak oluşmuş gazlardaki H_2S , sadece kokulu olmakla kalmaz aynı zamanda koroziftir. Ayrıca H_2S , yanma sırasında SO_2 'e oksitlenerek hava kirliliği problemi yaratır. Ancak anaerobik sistemlerde sülfür, biyolojik çoğalma için önemli bir besindir ve başarılı bir işlem için belirli bir miktar gereklidir. Aynı zamanda başarılı bir arıtma işlemi için gerekli olan düşük bir oksidasyon-redüksiyon

potansiyelini sürdürmeye de yardım eder. Bunun yanında, ağır metallerin aşırı konsantrasyonlarından kaynaklanabilecek toksisiteyi önlemeye yardım eder. Sülfür üretiminin yararlarının farkına varılırken, problemlerin minimumda tutulduğu bir denge sağlanmalıdır.



Şekil 2.7 Anaerobik arıtma sırasında gaz üretimi ve pH'nın bir fonksiyonu olarak sıvı fazda kalan çözünür sülfürün fraksiyonu (1 ft³/galon = 7,48 m³ gaz/m³ atık) (McCarty, 1964)

2.2.4.5 Ağır metaller

Nikel, kobalt, demir gibi bir çok ağır metal, mikroorganizma aktivitesi için gerekli inorganik nutrientlerdir. Birçok farklı mikroorganizma grubunun ortak ve birbirine bağımlı aktivitesi sonucu gerçekleşen anaerobik biyodönüşüm işleminde nutrient olarak ağır metallerin önemi büyüktür (Parkin ve Owen, 1986). Metallerin eser miktarı, çoğu enzim fonksiyonları için gereklidir. Ancak belirli bir konsantrasyon aşıldığında ağır metallerin hemen hepsi aerobik ya da anaerobik biyolojik yaşam üzerinde toksik etki yaratabilir.

Ağır metallerin, anaerobik arıtma sistemlerinde aktive edici, oluşmuş inhibisyonu iyileştirici veya biyodönüşümü tamamen engelleyici etkileri olduğu belirlenmiştir (Mehrotra ve diğ., 1993)

Metal kaplama, deri, petrokimya, boya üretimi gibi çoğu endüstrilerin atıksuları belirli konsantrasyonlarda çeşitli ağır metaller içerirler. Bu tür atıksular biyolojik proseslerde arıtılırken, ağır metaller proses dizaynında göz önünde tutulması gereken önemli bir faktördür.

Yüksek konsantrasyonlarda metal içeren proseslerden gelen atıksular, anaerobik prosesin stabilitesi ve performansı üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir (Lin, 1992). Proses karasızlığı UYA birikimi ve biyogazdaki metan yüzdesinin azalması, karbondioksit oranının artması ile belirlenebilir (Ahrling ve Westermann, 1983; Tijero ve diğ., 1991; Yue Lin, 1992; Yue Lin, 1993).

Ağır metallerin anaerobik arıtma sürecinde oluşturduğu toksisite, metallerin prosesdeki sıcaklık ve pH değerlerinde, anaerobik şartlarda var olabilen değişik kimyasal formlarının konsantrasyonlarına bağlıdır (Ahrling ve Westermann, 1983). Ağır metallerin inhibisyon şiddeti, toplam metal konsantrasyonuna değil, metal türlerine ve serbest metal türlerinin konsantrasyonuna bağlıdır (Mueller ve Steiner, 1992; Lawrance ve McCarty, 1965).

Çoğu organik ve inorganik maddeler, metal iyonlarıyla kompleks yapabilir. Sıvı fazdaki ağır metal konsantrasyonu çöktürme, şelatlaşma, adsorbsiyonla azaltılabilir. Siyanür, klorür, florür, amonyum ve hidroksil iyonları metallerle kompleks oluştururlar. Metallerin kompleks oluşturması, çözeltinin pH'na bağlıdır. Metal kullanım kapasitesi ve kompleks oluşumu, artan pH ile artar. Hidrojen iyonu konsantrasyonunun artması ile metallerin çözünürlüğü artar (Ahrling ve Westermann, 1983; Mosey ve diğ., 1971; Mueller ve Steiner, 1992). Kompleks oluşumu, iyonların atom ağırlığı, yarıçapı ve yüküne bağlıdır. Krom hariç, atom ağırlığı arttıkça, metallerin kompleks oluşumu artar, çözünürlüğü azalır (Mueller ve Steiner, 1992).

Bakteriyal metabolizma için inhibitör olmayan ağır metallerin tuzları olarak çöktürülmesi, ağır metallerin toksik etkisinin azaltılması bakımından etkili olabilir. Sülfürler ve ağır metaller, ayrı ayrı anaerobik sistemde toksik etkiye neden olmakla beraber, birlikte çözünmeyen tuzlar oluşturarak, toksik etkinin azalmasına veya tamamen yok olmasına neden olabilirler (Lawrance ve McCarty, 1965; Mosey ve Hughes, 1975; Jin ve diğ., 1998).

Araştırmacılar, katyon toksisitesinin ortamda diğer katyonların mevcudiyetinde değiştiğini göstermişlerdir. Toksik etkiyi belirlemede, sistemde var olan tüm metallerin birlikte oluşturdukları etkiyi dikkate almak gerekir. Ağır metallerin kombinasyonu genelde sinerjistik (bileşiklerin birlikte bulunduklarında, tek başlarına oluşturdukları inhibe edici etkiden daha fazla inhibisyona neden olmaları) nadiren antagonistik (bir bileşiğin toksik etkisini azaltan başka bir bileşiğin ortamda mevcut

olması durumu) etki gösterir (Tomlin ve Forster, 1988; Yue Lin, 1992, Yue Lin, 1993; Yenigün ve diğ., 1995).

Sistemdeki katıların (toplam ve uçucu katı) seviyesi, ağır metal toksisitesinde çok önemli rol oynar. Çamurun toplam katı ve uçucu katı seviyesinin arttırılması ile inhibisyona neden olan metallerden daha iyi korunma sağlanabilir (Hickey ve diğ., 1989; Bahattacharya ve diğ., 1995; Mueller ve Steiner, 1992).

Hickey ve diğ. (1989) tarafından yapılan bir çalışmada, metan üretimi, CO ve H₂ seviyeleri üzerine Cu²⁺, Zn²⁺ ve Cd²⁺’un etkisi incelenmiş, CO konsantrasyonunun, metan üretiminin azalan hızı ile arttığı gözlenmiştir. Bu durum metanojenlerin, anaerobik bakteriler içinde en hassas organizmalar olduğu geleneksel düşünceye ters düşmektedir. Lawrance ve McCarty (1965), asit oluşturan popülasyonun ağır metallerin toksik etkisinden en az metanojenler kadar etkilendiğini belirlemişlerdir. Bu görüşler, Yue Lin (1992), Yue Lin (1993) tarafından, anaerobik arıtmada UYA ayrışması ve asidojenler üzerine ağır metallerin etkileri incelenerek desteklenmiştir.

Anaerobik arıtmada ağır metallerin toksik etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda, metallerin anaerobik arıtmayı etkileme dereceleri aşağıda belirtilmiştir.

- Termofilik anaerobik arıtmada, Ni> Cu >Cd (Ahring ve Westermann, 1983)
- Termofilik anaerobik arıtmada, Pb>Cu~Ni>Cd>Zn (Macleod ve Forster,1988)
- Mezofilik anaerobik arıtmada, Cu>Cd>Zn (Hickey ve diğ., 1989)
- Mezofilik anaerobik arıtmada, Ni>Cu>Zn (Tijero ve diğ., 1991)
- Mezofilik anaerobik arıtmada, Ni>Cu>Cd>Cr>Pb (Mueller ve Steiner, 1992)
- Mezofilik anaerobik arıtmada, Cd>Ni (Yenigün ve diğ., 1995)
- Mezofilik anaerobik arıtmada
HAc’nin ayrışmasında, Cd>Cu>Cr>Zn>Pb>Ni
HPr’nin ayrışmasında, Cd>Cu>Zn=Cr>Pb>Ni
n-HBu’nun ayrışmasında, Cd>Cu>Cr>Zn>Pb>Ni (Yue Lin, 1992)
- Mezofilik anaerobik arıtmada
HAc’nin oluşumuna, Cu>Zn>Cr>Cd>Pb>Ni
n-HBu’nun oluşumuna, Cu>Zn>Cr>Cd>Ni>Pb (Yue Lin, 1992)

Anaerobik arıtmada ağır metaller için literatürde rapor edilen inhibisyon sınır değerlerinin, bir çalışmadan diğerine önemli ölçüde değişiminin nedeni, prosesten

proses biyolojik popülasyondaki değişimden, atıksu kompozisyonundan, sıcaklık, pH, hidrolik bekletme süresi, çamur yaşı ve UAKM gibi işletme parametrelerindeki değişkenlikten kaynaklanabileceği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir.

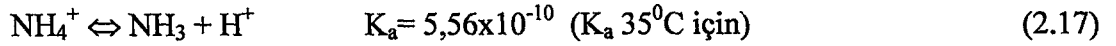
2.2.4.6 Amonyak

Amonyak genellikle protein ve üre içeren atıkların anaerobik arıtımında sık karşılaşılan metabolik son üründür. Amonyak, proses giriş suyunda bulunabilir veya anaerobik ortamda azot içeren organik maddelerin dönüşümü (Eşitlik 2.16) sonucu oluşabilir (Grady ve diğ., 1999).



Amonyak, anaerobik reaktörlerde önemli bir tampon (zayıf bir baz olan amonyak karbondioksit ve su ile bikarbonat oluşturur; bikarbonat doğal pH tamponudur) ve metanojenler için önemli bir besin maddesi olduğu halde, yüksek konsantrasyonlarda işlem başarısızlığının temel nedeni olabilir.

Amonyanın iki türü, gaz formundaki serbest amonyak (NH_3) ve amonyum iyonu (NH_4^+) eşitlik (2.17)'den de görüldüğü gibi birlikte denge halinde bulunurlar. Bu fazların göreceli baskınlığı, anaerobik reaktörün sıvı fazının pH ve sıcaklığına bağlıdır. pH arttıkça denge sağa kayar ve amonyum, daha fazla inhibitör özelliği olan serbest amonyak formuna dönüşür (McCarty, 1964; De Baere ve diğ., 1984; Sprott ve diğ., 1984; Koster ve Koomen, 1988; Angelidaki ve Ahring, 1993).



$$K_a = \frac{[NH_3][H^+]}{[NH_4^+]} = 5,56 \times 10^{-10} \quad (2.18)$$

$$-\log K_a = -\log \frac{[NH_3]}{[NH_4^+]} - \log [H^+] \quad (2.19)$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[NH_3]}{[NH_4^+]} \quad (2.20)$$

pH'a bağlı olarak iki türün dağılımı,

$$\text{pH} = 9,26 + \log \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} \quad (2.21)$$

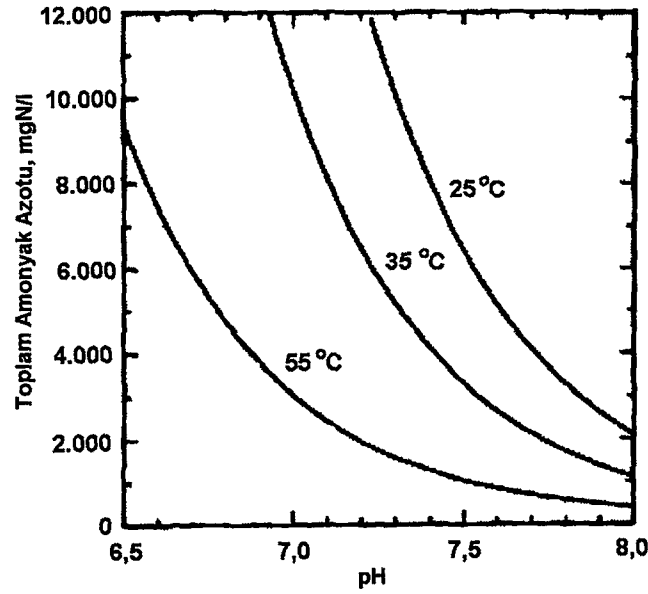
şeklindedir.

pH 7,0 için, $[\text{NH}_3] = 0,0055 [\text{NH}_4^+]$ dir, bu durumda genellikle amonyum toksisitesi çok önemlidir. Fakat pH 8,0'de serbest amonyak toksisitesi daha şiddetli olur. Bu durumda, $[\text{NH}_3] = 0,055 [\text{NH}_4^+]$ dir (Ritmann ve McCarty, 2001).

Toplam amonyak azotu konsantrasyonu yeterli derecede yüksekse, serbest amonyak veya herhangi bir katyon gibi etki edebilen amonyum iyonunun etkisi ile toksisite oluşur (Bhattacharya ve Parkin, 1989). Serbest amonyak konsantrasyonu, toplam amonyak konsantrasyonu, sıcaklık ve pH'a bağlı olarak değişir. pH ve sıcaklığın artması ile serbest amonyak konsantrasyonu artar. Serbest amonyak (NH_3), yaklaşık 100 mgN/l konsantrasyonda toksik bir etkiye sebep olabilir, pH kontrolü ile serbest amonyak seviyesi 100 mgN/l'nin altında tutularak amonyak toksisitesi azaltılabilir (McCarty ve Mc Kinney, 1961). De Baere ve diğ. (1984) ise metan üreten bir sistemde, yaklaşık 80 mgN/l NH_3 konsantrasyonu ile inhibisyonun başladığını belirtmişlerdir.

Koster (1986), 2100 mg/l TAN konsantrasyonunun metanojenlere toksik etki yaptığını bulmuştur. McCarty (1964) ise 1500-3000 mg/l TAN konsantrasyonlarının 7,4'ün üzerindeki pH düzeylerinde inhibitör, 3000 mg/l üzerindeki TAN konsantrasyonlarının ise pH'dan bağımsız olarak toksik olduğunu belirtmiştir. Aklime olmuş kültürlerde 7000 ile 9000 mg/l TAN gibi yüksek konsantrasyonların toksik etki yapmaksızın başarıyla artırıldığı belirtilmiştir (Parkin ve Owen, 1986).

Amonyakın iyonizasyonu için pK_a değeri yaklaşık 9,3'dür. Anaerobik proseslerde genellikle var olan pH değerlerinde, öncelikle amonyakın iyonize türleri bulunur. Fakat, eğer toplam amonyak ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) konsantrasyonu yeteri kadar yüksekse, serbest amonyak inhibitör veya toksik etkiye neden olabilecek konsantrasyonda bulunabilir. Toplam amonyakta serbest amonyak oranı pH ve sıcaklıkla değişir. Şekil 2.8'de görüldüğü gibi çok farklı TAN konsantrasyonları pH ve sıcaklığa bağlı olarak toksik bir serbest amonyak konsantrasyonu (100 mg/l) yaratabilir.



Şekil 2.8 100 mg/l serbest amonyak konsantrasyonu oluşturmak için gerekli TAN konsantrasyonu üzerine sıcaklık ve pH'ın etkileri (Grady ve diğ., 1999)

Şekilde görüldüğü gibi mezofilik şartlarda (25⁰C ve 35⁰C) yaklaşık pH 7,0'de toplam amonyak azotu konsantrasyonu 10,000 mg/l'i aşmasına rağmen, serbest amonyak azotu konsantrasyonu 100 mg/l'nin altında kalmıştır. Fakat, termofilik şartlarda (55⁰C) serbest amonyak konsantrasyonunu toksik seviyenin altında tutmak için TAN konsantrasyonunu 2000 mg/l'nin altında tutmak gerekecektir. Mezofilik şartlarda dahi pH 7,5 ile 8,0'e yaklaştığında toksik serbest amonyak azotu konsantrasyonlarına (100 mg/l) yaklaşık 2000 mg/l TAN konsantrasyonlarında ulaşılır (Grady ve diğ., 1999)

Anaerobik proseslerde amonyak inhibisyonu, sıcaklığı, pH'ı ve TAN konsantrasyonunu azaltarak giderilebilir. Şekil 2.8, uygulanabilir TAN konsantrasyonları üzerine mezofilik ve termofilik çalışma sıcaklıklarının etkisini göstermektedir. Bu fark sıcaklık aralığı seçilirken göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca, sıcaklık aralığı içinde kalan çalışma sıcaklığındaki bir azalma da dikkatlice değerlendirilmelidir. Örneğin; 35⁰C'den 25⁰C'e sıcaklığın düşmesi müsaade edilebilir TAN konsantrasyonunda farkedilebilir bir artışa neden olur. Fakat, bu sıcaklık düşüşü aynı zamanda anaerobik biyokütlenin maksimum spesifik çoğalma hızında önemli bir azalmaya neden olacaktır. Bu azalma, serbest amonyak konsantrasyonundaki düşüş ile azalan inhibisyonundan çok prosese zarar verebilir.

Şekil 2.8'den de görüldüğü gibi, eğer pH değeri nispeten yüksekse amonyak toksisitesi pH değeri düşürülerek azaltılabilir. Yüksek pH değerleri kuvvetli atıksular

veya katıların anaerobik arıtılmasıyla oluşabilir, çünkü böyle atıklar arıtıldığında, yüksek konsantrasyonlarda bikarbonat alkalinitesi oluşur. Ayrıca, böyle atıksular aynı zamanda yüksek konsantrasyonda organik azot veya amonyak içeriyorsa TAN konsantrasyonu da artacaktır. Böyle bir reaktörde pH, asit ilavesi ile düşürülebilir veya TAN konsantrasyonu, atıkların temiz su ile seyreltilmesiyle azaltılabilir. Bu durumda, daha büyük bir akım hızı sistemin çamur yaşını değiştirebileceğinden önlem alınmalıdır. Fakat, uygun bir çamur yaşı muhafaza edilebilirse bu yaklaşım başarı ile kullanılabilir (Grady ve diğ., 1999).

Anaerobik arıtma sisteminin amonyak inhibisyonuna tepkisi, UYA ara ürünlerinin tüketim hızının azalmasıdır. Bu durum, pH değerinin düşmesine ve inhibisyonun azalmasına neden olur. Amonyak inhibisyonunun bir kanıtı, toplam amonyak konsantrasyonu artarken, uçucu asit konsantrasyonunun da artmasıdır. Yeteri kadar amonyak açığa çıkarsa, NH_4^+ konsantrasyonu da artar ve daha düşük pH değerleri ile geri döndürülemeyen inhibitör düzeyine erişir. İnhibisyonun nedeni serbest amonyak ise, HCl ilavesi ile pH değeri düşürülebilir, fakat neden NH_4^+ ise bu işlem uygulanamaz (Ritmann ve McCarty, 2001).

Aklime olmuş ve aklime olmamış biyokütlenin metabolizması üzerine amonyanın etkisi, maksimum spesifik gaz oluşum hızından ($\text{mlBiyogaz/gr-UAKM.gün}$) belirlenebilir. Maksimum spesifik gaz üretim hızı, amonyak konsantrasyonunun artmasıyla azalır (Van Velsen, 1979).

Amonyak inhibisyonundan Bölüm 2.4’de daha ayrıntılı olarak bahsedilecektir.

2.3 İnhibisyon Türleri ve Mekanizmaları

2.3.1 Giriş

Bir reaksiyonun gerçekleşmesinin herhangi bir etki ile engellenmesi veya gerçekleşme hızının yavaşlatılması olayına inhibisyon, bu duruma yolaçan etkilere de inhibitör adı verilir. Besin ve enerji kaynakları kadar biyolojik gelişme için etkili olan bir madde, belirli konsantrasyonları aşıldığında inhibitör etki gösterebilir.

Biyolojik arıtma sistemleri biyokimyasal reaksiyonlara dayanmaktadır. Mikroorganizmaların yaşam faaliyetlerini sürdürebilmeleri ve çoğalmaları için gerçekleştirdikleri birbirine bağlı biyokimyasal reaksiyonların oluşumunda, reaksiyon hızlarının bazı faktörlerden olumlu veya olumsuz etkilendiği

bilinmektedir. Biyokimyasal reaksiyonlar, organizmanın yaşadığı ortamdaki pH, sıcaklık, basınç gibi fiziksel ve kimyasal faktörlere bağlı olarak meydana gelebilir. Reaksiyonların gerçekleşmesinde etkili bu faktörler aynı ortamda bulunan besin ve enerji kaynaklarının konsantrasyonları da olabilir. Optimum çevre şartları, mikroorganizma gruplarının kapasitesinden en yüksek düzeyde yararlanabilmek için gereklidir.

Küçük boyutları, büyük yüzey alanı/hacim oranları ve kısa difüzyon yolu uzunlukları mikroorganizmaların metabolik hızlarının yüksek olmasını sağlar fakat bu durum aynı zamanda onları, sıcaklık değişikliklerine ve ortamın bileşiminin değişmesine karşı aşırı derecede duyarlı yapar (Mulchandani ve Luong, 1989).

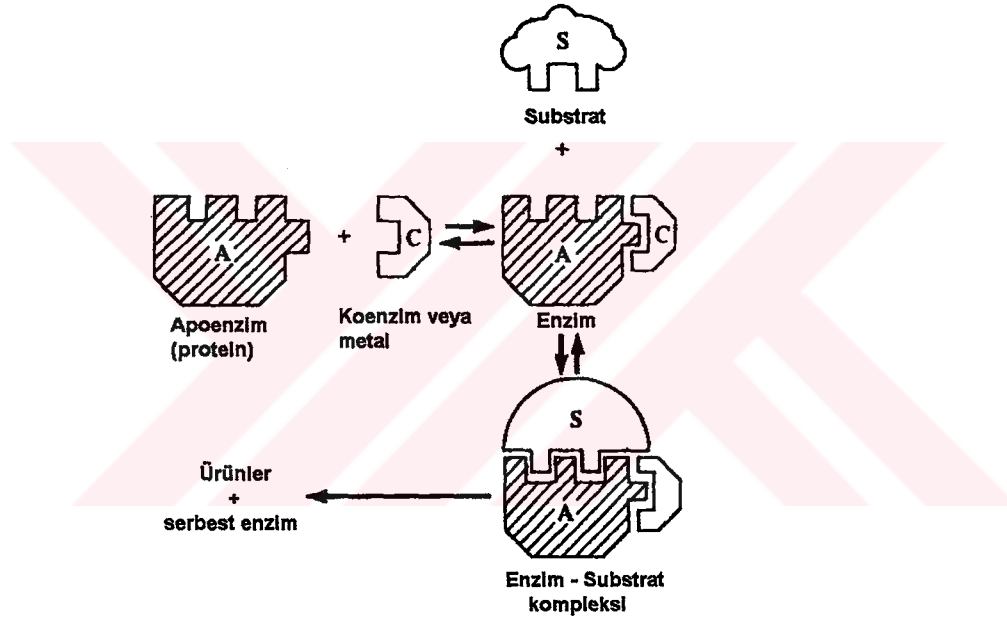
Anaerobik arıtma, farklı mikroorganizma gruplarının rol aldığı oldukça kompleks bir biyokimyasal süreçtir. Anaerobik reaktörlerde, genetik özellikleri tam olarak tesbit edilemeyen mikroorganizma grupları kolektif olarak görev yapmaktadır. Mikroorganizmalar arasındaki yapısal farklılıklardan dolayı, her tür mikroorganizmanın belirli bir inhibitör karşısındaki davranışı farklı olmaktadır. Örneğin, belirli bir inhibitör, bazı türlerin yaşamlarını tamamen durdururken, diğer türler üzerinde çok az etkili olmakta veya hiç etki göstermemektedir. Ayrıca, mikroorganizmaların inhibitörler karşısında davranışı inhibitör konsantrasyonuna bağlı olabildiği gibi, inhibisyon derecesi ortamdaki koşullardan da etkilenebilmektedir. Tüm koşulların aynı olmasında bile, aynı mikroorganizma, fizyolojik durumuna bağlı olarak belirli konsantrasyondaki bir inhibitörden farklı şekil ve derecelerde etkilenebilmektedir (Öztürk, 1999).

2.3.2 Enzimler

Substratın mikroorganizmalarca ayrıştırılması sırasında inhibisyon etkileri çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir. Örneğin;

- Substratın herhangi bir şekilde etkilenmesi
- Hücre fonksiyonlarının etkilenmesi
- Ürünlerin etkilenmesi
- Hücre yapısındaki maddelerin etkilenmesi
- Enzim sistemlerinin etkilenmesi vb.

Bunlar arasında en sık rastlanan ve inhibisyon etkilerini en iyi karakterize eden biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen enzimlerin aktivitelerinin inhibitörlerce düşürülmesidir. Enzimler, hayvan, bitki ve mikrobiyal hücrelerde biyokimyasal reaksiyonların katalizörleri olarak görev yapan protein molekülleridir. Enzimler, kimyasal reaksiyonlara katıldıklarında yapısal değişikliğe uğramazlar ve bu nedenle tekrar tekrar kullanılabilirler; biyokimyasal reaksiyonların aktivasyon enerjisini düşürür ve hızını artırırlar. Bazı protein dışı gruplar ya da kofaktörler, enzim molekülleriyle ilişkili hale gelebilir (Şekil 2.9) ve enzimlerin katalitik aktivitesine katkıda bulunabilirler. Bunlar, koenzimleri (nikotinamid adenin dinükleotit, koenzim A ve flavin mononükleotit gibi) ve metalik aktivatörleri (K, Mg, Fe, Co, Cu, Zn, Mn, Mo) içerir (Bitton, 1994).



Şekil 2.9 Bir kofaktör gerektiren enzim kataliz reaksiyonunun mekanizması (Bailey ve Ollis, 1986)

Bir protein olarak enzimler özelliklerini ısı, kuvvetli asit ve bazlar, organik çözücüler vb. karşısında kaybederler. Enzimler, intrasellüler (hücre içi) ya da ekstrasellüler (hücre dışı) olabilirler ve genellikle substratları için oldukça spesifiktirler (Bitton, 1994). Substratlar, spesifik reaksiyonlarda katalizör görevi yapan enzimlerin aktif bölgelerine bağlanır. Bu aktif bölgeler, amino asitler veya reaksiyonların oluşmasını sağlayan asitler veya bazlar, elektron alıcı veya verici görevi yapabilen diğer fonksiyonel gruplardan oluşmaktadır (Grady ve diğ., 1999).

Substrat, enzim molekülünün aktif kısmı ile birleşerek bir enzim-substrat kompleksi (ES) oluşturur (Şekil 2.9). Bunun sonunda yeni bir ürün (P) oluşur ve değişmemiş olan enzim (E), substrat (S) ile tekrar reaksiyona girmek için hazırır.



Biyokimyasal reaksiyonda hız kısıtlayıcı adım, substratın enzim ile yaptığı ES kompleksidir. Enzim üzerinde ortamda bulunan maddelerden bazıları, enzim aktif bölgelerini örtmekte ve substrat olmasa dahi, aynı substrat gibi enzim ile kompleks yaparak enzim aktivitesini düşürmektedir. Bu kompleks tersinir veya tersinir olmayan bir reaksiyon ile oluşabilir. Enzim üzerindeki aktif bölgelere tersinir veya tersinir olmayan bir şekilde bağlanan inhibitörler enzimin substrat ile yapması gereken komplekse engel olur.

2.3.2.1 Enzim kinetikleri

Enzimatik reaksiyonları kontrol eden en önemli faktörler, substrat konsantrasyonu, pH, sıcaklık, iyonik güç ve toksik maddelerin varlığıdır (Bitton, 1994).

Düşük substrat konsantrasyonunda, enzimatik reaksiyonun hızı V , substrat konsantrasyonu ile orantılıdır (birinci derece kinetiği). Daha yüksek substrat konsantrasyonlarında V bir platoya ulaşır (sıfır derece kinetiği). Substrat konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak enzimatik reaksiyon hızı V , Michaelis-Menten (2.23a) denklemi ile verilir:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad (2.23a)$$

Burada,

V : reaksiyon hızını (zaman^{-1}),

$V_{\max}$: maksimum reaksiyon hızını (zaman^{-1}),

$[S]$: substrat konsantrasyonunu (mol/L) ve

K_m : yarı doyumluk sabitini (Michaelis sabiti: V 'nin $V_{\max}/2$ 'ye eşit olduğu substrat konsantrasyonu).

göstermektedir.

Aktif çamurda substat giderimini ifade eden Monod Modeli, enzim kinetiğindeki Michaelis-Menten modeline eşdeğer olup, bu denklemler yardımıyla da elde edilebilmektedir. Michaelis-Menten denklemindeki V 'nin Monod Modelindeki μ , $V_{\max}$ 'ın $\mu_{\max}$ ve K_m 'in K_s ile eşdeğer olduğu kabul edilirse (2.23a) deklemini için;

$$\mu = \frac{\mu_{\max} [S]}{K_s + [S]} \quad (2.23b)$$

denklemini yazılabilir.

Şekil 2.10a'da gösterilen, substrat konsantrasyonu ile reaksiyon hızı arasındaki ilişkiyi veren hiperbolik eğri, hem substrat konsantrasyonunun hem de reaksiyon hızı V 'nin terslerini kullanan Lineweaver-Burke çizimiyle doğrusal hale getirilebilir (Şekil 2.10b).

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]} \quad (2.24)$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]} \quad (2.25)$$

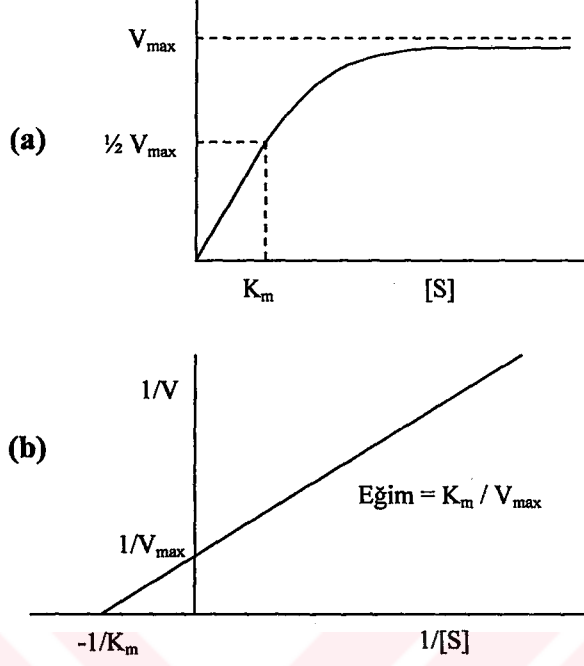
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (2.26)$$

$1/V$ ' ye karşı çizilen $1/[S]$ doğrusunun eğimi $K_m/V_{\max}$, bu doğrunun y eksenini kestiği nokta $1/V_{\max}$ ve x eksenini kestiği nokta $-1/K_m$ 'dir (Şekil 2.10b). Bu şekilde $V_{\max}$ ve K_m parametreleri Lineweaver-Burke çiziminden direkt olarak elde edilebilir.

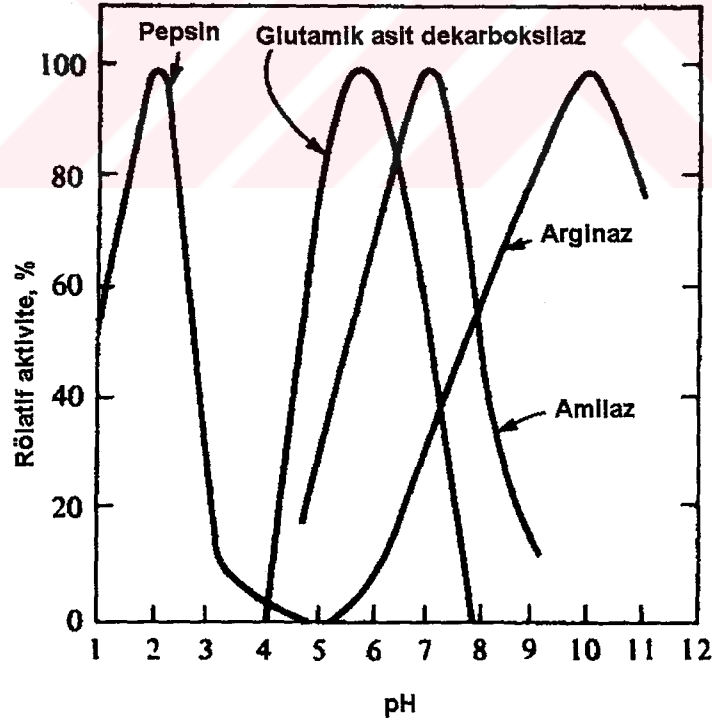
Enzim kinetikleri üzerine pH etkisi

Reaksiyona girmemiş enzim herhangi bir pH değerinde pozitif ve negatif yüklü gruplar içerir. Bu iyonize olabilen gruplar (asit ve baz tip katalitik reaksiyonlar birçok enzim mekanizması ile ilişkili olduğundan) aktif bölgelerin kısımlarını oluşturmaktadır. Uygun asit ve baz katalizin mümkün olabilmesi için, aktif bölgelerdeki iyonize olabilen grupların herbiri belirli yüklere sahip olmalıdır. Diğer bir deyimle katalitik açıdan aktif enzim sadece belirli bir iyonizasyon kademesinde var olmaktadır. Sonuçta, pH değerine bağlı olarak, katalitik açıdan aktif enzim,

toplam enzimin büyük veya küçük bir kısmını teşkil edebilmektedir. Şekil 2.11, bazı enzimler üzerine pH'ın etkisini göstermektedir (Bailey ve Ollis, 1986).



Şekil 2.10 Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burke (b) çizimleri



Şekil 2.11 Maksimum aktivite aralığı reaksiyon ortamının içerdiği enzimlere, bu enzimlerin aktivitesi de pH'a oldukça fazla bağlı olmaktadır.

Bir çok durumda enzimlerin katalitik aktivitesi artan pH için bir maksimumdan (optimum pH) geçmektedir.

Enzim kinetiği üzerine pH etkisi, aktif bölge iyonizasyon kademesini açıklayan aşağıdaki basit model ile gösterilebilir:



Bu asit baz reaksiyonlarında, E^- aktif enzim formunu, E ve E^{2-} ise E 'nin aktif bölgesinin sırasıyla proton kazanması ve proton kaybetmesi ile elde edilen aktif olmayan formlarını göstermektedir. K_1 ve K_2 belirtilen reaksiyon için denge sabitlerini göstermektedir. Enzimin E^- kademesinden ileride iyonlaşması, birincil iyonizasyonun enzim aktivitesini tamamıyla yok ettiği kabulü yapıldığından dikkate alınmamıştır. İki iyonlaşma için denge bağıntıları yazıldıktan sonra,

$$\frac{h^+ \cdot e^-}{e} = K_1 \qquad \frac{h^+ \cdot e^{2-}}{e^-} = K_2 \quad (2.28)$$

toplam enzimin aktif olan fraksiyonu belirlenebilir. Toplam enzim konsantrasyonunu e_0 ile gösterirsek:

$$e_0 = e + e^- + e^{2-} \quad (2.29)$$

aktif fraksiyon y^- , e^- / e_0 şeklinde ifade edilerek;

$$y^- = \frac{1}{1 + \frac{h^+}{K_1} + \frac{K_2}{h^+}} \quad (2.30)$$

Bu eşitlik Michaelis pH fonksiyonlarından birisidir. Diğer ikisi y ve y^{2-} sırasıyla enzimin asit ve baz formlarının fraksiyonlarını göstermektedir.

y^- fonksiyonu Şekil 2.11'de enzim aktivitesi-pH değişiminde gösterildiği gibi pH'a bağlıdır. y^- pH'a göre aşağıda verilen değerde bir maksimum yapar:

$$\frac{dy^-}{dh^+} = \frac{0 - \left[\frac{1}{K_1} - \frac{K_2}{(h^+)^2} \right]}{\left[1 + \frac{h^+}{K_1} + \frac{K_2}{h^+} \right]^2} = 0 \quad (2.31)$$

$$-\frac{1}{K_1} + \frac{K_2}{(h^+)^2} = 0 \quad (2.32)$$

$$\frac{1}{K_1} = \frac{K_2}{(h^+)^2} \quad (2.33)$$

$$h_{optimum}^+ = \sqrt{K_1 \cdot K_2} \quad \text{veya} \quad (pH)_{optimum} = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2) \quad (2.34)$$

Burada $pK_i = -\log K_i$ şeklindedir. Optimum pH'dan uzaklaştıkça y^- fonksiyonu yavaş ve simetrik bir şekilde azalır.

Enzim aktivitesi üzerine inhibitörlerin etkisi

Yapısal olarak enzimlerle birleşen birçok madde bulunmaktadır. Bu maddelerin hepsi substrat olarak işlenemez ve bir kısım enzimlerin kataliz mekanizmasını önemli ölçüde etkiler. Enzimlerin kataliz mekanizmasını engelleyen maddelere inhibitör adı verilir. İnhibitörler, enzim-katalizli reaksiyonların aktivitesini azaltırlar. İnorganik veya organik yapıda olabilen inhibitörler en yaygın olarak üç farklı şekilde inhibisyon etkisi gösterirler (Şekil 2.12). 1- Ortamdaki substrat konsantrasyonundan etkilenen inhibisyon (Kompetetiv) 2- Ortamdaki substrat konsantrasyonundan etkilenmeyen inhibisyon (Non-Kompetetiv) 3- Substrat konsantrasyonuna değil enzim-substrat kompleksi konsantrasyonuna bağlı olarak etki gösteren inhibisyon (Un-Kompetetiv).

Kompetetiv inhibisyon

Kompetetiv inhibisyonda, inhibitör (I) ve substrat (S), enzim (E) üzerindeki aynı aktif bölge için yarışır. Kompetetiv inhibisyonda reaksiyon hızı, substrat konsantrasyonuna, inhibitör konsantrasyonuna ve substrat ile inhibitörün enzim üzerindeki aktif bölgelere olan göreceli ilgilerine bağlıdır. Bu inhibisyonun mekanizması aşağıdaki gibidir:



Substrat nasıl enzimle reaksiyon veriyorsa, enzim inhibitörle [EI] kompleksini vermek üzere birleşir. Dolayısıyla enzimin bir kısmını bağlamış olur.

EI için kararlı halde enzim kütle denklemi yazıldığında:

$$\frac{d[EI]}{dt} = k_4[E][I] - k_5[EI] = 0 \quad (2.37)$$

$$\frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{k_5}{k_4} = K_i \quad (2.38)$$

Reaksiyon hızını serbest enzim konsantrasyonu tayin eder. EI arttıkça serbest enzim konsantrasyonu azalır. Bu nedenle substratın dönüşüm hızı da azalır. Ortamda EI kompleksini veren inhibitör, bu reaksiyonu K_i denge sabiti çerçevesinde verir. Enzim- inhibitör kompleksinin denge sabiti K_i 'ye inhibitör sabiti de denilir. Substrat konsantrasyonu çok yüksek olursa, enzim hem substrat hem de inhibitör ile reaksiyon verdiğinden, substrat arttıkça enzimin inhibitörle verdiği reaksiyon azalır. Substrat konsantrasyonu değişimi, inhibitörün yapmış olduğu etki üzerinde belirleyici olacaktır.

Toplam enzim konsantrasyonu:

$$[E]_T = [E] + [ES] + [EI] \quad (2.39)$$

$$[ES] = [E]_T + [E] - [EI]$$

$$[ES] = [E]_T - [E] - \frac{[E][I]}{K_i} \quad (2.40)$$

Kararlı halde ES için enzim kütle denklemi yazıldığında:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_2[ES] - k_3[ES] = 0 \quad (2.41)$$

$$[E] = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \frac{[ES]}{[S]} \quad (2.42)$$

$$\frac{k_2 + k_3}{k_1} = K_m \text{ kabulü yapıldığında} \quad (2.43)$$

$$[ES] = [E]_T - K_m \frac{[ES]}{[S]} - K_m \frac{[ES][I]}{[S]K_i} \quad (2.44)$$

$$[E]_T = [ES] \left[1 + \frac{K_m}{[S]} + \frac{K_m}{[S]} \frac{[I]}{K_i} \right] \quad (2.45)$$

$$[ES] = [E]_T \frac{[S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} \quad (2.46)$$

Denklem 2.46'da $[E]_T \Rightarrow V_{\max}$, $[ES] \Rightarrow V$ benzeşimi yapıldığında bir Kompetetiv inhibitör (I)'nın varlığında, reaksiyon hızı (V) Denklem (2.47) ile verilir:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_m \left[1 + \frac{[I]}{K_i} \right]} \quad (2.47)$$

Burada,

[S]: substrat konsantrasyonu (mol/L);

[I]: inhibitör konsantrasyonu (mol/L),

K_i : inhibisyon katsayısı;

$V_{\max}$: maksimum enzim reaksiyon hızı (t^{-1}); ve

K_m : Michaelis sabitini (mol/L) göstermektedir.

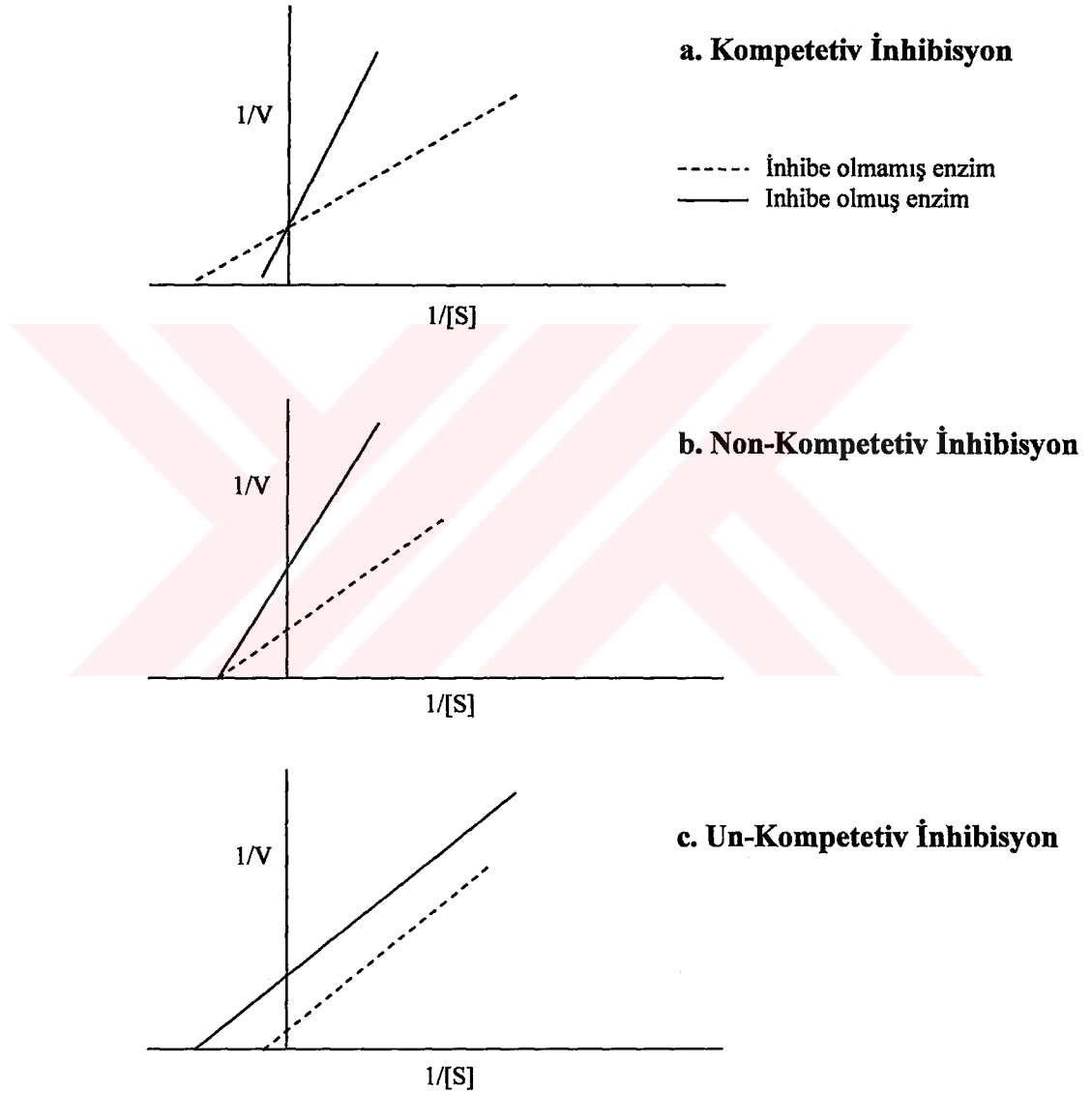
Kompetetiv inhibisyonunda, inhibitör konsantrasyonu etkisini K_m 'i arttırarak gösterir.

K_m , $(1 + [I]/K_i)$ 'nin bir faktörü kadar artarken $V_{\max}$ etkilenmez.

Denklem (2.47)'nin Lineweaver-Burke dönüşümü aşağıdaki gibidir:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_i} \right] \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (2.48)$$

Denklem 2.48'e göre $\frac{1}{V}$ ve $\frac{1}{[S]}$ arasında çizilen grafikte (Şekil 2.12a) görüldüğü gibi artan inhibitör konsantrasyonu ile doğrunun eğimi artar, substrat konsantrasyonunun artması halinde ise inhibitörün etkisi düşer.



Şekil 2.12 Enzim inhibisyonunun tipleri. a. Kompetetiv inhibisyon. b. Non-Kompetetiv inhibisyon. c. Un-kompetetiv inhibisyon.

Non-kompetetiv inhibisyon

Tersinir olmayan inhibisyon olarak tanımlanan non-kompetetiv inhibisyonda, inhibitör (I), hem enzim (E)' ye hem de ES kompleksine bağlanabilir (2.50; 2.51).

Non-kompetetiv inhibisyonun reaksiyon mekanizmaları aşağıdaki gibidir:



Reaksiyon mekanizmaları dikkate alınarak kararlı halde enzim kütle denklemleri yazıldığında, Michaelis-Menten kinetiklerine göre non-kompetetiv inhibisyon için reaksiyon hızı aşağıdaki denklemlerle verilmektedir:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{(K_m + [S]) \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} \quad (2.52)$$

Non-kompetetiv inhibisyonda inhibisyon derecesi, inhibitör konsantrasyonu [I] ve K_i 'ye bağlı olarak değişir; $\frac{[I]}{K_i}$ oranı arttıkça inhibisyon etkisi artar.

Denklem 2.52'nin Lineweaver-Burke dönüşümü aşağıdaki gibidir:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \quad (2.53)$$

Denklem 2.53'e göre $\frac{1}{V}$ ve $\frac{1}{[S]}$ arasında çizilen grafikte (Şekil 2.12b) görüldüğü gibi inhibitörün varlığında, $V_{\max}$ azalırken, iki kez tersi alınan ifadenin grafiğinin eğimi artar, K_m ise değişmeden kalır.

Un-Kompetetiv inhibisyon

Un-kompetetiv inhibisyonda, inhibitör ES kompleksine bağlanır, fakat serbest enzime bağlanmaz (2.55). Un-kompetetiv inhibisyonun reaksiyon mekanizmaları aşağıdaki gibidir:



Reaksiyon mekanizmaları dikkate alınarak kararlı halde enzim kütle denklemleri yazıldığında:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} \quad (2.56)$$

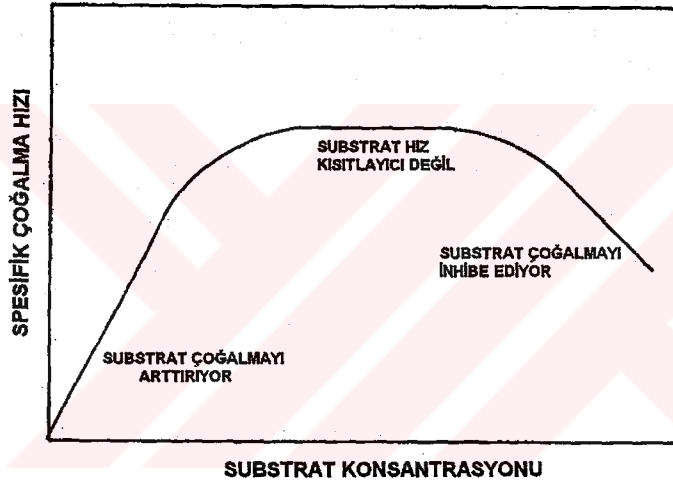
Lineweaver-Burke dönüşümü ile Denklem 2.57 elde edilir:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \quad (2.57)$$

Bir inhibitörün varlığında, Denklem 2.57'nin eğimi aynı kalır; ama hem $V_{\max}$ hem de K_m inhibitör konsantrasyonundan etkilenir (Şekil 2.12c). Substrat konsantrasyonunun artması ile inhibitörün bağlanabileceği ES kompleksi konsantrasyonu artacağından bu inhibisyon türünde $V_{\max}$ ve K_m 'in inhibitör konsantrasyonundan birlikte etkilenmeleri önlenemez.

Substrat inhibisyonu

Substrat inhibisyonu aktif çamurda ayrışan substratın konsantrasyonunun artmasıyla kendi kendinin ayrışma hızını düşürmesidir. Biyolojik arıtma sistemlerinde giriş konsantrasyonu mikrobiyal çoğalmayı etkiler. Düşük substrat konsantrasyonlarında, spesifik çoğalma hızı sıfıra çok yakındır, bu da mikrobiyal popülasyonda ihmal edilebilir bir değişikliği gösterir. Substrat konsantrasyonu verilen bir eşik sınırının üstüne çıktığında, spesifik çoğalma hızı, substrat düzeyindeki artışla orantılıdır ve maksimum değere yaklaşır. Substrat konsantrasyonunda bunu izleyen bir artış, sonunda spesifik çoğalma hızında bir azalmaya neden olacaktır (Şekil 2.13). Bu inhibisyon türü, substrat inhibisyonu olarak adlandırılır ve biyolojik atık arıtımı ile endüstriyel fermantasyonda sıklıkla görülür (Mulchandani ve Luong, 1989).



Şekil 2.13 Mikroorganizmanın spesifik çoğalma hızı üzerine substrat konsantrasyonunun etkisi

Substrat inhibisyonunun mekanizmasını açıklamak için enzim mekanizmasını kullanarak oluşturulmuş çok sayıda matematik veya deneysel verilere dayanarak oluşturulan ampirik model bulunmaktadır. Bu modeller içinde en fazla kullanılan Haldane modelidir. Bu modele göre bazı yüksek konsantrasyonlardaki substratlar enzim-substrat kompleksi ile reaksiyona girebilmektedir. Oluşan bu substrat-enzim-substrat kompleksi (SES) aktif değildir ve aktif serbest enzim konsantrasyonunu düşürür. Bu model Edwards ve Haldane modeli olarak da bilinir. Bu modele göre; reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekilde yazılabilir:



Reaksiyon mekanizmaları dikkate alınarak kararlı halde enzim kütle denklemleri yazıldığında:

$$V = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + \frac{[S]^2}{K_i} + K_m} \quad (2.60)$$

elde edilir.

Tablo 2.9 literatürde substrat inhibisyonu ile ilgili modelleri içermektedir.

Tablo 2.9'da μ_i = inhibe edilmiş spesifik çoğalma hızı (1/h), $\mu_{\max}$ = maksimum spesifik çoğalma hızı (1/h), S = substrat konsantrasyonu (gr/l), S_m = spesifik çoğalma hızı sıfır olduğunda maksimum substrat konsantrasyonu (gr/l), K_s = doygunluk sabiti (gr/l), α = sabit, K_{si} = substrat inhibisyon sabiti (gr/l), S^* = spesifik çoğalma hızının maksimum olduğu substrat konsantrasyonu (gr/l), K = sabit (gr/l) .

Substrat ve ürün inhibisyonu için ortak bir mekanizma olduğunu kabul eden Luong, Levenspiel tarafından önerilen doğrusal olmayan ürün inhibisyon modelini, substrat inhibisyon kinetiklerini açıklamak için uygulamıştır (2.61) (Mulchandani ve Luong, 1989).

$$\mu_i = \mu_m \frac{S}{S + K_s} \left(1 - \frac{S}{S_m}\right)^\alpha \quad (2.61)$$

Ürün inhibisyonu

Substrat inhibisyonu kadar karşılaşılan durumlardan biri de ara veya son ürün/ürünlerin oluşturduğu inhibisyonudur. Fermentasyon sırasında oluşan etanol, butanol, laktik asit vb. son ürünlerin ortamda birikmesi spesifik çoğalma ve ürün oluşum hızlarını düşürür, yeterince yüksek ürün konsantrasyonlarında hücrenin bütün metabolik aktiviteleri tamamen durur. Yapılan araştırmalar sonunda, son ürün

tarafından mikrobiyal hücre aktivitesinin inhibisyon mekanizmasının karmaşık olduğu ve hala tam olarak anlaşılamadığı görülmektedir. Önerilen kinetik modellerin birçoğu karmaşıklığa bağlı olarak yapılandırılmamıştır ve ampirikdir.

Tablo 2.9 Substrat inhibisyonu ile ilgili modeller (Mulchandani ve Luong, 1989)

Kinetik model	Referans
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{S}{(S + K_s)(1 + \frac{S}{K_{si}})}$	Boon ve Laudelout (1962) ve Andrews (1968)
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{S(1 + \frac{S}{K})}{(K_s + S + \frac{S^2}{K_{si}})}$	Edwards (1970)
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{S}{(K_s + S + (\frac{S^2}{K_{si}})(1 + \frac{S}{K}))}$	Edwards (1970)
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{S}{(S + K_s)} e^{-S/K_{si}}$	Edwards (1970)
$\mu_i = \mu_{\max} (e^{-S/K_{si}} - e^{-S/K_s})$	Edwards (1970)
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{S}{(S + K_s)}, \quad S < S^*$	Tseng ve Wayman (1975)
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{S}{(S + K_s)} - K_{si}(S - S^*), \quad S > S^*$	Tseng ve Wayman (1975)
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{S}{(S + K_s)} (1 - \frac{S}{S_m})^\alpha$	Luong (1987)

Metabolik ürünlerin varlığı hiç rol oynamadığında, spesifik çoğalma hızı μ sınırlayıcı substrat konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak $\mu = \mu_i \frac{S}{S + K_s}$ ifade edilebilir.

Bununla birlikte, ürünlerin varlığı hücre çoğalmasını etkilediğinde, bu denklem ürün konsantrasyonu P'yi içerecek şekilde $\mu = f(S, P)$ genişletilmelidir (Mulchandani ve Luong, 1989).

Ürün inhibisyonunun oluşum mekanizması, ürünün enzim-substrat kompleksi ile birleşerek reaktif olmayan enzim-substrat-ürün kompleksini oluşturması şeklinde aşağıdaki gibi açıklanmıştır:



Reaksiyon mekanizmaları dikkate alınarak kararlı halde enzim kütle denklemleri yazıldığında:

$$V = V_{\max} \frac{[S]}{K_s + [S] + \frac{[SP]}{K_p}} \quad (2.64)$$

elde edilir.

Ürünlerin mikrobiyal çoğalma üzerine etkisini kantitatif olarak tanımlamak için bazı araştırmacılar tarafından farklı matematiksel modeller (Tablo 2.10) ileri sürülmüştür.

Tablo 2.10'da; μ_i = inhibe edilmiş spesifik çoğalma hızı (1/h), $\mu_{\max}$ = maksimum spesifik çoğalma hızı (1/h), P = ürün konsantrasyonu (gr/l), P_m = spesifik çoğalma hızının sıfır olduğu maksimum ürün konsantrasyonu (gr/l), β, γ = sabit, K_{pi} = ürün inhibisyon sabiti (gr/l), k_1 = sabit (l/gr.h), k_2 = sabit (gr/l), k_3 = sabit (l/gr), k_4 = sabittir. (1/h)

Ürün inhibisyon kinetiklerini genelleştirmek için yapılan bir girişimde, Levenspiel (1980) doğrusal olmayan kinetik bir model (2.65) önermiştir.

$$\mu_i = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_m} \right)^\beta \quad (2.65)$$

Bu denklemde P_m parametresi deneysel olarak veya deneme-yanılma metodu ile saptanabilmektedir.

Tablo 2.10 Ürün inhibisyonu ile ilgili modeller (Mulchandani ve Luong, 1989)

Kinetik model	Referans
$\mu_i = \mu_{\max} - k_1 \cdot P$	Hinshelwood (1946)
$\mu_i = \mu_{\max} - k_1 \cdot (P - K_2)$	Holzberg ve diğ. (1967)
$\mu_i = \mu_{\max} \cdot e^{-k_3 P}$	Aiba ve diğ. (1968)
$\mu_i = \mu_{\max} \frac{K_{pi}}{K_{pi} + P}$	Egamberdiev ve Ireusalimsky (1968)
$\mu_i = \mu_{\max} - \frac{k_4 P}{k_2 - P_m}$	Bazua ve Wilke (1977)
$\mu_i = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)$	Ghose ve Tyagi (1979)
$\mu_i = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^\beta$	Levenspiel (1980)
$\mu_i = \mu_{\max} \left[1 - \left(\frac{P}{P_m}\right)^\gamma\right]$	Luong(1985)

P_m 'in belirlenmesindeki güçlükleri ortadan kaldırmak amacıyla Luong (1985), Levenspiel denklemine bir modifikasyon yaparak yeni bir denklem (2.66) geliştirmiştir.

$$\mu_i = \mu_m \left[1 - \left(\frac{P}{P_m}\right)^\gamma\right] \quad (2.66)$$

2.3.3 Anaerobik arıtmada kullanılan inhibisyon modellerinden örnekler

Parkin ve Speece (1982), asetat ile beslenen metanojenik sistemlere toksik maddelerin şok ilavesi ardından, sistemin kendini tekrar iyileştirmesini açıklamak amacıyla ampirik bir model geliştirmişlerdir.

$$G_t = Ae^{-k_1 t} + Be^{k_2 t} \quad (2.67)$$

Bu denklemde

G_t = metan üretim hızını (ml/gün),

A ve B ampirik sabitleri, ($A+B$ = kontrol gaz üretimi),

t = toksik madde ilavesi ardından geçen süreyi (gün),

k_1 = toksisite hız sabitini (1/gün),

k_2 = iyileşme veya aklımasyon hız sabitini (1/gün) göstermektedir.

Bu model siyanür, kloroform, formaldehit ve bakır gibi çok çeşitli toksik maddelerin varlığı durumunda, sistemin iyileşmesinin açıklanmasında başarılı bir şekilde kullanılmıştır. İyileşme modeli, sıfır gaz üretimi için geçen süreyi doğru bir şekilde tahmin etmektedir. Ayrıca eşik ve öldürücü dozların tahminine de imkan vermektedir.

Un-kompetitive inhibisyonun özel bir durumu, inhibitör ve substratın aynı madde olmasıdır. Bu durumu bazı araştırmacılar Haldane denkleminde $I=S$ yazılmasıyla modellemişlerdir (Denklem 2.68) (Speece, 1996).

$$U = \frac{k_{\max}}{1 + \frac{K_s}{S} + \frac{S}{K_i}} \quad (2.68)$$

Anaerobik sistemler için kullanılan diğer bir inhibisyon modeli, substrat un-kompetitiv inhibisyonu için genelleştirilmiş Haldane eşitliğidir.

$$U = \frac{k_{\max}}{1 + \frac{K_s}{S} + \left(\frac{S}{K_i}\right)^n} \quad (2.69)$$

Burada,

n = inhibisyon derecesini belirleyen bir sabit ($n = 1$ olduğunda eşitlik Haldane eşitliğine dönüşür).

Dinopoulou ve diğ. (1988); asidojenesisin kinetiklerini belirlemek için kompleks substrat (et suyu ekstresi) kullanarak, kemostat tip reaktörlerde Haldane ve non-kompetitiv inhibisyon modellerini test etmişlerdir. İstatistiksel sonuçlara göre, non-kompetitive inhibisyon modeli Haldane modeline göre daha üstün bulunmuştur. Aynı zamanda spesifik ürün oluşum hızı non-kompetitiv model kullanılarak bulunmuştur.

Substrat inhibisyonunun, iyonize olmamış uçucu asit konsantrasyonu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir.

Literatürdeki bazı araştırmacılar anaerobik proseslerde substrat inhibisyonunun sebebini izah etmek için Haldane eşitliğini kullanmışlardır (Speece, 1996). İyonize olmamış UYA (esas olarak asetik ve propiyonik) substrat/inhibitör olarak göz önünde bulundurulmuştur. İyonize olmamış UYA (asetik ve propiyonik) konsantrasyonu pH ve pK_a değerleriyle ilgili olduğu için Haldane eşitliği bu iki parametrenin bir fonksiyonu olarak,

$$U = \frac{k_{\max}}{1 + \left(\frac{K_s \cdot K_a}{[H^+][S]} \right) + \left(\frac{[H^+][S]}{K_i K_a} \right)} \quad (2.70)$$

burada [H⁺] ve [S] sırasıyla hidrojen iyonu ve toplam UYA konsantrasyonudur (mol/l).

Hill ve Barth (1977); hayvan atığının anaerobik arıtımında, amonyağın inhibitör etkisini belirlemek amacıyla Andrews tarafından geliştirilen modeli düzenleyerek,

$$k = \frac{k_{\max}}{1 + \left(\frac{K_s}{VA} \right) + \left(\frac{VA}{K_{ia}} \right) + \left(\frac{NH_3}{K_{i2}} \right)} \quad (2.71)$$

modelini oluşturmuşlardır.

Burada; VA = iyonize olmamış asitlerin konsantrasyonu (mg/l), K_{ia}= asitlerin inhibisyon katsayısı (mg/l), NH₃ = iyonize olmamış amonyak konsantrasyonu (mg/l), K_{i2}= amonyağın inhibisyon katsayısı (mg/l).

Anaerobik proseslerde kısa zincirli yağ asitleri ve H₂'nin inhibitör etkileri, substrat ve ürün inhibisyon modelleriyle açıklanmıştır.

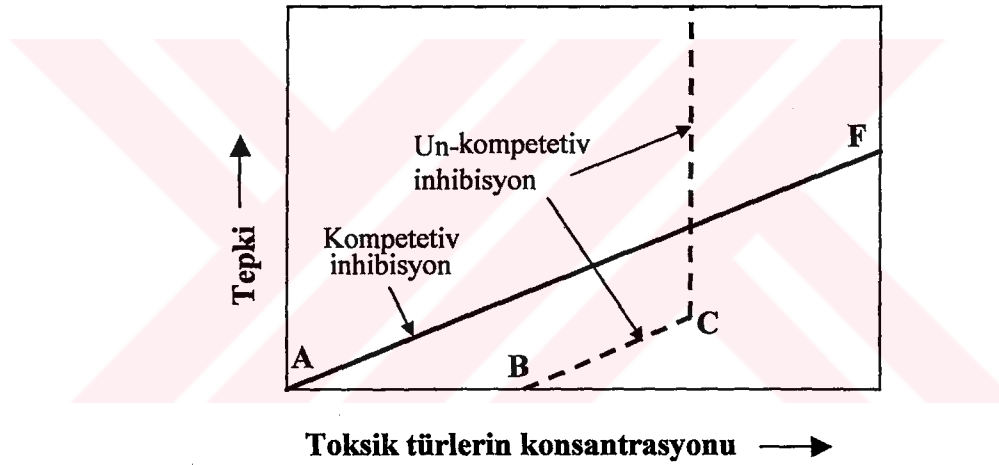
Fukuzaki ve diğ. (1990); mezofilik (37°C) propiyonata aklime edilmiş anaerobik reaktörde propiyonatın metanojenik bozunmasını incelemişlerdir. H₂ ve asetat tarafından propiyonatın inhibisyonu bir non-kompetetiv ürün inhibisyon modeli ile tarif edilmiştir.

$$k = \frac{k_{\max}}{1 + \left(\frac{P}{K_p} \right)^n} \quad (2.72)$$

Burada, P = ürün konsantrasyonu (H_2 'nin kısmi basıncı ve iyonize olmamış asetik asit konsantrasyonu), K_p = inhibisyon katsayısı (P ile aynı birimde), n = sabit (inhibisyon derecesi).

Metanojenik kültürlerde hidrojen ve asetatın giderim verimi, propiyonat kullanımında etkili olduğundan, her iki ürünün inhibisyon sabitleri aynı derecede önemlidir.

Kompetetiv inhibisyonda artan toksik madde konsantrasyonu ile beraber çıkış suyu KOİ'sinin arttığı, oysa un-kompetetiv inhibisyonda belirli bir toksik madde konsantrasyonuna kadar çıkış suyu KOİ'sinin arttığı, belirli bir toksik madde konsantrasyonu üzerinde ise sistemin aniden durduğu gözlemlenmiştir (Şekil 2.14). Formaldehit, metilen klorür ve Na^+ 'un kompetetiv, NH_4^+ ve N_i^{++} 'in un-kompetetiv toksik maddelere örnek olduğu belirtilmiştir (Speece, 1996).



Şekil 2.14 AF- kompetetiv inhibisyon, BC- un-kompetetiv inhibisyon (Speece, 1996).

2.4 Anaerobik Arıtmada Amonyak İnhibisyonu

2.4.1 Giriş

Bu bölümde anaerobik arıtma üzerine amonyak inhibisyonu, çeşitli diğer faktörlerin de etkisi göz önünde bulundurularak detaylı bir şekilde açıklanmıştır. Ayrıca literatürde çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmaların ayrıntılı özeti ve bu çalışmalarda kullanılan modeller sırasıyla Ek A ve Ek B'de verilmiştir.

2.4.2 Amonyak karakterizasyonu

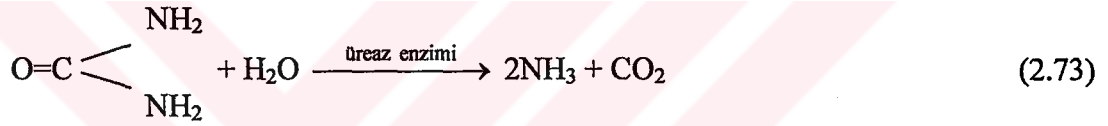
Azot, doğal olarak amonyak, nitrit, nitrat ve moleküler azot formunda, proteinler, nükleik asitler ya da lipitler gibi çeşitli organik bileşiklerde bulunabilir.

Amonifikasyon, organik azotlu bileşiklerin inorganik formlarına dönüşümüdür. Bu proses, çok çeşitli mikroorganizmalar (bakteriler, aktinomises, mantarlar) tarafından yürütülür. Topraktaki bazı organik azotlu bileşikler, biyolojik olarak ayrışmaya direnç gösterirler zira bu bileşikler fenoller ve/veya polifenoller ile kompleksler oluştururlar.

Proteinler aşağıdaki sırayla NH_4^+ 'a mineralize olurlar:

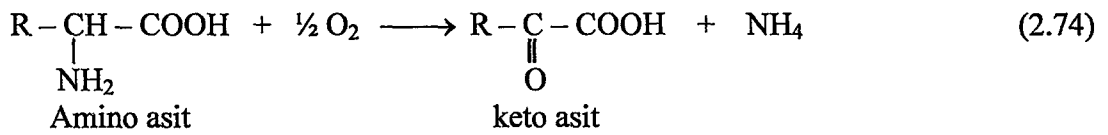
Proteinler $\rightarrow$ Aminoasitler $\rightarrow$ Amonyum

Örnek olarak ürenin amonyuma dönüşümü verilebilir.

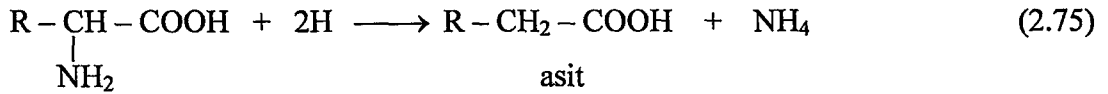


Proteinler peptidlere veya aminoasitlere hücre dışı proteolitik enzimlerle dönüştürülürler. Amonyum, aminoasitlerin reaksiyon 2.74 ve 2.75 uyarınca deaminasyonu (örneğin oksidatif veya redüktif deaminasyon) ile oluşur:

Oksidatif deaminasyon:



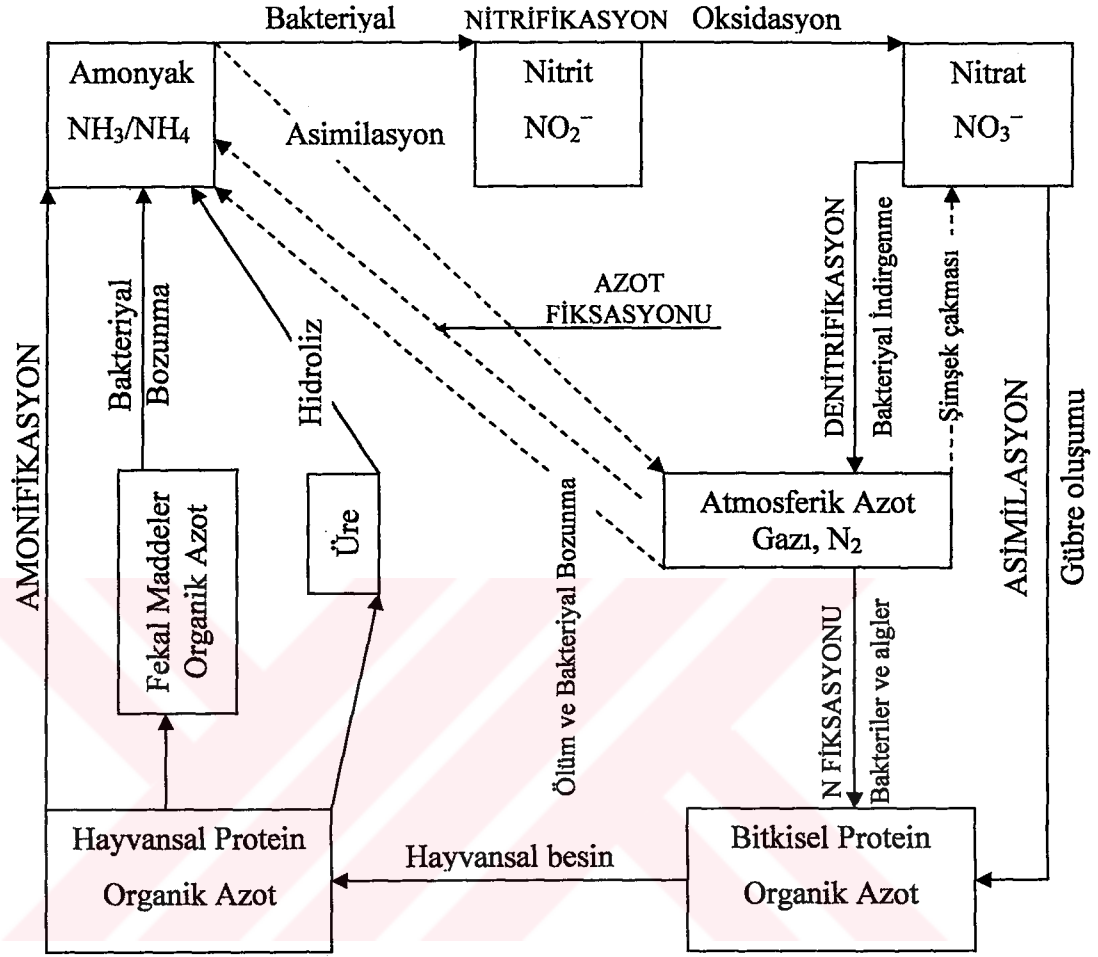
Redüktif deaminasyon:



Asidik ve nötral sulu çözeltilerde NH_4^+ baskın olarak bulunur. pH arttıkça, NH_3 baskın hale gelir ve atmosfere verilir (Denklem 2.76).



Sonuç olarak amonyak ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), azot çevriminde anahtar role sahip bir ara üründür (Şekil 2.15).



Şekil 2.15 Azot çevrimi (Bitton, 1994)

Amonyak, mikrobiyal metabolizmada en çok tercih edilen azot kaynağıdır ve mikrobiyal hücre çoğalması için gerekli bir besin maddesidir (McCarty, 1964). Proteinler aminoasitlere hidrolize olur. Ardından karbondioksit, amonyağa, valerik ve bütirik asit gibi uçucu yağ asitlerine fermente olurlar. Amonyak insan vücudunda birikmez, terle ya da amonyum tuzları veya üreye dönüştürülerek idrarla vücuttan atılır. Amonyakın bakteriler tarafından atılımı deaminasyon ya da amonifikasyon aracılığıyla olur.

Doğal olarak oluşan amonyak genellikle çevrede bir sorun oluşturmaz. Bununla birlikte, çoğunlukla yüksek düzeylerde bulunan amonyağın kaynağı, doğrudan ya da dolaylı olarak insanla ilişkilidir. Endüstriyel üretim dışında amonyak, organik atıklardan da kaynaklanır. Mineralizasyon işleminde atıksular, çamur, gübre, besin

atığı ve diğer organik atıklarda bulunan organik azot yüksek verimle amonyağa dönüştür.

Aritma sırasında, amonyağın iki türü, çözünmüş amonyak gazı veya NH_3 ile amonyum iyonu (NH_4^+), aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi birlikte denge halinde bulunurlar.



İki formun birbirlerine göre konsantrasyonları sıvı fazın hem pH değerine hem de sıcaklığına bağlıdır (Eşitlik 2.78 ve 2.79). pH değeri arttıkça denge sağa kayar ve amonyum, daha fazla inhibitor özelliği olan serbest (iyonize olmamış) amonyak formuna dönüşür (McCarty, 1964; De Baere ve diğ., 1984; Sprott ve diğ., 1984; Koster ve Koomen, 1988; Angelidaki ve Ahring, 1993; Sung ve Liu, 2003).

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} \quad (2.78)$$

Burada K_a , amonyağın çözünürlük sabitidir.

$$\text{p}K_a = \frac{0,09018 + 2729,92}{(273,2 + T)} \quad (2.79)$$

Burada T, °C cinsinden sıcaklıktır.

Amonyağın pH ve sıcaklığa değişimi Şekil 2.16'da gösterilmiştir

pH değerindeki artış, serbest amonyak azotu konsantrasyonunda artışa neden olur. pH 7,0'de serbest amonyak azotu konsantrasyonu, toplam amonyak azotu konsantrasyonunun %1,1'ini, pH 8,0'de ise serbest amonyak azotu konsantrasyonu, toplam amonyak azotu konsantrasyonunun %10,2'sini oluşturur (De Baere ve diğ., 1984).

Serbest amonyak azotu konsantrasyonu Eşitlik 2.80 kullanılarak hesaplanabilir (Koster, 1986; Heinrichs ve diğ., 1990; Poggi-Varaldo ve diğ., 1991; Angelidaki ve Ahring, 1993; Borja ve diğ., 1996; Gallert ve diğ., 1998).

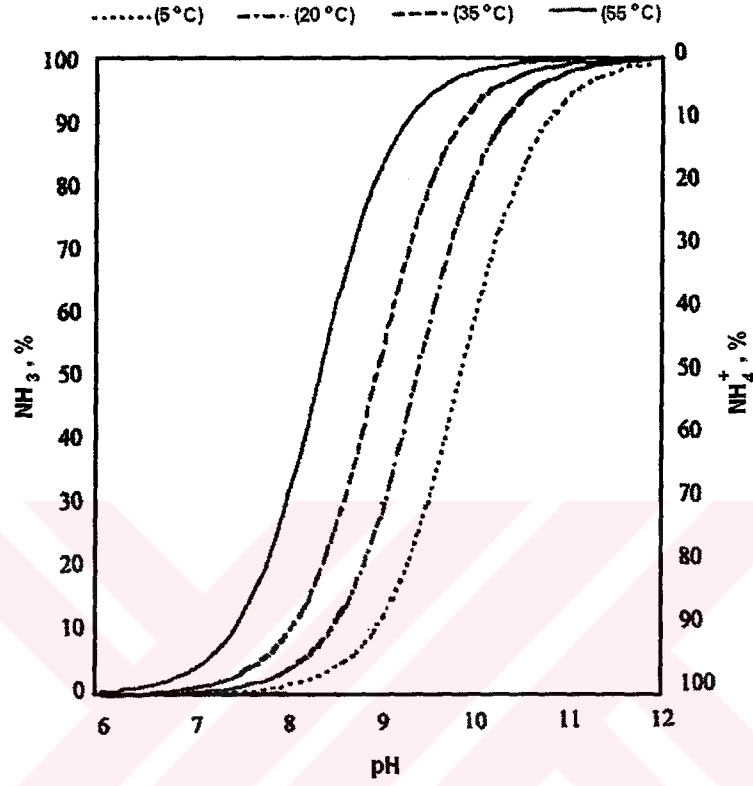
$$\text{SAN} = \frac{\text{TAN}}{1 + 10^{(\text{p}K_a - \text{pH})}} \quad (2.80)$$

Burada;

SAN = serbest amonyak azotunu (mg/l),

TAN = toplam amonyak azotunu (mg/l)

ifade etmektedir.



Şekil 2.16 pH ve sıcaklığın, çözeltideki amonyak gazı ve amonyum iyonunun dağılımı üzerine etkisi

2.4.3 Amonyakın anaerobik arıtma üzerine etkisi

Amonyak, azot içeren organik bileşiklerin anaerobik çürütülmesinde çok yaygın bir metabolik son üründür.

Amonyak, anaerobik reaktörlerde önemli bir tampon ve anaerobik mikroorganizmalar için önemli bir besin olduğu halde yüksek konsantrasyonları sistem başarısızlığının temel bir nedeni olabilir (Heinrics ve diğ., 1990; Hendriksen ve Ahring, 1991; Kayhanian, 1994; Gallert ve Winter, 1997; Poggi-Varaldo ve diğ., 1997).

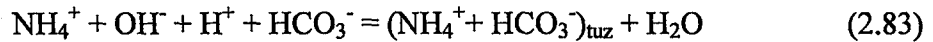
Anaerobik ayrışma sırasında, azotça zengin organik bileşikler (üre, proteinler, lipidler) hidroliz ve asidojenez aracılığıyla UYA ve amonyak üretimine katkıda bulunurlar. İyi dengelenmiş bir anaerobik çürütme ortamında, asidojenik evre sırasında UYA ve CO₂'in eşzamanlı üretimi bu pH artışını dengeler. pH değeriindeki

artış genellikle, protein ve diğer azot içeren organik maddelerin ayrışmasından dolayı alkalinite üretimiyle ilişkilidir.

Organik azot içeriği yüksekse, amonyağa nihai ayrışma, NH_3 tarafından NH_4^+ oluşturmak üzere protonların tüketilmesine bağlı olarak pH'da bir artışa yol açar. Organik azotun amonyağa dönüşmesi sırasında oluşan alkalinitenin toplam alkalinitenin yaklaşık %23'nü oluşturduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle, artan pH'da metan üretiminde azalma, amonyak tarafından inhibisyonun bir göstergesidir. Fakat, amonyak metanojenleri inhibe ettiği için UYA' lerinin birikmesi sonucunda pH değerinin düşmesi ile birlikte serbest amonyak miktarında da azalma meydana gelir. Uygun bir proses alkalinitesi belirlenerek bu mekanizmanın belirli bir UYA konsantrasyonu ve pH seviyesinde kararlı kalması sağlanabilir (Sterling ve diğ., 2001).

Anaerobik arıtma prosesine ilave edilen aşırı amonyak konsantrasyonu proste iki türlü etkiye yol açar. Bunlardan ilki;

Aşırı amonyak konsantrasyonunun bikarbonatla amonyum tuzunu oluşturması sonucu alkaliniteyi arttırmasıdır.



Diğer etkisi ise, yüksek amonyak konsantrasyonlarının bakterinin hem hidrolitik hem de asetojenik gruplarını inhibe etmesidir (Angelidaki ve diğ., 1993). Bu durumda çürütücülerdeki UYA konsantrasyonu azalacaktır. Daha düşük UYA konsantrasyonları, çürütücülerde asit nötralizasyonu için kullanılan alkalinite miktarını azaltacaktır (Sterling ve diğ., 2001).

2.4.4 Amonyak kaynakları

Proteinlerin ve aminoasitlerin anaerobik çürütülme ürünü olan amonyak, organik katı atık ya da atıksu arıtan tüm anaerobik çürütücülerde bulunur.

Şehir katı atıklarının organik kısmı (Kayhanian, 1994; Poggi-Varaldo ve diğ., 1997; Gallert ve diğ., 1998), genç çöp sızıntı suları (Inanc ve diğ., 2000a, Inanc ve diğ.,

2000b), deniz ürünleri işleme endüstrisinden kaynaklanan atıksular (Omil ve diğ., 1995; Soto ve diğ., 1991); atık aktif çamur (Lay ve diğ., 1998), patates nişastası ve ekmek mayası endüstrisi atık suları (Koster ve Lettinga, 1984; Koster ve Lettinga, 1988), mandıra (Koster, 1986), hayvan gübreleri (Van Velsen, 1979; Wiegant ve Zeeman, 1986; Blomgren ve diğ., 1990; Angelidaki ve Ahring, 1993; Angelidaki ve Ahring, 1994; Borja ve diğ., 1996; Kroylova ve diğ., 1997; Hansen ve diğ., 1998; Sterling ve diğ., 2001) ve alkaloid atıksuları (Aydın, 2002) inhibitör düzeyde amonyak içerir.

Aritma tesisine ulaşan fazla miktarda organik azot yükü, arıtma tesisinin sıvı ve çamur akımlarına dağıtılır. Arıtma sonunda organik azotun sıvı akımdan hemen hemen tamamen uzaklaştırılması birkaç yolla sağlanır. Ön çökeltme tanklarındaki partiküler organik maddenin ve son çökeltme tanklarındaki biyokütle fazlasının çökertilmesi ve aktif çamur prosesinde, çözünmüş organik azotun amonifikasyon-nitrifikasyon-denitrifikasyon aracılığıyla azot gazına mineralizasyonu sık kullanılan yollardır. Sonuç olarak, arıtma tesisine ulaşan toplam azotun yaklaşık %20'si ön ve son çökeltme tankında çöker ve ardından çamur arıtma işlemlerine tabi tutulur.

Çamur stabilizasyonunun en sık kullanılan şekli anaerobik çürütmedir. Bu aşamada çoğunlukla partiküler olan organik azotun büyük bir kısmı amonyağa çevrilir; sadece biyolojik olarak ayrışmayan organiklerdeki küçük bir fraksiyon bozulmadan kalır.

2.4.5 Amonyakın farklı anaerobik mikrobiyal gruplara etkisi

Speece (1996) amonyakın mikrobiyal popülasyonlar üzerine etkilerini açıklayan terimlerden toksisiteyi “bakteriyal metabolizma üzerine, öldürücü olması gerekli olmayan bir zararlı etki” şeklinde, inhibisyonu ise “mikrobiyal işlevde bir bozulma” şeklinde tanımlamıştır.

Anaerobik arıtma sistemlerinde amonyak biyolojik olarak dönüştürülemez; fakat bu sistemlerde mikroorganizmaların amonyağa alıştırılması mümkündür. İnhibitör eşik değeri aşıldıktan sonra, amonyak konsantrasyonundaki herhangi bir ek artış toksisiteye neden olur. Çok az bir ek artışın bile sistemin aniden durmasına neden olması, bu toksisitenin yarışmasız (un-kompetetiv) olduğunu gösterir (Speece, 1996).

Amonyak, metanojenler için önemli bir besin maddesidir. 50-200 mg/l amonyak azotu konsantrasyonun anaerobik işlemler üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğu, 200-1500 mg/l arasındaki amonyak azotu konsantrasyonlarının metanojenesis

üzerinde anlamlı bir ters etkisi olmadığı belirtilmiştir (McCarty, 1964). Bununla beraber, 700 mg/l'i aşan amonyum azotu konsantrasyonlarında, artan konsantrasyonla metanojenik aktivitenin azaldığı görülmüştür (Koster ve Lettinga, 1984). Anaerobik filtrelerin, 6000 hatta 7800 mg/l amonyum azotu konsantrasyonlarında başarı ile çalıştıkları bildirilmiştir. Fakat bu popülasyonların metanojenik aktiviteleri saptanmamıştır (De Baere ve diğ., 1984). 10.000 mg/l amonyum azotu nötral pH'da metanojenlere ilave edildiğinde, günlük biyogaz üretim hızı azalarak sıfıra düşmüş fakat, 10 günlük ihmal edilebilir biyogaz üretiminden sonra, bakteriyal aktivite 5 gün içerisinde kontrol reaktörü hızının %70'ini geri kazanmıştır (Speece, 1996).

Amonyak toksisitesi ile ilgili öne sürülen hücresel mekanizmalar çelişkilidir. Genel olarak toksisitenin, serbest amonyağın hücre zarı boyunca nüfuz edebilme kabiliyetinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Gallert ve diğ., 1998).

Sprott ve diğ. (1984)'ne göre, serbest amonyak hücre içerisine girdiğinde hem serbest amonyağın hem de amonyum iyonunun birleşik etkisi ortaya çıkmaktadır. Hücre içerisinde NH_3 , NH_4^+ ile hücre dışındaki aynı dengeyi oluşturmak için bazı protonların hücre dışına çıkmasına neden olur. Sonuç olarak hücre, optimum pH değerini koruyabilmek için hücre dışındaki bazı protonları alır fakat aynı zamanda diğer önemli bir besin olan K^+ iyonunu kaybeder ve ölür. Önceki tanımla bağlantılı diğer model amonyağın, sitoplazmik membrandan CH_4 sentezlenmesi için gerekli olan iki değerlikli iyonlarla (Ca^{2+} , Mg^{2+} ya da Mn^{2+}) yer değiştirdiğini öne sürmektedir (Sprott ve diğ., 1985). Yapılan çalışmada, test edilen *Methanospirillum hungatei*'nin hücrelerine kayıp olan iyonlar temin edildiğinde CH_4 üretimi eski haline dönmüştür.

Amonyak toksisite derecesinin, sinerjistik ve antagonistik etkileri olan diğer katyonların varlığına ve konsantrasyonuna da bağlı olduğu belirtilmiştir. Katyonların görevi enzimi işler hale getirmektir. Katyon konsantrasyonu arttıkça enzim aktif hale gelir ve reaksiyon hızı artar. Fakat sonunda enzimlerin hepsi aktif hale gelir ve katyonun aşırı miktarı daha sonra enzimle reaksiyona girer ve reaksiyon hızı azalır. Antagonizm, diğer katyon tarafından meydana getirilir. Bu katyon, bozulmuş enzimi tekrar aktif hale getirebilir veya bloke edilmiş enzim yolunu açabilir. Örneğin alternatif bir enzim yolunu aktif hale getirebilir. Antagonizm bir katyonun uyarıcı etkisinin diğer katyonun toksik etkisini giderdiğinde meydana gelir. Metanojenlerin

katyonların toksik etkisine karşı, asit üretenlerden daha hassas olduğu belirlenmiştir. Fakat tek değerlikli katyonların, çift değerlikli katyonlara göre toksik etkisi oldukça nadir görülmüştür (Kugelman ve McCarty, 1965).

McCarty ve Mc Kinney (1961), anaerobik atık arıtımı üzerine katyonların etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, asetat kullanan metanojenlerin $Na^+ = K^+ = 0,2$ M, $Ca^{2+} = Mg^{2+} = 0,175$ M, $NH_4^+ = 0,15$ M katyon seviyelerini tolere edebildiklerini bulmuşlardır. Ayrıca 3500 mg/l'e kadar Na^+ 'un şok ilavesiyle oluşan toksistenin 500 ile 1000 mg/l Mg^{2+} veya Ca^{2+} varlığında antagonize olabileceğini (azaltılabileceğini) göstermişlerdir.

Yaygın araştırmalara rağmen, amonyak tarafından hangi grup bakterilerin en çok inhibe edildiği açık değildir. Anaerobik bir toplulukta metanojenlerin olumsuz koşullara en duyarlı grup olduğu bilinir. Bazı araştırmacılar, amonyak tarafından en çok etkilenen olarak asetiklastik metanojenlere işaret ederken (Bhattacharya ve Parkin, 1989), diğerleri metanojenesisin sonlanmasında hidrojen kullanan metanojenlerin (Wiegant ve Zeeman, 1986) inhibisyonuna işaret etmektedir.

Anaerobik arıtmada, organik maddenin büyük bir kısmı metan oluşumu sırasında giderildiğinden ve birçok durumda metan oluşumu anaerobik arıtma işleminin hız kısıtlayıcı basamağı olarak kabul edildiğinden metanojenik organizmaların metabolizma hızları, işlem verimliliğini çok etkileyebilir. Ayrıca metan oluşum hızı da işlem stabilitesini etkileyebilir. Metan üretim hızındaki bir azalma özellikle, zayıf tamponlama kapasitesi olan sistemlerde, anaerobik arıtma proses içeriklerindeki organik asitlerin birikimiyle pH değerinin düşmesine neden olur. Proses pH değeri 6,0'nın altındaki değerlere ulaştığında, işlem %100 başarısızlıkla sonuçlanır (Van Velsen, 1979). Metanojenler söz konusu olduğunda, düşük biyogaz üretimi, biyogazda düşük CH_4 içeriği ve yüksek UYA konsantrasyonu amonyak toksisitesinin belirtileridir (VanVelsen, 1979; Poggi-Varaldo ve diğ., 1991).

Serbest amonyağın metanojenlerin metabolizması üzerindeki inhibitör etkisi, yapılan birçok çalışmada belirtilmiştir (De Baere ve diğ., 1984; Sprott ve diğ., 1984; Braun ve diğ., 1981; Angelidaki ve Ahring, 1993).

Asetat kullanan metanojenlerin maksimum spesifik çoğalma hızlarının diğer metanojenlerden çok düşük olması ve bir biyogaz reaktöründe üretilen metanın yaklaşık %70'inden sorumlu olması (Ahring ve diğ., 1995), bu tür metanojenlerin,

amonyak konsantrasyonu yüksek atıkların anaerobik çürütülmesi sırasında, hız kısıtlayıcı basamağı oluşturmamasına neden olur (Hansen ve diğ., 1998).

Domuz gübresinin termofilik çürütülmesi sırasında H₂/CO₂'den (80:20 oranında) metanojenesis, tek substrat olarak domuz gübresinin kullanıldığı benzer bir deneyde bulunan inhibe edici serbest amonyak konsantrasyonundan anlamlı derecede yüksek serbest amonyak konsantrasyonunda mümkün olmuştur (Hansen ve diğ., 1998). Serbest amonyak düzeyi 1100 mg/l'den 1200 mg/l serbest amonyak azotu konsantrasyonuna yükseldiğinde hidrojen kullanan metanojenlerin göreceli spesifik çoğalma hızı değişmeden kalırken, sistem bütününde (sadece gübre) %31'lik bir azalma görülmüştür. 1300 mg/l serbest amonyak azotu konsantrasyonuna yükselme hidrojenotrofik aktivitede %23 azalmaya neden olurken, toplam aktivitede %33 azalmaya neden olmuştur. Bu durum asetat kullanan metanojenlerin hidrojen kullanan metanojenler ile karşılaştırıldığında hız kısıtlayıcı bir faktör olduklarını düşündürmektedir

Koster ve Lettinga (1984) tarafından yapılan bir çalışmada, asetat kullanan metanojenlerin, 1700 mg/l amonyak azotu eşik düzeyinin üzerindeki konsantrasyonlarda, hidrojenotrofik metanojenlere göre amonyağa daha duyarlı oldukları belirlenmiştir.

7000 mg/l amonyak azotu konsantrasyonunda inhibe olan reaktörlerin spesifik metanojenik aktivitesinin substrat olarak asetat kullanıldığında %72, hidrojen kullanıldığında %56 oranında düştüğü, asetat kullanan metanojenlerin hidrojen kullanan metanojenlere göre daha hassas olduğu, asetoklastik metanojenlerin spesifik çoğalma hızının 4000 mg/l amonyak azotu konsantrasyonunda yarıya inerken hidrojenotroflarda spesifik çoğalma hızının 7500 mg/l amonyak azotu konsantrasyonunda yarıya indiği belirtilmiştir (Borja ve diğ., 1996).

Sprott ve Patel (1986) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, asetoklastik metanojenlerden *Methanosarcina barkeri* ve *Methanothrix concilii*'nin artan amonyak konsantrasyonlarına hidrojenotrofik metanojenlere göre daha duyarlı olduğu görülmüştür (Tablo 2.11)

Amonyakça zengin atıklara alıştırılan mezofilik kültürlerde asetoklastik metanojenlerin, propiyonat kullanan asetojenlerle karşılaştırıldığında serbest

amonyak azotuna daha duyarlı besinsel grup olduğunu gösteren Heinrichs ve diğ. (1990) tarafından da benzer sonuçlara ulaşılmıştır.

Tablo 2.11 Amonyağa duyarlılık ve toleranslarına göre metanojenlerin sınıflandırılması (Sprott ve Patel, 1986).

Amonyağa duyarlı olanlar	Amonyağa toleranslı olanlar
<i>Methanospirillum hungatei</i>	<i>Methanobrevibacter aboriphilus</i>
<i>Methanosarcina barkeri</i>	<i>Methanobrevibacter smithii</i>
<i>Methanothrix concilii</i>	<i>Methanobacterium strain G2R</i>
<i>Methanobacterium bryantii</i>	
<i>Methanobacterium formicicum</i>	

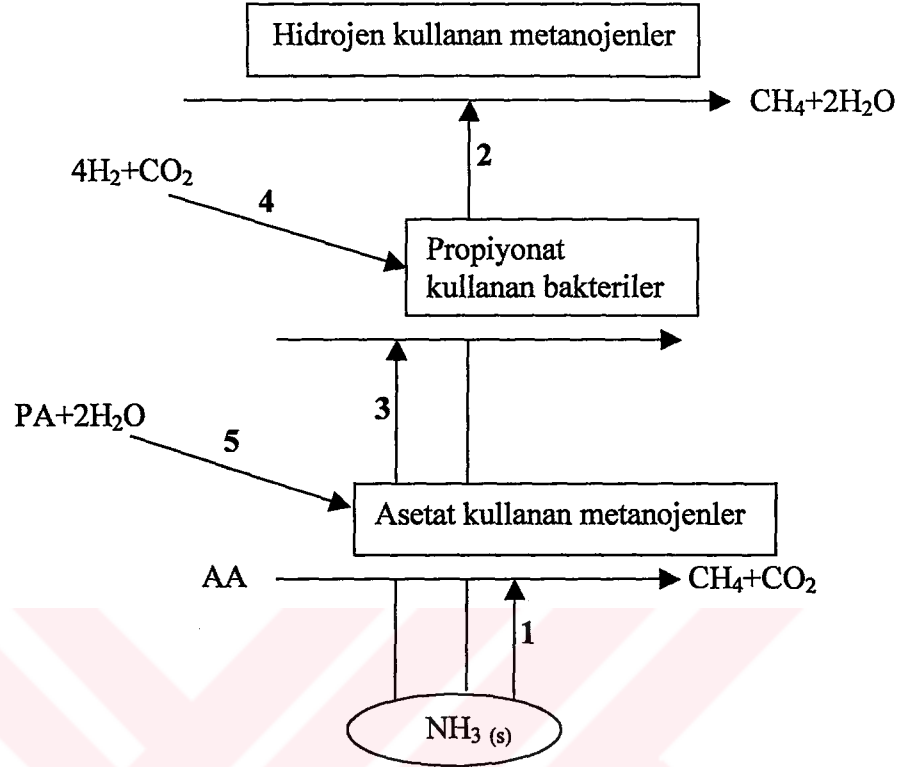
Substrat olarak sadece asetat kullanan yüksek amonyak konsantrasyonlarına adapte olmuş kültürlerde 8000 mg/l amonyum azotu konsantrasyonlarına kadar asetatın tamamen, 17.000 mg/l gibi yüksek konsantrasyonlarda ise bir miktar asetatın metana dönüştüğü literatürde kanıtlanmıştır (Blomgren ve diğ., 1990).

Asetatın UYA konsantrasyonunun esas kısmını oluşturması, asetat kullanan metanojenlerin inhibe olduğunu gösterir (Hansen ve diğ., 1998). Hidrojen kullanan metanojenlerin inhibisyonunun, proses geneli içinde bulunan daha yüksek serbest amonyak konsantrasyonlarında ortaya çıktığı Koster ve Lettinga (1988), Angelidaki ve Ahring (1993) tarafından da belirlenmiştir. Bu durum, “hidrojenotrofik metan üreten bakterilerin, amonyak tarafından inhibisyonunun metanojenesisin son bulmasının temel nedenidir” (Wiegant ve Zeeman, 1986) açıklamasıyla çelişmektedir. Hidrojen kullanan metanojenlerin inhibe olmasının nedeni olarak hidrojen birikiminin propiyonatın birikimine yol açtığı, bunun da asetat kullanan metanojenlerin inhibitörü olarak görev aldığı düşünülmektedir (Wiegant ve Zeeman, 1986).

Anaerobik proseslerde mevcut besinsel gruplar üzerine amonyağın etkisi Şekil 2.17’de özetlenmiştir (Heinrichs ve diğ., 1990):

1. Amonyağın karışık kültürlerdeki asetat kullanan metanojenler üzerindeki direk inhibitör etkisi,
2. İyonize olmamış amonyağın hidrojen kullanan metanojenler üzerindeki inhibisyon etkisi,
3. Propiyonat kullanan bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisi,

4. Hidrojen tarafından propiyonik asit kullanan bakterilerin inhibisyonu,
5. Propiyonik asitin birikmesiyle, asetat kullanan metanojenlerin inhibisyonu.



Şekil 2.17 Anaerobik proseslerde mevcut besinsel gruplar üzerine amonyağın etkisi*
 *AA: Asetik asit, PA: Propiyonik asit

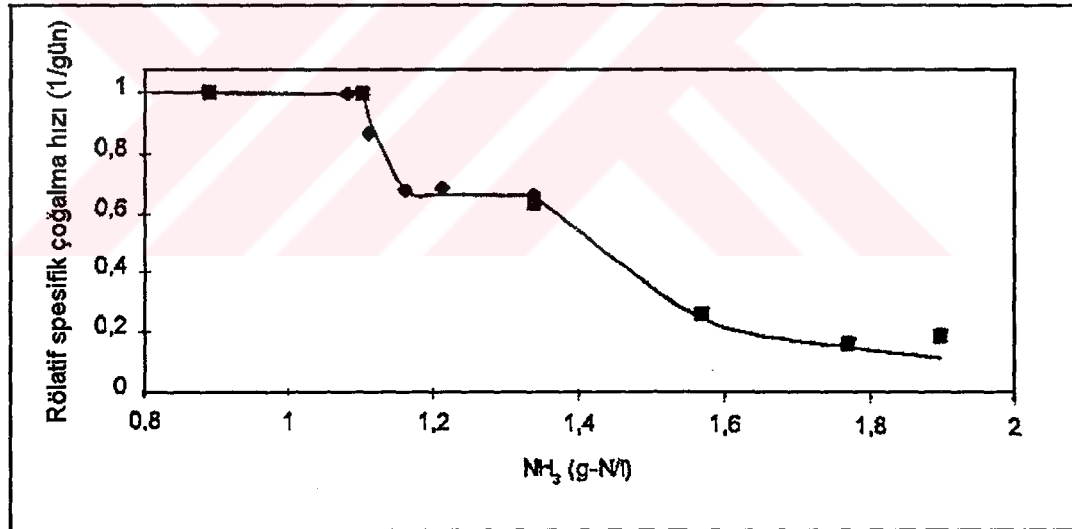
Yüksek amonyak düzeylerinden sadece metanojenlerin etkilenmediği, bir anaerobik arıtma prosesindeki mikrobiyal popülasyon içindeki farklı besin gruplarının yüksek amonyak konsantrasyonuna yanıtının aynı olmadığı yapılan çalışmalarda gözlenmiştir.

6000 mg/l TAN ve 37-60°C arasındaki sıcaklıklarda domuz gübresinin çürütülmesi sırasında hidroliz ve asit üretim fazının (asidifikasyon) verimliliği incelenmiştir (Hansen ve diğ., 1998). Üretilen UYA'dan potansiyel metan üretiminin test edilen tüm sıcaklıklarda benzer bulunması, artan SAN konsantrasyonlarının (750'den 2600 mg/l) her iki fermentatif aşamaya da anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte, bu potansiyel metan üretiminin gerçek metan üretiminin sadece %73'ünü içermesi, aynı inhibisyonun hidroliz ve asidifikasyon üzerinde de ortaya çıkacağını göstermektedir.

Hidrojenotrofik olmasına rağmen, karbon kaynağı olarak asetata ihtiyaç duyan *Methanospirillum hungatei* amonyağa karşı çok hassastır. pH 8,0'de, bir NH_4^+/K^+

değişim reaksiyonu aracılığıyla stoplazmik K^+ 'un %98'ine kadar varan bir kısmı hücre dışına atılır (Sprott ve diğ., 1984) ki bu durum, K^+ 'un tükenmesine ve hücre ölümüne neden olur. Aynı çalışmada amonyağın, *Escherichia coli* ve *Bacillus polymyxa* hücrelerinde de benzer bir etki yarattığı gösterilerek bu etkinin başka bakterilerde de ortaya çıkmasının olası olduğu kanıtlanmıştır.

Amonyak inhibisyon evreleri, termofilik olarak domuz gübresinin arıtımında, TAN konsantrasyonunun 3100 mg/l (pH 8,0; SAN 961 mg/l) den kademeli olarak 8100 mg/l'ye (pH 7,9; SAN 2130 mg/l) artırılması sırasında tanımlanmıştır (Şekil 2.18). Proses, 1100 mg/l SAN (TAN 4100 mg/l) eşik değerine kadar inhibe olmamıştır (1. evre). 1100 mg/l SAN ile 1200 mg/l SAN düzeyi arasında rölatif spesifik çoğalma hızında %31 azalma ile başlangıç inhibisyonu (2. evre) meydana gelmiştir. Bu evreyi takiben bir plato (3. evre) izlemiştir. SAN düzeyi yaklaşık 1400 mg/l'e ulaştığında plato sonlanmış ve rölatif spesifik çoğalma hızı, önceki inhibisyonun orjinal değerinin %21'i olan son düzeye (en yüksek test edilen 1900 mg/l SAN değerinde) kadar azalmaya devam etmiştir (4. evre).

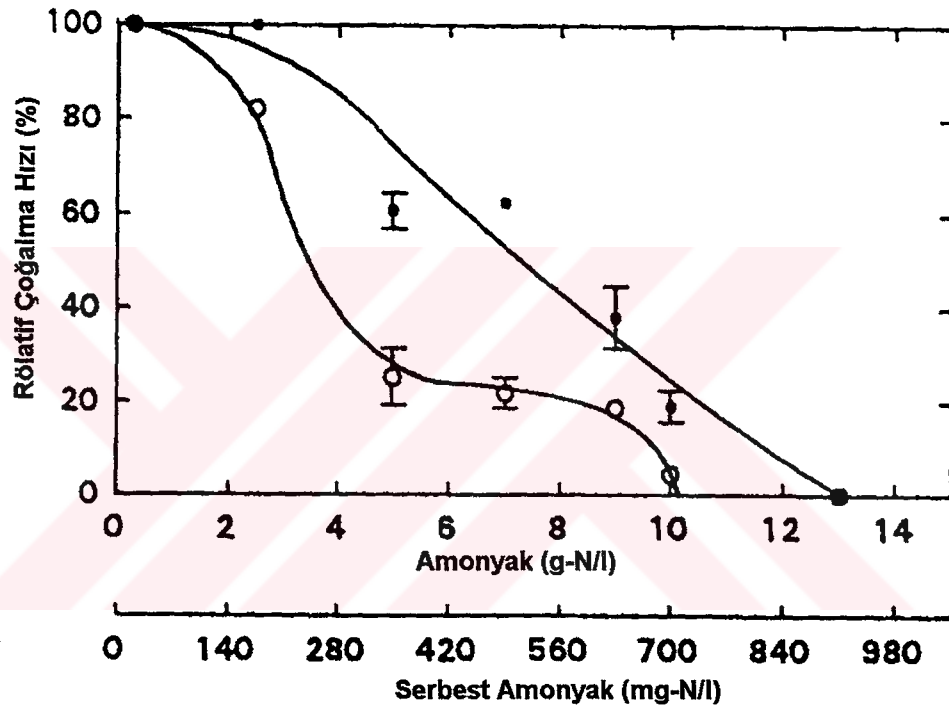


Şekil 2.18 Amonyak inhibisyonu evreleri (Hansen ve diğ.,1998)

Amonyak inhibisyonunun evrelendirilmesinde benzer bulgular asetat kullanan metanojenlerin azalan maksimum spesifik çoğalma hızı gözlemleriyle elde edilmiştir (Poggi-Varaldo ve diğ., 1991). Maksimum spesifik çoğalma hızının %50 azalmasına neden olan başlangıç inhibisyonu 0 ile 113 mg/l SAN konsantrasyon aralığında meydana gelmiştir. Bunu 540 mg/l SAN'a kadar uzayan bir plato ve orjinal maksimum spesifik çoğalma hızının yaklaşık %10'na kadar başka bir hızlı düşüş izlemiştir.

Metanojenik biyokütlenin amonyak tarafından bu aşamalı inhibisyonu, farklı konsantrasyon düzeylerinde etki eden birden fazla inhibisyon mekanizması olduğunu ya da farklı grup metanojenler arasında inhibisyonun başlamasının konsantrasyona bağımlı olduğunu gösterebilir.

Angelidaki ve Ahring (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, asetat kullanan ve hidrojen kullanan popülasyonların inhibisyon eğrileri sırasıyla sigmoidal (S) ve lineer olmaları (Şekil 2.19) açısından birbirinden farklı bulunmuştur. Bu durum, aşamalı mekanizmadan ziyade, konsantrasyona bağımlılıkla ilgili hipotezi desteklemektedir.



Şekil 2.19 Amonyakın fonksiyonu olarak spesifik çoğalma hızında azalma. Substrat olarak ○Asetat, ●hidrojen

2.4.6 Amonyak inhibisyonunda pH'ın etkisi

Anaerobik bir reaktördeki pH değeri son derece önemlidir. Çünkü, metanojenesis sadece pH nötral aralık içinde kaldığı sürece hızlı ilerleyebilir. Yüksek pH ortamlarında var olan metanojenlere örnekler olsa da birçok metanojen türü 6,7-7,4 pH aralığında; fakat optimum olarak pH 7,0-7,2 değerlerinde işlev görür. pH değeri 6,3'ten düşük ya da 7,8'den yüksek olursa metan üretim hızı düşebilir. Bu nedenle stabil bir çürütme işlemini sürdürebilmek için pH'a bağlı inhibitör bileşiklerin metanojenlerin aktivitesi üzerine dolaylı etkisini aydınlatmak gerekir (Lay ve diğ., 1998).

Amonyağın pH düzeyine bağlı olarak amonyum iyonu ya da çözünmüş amonyak gazı olarak bulunabileceği belirtilmiştir (McCarty, 1964). Sonuç olarak, çamur için amonyak inhibisyonu veya toksisite ölçütleri, sadece amonyak düzeylerine değil aynı zamanda hem amonyum hem de serbest amonyak düzeylerini hesaba katar (Kroeker ve diğ., 1979).

Serbest amonyak, iki tür arasında bakteriyal metabolizmaya daha toksik olan olarak tanınır (McCarty ve Mc Kinney, 1961; Kroeker ve diğ., 1979; Braun ve diğ., 1981; Sprott ve diğ., 1984; De Baere ve diğ., 1984; Zeeman ve diğ., 1985; Hashimoto, 1986; Koster ve Koomen, 1988; Angelidaki ve Ahring, 1993).

pH, sıcaklık ya da her ikisi birden arttırıldığında, artılan atığın sıvı fraksiyonundaki çözünmüş amonyak gazının ($\text{NH}_3\text{-SAN}$) oranı artar (Şekil 2.16). Bu durumda biyogaz üretim prosesi amonyağa daha duyarlı hale gelir (Koster, 1986). pH'ın 7'den 8'e çıkması serbest amonyak konsantrasyonunda 8 kat artışa neden olacaktır.

Serbest amonyak, UYA ve pH arasındaki etkileşimin, işlemin daha düşük bir metan üretimi ile stabil sürdüğü bir durum olan "inhibe edilmiş kararlı durum"a yol açtığı öne sürülmüştür. Bu durumun substratın yüksek konsantrasyonda amonyak içermesi halinde ortaya çıktığı gösterilmiştir (Angelidaki ve Ahring, 1993).

Proseste amonyak inhibisyonu baskın olduğunda, metanojenlerin üzerindeki toksik etki, UYA birikimine, pH'da düşmeye ve serbest amonyak konsantrasyonunda azalmaya neden olur. Stabilizasyon öncesi ortamın tamponlama kapasitesi aşılmadıkça, proses kendi kendini stabil hale getirecektir (Bhattacharya ve Parkin, 1989; Heinrichs ve diğ., 1990; Poggi-Varaldo ve diğ., 1991; Angelidaki ve Ahring, 1993; Hansen ve diğ., 1998).

Serbest amonyak molekülleri hücrelerin içine difüze olarak ve hücreler ile çözelti arasındaki kimyasal dengeyi değiştirerek mikroorganizmaları inhibe eder. Belirli enzimler düzgün işlev görmeye devam edemez ve hücre ölür (Speece, 1996; Gallert ve Winter, 1997). Anaerobik atıksu reaktörlerindeki amonyağın toksik konsantrasyonları birçok raporda verilmiştir. Fakat inhibe edici konsantrasyonlar, aklımasyon uygulamaları, farklı pH ve sıcaklıklarda çalışmalardan dolayı oldukça geniş aralıkta değişmektedir.

Mezofilik şartlarda 80 mg-N/l serbest amonyak seviyesi minimum inhibitör seviyesi olarak belirlenmiştir (Koster ve Lettinga, 1984; De Baere ve diğ., 1984). Buna

karşılık McCarty ve McKinney (1961) ve Braun ve diğ. (1981) 150 mg-N/l serbest amonyak konsantrasyonunun inhibitör etki yarattığını bulmuşlardır. Çiftlik hayvanlarının atıklarının termofilik arıtımında pH 7,2-7,3'de asetat kullanan metanojenler için serbest amonyağın inhibitör konsantrasyonu 250 mg-N/l, hidrojen kullanan metanojenler için 500 mg-N/l bulunmuştur (Angelidaki ve Ahring, 1993; Borja ve diğ., 1996). Hayvan gübreleri ile çalışılan anaerobik çürütücüler çoğunlukla 8 civarında yüksek pH değerlerine sahiptir (Angelidaki ve Ahring, 1994). Amonyağa adapte olmuş sığır gübresinin anaerobik arıtımında asetat kullanan metanojenlerin 700 mg-N/l'ye kadar serbest amonyak konsantrasyonunda çoğaldığı görülmüştür (Angelidaki ve Ahring, 1994). Oysa domuz gübresinin amonyağa adapte olmuş populasyonlarının 1100 mg-N/l serbest amonyak konsantrasyonunda inhibe olduğu belirtilmiştir (Hansen ve diğ., 1998).

Metan oluşumunu ve metanojenlerin çoğalma hızlarını engellediği için, çok daha yüksek konsantrasyonlarda amonyağın iyonize şekli de toksiktir. Bu durum, amonyum iyonunun, hücrenin stoplazmik zarının dış yüzeyinde yer alan Mg^{++} (mağnezyum iyonu) ve Ca^{++} (kalsiyum iyonu) ile yer değiştirmesi sonucu CO_2 'ten CH_4 sentezlenmesinden sorumlu olan membran proteinini etkilemesiyle açıklanmıştır (Sprott ve Patel, 1986)

McCarty ve Mc Kinney (1961), yüksek uçucu yağ asiti tuzu konsantrasyonlarında (9 ve 16 gr- NH_4Ac/l , asetik asit olarak) asetat kullanan metanojenlere herhangi bir toksisitenin tuz toksisitesi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Toksik etkinin tuzların katyonlarından kaynaklandığı ve amonyum iyonunun, test edilen tuz katyonları içinde en fazla toksik etkiye neden olduğunu belirtmişlerdir. Amonyum iyonu bikarbonat iyonu ile reaksiyona girerek sistemin tamponlama kapasitesinde anlamlı bir artışa neden olur. Bu da sonuç olarak anaerobik arıtma prosesinde mikroorganizma tarafından kabul edilebilecek sınırların ötesinde artmış bir pH'a ve NH_3 fraksiyonunda artışa neden olur.

McCarty (1964) 7,4'ün üzerindeki pH değerlerinde amonyak inhibisyonunun 1500-3000 mg/l TAN konsantrasyonu aralığında gerçekleştiğini bildirirken, 3000 mg/l üzerindeki konsantrasyonlarda amonyağın pH değerinden bağımsız olarak toksik olduğunu ileri sürmüştür.

Wiegant ve Zeeman (1986) tarafından yapılan bir araştırmada pH 6,7-6,9 arasında termofilik (55°C) anaerobik çürütme sırasında, 3500 mg/l üzerindeki toplam amonyak konsantrasyonunun H₂/CO₂'den metan üretiminde başarısızlığa yol açtığı ve bu durumun H₂ artışı ve propiyonat birikimine neden olduğu belirtilmiştir.

Lay ve diğ. (1998), mezofilik şartlarda pH ve amonyum azotunun metan üretimi üzerine etkisini araştırmışlardır. İyi aklime edilmiş bir sistemin metanojenik aktivitesini etkilemede amonyum azotu konsantrasyonunun serbest amonyaktan çok daha anlamlı bir faktör olduğu, metanojenik aktivitenin 6,5-8,5 pH aralığında amonyum azotundaki artışla azaldığı, 1670-3720 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda %10, 4090-5550 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda %50 azaldığı, 5880-6000 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda sıfırlandığı görülmüştür. Amonyum azotu konsantrasyonu 100'den 6000 mg/l'e yükseltildiğinde, çamurun maksimum metana dönüşme kapasitesinin 28'den 0,9 ml-CH₄/gr-UK.gün'e düştüğü belirtilmiştir.

Liu ve Sung (2002) tarafından yapılan başka bir çalışmada, termofilik koşullarda toplam amonyak azotunun asetoklastik metanojenik aktivite üzerine inhibisyon etkisi pH ve aklimasyon etkisiyle birlikte araştırılmıştır. Belirli bir TAN konsantrasyonunda, metanojenik aktivitenin pH değerleriyle değiştiğı, belirlenen en yüksek metanojenik aktivitenin 7,0-7,5 pH aralığında gözleendiğı, metanojenler için öldürücü TAN konsantrasyonunun 10.000 mg/l olarak tesbit edildiğı belirtilmiştir.

Amonyak tarafından oluşturulan inhibisyonun matematiksel tanımının, sadece hesaplanan serbest amonyak konsantrasyonunu kullanan modelle karşılaştırıldığında, toplam amonyak konsantrasyonu ve pH değerini kullanan bir modele daha iyi uyduğu gösterilmiştir (Hunik ve diğ., 1990; Lay ve diğ., 1998).

Bununla birlikte, serbest amonyağın iki tür için de daha toksik olması gerçeğı inandırıcıdır. Serbest amonyak azotunun %50 toksisite eşiğı açısından sülfür, fenol, formaldehit, orto-ksilen gibi diğerk toksik maddelerle karşılaştırılması, serbest amonyağın etkisinin büyüklük açısından aynı derecede olduğunu göstermiştir (Heinrichs ve diğ., 1990). Bu durum, serbest amonyağın yüksek tosisite potansiyelini doğrulamaktadır.

2.4.7 Amonyak inhibisyonunda sıcaklığın etkisi

Anaerobik arıtma esas olarak ya mezofilik (20-45⁰C) ya da termofilik (50-65⁰C) sıcaklıklarda yürür.

Mezofilik fermentasyon şartları ile karşılaştırıldığında daha yüksek sıcaklıklarda CO₂'in azalan çözünürlüğü ile pH artar bu durumda daha yüksek oranda serbest amonyak oluşur (Gallert ve Winter, 1997).

Birkaç araştırmacı, yüksek amonyak içeren atıkların metan fermentasyonunun termofilik sıcaklıklarda, mezofilik sıcaklıklara göre daha kolay inhibe edilebildiğini belirlemişlerdir (Van Velsen, 1979; Braun ve diğ., 1981; Blomgren ve diğ., 1990; Angelidaki ve Ahring, 1994; Poggi-Varaldo ve diğ., 1997). Belirlenen bu durum, serbest amonyak konsantrasyonunun sıcaklığın artması ile artacağı gerçeğine uygundur (Hansen ve diğ., 1998).

Yüksek yükleme hızlarında veya kısa bekleme sürelerinde yüksek sıcaklıkta çürütme, bakterilerin daha yüksek çoğalma hızları nedeniyle, düşük sıcaklıklara göre çok daha fazla tercih edilebilmektedir (Angelidaki ve Ahring, 1994). Proses sıcaklığının yüksek olması, genel olarak bakterilerin çoğalma hızı üzerinde pozitif bir etki yaratacaktır. Fakat daha yüksek konsantrasyonda serbest amonyağın ortaya çıkmasına ve proses üzerinde negatif bir etki yaratmasına neden olacaktır. Bu nedenle, yüksek amonyak yüklerine sahip substratı arıtan bir reaktör için optimum sıcaklığın düşük amonyak yüklerinde saptanan optimum sıcaklıktan farklı olacağı düşünülür. Yapılan bir çalışmada, 2500 mg-N/l amonyak yükleri için, 55⁰C'nin üzerindeki sıcaklıklarda reaktör performansı azalırken, 6000 mg-N/l amonyak yüklerinde yaklaşık 45⁰C'in üzerindeki sıcaklıklarda azaldığı görülmüştür (Angelidaki ve Ahring, 1994).

Termofilik anaerobik çürütücüler, domuz gübresi, sığır ve kümes hayvanları atıkları gibi hayvan atıkları ve besin işleyen proses atıksuları gibi bazı endüstriyel atıkların arıtımında kullanılır ve yüksek hidroliz hızlarından dolayı çok yüksek amonyak konsantrasyonlarına maruz kalır. Böyle durumlarda, termofilik metanojenler üzerine amonyağın inhibisyon etkisi önemli olur (Sung ve Liu, 2003).

Sıcaklığın önemli etkisi, domuz gübresinin kademeli olarak beslendiği reaktörlerde 6000 mg/l TAN ve geniş bir sıcaklık dağılımında 37, 45, 55 ve 60⁰C anaerobik çürütme sırasında gösterilmiştir (Hansen ve diğ., 1988). Başlangıçta metanojenik

biyokütle 3000 mg/l TAN'a (pH 7,9-8,1; SAN 275-413 mg/l) alıştırılmıştır ve TAN konsantrasyonunun iki katına çıkması artan sıcaklıkla inhibisyon etkisinin artmasına neden olmuştur. 37⁰C'de prosesin kararlı hale gelmesi ancak başlangıçtan 52 gün sonra mümkün olmuştur; spesifik metan üretimi 188 ml-CH₄/gr-UK (pH 8,06; SAN 750 mg/l) olarak belirlenmiş, bu durumun 45⁰C'de 45 günden sonraki kararlı duruma benzer olduğu (141 ml-CH₄/gr-UK pH 8,15; SAN 1400 mg/l) görülmüştür. 55⁰C'de, 63. günden sonra da proses kararlılığı devam etmiştir (67 ml-CH₄/gr-UK; pH 7,97; SAN 1600 mg/l), fakat 60⁰C'de başlangıçtan yaklaşık 45-54 gün sonra proses çökmüştür (22 ml-CH₄/gr-UK; pH 8,15; SAN 2600 mg/l).

Angelidaki ve Ahring (1994) tarafından yapılan bir çalışmada sığır gübresinin anaerobik çürütülmesinde sıcaklığın 55⁰C'nin altına düşürülmesinin, biyokütle üretimi ve işlem stabilitesi açısından uyarıcı olduğu görülmüştür.

Hashimoto (1986), termofilik koşullarda amonyak aklımasyonunun fizibilitesi üzerinde ağırlıklı durarak, mezofilik (35-37⁰C) ve termofilik (55⁰C) sıcaklıklarda toplam ve serbest amonyağın metan üretimi üzerine etkilerini araştırmıştır. Termofilik çürütücüler, daha düşük bir amonyak konsantrasyonunda 43 günden sonra adaptasyon sağlama yeteneği göstermişlerdir. Aklime olmamış reaktörlerde başlangıç inhibisyonu, her iki sıcaklık koşulunda yaklaşık aynı TAN konsantrasyonunda görülmüştür (37⁰C'de (pH 7,04; SAN 32 mg/l) 2640 mg/l ve 55⁰C'de (pH 7,33; SAN 209 mg/l) 2380 mg/l). Aklime olmuş biyokütle, serbest amonyak azotu yüksek olmasına rağmen 4380 mg/l'e (pH 7,33; SAN 384 mg/l) kadar varan TAN konsantrasyonlarında inhibe olmamıştır.

2.4.8 Amonyak inhibisyonunda şok yükleme ve yüksek amonyak düzeylerine kademeli olarak alıştırma

Adaptasyon, bir mikroorganizma topluluğunun uygun olmayan şartlara karşı gösterdiği tepkiyi tanımlar. Bazı durumlarda aklımasyon terimi adaptasyon ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Adaptasyon, topluluğun uygun olmayan koşulları yenmesi veya bu koşullara karşı fonksiyonlarını devam ettirebileceği farklı bir yol bulmasıdır. Adaptasyon periyodu, bu uygun olmayan koşulun başlangıcından itibaren adaptasyona kadar geçen süreyi tarifler (McCarty and Ritmann, 1999).

Aklımasyon, amonyak inhibisyon derecesine tesir eden diğer önemli bir faktördür. Aklımasyonun, toksik etki yapan maddenin bozunması, enzimin ortam şartlarına

uyması veya çok dirençli organizmaların baskın hale gelerek zayıf olanlarının yok olması nedenlerinden hangisi ile kaynaklandığı kolay anlaşılamaz (Owen ve diğ., 1979).

Bakteri hücreleri bir ortamdan diğer bir ortama aktarıldıklarında kültürler, çoğalmada bir duraklama (adaptasyon) periyodu (lag-fazı) gösterirler. Bu periyod boyunca, hücreler yeni ortamdan yararlanmak amacıyla fizyolojik durumlarını modifiye eder ve çoğalmaya başlarlar (Grady ve diğ., 1996). Yüksek amonyak konsantrasyonlarında anaerobik arıtma proseslerinde metanojenik aktivitenin geri dönmesi öncesinde sıklıkla bu adaptasyon periyodu olarak bahsedilen bir gecikme periyodu izlenir (Van Velsen, 1979; De Baere ve diğ., 1984). Aklımasyon süresi, yeni bakterinin oluşumundan çok, mevcut bakterinin metabolik değişimi için geçen süredir (Van Velsen, 1979; Bhattacharya ve Parkin, 1989; Lay ve diğ., 1998; Angelidaki ve Ahring, 1993; Koster, 1986).

Sprott ve Patel (1986) ise; bazı metanojenlerin yüksek amonyak konsantrasyonlarına direnmek için, bir adaptasyon periyoduna ihtiyaçları olmadığını, bazı duyarlı metanojenlerin genetik değişiklikler aracılığıyla adaptasyonu gerçekleştirebilecek olsa da, bir reaktörün geriye dönme periyodunun, çamurda zaten mevcut olan dirençli metanojenlerin seçimi için gerekli olan çoğalma periyodunu temsil etmesinin daha olası olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Amonyak toksisitesi genellikle, bir reaktörün ani organik aşırı yüklenmesinin bir sonucudur. Böyle bir durumda, artan amonyak yüküne karşı metanojenleri adapte etme ihtiyacı kaçınılmaz olur. Ani (şok) dozun şokuyla, aklımasyon şansı minimumdur. Bununla beraber, sürekli ilave yapılması ile TAN konsantrasyonu kademeli olarak arttırılarak bakterilerin aklime olmasına olanak tanınır (Bhattarya ve Parkin, 1989).

Metanojenlerin yüksek konsantrasyonlarda amonyağa alıştırılması bu mikroorganizmaların amonyağa karşı toleransını arttıracaktır. Yüksek TAN konsantrasyonlarına aklımasyon tüm metanojenik aktiviteyi azaltırken, metanojenlerin TAN ve pH değişimlerine toleransını arttırır (Sung ve Liu, 2003).

Van Velsen (1979) 1000 mg/l üzerindeki amonyak konsantrasyonlarında anaerobik arıtma prosesinin çalışabilmesi için, anaerobik mikroorganizmaların uzun süren bir adaptasyon periyodunda kademeli olarak arttırılan amonyak konsantrasyonuna

alıştırılması gerektiğini belirtmiştir. 815 mg/l TAN'a aklime edilmiş çürütülmüş evsel atıksu çamuru ve daha önceden 2420 mg/l TAN'a aklime edilmiş çürütülmüş domuz gübresi şeklinde iki metanojenik biyokütle tipi, artan amonyak konsantrasyonlarına farklı tepki göstermiştir. Atıksu çamuru biyokütlesinin 2360'dan 4990 mg/l'e kadar artan TAN düzeylerine adapte olması için 10 günden 40 güne kadar değişen kayda değer bir süre gerekli olmuşken, gübre biyokütlesi test edilen en yüksek düzey olan 3075 mg/l TAN'a kadar metan üretiminde gecikmeye neden olmamıştır.

Amonyaga adapte olmuş asetat kullanan metanojenlerin, 700 mgN/l'e kadar serbest amonyak konsantrasyonlarında çoğalabildikleri gösterilmiştir (Angelidaki ve Ahring, 1993), oysa adapte olmamış proseslerin başlangıç inhibisyonu için çok daha düşük serbest amonyak konsantrasyonları (100-150 mgN/l) bildirilmiştir (Braun ve diğ., 1981; De Baere ve diğ., 1984).

Sığır gübresinin termofilik anaerobik çürütülmesinde amonyanın inhibisyon etkisi, tek basamaklı bir artışın tersine, TAN konsantrasyonunun 3000'den 7000 mg/l'e kademeli olarak yükseltilmesi ile azaltılmıştır (Borja ve diğ., 1996). Hashimoto (1986) tarafından da benzer sonuçlar elde edilmiştir; bu çalışmada termofilik ve mezofilik koşullarda aklime olmamış biyokütle, sırasıyla 2380 mg/l (pH 7,33, SAN 209 mg/l) ve 2640 mg/l (pH 7,04, SAN 32 mg/l) TAN konsantrasyonlarında inhibe olmuşken, aklime edilmiş termofilik biyokütle, 4380 mg/l'e varan TAN (pH 7,33 SAN 384 mg/l) konsantrasyonlarında inhibe olmamıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki NaCl ve NH₄Cl'ün anaerobik arıtma sistemine birden verilmesi veya alıştırılarak verilmesi halinde metanojenlerin bu iki duruma toleransı karşılaştırıldığında büyük farklılıklar görülmüştür (De Baere ve diğ., 1984). Sodyum tuzu kullanılan deneylerdeki başlangıç inhibisyon eşiği, adapte olmuş biyokütle için, şoklanmış olanın iki katı kadar yüksek bulunmuştur. Aksine, atıksu çamuru çürütücüsünden alınan çoğunluğu *Methanosarcina* türünden (metanojenik biyokütlenin >% 99'u) oluşan karışık kültürler şok konsantrasyonlarda ya da kademeli olarak arttırılan düzeylerde amonyak yüküne maruz bırakıldığında, şok yükleme sırasındaki başlangıç inhibisyonu 8635 mg/l (pH 7,00, SAN 94 mg/l) TAN konsantrasyonunda ortaya çıkmıştır ki bu biyogaz üretiminde % 40 azalmaya neden olmuştur. Artan amonyak düzeylerine kademeli olarak aklimasyon, 7850 mg/l'lik benzer bir başlangıç inhibitör eşik değeri göstermiştir. Biyogaz üretiminde %50'lik

bir düşüş, şok yüklenmiş biyokütlede 11.776 mg/l (pH 6,8, SAN 81 mg/l) TAN konsantrasyonunda ve adapte olmuş metanojenik popülasyonda 9159 mg/l (pH 6,8, SAN 63 mg/l) konsantrasyonunda gözlemiştir.

McCarty ve McKinney (1961), asetat kullanan metanojenik biyokütle içeren kesikli reaktörlere şok miktarlarda beslenen Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , NH_4^+ 'nın klorür ve asetat tuzlarının etkisini incelemişlerdir. En kuvvetli toksik etkinin kullanılan tuzdan bağımsız olarak amonyum tuzlarından kaynaklandığı görülmüştür. NH_4Cl tuzu sistemde 2172 mg/l TAN'ı oluşturmuş ve metanojenler tarafından asetat substratı diğerlerine göre en uzun sürede kullanılmıştır. 2100 mg/l ve 3733 mg/l TAN düzeyleri oluşturmak için sisteme amonyum asetat tuzu eklenmiştir. Metan üretiminin inhibisyonundan hemen önce ilk TAN düzeyinde beslenen asetatın yarısı, ikinci düzeyde ise beslenen asetatın sadece %19'u kullanılmıştır. Şok miktarlarda verilen amonyum dışındaki katyonlara sistemin toleransı, amonyum tarafından oluşturulan farklı bir tip toksisiteyi çok daha iyi göstermiştir. Amonyum asetat tuzu kullanılarak, artan amonyak düzeylerine kademeli adaptasyon sırasında, başlangıç inhibisyon etkisi 933 mg/l kadar düşük TAN konsantrasyonlarında görülmüştür. Anlamlı bir inhibisyon, şoklanmış biyokütledeki en düşük NH_4Cl düzeyinde gözlemlenene benzer bir TAN düzeyinde, yaklaşık 2333 mg/l TAN konsantrasyonunda görülmüştür.

Orjinal TAN konsantrasyonu 1000 mg/l olan metanojenik granüler çamurun, üç farklı pH düzeyinde (7,0; 7,25 ve 7,6) ve bu pH değerlerine karşılık gelen 18, 33 ve 68 mg/l'lik maksimum serbest amonyak azotu konsantrasyonlarına adaptasyonu yaklaşık 60 gün sürmüştür (Koster, 1986). Adaptasyon sonrası, maksimum spesifik metanojenik aktivitenin, adaptasyon öncesi aktivitenin sırasıyla %64,8; 62,0 ve 31,2'si olarak belirlenmesi, metanojenik granüler çamurun adaptasyon periyodu sırasında serbest amonyak düzeyinden belirgin şekilde etkilendiğini göstermiştir. Biyokütlenin, başlangıçtaki toksisite eşik düzeyini aşan TAN konsantrasyonlarında metan üretme yeteneğini kazandığı adaptasyon işleminden sonra, tolere edilebilen maksimum TAN konsantrasyonunun başlangıçtaki toksisite eşik düzeyinden 6,2 kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Fakat en yüksek TAN konsantrasyonunda ortaya çıkan metanojenik aktivite, 1000 mg/l TAN konsantrasyonundaki başlangıç aktivitesinin sadece %5,3'ü ya da 2300 mg/l TAN'a başlangıç aklımasyonunu izleyen aktivitenin %8,7'si olduğu gözlenmiştir.

Bir deniz ürünü işleme endüstrisinden kaynaklanan atıksu ile yürütülen bir diğer çalışmada, 200 mg/l'den yüksek SAN konsantrasyonlarının bu atıksuyun anaerobik artılmasında ciddi inhibisyona neden olduğu belirtilmiştir (Omil ve diğ., 1995). Benzer bir çalışmada (Guerrero ve diğ., 1997), balık konserve endüstrisi atıksuyunun anaerobik artılmasında aklime edilmiş biyokütle kullanılmış, 350 mg/l SAN'da başlangıçta bile hiç amonyak inhibisyonu gözlenmemiştir.

2.4.9 Amonyak inhibisyonunun tersinebilirlik yapısı

Koster ve Lettinga (1988) tarafından yapılan bir çalışmada, üç hafta süreyle 9139 mg/l TAN (pH 7,4 SAN 175 mg/l; pH 7,68 SAN 327 mg/l)'a maruz bırakılan metanojenik granüler çamurda (%99<*Methanothrix*) amonyak toksisitesinin, reaktör içeriği seyreltildikten sonra tersinebilir olduğu gözlenmiştir. 5229 mg/l (pH 7,4-7,6) TAN konsantrasyonunda kaydedilen maksimum spesifik metanojenik aktivite, önceden şok etkiye maruz bırakılmayan benzer bir TAN yükünde işletilen diğer reaktördeki biyokütlenin aktivitesiyle (0,12 gr-KOI/gr-UKM.gün) aynı bulunmuştur.

De Baere ve diğ. (1984) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, metanojenik popülasyonun pH 7,0'de 8636 mg/l TAN (SAN 94 mg/l) ve pH 6,4'de 20.935 mg/l TAN (SAN 58 mg/l)'e kadar bir şok yükden sonra tamamen iyileşmesi, her şoktan sonra 1 gün içerisinde mümkün olmuştur. Biyokütle gözenekli bir ortam üzerinde sabitlendiğinden, iyileşme için TAN konsantrasyonunun azaltılması, düşük amonyak içerikli substrat (şok öncesi TAN konsantrasyonu) besleyerek ve konsantre olmuş atığı yıkayıp uzaklaştırarak kolaylıkla başarılabilmektedir. Yüksek amonyak konsantrasyonlarına kademeli olarak adapte edilen, fakat sonunda 18.318 mg/l TAN (pH 6,6 SAN 80 mg/l) konsantrasyonunda başarısızlığa uğrayan biyokütle tarafından gerçekleştirilen metan üretiminin tamamen geri dönmesi için 4 gün gibi daha uzun bir süre gerekmiştir.

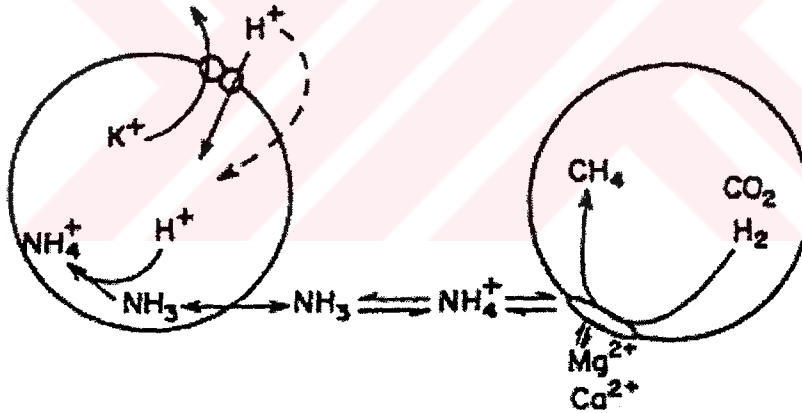
2.4.10 Saf kültürlerde amonyak inhibisyonu ve inhibisyon mekanizmaları

İnhibitör bileşikler, bir besin grubunun bir veya daha fazla üyesinin metabolik enzimleri ile girişim yapabilir, enerji metabolizması ile girişim yaparak çoğalma ve ATP üretimini engelleyebilir veya hücre membranı ile girişim yaparak hücre içi pH ya da tuz konsantrasyonlarında değişiklikler yaratabilirler (Gallert ve diğ., 1998).

Saf kültürler üzerinde yapılan çalışmalarda, metanojenlerin iki olası mekanizma ile amonyak tarafından inhibe edilebileceği belirtilmiştir (Sprott ve diğ., 1984; Sprott ve Patel, 1986).

1. Metan sentezi yapan enzim sistemi amonyak tarafından inhibe edilebilir.
2. Hidrofobik amonyak molekülü muhtemelen hücre içine pasif olarak diffüze olur. Hücre içersinde amonyak, hücre içi pH şartlarına göre hızla amonyuma dönüşür. Hücre içinde biriken amonyum, hücre içi pH'ı değiştirerek ya da potasyum iyonu (K^+) gibi diğer katyonların konsantrasyonlarını değiştirerek toksik olabilir.

Serbest amonyağın stoplazmaya pasif difüzyonu, NH_3/NH_4^+ dengesini kurmak için proton olarak hücre içi pH'nın değişmesine neden olur. Hücre içi pH'ı korumaya çalışmak için hücreler, proton alan sistemleri uyarır. Birçok metanojen bunu, stoplazmadaki potasyumu (K^+) hücre dışındaki protonlarla (H^+) değiştirerek yapar (Şekil 2.20).



Şekil 2.20 *M. Hungatei* hücreleri ile amonyağın iki farklı etkileşimini göstermek için öne sürülen model.

Metanojenlerin tamponlanmış süspansiyonuna NH_4Cl ilave edildiğinde, hücre içindeki potasyum konsantrasyonundaki azalma ile birlikte amonyum konsantrasyonundaki artış bu hipotezi desteklemektedir (Sprott ve Patel, 1986). Bu hipotez, amonyağın pasif difüzyonunun alkali pH'larda olduğu hipotezine (Sprott ve diğ., 1984) destek vermektedir.

Alkali pH'a sahip (iyonize olmamış amonyağın yüksek oranda bulunduğu) ortamda, stoplazmik pH'nın ortamın pH'na yaklaştığı, bu nedenle, amonyak toksisitesinin,

stoplazmik pH'nın organizmalar tarafından tolere edilebilecek pH değerlerinin üzerine çıktığı ortamda en akut olacağı belirtilmiştir (Sprott ve diğ., 1984).

Jarrell ve Saulnier (1987) tarafından metanojenik *Metahanospirillum hungatei*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanosarcina barkeri* ve *Methanobacterium thermoaurophicum*'un saf kültürlerine amonyak inhibisyonunun etkileri araştırılmıştır. *Metahanospirillum hungatei*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanosarcina barkeri* 37°C'de ve *Methanobacterium thermoaurophicum* 60°C'de çoğaltılmıştır. Bu kültürler tarafından metan üretim hızında %50'lik bir azalma sırasıyla 4200, 10.500, 11.900 ve 19.800 mg/l TAN konsantrasyonlarında belirlenmiştir. pH 6,5'ta bu TAN konsantrasyonlarına karşılık gelen SAN konsantrasyonları 17, 42, 48 ve 392 mg/l olarak hesaplanmıştır. 60°C'de çoğaltılmasına rağmen, en dayanıklı metanojen olan *Methanobacterium thermoaurophicum*' un 392 mg/l gibi yüksek bir SAN konsantrasyonundaki şaşırtıcı performansı dikkate değerdir; çünkü 37°C ile karşılaştırıldığında 60°C'de 5 kat daha yüksek TAN fraksiyonu mevcuttur. Ayrıca, bu koşullar altında orijinal hızın yarısındaki metan üretimi, zorunlu bir asetoklastik metanojen olan *Metahanothrix* türlerinin karışık kültürlerinde gözlemlenen değerlere yakındır (Koster, 1986). 4563 mg/l (pH 7,4-7,7; SAN 87-171 mg/l) TAN'da başlangıç aklımasyonunun ardından, metan üretiminde sadece % 35'lik bir azalma gözlemlenmiş olsa da, TAN'ın 4992 mg/l ve daha yüksek konsantrasyonlara yükselmesi metan üretiminde en az %65'lik bir azalmaya neden olmuştur.

Diğer bir çalışmada (Sprott ve diğ., 1986) metanojenik mikroorganizmaların *Methanobrevibacter smithii*, *Methanobrevibacter arboriphilus*, *Methanobacterium* G2R suşlarının, 5600 mg/l'e varan TAN konsantrasyonlarından (pH 7,0 SAN 61 mg/l) etkilenmedikleri görülmüştür. Aynı koşullarda *Metahanospirillum hungatei*'de metan sentezi tamamen inihibe olmuştur. *Metahanothrix concilii* (*Methanosaeta concilii*) için sadece 560 mg/l TAN'un (pH 7,5; SAN 19 mg/l) ciddi şekilde toksik etki yaptığı belirlenmiştir. Diğer bir duyarlı asetat kullanan metanojen olan *Methanosarcina barkeri* ile, yaklaşık 2800 mg/l TAN konsantrasyonunda (pH 7,0; SAN 30 mg/l) metan üretiminde yaklaşık %60'lık bir azalma gözlenmiştir. Metanojenler arasındaki amonyağa duyarlılıkları açısından mevcut olan bu farklılıklar, metan oluşumunun mümkün olduğu maksimum amonyak düzeyleriyle ilgili çelişkili raporlar verilmesine açıklık getirmektedir.

2.4.11 Amonyak inhibisyonunu azaltmak için uygulanan yöntemler

Serbest amonyağa bağlı inhibisyon, artan sıcaklıkla artar (Hansen ve diğ., 1998). Domuz gübresinin termofilik (55 °C) çürütülmesi sırasında bu etkiyi en aza indirmeyi amaçlayan bazı yöntemler test edilmiştir (Hansen ve diğ., 1999). Orijinal metan üretimi sadece 67 ml-CH₄/gr-UKM iken, sisteme ilave edilen %1,5 aktif karbon, %10 glauconite ya da iki bileşiğin bir kombinasyonu, metan üretiminde sırasıyla 126, 90 ve 195 ml-CH₄/gr-UKM bir artışa neden olmuştur. En yüksek metan üretimi, hiç ekleme olmaksızın 37°C'de çürütme sırasında gözlemlenene yakın bulunmuştur (Hansen ve diğ., 1998).

Hayvan gübresinin anaerobik çürütülmesi sırasında, sülfürün (H₂S) varlığına bağlı olarak ek bir inhibisyon potansiyeli vardır. 50 mg-S²⁻/l'ü aşan konsantrasyonlar, metan üretimini inhibe eder (Parkin ve diğ., 1990; McCartney ve Oleszkiewicz, 1993). Ayrıca, sülfat indirgeyen bakteriler, asetat ve H₂/CO₂ gibi substratlar için metanojenlerle yarışır. Hansen ve diğ. (1999) yaptıkları bir çalışmada, amonyak ve sülfatın varlığında metan üretiminin inhibisyonunu incelemişlerdir. Sülfür toksisitesi, alışılmış düzeyden çok daha düşük olan, 23 mg-S²⁻/l H₂S düzeyinde bulunmuştur. 52°C'de domuz gübresini çürüten biyokütleyle aktif karbon ve Fe²⁺ eklenmesi sülfürün toksik etkilerini azaltmış ve zorlanmamış biyokütledeki kadar yüksek metan üretimi göstermiştir.

Hansen ve diğ. (1999) bulgularının tersine Heinrichs ve diğ. (1990), SAN tarafından inhibe edilen kültürlerde, aktif sülfat indirgeyen bakterilerin ve sülfatın varlığında, metan üretiminde ve çözünebilir organik karbonun giderilmesinde belirgin artış olduğunu göstermiştir. Bu durum, sülfat indirgeyen bakteriler tarafından sülfatın varlığında, termodinamik açıdan daha tercih edilir bir şekilde propiyonatın, asetat kullanan metanojenler için inhibitör olmayan bir düzeye ayrıştırılması ile açıklanmıştır. Propiyonat birikimi, hidrojenotrofik metanojenlerin SAN inhibisyonundan kaynaklanan, hidrojen kısmi basıncının artmasının bir sonucudur (Wiegant ve Zeeman, 1986).

İyonize olmamış amonyağın inhibisyon etkisi, çamur yaşının da önemli bir fonksiyonudur. Amonyagın sürekli ilave edildiği yüksek çamur yaşına sahip sistemler, düşük çamur yaşına sahip sistemlere göre daha yüksek amonyak konsantrasyonlarını tolere edebilirler. Amonyagın şok dozlandığı sistemlerde ise,

düşük çamur yaşına sahip sistemler, yüksek çamur yaşına sahip sistemlerden daha avantajlıdır. Yüksek konsantrasyonda amonyanın sisteme şok dozlanması, bakteriyel aktiviteyi derhal durdurur. Düşük çamur yaşına sahip sistemlere verilen düşük konsantrasyonda şok dozlar, sistemin iyileşmesi için daha iyi bir değişim gösterir (Bhattacharya ve Parkin, 1989).

Toksik amonyak konsantrasyonları, sisteme zeolit gibi iyon değiştiricilerin ilavesiyle azaltılabilir. Sığır gübresiyle sürekli beslenen bir termofilik çürütücüye zeolit (%2 ağırlık/hacim) eklenmesi, inhibisyonun başlamasını geciktirmiştir ve başlangıç inhibisyonundan sonra metan oluşumunun geriye dönmesine (tekrar başlamasına) yardım etmiştir (Borja ve diğ., 1996). %10 (ağırlık/hacim) toz fosforit maden cevheri eklenmesi, daha önceden inhibe edilmiş olan, 7850 mg/l TAN'a kadar amonyak düzeylerinde çalışan kümes gübresi çürütücüsündeki metan üretimini arttırmıştır (Krylova ve diğ., 1997).

Anaerobik ayrışmayı stabilize etmek için Ca^{2+} , Mg^{2+} gibi antagonistik katyonlar eklenebilir (McCarty ve McKinney, 1961). Saf kültürler üzerine amonyanın inhibisyon etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, yüksek amonyaktan dolayı K^+ 'u tükenmiş *Methanospirillum hungatei* hücrelerinde metan sentezleme aktivitesi, tampona Ca^{2+} ya da Mg^{2+} eklenerek (Şekil 2.20) geri döndürülmüştür (Sprott ve diğ., 1984; Sprott ve Patel, 1986).

Ön ve aktif çamur son çökeltim çamurunun çürütülmesinde, çürütülmüş çamurun %35'lik bir geri çevrimi, çürütücüdeki amonyak azotu konsantrasyonunu 2700 mg/l'den 1700 mg/l'e düşürmüştür (Melbinger ve Donnelon, 1971).

Amonyak konsantrasyonunun yüksek olduğu tahmin edilen anaerobik reaktörlerin hızlı ve güvenilir bir şekilde işletmeye alınabilmesi için uygun aşının seçilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Van Velsen, 1979).

Yüksek konsantrasyonda amonyak içeren atıkların pH değerini reaktöre girmeden önce daha düşük serbest amonyak düzeyleri sağlamak amacıyla kontrol etmek, amonyak inhibisyon olasılığını azaltmak için çok önemlidir (Inanc ve diğ., 2000a).

Inanc ve diğ. (2000b), tutunarak çoğalan sistemlerin; anaerobik filtre ve hibrid yataklı reaktörlerin, UASB reaktörlere göre amonyak inhibisyonuna daha dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Bu durumun nedeni olarak, serbest amonyanın biyofilmlerin derinliklerine daha kısıtlı diffzyonu veya anaerobik filtre ve hibrid

yataklı reaktörlerde amonyağa dirençli metanojenlerin baskınlığı olabileceği öne sürülmüştür.

2.4.12 Moleküler mikrobiyoloji teknikleri

Mikroorganizmaların tanısında kullanılan klasik mikrobiyoloji teknikleri, seçici besiyeri üzerinde çoğaltma ve saflaştırma esasına dayanan kültür metotları, biyokimyasal testler, morfolojik ve bazı yapısal özelliklerin mikroskop altında incelenmesi gibi teknikler üzerine kurulmuştur. Yeryüzünde bulunan mikroorganizmaların sadece çok küçük bir bölümünün saf kültür olarak elde edilip çoğaltılabilmesi, klasik tanı tekniklerinin uygulanabilirliği için önemli bir sınırlamadır. Yapılan çalışmalarda, çevresel numunelerdeki bakterilerin sadece % 0.1-10'luk bir kısmının çoğaltılabildiği belirtilir (Amann ve diğ., 1990; Muyzer ve diğ., 1993; Hugenholtz ve diğ., 1998; Torsvik ve diğ., 1998).

Biyolojik arıtma tesislerindeki mikroorganizmaların klasik tanı yöntemleri kullanılarak araştırıldığı çalışmalarda, gerçekte arıtma prosesinde aktif rol almayan ya da etkisi çok az olan bazı mikroorganizma grupları baskın tür olarak tanımlanmıştır. Bunun sebebi, kullanılan besiyerinde sadece ortama uyum sağlayan ve yüksek çoğalma hızına sahip türlerin üremesi, diğerlerinin ise çoğalamamasıdır. Bu nedenle, yapay besiyeri üzerinde çoğaltılamayan ya da sintrofik etkileşimler sebebiyle saflaştırılamayan türleri de kapsayan gerçek bir popülasyon dağılımı elde edebilmek için mikroorganizmaları kendi doğal ortamlarında tanımlamak gerekir (Rittmann ve McCarty, 2001). Özellikle, oksijen'e hassasiyetleri sebebiyle anaerobik çalışma koşulları gerektiren ve bazı türleri besi yeri üzerinde ancak 5-6 ayda çoğalan metanojenlerin tanısı için klasik mikrobiyoloji yöntemleri uygun değildir.

Son yıllarda mikroorganizmaların tanısında morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerin yanında moleküler mikrobiyoloji teknikleri de kullanılmaktadır. Bu sayede, mikroorganizmalar yapay ortamlarda çoğaltılmadan, kendi sistemleri içinde, en uygun şartlar altında incelenebilir (Grosskopf ve diğ., 1998; Oude Elferink ve diğ., 1998).

DNA saflaştırma, çoğaltma ve dizi analizi tekniklerindeki gelişmelere paralel olarak, ribozomal RNA'nın (rRNA) ya da ribozomal DNA (rDNA) geninin dizi analizi, 16S ve 23S rRNA'nın evrimsel işaretleyiciler olarak kullanılabileceğini ortaya çıkarmıştır. Bu sayede, özellikle son 10 yılda, rRNA/rDNA bazlı moleküler metotlar

kompleks mikrobiyal popülasyonların genetik çeşitliliğinin tespitinde oldukça önemli hale gelmiştir. (Stams ve Oude Elferink, 1997; Oude Elferink ve diğ., 1998).

Nükleik asit veri tabanlarına girilen 16S rRNA dizilerinin günden güne artmasıyla, 16S rRNA bazlı moleküler mikrobiyoloji teknikleri, mikroorganizma türlerinin tanımlanmasında ve analizinde önemli bir araç haline gelmiştir. Bu teknikler, biyolojik arıtma alanında, reaktörü tasarlayan ve işleten mühendisler ile arıtma mikroorganizmalarını inceleyen mikrobiyologlar arasındaki boşluğu kapatan bir köprü vazifesi görür ve biyolojik arıtmanın verimini geliştirmek için etkileşimli bir iletişim sağlar (Sekiguchi ve diğ., 2001).

Mikroorganizmaların tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için birçok farklı rRNA bazlı teknik geliştirilmiştir (Oude Elferink ve diğ., 1998). Flüoresan boyalar ile işaretlenmiş oligonükleotitler kullanılarak yapılan floresanlı yerinde hibritleşme (FISH) tekniği bu teknikler içinde en yaygın olarak kullanılanlardan biridir (Manz ve diğ., 1994; Raskin ve diğ., 1994; Rocheleau ve diğ., 1999; Sekiguchi ve diğ., 1999).

Floresanlı yerinde hibritleşme (FISH) tekniği 20-25 bazdan oluşan ve bir flüoresan boya ile işaretlenmiş oligonükleotitin hücre içine sokularak rRNA ile uygun koşullar altında hibridizasyonu prensibine dayanır. Flüoresan boyalı oligonükleotitler ile hibridize olan rRNA'lar bulundukları mikroorganizmanın flüoresan mikroskop altında görüntülenebilmesini sağlar.

FISH tekniğinin diğer tekniklere kıyasla en büyük avantajı, kullanılan oligonükleotitlerin özgünlüğünün kontrol edilebilmesidir. Mikroorganizmaları grup ya da cins seviyesinde tanımlamakta kullanılan genel kapsamlı oligonükleotitler, 16S rRNA üzerinde iyi muhafaza edilmiş bölgelere göre, tür seviyesinde tanımlar için kullanılan özel oligonükleotitler ise değişken bölgeler hedef alınarak tasarlanır.

Literatürde, anaerobik reaktörlerdeki mikroorganizma gruplarının FISH tekniği kullanılarak incelendiği bir çok çalışma vardır (Raskin ve diğ., 1994; Sorensen ve diğ., 1997; Rocheleau ve diğ., 1999; Sekiguchi ve diğ., 1999). Farklı flüoresan boyalar ile işaretlenmiş oligonükleotitler kullanıldığı takdirde FISH tekniği ile mikroorganizma dağılımı miktarsal olarak tespit edilebilmekte, ayrıca işlevsel etkileşimde bulunan mikroorganizmalar, konumsal olarak da incelenebilmektedir (Raskin ve diğ., 1994; Harmsen ve diğ., 1996; Tagawa ve diğ., 2000).

FISH tekniğinin uygulanmasında en çok vakit alan aşama, uygun oligonükleotitlerin tasarlandığı ve özgünlüklerinin incelendiği aşamadır. Uygun ve test edilmiş oligonükleotit sayısı arttıkça anaerobik reaktörlerdeki mikrobiyal dağılımın tespit edildiği detaylı çalışmalar çoğalmaktadır (Rocheleau ve diğ., 1999; Sekiguchi ve diğ., 1999; Ficker ve diğ., 1999; Angenent ve diğ., 2002; Calli ve diğ., 2003).

2.4.13 Metanojenik aktivite testleri ile inhibisyonun belirlenmesi

Anaerobik arıtma sistemleri, işletilmesi için gereken enerjiden çok daha fazla enerjiyi metan gazı oluşumu ile sağladığından aerobik arıtma proseslerine göre çok daha avantajlıdır. Fakat, çoğu atıkların biyolojik olarak ayrıştırılamaması ve aynı zamanda metanojenlere toksik etki yapabilen maddeler içermesi anaerobik arıtma verimi ve proses güvenilirliği üzerinde şüphelerin doğmasına neden olmuştur. Anaerobik proseslerin stabil çalışmasını sağlamak için pH, alkalinite, organik madde giderimi, gaz üretimi ve gaz kompozisyonu, mezofilik veya termofilik duruma bağlı olarak uygun stabil bir sıcaklığın korunması gibi parametrelerin dikkatle ölçülmesi gerekir. Fakat bu parametreler sadece reaktör içinde oluşan durumlar hakkında bilgi verir. Bu nedenle, anaerobik arıtma proseslerine beslenen kaynaklardaki bileşenlerin olası toksik etkisini ve rölatif biyolojik olarak ayrışabilirliğini izlemek için basit ve ucuz yöntemlere ihtiyaç duyulmuş ve kesikli anaerobik biyodeneş tekniği geliştirilmiştir (Owen ve diğ., 1979). Biyolojik deney uygulamaları ile genellikle, proses dengesizliğine toksik maddelerin neden olup olmadığı belirlenebilir ve karasızlığa neden olan maddelerin toksisite eşik değerleri saptanabilir (Stuckey ve diğ., 1980). Bu deneylerde sürekli (veya yarı sürekli) ve kesikli besleme teknikleri kullanılmıştır. Sürekli besleme teknikleri tamamen tam ölçekli anaerobik arıtma sürecinin aynısıdır fakat, ekipman, zaman ve personel açısından pahalı sistemlerdir. Kesikli biyodeneş tekniklerinde bu sınırlandırmalar olmaksızın değişkenlerin geniş bir aralığını taramak mümkündür. Kesikli teknikler şok yüklemelerin etkisi belirleyebilir ama genelde gerçek sistemlerin etkilerini yansıtmazlar. Fakat bu sistemler, önemli değişkenleri belirlemek ve etkili bir sürekli besleme deney programını oluşturmakta çok kullanılırlar.

Çamur aktivite testi genellikle, çamurun önceden belirlenmiş miktarı için, besin olarak verilen sabit bir substrat miktarı kullanılarak kesikli deneylerle gerçekleştirilir. Spesifik çamur aktivitesi, metan üretim hızı veya substrat tüketim hızı ile mevcut

çamur miktarı yardımıyla belirlenir (Soto ve diğ., 1993). Anaerobik bir sistemin metanojenik aktivitesi metanojenlere ve bu mikroorganizmalar tarafından metana dönüştürülen substratların varlığına bağlıdır. Anaerobik çamur gibi doğal bir ortamın potansiyel metanojenik aktivitesini tahmin edebilmek için ortamda substratın aşırısı olmalı (substrat kısıtlı olmamalı) ve üretilen metan ölçülebilmelidir. Biyokütlenin potansiyel spesifik metanojenik aktivite ölçümünün güvenilir olması için metan üretiminin çamur miktarına bağlı olarak belirlenmesi gerekir. Çoğalma ortamının bileşimi biyokütlenin potansiyel metanojenik aktivitesini etkiler. Metanojenik aktivite testi toksik veya inhibitör bileşiklerin metabolik gruplar üzerindeki etkisinin değerlendirilebileceği çok kullanışlı bir yöntemdir. Ayrıca, çeşitli çevresel faktörlerin etkisi de kolaylıkla belirlenebilir (Dolfing ve Bloemen, 1985).

Metanojenik aktivite, genellikle kapatılmış anaerobik şişelerdeki belirlenmiş bir metanojenik substrat ile inkübe edilmiş uçucu askıda katıların veya biyokütle miktarı ile rölatif üretilen metan miktarının ölçülmesi ile izlenir. Mevcut metotlarda metan üretim hızı, sıvının yer değiştirme metodu ile veya şırıngalar yardımıyla şişelerin boşluk kısmından alınan gaz numunesinin metan içeriğinin gaz kromatografik analizinin gerçekleştirilmesi ile izlenir (Concannon ve diğ., 1988). Metanojenik aktivite ölçümü, anaerobik arıtma prosesinde aşı olarak kullanılacak çamurun seçimine imkan sağlar, ayrı ayrı aktivitenin saptanması ise prosesin farklı adımlarının rölatif öneminin saptanması ve farklı bakteriyal türler arasında oluşabilecek dengesizliklerin ortaya çıkmasını mümkün kılar.

Anaerobik reaktörlerdeki metanojenlerin aktivitesini saptamak için çeşitli araştırmacılar tarafından farklı metotlar geliştirilmiştir. Bu metotların bazıları Tablo 2.12’de verilmiştir ve aşağıda açıklanmıştır.

Doğrudan metan ölçümleri, alkali çözelti (özellikle NaOH) ile doldurulmuş Mariotte şişeleri kullanılmak suretiyle yapılabilir (Valcke ve Verstraete, 1983; Field ve diğ., 1988). Bu prensibe dayanan metotlar çok basittir. Fakat bu metotta çok fazla numune hacmine gerek duyulur (500 ml’den fazla). Bu nedenle, laboratuvar çalışmalarında kullanılması çok kullanışlı değildir. Çalışma hacmini azaltmak ve proses takibini otomize etmek için birkaç çözüm önerilmiştir. Gazın şırınga ile ölçümü (Owen ve diğ., 1979) veya basınç transdüseri (Shelton ve Tiedge, 1984) ile ölçülmesi minimum 100 ml’ye kadar çürütücü hacmini düşürebilir. Fakat, bu metotlar sadece toplam gaz üretimini verir. Bazı durumlarda metan içeriği şişenin boşluk kısmından alınan gazın

gaz kromatografi analiziyle saptanabilir (Soto ve diğ., 1993). James ve diğ.0 (1990); Warburg respirometresini modifiye ederek çürütücü hacmini 45 ml'e kadar düşürerek metanojenik aktiviteyi belirlemişlerdir. Aktivite ayrıca, substrat tüketiminin saptanmasıyla da belirlenebilir (Van der Berg, 1977).

Tablo 2.12 Metanojenik aktivitenin belirlenmesinde kullanılan deneysel şartlar (Soto ve diğ., 1993)

Hacim (kullanılan hacim), ml	Aşı miktarı (grUAKM/L)	Substrat* (g/L)	İzleme	Referans
50 (30)	%10 Hacim ($\approx 0,20$)	AA (2,70)	Substrat, %CH ₄	Van den Berg (1977)
125 (100)	%10 Hacim	AA, PA	Şırınga yer değiştirme	Owen ve diğ. (1979)
2000 (1000)	(5,0)	AA	Alkali Mariotte şişesi	Valcke ve Verstraete (1983)
160 (125)	%10 Hacim	0,05 gTOK/l	Basınç transdüseri + %CH ₄	Shelton ve Tiedje (1984)
130 (50)	(0,8-8,0)	AA, AA+PA H ₂ /CO ₂	Şırınga (%CH ₄)	Dolfing (1985)
- (5000)	(1,5-3,0)	AA+PA +BA (0,6+0,6+0,6)	Alkali Mariotte şişesi	De Jong (1986)
120 (50)	%100 Hacim	AA+PA (1,5+0,5)	Basınç transdüseri	Bonastre ve diğ. (1987)
20 (10)	(3-4)	AA+PA (1,85)	Basınç transdüseri	Concannon ve diğ. (1988)
1160 (500)	(0,27-5,12)	AA (0,12-0,6)	Şırınga (%CH ₄)	Rinzema (1988)
500-1500 (>%90)	(1-5)	AA+PA +BA (0,6+0,6+0,6)	Alkali Mariotte şişesi	Field ve diğ. (1988)
2500 (1500)	(2,3)	AA+PA +BA (0,6+0,6+0,6)	Asit çözeltisi ile yer değiştirme + %CH ₄	Tomas (1988)
500 (450)	(<1)	AA (3-4)	Monometrik ölçüm	Chiang ve Dague (1989)
45 (35)	(2,5)	AA (0,6-5)	Warburg respirometresi	James ve diğ. (1990)

* AA: Asetik Asit; BA: Bütirik Asit; PA: Propiyonik Asit

Anaerobik biyolojik aktivite üzerine toksisite etkisini belirlemek için serum şişelerinin kullanımı Owen ve diğ. (1979) tarafından başlatılmıştır. Bu araştırmacıların uyguladıkları metot, kapatılmış şişelerde inkübe edilmiş anaerobik

aşıya, test edilecek kimyasalların ilavesi sonrası üretilen gaz hacminin ölçümüne dayanır. Gaz hacmi, artan gaz hacmi ile şırınga pistonunun yer değiştirmesi tekniğiyle ölçülür (Shelton ve Tiedje, 1984). Kesikli bir sistem olarak, aerobik sistemlerde toksisiteyi ve biyolojik olarak ayrışabilirliği belirlemek için kullanılan Warburg respirometresi, aynı zamanda benzer analizler için anaerobik arıtma proseslerine de uygulanmıştır (Kugelman ve McCarty, 1965). Fakat, Warburg respirometresinin sınırlayıcı özelliklerinden (bir kerede analiz edilecek numune sayısının sınırlı olması, düzeneğin pahalı olması, numune miktarının sınırlı olması, deney boyunca sıvı ve gaz fazından numune almanın zorluğu gibi) dolayı anaerobik Warburg için geliştirilen teori ve prosedürler serum şişesi teknikleri ile birleştirilmiştir (Miller ve Wolin, 1974). Bu yöntemde, numuneleri, belirlenen ortamı ve aşırı içeren anaerobik serum şişeleri istenilen sıcaklıkta inkübe edilebilir ve her serum şişesinde üretilen gaz şırınga metodu kullanılarak izlenebilir. Ayrıca, sıvı ve gaz fazlarından analiz yapmak üzere şırınga ile periyodik olarak numune alınabilir. Serum şişelerine eklenen numuneden dolayı oluşan inhibisyon, aktif bir kontrole (inhibe edici madde içermeyen) göre gaz üretim hızındaki azalma olarak belirlenir. Serum şişesi anaerobik toksisite deneyi, metanojenler üzerine belirli kimyasalların etkilerinin saptanmasında kullanılan basit bir tekniktir. Bu teknik, pH kontrolü için ekipmana ihtiyaç duyulmadan sabit pH'da testin yürütülmesine imkan tanır (Koster ve diğ., 1986).

Anaerobik toksisite deneyi (ATA), durgun inkübasyon şartlarında yürütülür. Fakat, karıştırma yapılmadığında partiküler maddelerin ve mikroorganizmaların hemen hepsinin çökerek deney şişelerinin dibinde yoğunlaşması, çalkalama gerektirebilir. Bir maddeyi test etmek için deney konsantrasyonları, inhibitör olmayacak konsantrasyonlarla şiddetli toksik etki gösterecek konsantrasyon aralığında seçilir. Genelde, bir madde için 3 kontrolle beraber 5 ila 10 deney konsantrasyonu seçilebilir. Tüm serum şişeleri toplam 50 ml deney hacmi içerir. Dengeleme ve sıfırlama sonrası deney başlatılır. Gaz üretimi günde bir veya iki kez ölçülür. Bu metotla çeşitli değişkenler incelenebilir ve sonuçlar proses verimini belirleme de kullanılan mühendislik terimleriyle ifade edilebilir. Uygulanan işlemler, belirlenen deneysel çalışmalar haricinde tamamen esnek sayılabilen temel çalışmalardır. Örneğin, deneylerde hem sıvı hem gaz fazı izlenebilir. Bu yolla substrat kullanımı ve

ara ürün oluşumunu aynı anda izlemek mümkündür. Bu olanaklar toksisite etkisi ve sebebini tayin etmekte önemli hususlardır (Owen ve diğ., 1979).

İnhibitör içeren numunelerden üretilen gazın miktarında ve üretim hızında kontrole göre bir azalma, inhibisyonun göstergesidir. İnhibisyon, belirli bir zaman periyodunda kontrole göre mikrobiyal aktivitede %50 azalmaya neden olan inhibitör madde konsantrasyonunun saptanmasıyla ölçülebilir ve %50 inhibisyon (IC_{50}) olarak belirtilir (Stuckey ve diğ., 1980).

Kesikli toksisite eşik değeri, anaerobik arıtma proseslerinde toksik madde eşik değerini önceden tahmin etmekte yardımcı olur. Aynı zamanda, kesikli toksisite uygulamasıyla anaerobik prosese şok dozda verilen bir maddenin zararlı etkisine neden olacak konsantrasyonunu belirlemek de mümkündür. Kesikli anaerobik toksisite deneyleri tekrarlanabilirliği yüksek olan sistemlerdir (Stuckey ve diğ., 1980).

2.4.14 Amonyak inhibisyon çalışmalarında kullanılan metanojenik aktivite test düzenekleri

Metanojenlerin spesifik çoğalma hızlarının ölçülmesi amonyak inhibisyonu doğasının anlaşılması bakımından önemli bilgiler sağlayabilir (Wiegant ve Zeeman, 1986).

Literatürde amonyak inhibisyonun araştırıldığı çalışmalarda kullanılan metanojenik aktivite test uygulamaları ve şartları Tablo 2.13’de verilmiştir.

Tablo 2.13 Amonyak inhibisyon çalışmalarında metanojenik aktivitenin belirlenmesinde kullanılan deneysel şartlar

Hacim (kullanılan hacim), ml	Aşı miktarı	Substrat*	İzleme #	Referans
320 (250)	20 ml	AA (2,0 gr/l)	NaOH çözeltisi ile yer değiştirme G.C. (%CH ₄)	Wiegant ve Zeeman (1986)
470 (300)	10 ml	CO ₂ /H ₂ (20:80, h/h)		Koster ve Lettinga (1988)
4500	19 gr	Patates işletmesi atıksuyu (54 gr-KOI/l)	NaOH çözeltisi ile yer değiştirme	Sung ve Liu (2003)
250 (100)	belirlenmemiş	AA (1,8 gr-KOI/l)	Şırınga pistonunun yer değiştirmesi, G.C. (%CH ₄)	Lay ve diğ. (1998)
120 (80)	40 gr	Çamur keki	Şırınga pistonunun yer değiştirmesi G.C. (%CH ₄)	Sprott ve Patel (1986)
60	5 ml	1-AA (10mM)		
		2-CO ₂ /H ₂ (20:80, h/h)		
1-58	1-12 ml	1-Sığır+Domuz güb. kar. (8,0 ml)	G.C. (%CH ₄ +UYA)	Hansen ve diğ. (1998)
2-118	2-6 ml	2-Domuz güb. (6 ml)		
3-118	3-20 ml	3-CO ₂ /H ₂ (20:80, h/h)		
160 (90)	40 ml	1-AA (1,0 gr/l)	Basınç transdüseri	Heinrichs ve diğ. (1990)
	12,32 gr UAKM/l	2-PA (0,97 gr/l)	G.C. (%CH ₄ +UYA)	
		3-AA+PA (0,76+0,560 gr/l)		
		4-AA+PA+Na ₂ SO ₄		
		(0,76+0,560+0,5 gr/l)		
		5-Laktik asit+ Na ₂ SO ₄ (1,310+0,5 gr/l)		
100 (60)	12 ml	Sodyum asetat (2,733 gr/l)	Şırınga pistonunun yer değiştirmesi G.C. (%CH ₄ +UYA)	Poggi-Varaldo ve diğ. (1991)
4000 (3000)	belirlenmemiş	AA+PA +BA (1,333+1,333+1,333 gr/l)	NaOH çözeltisi ile yer değiştirme	Koster ve Lettinga (1984)
500 (400)	50 ml	Sodyum asetat (50mM)	G.C. (%CH ₄ +UYA)	Blomgren ve diğ. (1990)
120 (50)	5 ml	Glikoz (4,5 mM)	G.C. (%CH ₄ +UYA)	Gallert ve Winter (1997)
60 (20)	%25 Hacim	1-AA (30mM)	G.C. (%CH ₄ +UYA)	Borja ve diğ. (1996)
		2-CO ₂ /H ₂ (20:80, h/h)		
58 (21)	%25 Hacim	1-AA (30mM)	G.C. (%CH ₄ +UYA)	Angelidaki ve Ahning (1993)
1000 (1000)	250 ml	2-CO ₂ /H ₂ (20:80, h/h)		Van Velsen (1979)
		AA+PA+BA		
		(1,2+0,7+0,4 gr/l)	Tuzlu su ile yer değiştirme (%CH ₄ +UYA)	

*AA: Asetik Asit; BA: Butirik Asit; PA: Propiyonik Asit, # G.C. Gaz Kromatografisi, UYA: Uçucu Yağ Asitleri

G.C.: Gaz Kromatografisi, UYA: Uçucu Yağ Asitleri

3. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde inhibisyon deneylerinin gerçekleştirildiği deney düzeneği, deneylerde kullanılan sentetik atık ve aşı çamuru özellikleri ile parametreler ve analiz yöntemleri verilmiştir.

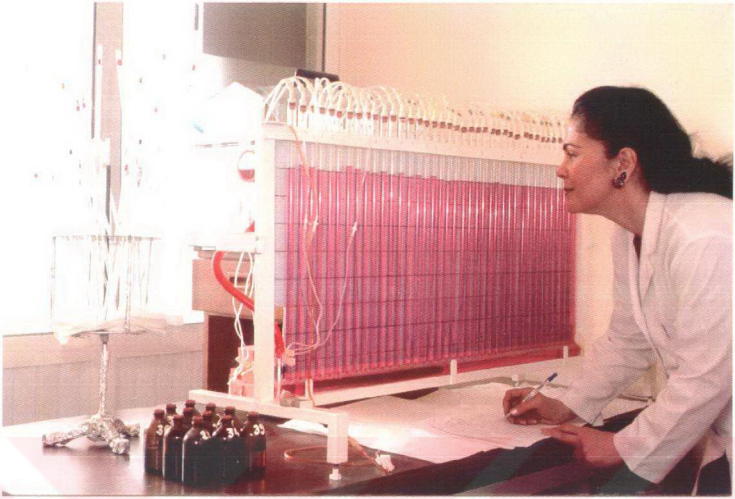
3.1 Deney Düzeneğinin Tanımlanması

Metanojenik aktivite testinde, kesikli tip reaktörler olarak 100 ml hacime sahip serum şişeleri kullanılmıştır. Biyokütle tarafından üretilen biyogazın ölçümü su deplasmanı metoduna dayanan bir manometre düzeneği ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, herbiri birbiriyle bağlantılı 39 tüp ihtiva eden 2 manometre düzeneği kullanılmıştır. Manometre düzeneği tuzlu su (%40 NaCl) ile doldurulmuştur. Tuzlu su çözeltisinin pH'ı biyogazdaki mevcut CO₂'in çözünmesini önlemek için 1+1'lik HCl ile pH 2'ye ayarlanmıştır.

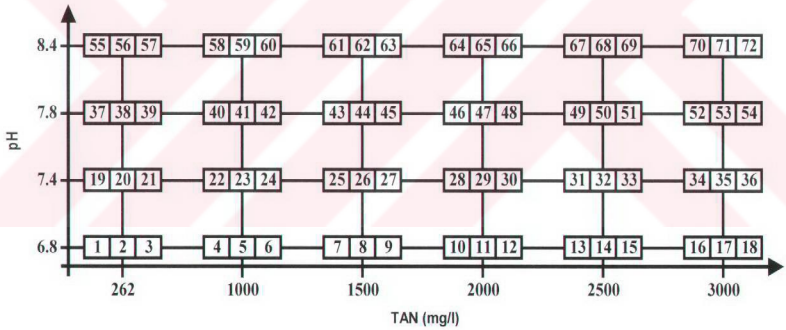
Serum şişeleri, manometre tüplerine klipsli serum hortumu ile bağlanmıştır. Her serum şişesi için bir manometre tüpü kullanılmıştır. Serum şişelerinde biyokütle tarafından üretilen toplam gaz hacmi, şişedeki fazla basıncın yol açtığı manometre tüpündeki su seviyesi alçalmasının belirlenmesi yoluyla ölçülmüştür (Şekil 3.1). Serum şişelerinde 50 ml'lik hacimlerde çalışılmıştır. Şekil 3.2'de deneysel çalışmada kullanılan matris verilmiştir. Denenecek her bir koşul için üç serum şişesi ve ayrıca herhangi bir inhibe edici madde içermeyen üç serum şişesi kontrol amaçlı kullanılmıştır.

3.1.1 Seyreltme çözeltisinin hazırlanması ve transfer reaktörüne ilavesi

Deneysel çalışmalar, anaerobik mikroorganizmaların optimal gelişimi için gerekli olan N ve P gibi makro nütrientlerin yanında Na, K, Mg, Fe, S, Ni, Ca, Mo gibi iz elementleri içeren nütrient çözeltisine, karbon kaynağı olarak asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit karışımı (1000 mg/l KOİ konsantrasyonunun %70'i asetik asit, %15'i bütirik asit, %15'i propiyonik asitten karşılanmıştır) eklenerek hazırlanan sentetik atıksu ile yapılmıştır.



Şekil 3.1. Çoklu manometre düzeneği



Şekil 3.2 Çalışmanın deneysel plan matrisi

Seyreltme suyunun kimyasal içeriği Tablo 3.1’de verilmiştir. Farklı KOİ konsantrasyonlarındaki atıksulara ait iz element ihtiyacı Weiland ve Rozzi tarafından 1991 yılında yapılan çalışmada Tablo 3.2’de görüldüğü gibi belirlenmiştir. İlgili çalışma göz önünde bulundurularak $\text{Fe}^{2+} = 0,5 \text{ mg/l}$, $\text{Ni}^{2+} = 0,05 \text{ mg/l}$, $\text{Co}^{2+} = 0,05 \text{ mg/l}$, $\text{Mo}^{2+} = 0,01 \text{ mg/l}$ olacak şekilde kullanılacak iz element çözeltisi içeriği Tablo 3.3’teki gibi belirlenmiştir.

Tablo 3.1 Seyreltme suyunun kimyasal içeriği (Valcke ve Verstraete, 1983)

Kimyasal Madde	Konsantrasyon mg/l
NH_4Cl	1000
K_2HPO_4	763,35
KH_2PO_4	2500
$\text{Na}_2\text{S} \cdot \text{XH}_2\text{O}$	100
Maya ekstresi	200

Tablo 3.2 Farklı KOİ konsantrasyonlardaki atıksuların iz element ihtiyacı (Weiland ve Rozzi,1991)

Atıksudaki KOİ konsantrasyonu (mg/l)	Konsantrasyon aralığı (mg/l)			
	Fe^{2+}	Ni^{2+}	Co^{2+}	Mo^{2+}
10,000	0,5-20	0,05-3	0,05-2	0,01 – 0,05
50,000	3 -100	0,3-15	0,3 - 10	0,05 – 0,2

Tablo 3.3 Çalışmada kullanılan iz element çözeltisi

Kimyasal Madde	Konsantrasyon mg/l
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,776
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,2024
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,2018
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,0252

Tablo 3.1 ve Tablo 3.3’de belirtilen kimyasallardan stok çözelti hazırlanmış ve içeriği Tablo 3.4’de verilen içme suyuna belirtilen konsantrasyonları sağlayacak şekilde ilave edilmiştir. Seyreltme suyunun hacmi her serum şişesine 50 ml seyreltme çözeltisi ilave edileceği göz önüne alınarak belirlenmiştir.

Seyreltme çözeltisinin (biyokütle + substrat + nütrient) serum şişelerine kısa sürede homojen ve anaerobik ortamda transferini sağlamak için toplam hacmi 4 litre olan transfer reaktörü kullanılmıştır.

Transfer reaktörü, tabandan itibaren 3,4 cm yükseklikte (seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferinde peristaltik pompanın giriş hortumunun bağlandığı) ¼’lük vana, üst kapak bölümünde pH düzeltmesini yapabilmek, substrat ve inhibe edici maddeyi enjeksiyon yoluyla verebilmek için 3 adet lastik tıpa, transfer sırasında

reaktör içinde anaerobik ortamı korumak için azot gazı ile doldurulmuş balonun takıldığı ¼'lük vana ihtiva etmektedir (Şekil 3.3).

Tablo 3.4 İçme suyunun içeriği

Ca ⁺²	51 mg/l	Cl ⁻	2,9 mg/l
Mg ⁺²	9 mg/l	NO ₃ ⁻	3,4 mg/l
Na ⁺	2,3 mg/l	SO ₄ ⁼	8,2 mg/l
K ⁺	0,4 mg/l	HCO ₃ ⁻	179 mg/l



Şekil 3.3 Seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transfer düzeneği

Substrat hariç seyreltme suyu ile 3-4 kez yıkanan biyokütlede AKM-UAKM değerleri belirlenmiştir. Biyokütlenin seyreltme çözeltisinde 2000 mgUAKM/L (Inanc ve diğ., 2002) sağlayacak miktarı ve seyreltme suyu transfer reaktörüne ilave edilmiştir. Seyreltme çözeltisinin pH'ı istenilen değere getirildikten sonra seyreltme çözeltisini içeren transfer reaktörü 37±1⁰C'de inkübatörde 12 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, KOİ konsantrasyonunun %70'i asetik asitten, %15'i propiyonik asitten, %15'i bütirik asitten karşılanacak şekilde oluşturulan stok substrat çözeltisinin (Tablo 3.5) seyreltme çözeltisinde 1000 mgKOİ/L sağlayacak miktarı bir enjektör yardımıyla transfer reaktörüne ilave edilmiştir. pH değeri transfer reaktörüne bağlanan pH probu ile sürekli olarak izlenmiş ve gerekirse pH değeri 8N

NaOH veya 1N HCl ile istenilen değere ayarlanmıştır. Transfer reaktörüne tüm ilaveler azot gazı altında yapılmıştır.

Tablo 3.5 Stok substrat çözeltisinin içeriği *

Kimyasal	Miktar (ml/100ml)
CH ₃ COOH	62.5
CH ₃ CH ₂ COOH	10.1
CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	8.8

* Stok substrat çözeltisinin 1 ml'si seyreltme suyunun 1 lt'ine ilave edildiğinde 1000 mg/l KOİ konsantrasyonu sağlamaktadır.

3.1.2 Serum şişelerine seyreltme çözeltisinin transferi

Seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferi öncesi, serum şişeleri 2 dakika azot gazı ile yıkanmıştır. Aşı, substrat ve nutrientleri ihtiva eden çözeltinin serum şişelerine, kısa sürede homojen ve anaerobik ortamda transferi için otomatik olarak istenilen hacimde dozlama yapabilen peristaltik pompa, magnetik karıştırıcı ve azot gazı kullanılmıştır. Peristaltik pompa ile seyreltme çözeltisi, transfer reaktöründen her serum şişesine 50 ml eşit hacimlerde dağıtılmıştır. Transfer reaktörü, her serum şişesine seyreltme çözeltisini homojen olarak dağıtmak için magnetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Azot gazı transfer sırasında oksijen girişini önlemek amacıyla kullanılmıştır. Denenecek her koşul için 6 serum şişesi kullanılmıştır. Seyreltme çözeltisinin ilk 50 ml'si, bir önceki transferden peristaltik pompanın ara hatlarında kalabilecek, farklı inhibe edici madde konsantrasyonundaki çözeltiyi bertaraf etmek için atılmış, üç serum şişesine transfer edilen çözelti $t = t_0$ anındaki pH, Çözünmüş Organik Karbon, Alkalinite, Askıda Katı Madde, Uçucu Askıda Katı Madde, Uçucu Yağ Asitleri ve Toplam Amonyak Azotu parametrelerinin başlangıç değerlerini saptamak üzere ayrılmış, son üç serum şişesi inhibisyon deneyinde kullanılmıştır. Seyreltme çözeltisinin azot gazı altında serum şişelerine transferi Şekil 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.4 Seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferi

Kontrol amaçlı çözeltinin serum şişelerine transferi sonrası, transfer reaktöründe kalan çözeltinin hacmine göre hesaplanan inhibe edici madde miktarı transfer reaktörünün üst bölümündeki lastik tıpadan anaerobik şartlarda enjekte edilmiş ve her ilave sonrası pH kontrolü yapılarak pH'nın istenilen değerde sabit tutulması sağlanmıştır. Transfer reaktörlerinde TAN konsantrasyonları bu şekilde adım adım artırılarak her pH/TAN kombinasyonları oluşturulmuştur. Gereken durumlarda pH düzeltilmesi 8N NaOH (veya 1N HCl) ile yine transfer reaktörünün üst bölümünde yer alan lastik tıpadan enjeksiyon yoluyla yapılmıştır. Bu şekilde her transfer reaktöründen aynı pH'da altı farklı konsantrasyonda inhibe edici maddeyi (TAN) içeren çözeltiyi anaerobik şartlarda serum şişelerine transfer etmek mümkün olmuştur.

3.1.3 Numune alma ve izleme

Her 50 ml çözeltinin anaerobik şartlarda serum şişelerine transferi sonrası şişelerden, 10 saniye azot gazı geçirilip ağızları lastik tıpa ve alüminyum krimplesle kapatılmış, inhibisyon deneyinde kullanılacak serum şişeleri, sıcaklığı $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulan su banyosuna yerleştirilmiştir.

Su banyosuna yerleştirilen serum şişeleri manometre düzeneğine bağlanmadan önce 30 dakika bekletilip sıcaklık farkından dolayı oluşan gaz, enjektör iğnesi yardımı ile tahliye edilmiştir. Serum şişelerindeki basınç, serum şişelerinin hepsinde aynı ve stabil şartları sağlamak için sıfırlanmıştır (Şekil 3.5). Daha sonra herbir serum şişesi bir manometre tüpüne bağlanmıştır. Şişelerde üretilen biyogazın manometre tüplerine transferi klipsli serum hortumu ile sağlanmıştır.



Şekil 3.5 Serum şişelerinin çoklu manometre düzeneğine bağlantılarının yapılması

Serum şişelerindeki biyogaz üretimi, şişedeki fazla basıncın yol açtığı manometre tüplerindeki su seviyesi alçalması sürekli izlenerek belirlenmiştir (Şekil 3.1).

3.2 Parametreler, Analiz Yöntemleri ve Ölçüm Sıklıkları

Deneylerde izlenen parametreler: pH, alkalinite, TAN, AKM, UAKM, ÇOK, UYA, biyogaz miktarı ve biyogaz bileşimi parametreleridir. Biyogaz miktarı deney

süresince günde iki kez, biyogaz bileşimi deney süresince ortalama 3 kez ölçülürken, diğer parametreler deney başlangıcı ve sonunda alınan numunelerde ölçülmüştür.

Ayrıca deneylerde kullanılan aşı çamurlarının içerdiği metanojen türleri deney başlangıcında Floresanlı Yerde Hibritleşme (FISH) tekniği ile belirlenmiştir. Deneylerde kullanılan parametrelerin ölçüm yöntemleri Tablo 3.6’da verilmiştir.

Tablo 3.6 Deneylerde kullanılan parametreler ve ölçüm yöntemleri

Parametre	Yöntem
pH	pH Elektrot
ÇOK	Yüksek sıcaklıkta katalitik oksidasyon
Alkalinite	Standart Metot (APHA- 1998)
AKM	Standart Metot (APHA- 1998)
UAKM	Standart Metot (APHA-1998)
UYA	Gaz Kromatografi (FID)
TAN	Standart Metot (APHA-1998)
Biyogaz miktarı	Su deplasmanı yöntemi
Biyogaz bileşimi	Gaz Kromatografi (TCD)
Metanojen türleri	FISH (Floresanlı Yerde Hibritleşme)

3.2.1 pH

Numunelerin pH değerleri Orion Model 720A pH metre kullanılarak belirlenmiştir. Her pH okuması öncesinde pH metre Merck kalite pH 4, 7 ve 10 tampon çözeltileri kullanılarak kalibre edilmiştir. Numunelerin pH değerlerinde bir değişiklik yaratmamak için, serum şişelerinin tıparları açılır açılmaz pH probunun serum şişesine daldırılması ile ölçümler yapılmıştır.

3.2.2 Çözünmüş organik karbon

Numunelerdeki çözünmüş organik karbon konsantrasyonlarının belirlenmesinde Ionics 1505 model TOK/TK cihazı kullanılmıştır. Serum şişelerinden santrifüj tüplerine alınan supernatant 6000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen numune, 0,45 µm HV Durapore membran filtreden geçirilmiştir. Filtreden geçirilen numuneler, 10-100 mg/l ölçüm aralığı içinde kalacak şekilde distile su ile seyreltilmiş ve 1-N H₂SO₄ ile (pH<2) asitlendirilmiştir.

1000 mg/l TOK olacak şekilde hazırlanan potasyum hidrojen fitalat ($C_8H_5KO_4$) stok çözeltisinden kalibrasyon standartları hazırlanmıştır. Standartlar ve numunelerde 4'er defa analizler tekrarlanarak, ölçüm sonuçlarının %2 standart sapma aralığında kaldığı teyid edilmiştir.

3.2.3 Toplam alkalinite, AKM, UAKM ve TAN

AKM parametresi 103-105 °C'de, UAKM parametresi 550 °C'de Standart Metot (APHA-1998)'a göre ölçülmüştür. Toplam alkalinite, Standart Metot (APHA-1998) titrasyon metodu (pH son noktası 4,5) uygulanarak belirlenmiştir.

Toplam amonyak azotu, 5 mg/l amonyak azotu içerecek şekilde seyreltilmiş numunelere, Standart Metot (APHA-1998) titrimetrik metod uygulanarak belirlenmiştir. Titrimetrik metod uygulanarak belirlenmiş sonuçları teyit etmek için, 1 mg/l amonyak azotu içerecek şekilde seyreltilmiş numunelere, Standart Metot (APHA-1998) fenat metodu uygulanmıştır.

3.2.4 Uçucu yağ asitleri

Serum şişelerinden santrifüj tüplerine alınan supernatant 6000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen numune, 2 ml'lik enjektörlere alınmış ve 0,45µm HV Durapore membran filtreden 25µl 10-N H_3PO_4 içeren viallere süzölmüştür. Numunelerdeki uçucu yağ asitlerinin belirlenmesinde ATI Unicam model 610 gaz kromatografisi kullanılmıştır. Kalibrasyon eğrisi, 1000 mg/l asetik asit, propiyonik asit, iso-bütirik asit, bütirik asit, iso-valerik asit ve valerik asit karışımı içeren Alltech-FA-mix-02 standart çözeltisinden hazırlanan 10-25-50-100-250-500-1000 mg/l konsantrasyonlar için çizilmiştir. Standart çözeltiler ve numuneler 1µl enjekte edilmiştir. Asitler, H_2 /hava (33/330 ml/dk) ile beslenen alev iyonizasyon dedektör (FID) ile saptanmıştır. Numunelerdeki yağ asitleri, taşıyıcı gaz Helyum (5 ml/dk) ile, 10-m Hewlett Packard HP-FFAP kapiler kolon (iç çapı 0,53 mm) üzerinden 135°C'de izotermal olarak ayrılmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları, 200 ve 220°C'e set edilmiştir.

3.2.5 Biyogaz bileşiminin belirlenmesi

Biyogazdaki metan ve karbondioksit yüzdesi, belirli aralıklarla serum şişelerinin lastik tıpasından enjeksiyon (0,3 ml) yoluyla alınan biyogazda saptanmıştır.

Biogazdaki CO₂ ve CH₄ içerikleri, termal iletkenlik dedektörü (TCD) (taşıyıcı gaz akımı 20 ml N₂/dk.) ile donanımlı Hewlett Packard 4890 A model Gaz Kromatografisi ile belirlenmiştir. Gaz numuneleri, paslanmaz çelik (1,8 m x 0,6 cm) Porapak Q (100/120 mesh) kolon ile izotermal olarak ayrılmıştır. Kolon, enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırasıyla 50, 50 ve 220 °C'e set edilmiştir.

Gaz kromatografisinin kalibrasyonu her okuma öncesinde standart gaz (%60 CH₄, %40 CO₂) ile yapılmıştır. Standart gaz ve gaz numuneleri 0,3 ml Gastight şırınga ile enjekte edilmiştir.

3.2.6 Metanojen türlerinin belirlenmesi

Mikroorganizmaların tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için birçok farklı rRNA bazlı teknik geliştirilmiştir (Oude Elferink ve diğ., 1998). Flüoresan boyalar ile işaretlenmiş oligonükleotitler kullanılarak yapılan Floresanlı Yerde Hibritleşme (FISH) tekniği bu teknikler içinde en yaygın olarak kullanılanlardan biridir (Manz ve diğ., 1994; Raskin ve diğ., 1994; Rocheleau ve diğ., 1999; Sekiguchi ve diğ., 1999). FISH tekniği 20-25 bazdan oluşan ve bir flüoresan boya ile işaretlenmiş oligonükleotitin hücre içine sokularak rRNA ile uygun koşullar altında hibridizasyonu prensibine dayanır. Flüoresan boyalı oligonükleotitler ile hibridize olan rRNA'lar bulundukları mikroorganizmanın flüoresan mikroskop altında görüntülenebilmesini sağlarlar.

Floresanlı yerde hibritleşme (FISH) tekniği

Çamur numuneleri %4'lük paraformaldehit-PBS solüsyonu içinde bir gece 4 °C'de bekletilerek sabitlenmiştir. Sabitlenen hücreler teflon slaytlara konularak steril kabinde kurutulmuştur (Raskin ve diğ.,1994). İşaretlenmiş problemleri (Cy3 ve TRITC için 30 ng/kuyu, Fluos için 50 ng/kuyu) (MWG Biotech, Ebersberg) içeren hibridizasyon solüsyonu (0.9 M NaCl, 20 mM Tris/HCl, pH 8.0, %0.01 SDS) kullanılarak numuneler 2 saat boyunca 46°C de hibridize edilmiştir. Optimum hibridizasyon kalitesini elde etmek için Tablo 3.7'de verilen konsantrasyonlara göre formamit eklenmiştir. Hibridizasyondan sonra, yıkama solüsyonu (probsuz hibridizasyon solüsyonu) ile bağlanmayan oligonükleotitler yıkanmıştır. DNA'ları boyamak için yıkama solüsyonuna 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (100 µl %0.1 DAPI) eklenmiştir. Daha sonra slaytlar 48°C'de 10 dakika boyunca yıkama

solüsyonunda bekletilip, su ile durulandıktan sonra hemen kurumaya bırakılmıştır. Slaytlar Olympus BX50 mikroskop ile incelenmiş ve mikroskoba bağlı bir dijital kamera ile görüntülenmiştir.

Tablo 3.7 Floresanlı hibritleşme tekniğinde kullanılan oligonükleotid proplar (Calli, 2003)

Probun adı	Kullanılan Boya	Formamit (%)	Nükleotid Dizisi (5'-3')	Hedef mikroorganizma	Ref.
EUB 338	FLUOS	35	CTGCTGCCTCCCGTAGGAGT	Tüm bakteriler	Aman ve diğ. (1990)
ARCH 915	Cy3	35	GTGCTCCCCCGCCAATTCCT	Tüm arkealar	Stahl ve diğ. (1991)
MX 825	Cy3	35	TCGCACCGTGGCCGACACCTAGC	<i>Methanosaeta</i>	
MS 821	FLUOS	35	CGCCATGCCTGACACCTAGCGAGC	<i>Methanosarcina</i>	Raskin ve diğ. (1994)
MB 1174	TRITC	35	TACCGTCGTCCACTCCTTCCTC	<i>Methanobacteriales</i>	
MC 1109	FLUOS	35	GCAACATAGGGCACGGGTCT	<i>Methanococcales</i>	
MG 1200	TRITC	35	CGGATAATTCGGGGCATGCTG	<i>Methanogenium</i> -relatives	

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1 Giriş

Deneyler, iki farklı tam ölçekli endüstriyel anaerobik reaktörden temin edilen aşı çamurları kullanılarak yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan aşı çamurlarından biri, mısır işlenerek gıda sektörü için ara maddeler üretilen Cargill Orhangazi Mısır İşletme Tesisindeki granüler çamurlu ve genleşmiş havasız çamur yatağından temin edilmiştir. Floküler yapıdaki diğer aşı çamuru Uzay Gıda Patates Cipsi Üretim Tesisindeki yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörden temin edilmiştir. Yapılan deneylerle iki farklı çamurun metanojenik aktivitesi üzerine pH ve pH'a bağlı olarak amonyağın inhibisyon etkisi incelenmiştir.

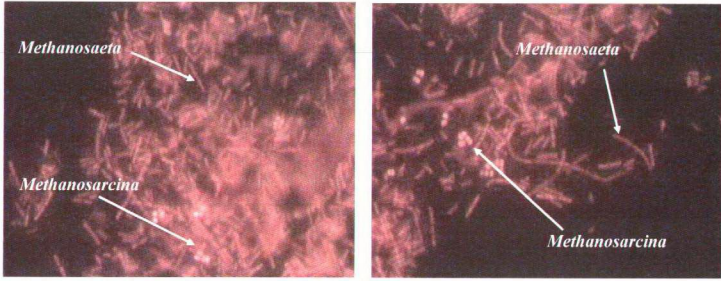
Çalışmada, her pH değeri (6,8; 7,4; 7,8; 8,4) için altı farklı TAN konsantrasyonunun (262, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 mg/l) iki ayrı tesisin anaerobik reaktöründen alınan çamurdaki inhibisyon etkisi toplam biyogaz üretiminin izlendiği metanojenik aktivite testi (Owen ve diğ., 1979) kullanılarak belirlenmiştir.

Deneyler öncesinde, inhibisyon deneylerinde kullanılacak tüm şartların uygulanabilir olup olmadığını araştırmak amacıyla Ek C'de verilen ön çalışma yapılmıştır.

4.2 Granüler Anaerobik Arıtma Çamuru ile Yapılan Deneysel Çalışmalar

Granüler anaerobik arıtma çamurunun metanojenik aktivitesi üzerine amonyağın inhibisyon etkisi, 4 farklı pH değerinde (6,8; 7,4; 7,8; 8,4), her pH değerinde biri kontrol olmak üzere 6 farklı TAN konsantrasyonunda (262-1000-1500-2000-2500-3000 mgTAN/L) araştırılmıştır. Deneysel çalışma matrisi Şekil 3.2'de görülmektedir.

İnhibisyon deneyi öncesi granüler aşı çamurunda etkin mikroorganizma tanımlaması ve miktarlarının belirlenmesi için floresanlı yerinde hibritleşme tekniği kullanılmıştır ve sonuçlar aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Granüler çamura FISH tekniği uygulanması sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri

1. Granüler aşı çamuru oligonükleotit ARCH 915 ile hibridize olan, çok fazla, ipliksi yapıda, aktif mikroorganizmalar içermektedir.
2. ARCH 915 oligonükleotit ile sinyal veren mikroorganizmaların büyük bir çoğunluğu (>%95) MX 825 oligonükleotit ile de hibridize olmuş ve asetat kullanan *Methanosaeta** türü metanojenler olarak tespit edilmiştir.
3. Aşı çamurunda MS 821 oligonükleotit ile hibridize olan az miktarda (<%5) asetat kullanan *Methanosarcina** türüne de rastlanmıştır.
4. ARCH 915 ile hibridize olan metanojenik arkelerin çok büyük bir kısmının asetat kullanan metanojenler (MX 825 ve MS 821) olarak tespit edilmesi, aşı çamuru içinde hidrojen kullanan metanojenlerin çok az sayıda olduğunu göstermektedir.

* *Methanosaeta* ve *Methanosarcina* asetiklastik metanojenlerdir

Çamurun üst fazından alınan numunenin karakterizasyonu sonucunda aşağıdaki değerler bulunmuştur.

pH = 6,834

TAN = 90 mg/l

Çamur, tesisten gelebilecek çözünmüş organik maddeyi bertaraf etmek için substrat hariç seyreltme suyu ile 4 kez yıkanmış, son yıkama suyunda ve seyreltme suyunda ÇOK değeri ölçülmüştür. Son yıkama suyu ve seyreltme suyunun ÇOK değerleri sırasıyla 47 mgÇOK/l ve 50 mgÇOK/l bulunmuştur. Seyreltme suyunda ölçülen 50 mgÇOK/l değerinin maya ekstrelerinden (Tablo 3.1) kaynaklanmaktadır.

Seyreltme suyu ile yıkanan granüler çamurun tam karışımından alınan numunede AKM ve UAKM parametreleri yapılmıştır. Bu parametrelerin sonuçları aşağıda verilmiştir.

AKM = 56873 mg/l

UAKM = 43790 mg/l

UAKM/AKM = 0.770

İnhibisyon deneyinde her pH değeri için, biri kontrol olmak üzere 6 farklı TAN konsantrasyonu uygulanmış ve her uygulama için 6 serum şişesi kullanılmıştır. Her pH değerinde, başlangıç koşullarını belirlemek için 18 (her pH-TAN konsantrasyonu kombinasyonunda seyreltme çözeltisinin ilk 50 ml'si, bir önceki transferden peristaltik pompanın ara hatlarında kalabilecek, farklı amonyak konsantrasyonundaki çözeltiyi bertaraf etmek için atılmış, üç serum şişesine transfer edilen çözelti $t = t_0$ anındaki pH, Çözünmüş Organik Karbon, Alkalinite, Askıda Katı Madde, Uçucu Askıda Katı Madde, Uçucu Yağ Asitleri ve Toplam Amonyak Azotu parametrelerinin başlangıç değerlerini saptamak üzere ayrılmıştır), manometre düzeneğine bağlanmak üzere 18 serum şişesi (biyogaz miktarları ve sonuç parametrelerinin ölçümünde 3 serum şişesinin ortalaması) kullanılmıştır. Çamurun önceden belirlenen UAKM konsantrasyonu göz önünde bulundurularak, seyreltme çözeltisinde 2000 mg/l UAKM oluşturacak miktarı 12 saat içinde N_2 gazı ile yıkanmış transfer reaktörüne ilave edilmiş ve yine anaerobik şartlarda seyreltme suyu ile 3 litreye tamamlanmıştır.

Substrat ilavesinden önce, transfer reaktörlerinin içindeki çözeltinin pH değeri 8 N NaOH (veya 1 N HCl) kullanılarak düzeltilmiş ve 4 transfer reaktörü de 12 saat boyunca 37 ± 1 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübatörden alınan transfer reaktörlerindeki çözeltinin pH kontrolü yapılmış ve litreye 1 ml stok substrat çözeltisi (Tablo 3.5) enjektör yardımıyla ilave edilmiştir. Substrat ilavesi ile düşen pH değeri başlangıç değerine 8N NaOH kullanılarak getirilmiştir. pH düzeltmeleri sırasında sisteme dolaylı olarak eklenen Na^+ miktarının, sodyumun inhibisyon eşik değerinin (orta derece inhibisyon 3500 - 5500 mg Na^+ /L, Rittmann ve McCarty, 2001) altında kaldığı görülmüştür. Seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi ve sisteme dolaylı olarak eklenen Na^+ konsantrasyonları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Substrat ilavesi ve pH düzeltilmesi yapılan transfer reaktörlerindeki çözeltinin pH değeri sabit tutulup, TAN konsantrasyonu değiştirilmiştir.

Kontrol amaçlı kullanılan çözeltinin TAN (262 mg/l) konsantrasyonu seyreltme suyunun içeriğinden (Tablo 3.1) kaynaklanmaktadır.

1000 ile 3000 mg/l arasında 5 farklı TAN konsantrasyonu NH_4Cl (300 gr/l) stok çözeltisinden karşılanmıştır.

Tablo 4.1 pH 6,8; 7,4; 7,8; 8,4’de çalıştırılan granüler aşı çamuruna ait transfer reaktörlerindeki seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi ve sisteme dolaylı yoldan verilen Na^+ miktarları

TAN mg/l	İnkübasyon öncesi pH	İnkübasyon sonrası pH	Transfer sırasındaki pH	t=0 anında pH	Na^+ mg/l
262 (Kontrol)	6,703	6,603	6,710	6,816	938
1000	6,703	6,603	6,722	6,812	1122
1500	6,703	6,603	6,710	6,797	1159
2000	6,703	6,603	6,716	6,798	1187
2500	6,703	6,603	6,721	6,803	1205
3000	6,703	6,603	6,728	6,810	1224
262 (Kontrol)	7,301	7,186	7,308	7,367	1527
1000	7,301	7,186	7,311	7,383	1619
1500	7,301	7,186	7,311	7,381	1674
2000	7,301	7,186	7,313	7,385	1720
2500	7,301	7,186	7,313	7,392	1757
3000	7,301	7,186	7,318	7,399	1794
262 (Kontrol)	7,705	7,504	7,708	7,760	1785
1000	7,705	7,504	7,710	7,791	1895
1500	7,705	7,504	7,710	7,798	1950
2000	7,705	7,504	7,712	7,810	2006
2500	7,705	7,504	7,717	7,832	2052
3000	7,705	7,504	7,714	7,853	2088
262 (Kontrol)	8,316	7,90	8,315	8,356	2024
1000	8,316	7,90	8,315	8,406	2263
1500	8,316	7,90	8,318	8,440	2374
2000	8,316	7,90	8,318	8,449	2466
2500	8,316	7,90	8,318	8,458	2539
3000	8,316	7,90	8,320	8,460	2556

TAN konsantrasyonlarını karşılamakta kullanılan NH_4Cl ’den gelen Cl^- konsantrasyonları Tablo 4.2’de verilmiştir.

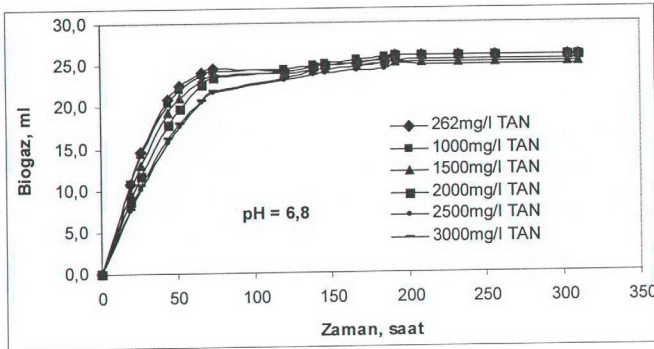
Tablo 4.2 Sisteme dolaylı olarak eklenen Cl^- konsantrasyonları (granüler aşı çamuru)

pH	TAN (mg/l)	Cl^- (mg/l)
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	262 (Kontrol)	665
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	1000	2541
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	1500	3809
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	2000	5077
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	2500	6345
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	3000	7613

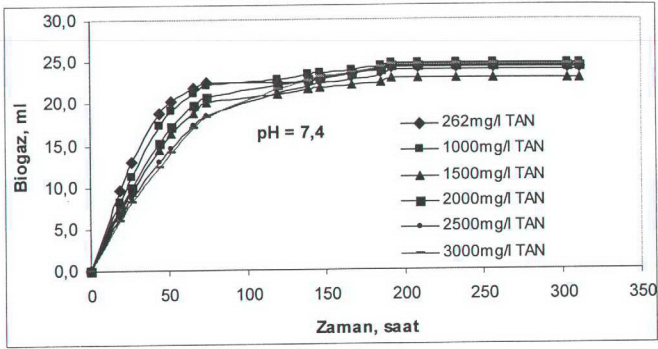
Tablo 4.2'den görüldüğü gibi sisteme dolaylı olarak eklenen Cl^- konsantrasyonu, tüm pH değerlerinde uygulanan 6 farklı TAN konsantrasyonu için de klorür konsantrasyonunun toksik eşik değerinin (McCarty ve McKinney (1961) yaptıkları çalışmada metanojenler için klorür konsantrasyonunun inhibisyon eşik değerini 8300 mg /L olarak belirtmişlerdir) altında kalmaktadır.

Bölüm 3.2'de açıklandığı gibi, her serum şişesindeki granüler yapıdaki aşı çamurunun ürettiği biyogaz oluşumu günde iki kez ölçülerek belirlenmiştir.

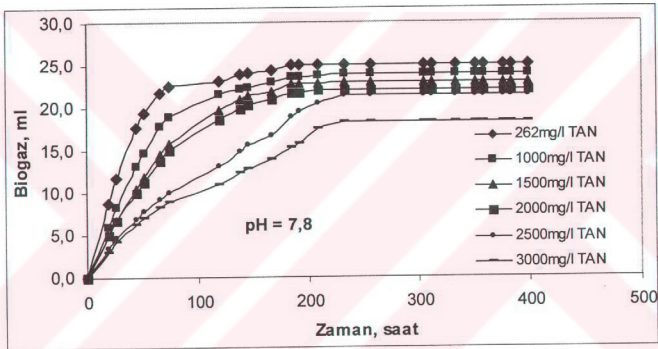
Zamana karşı biyogaz oluşum miktarlarını gösteren grafikler Şekil 4.2 – Şekil 4.5'de verilmiştir.



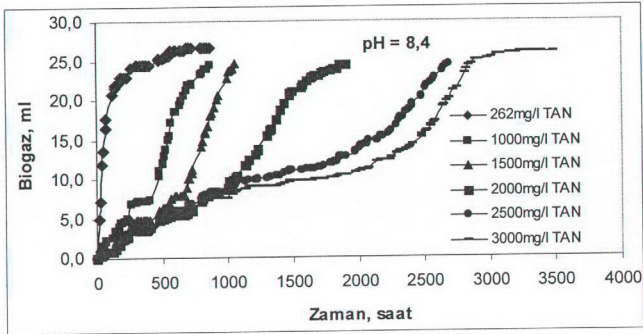
Şekil 4.2 Granüler çamurun pH 6,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği



Şekil 4.3 Granüler çamurun pH 7,4'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği



Şekil 4.4 Granüler çamurun pH 7,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği



Şekil 4.5 Granüler çamurun pH 8,4'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği

Serum şişelerinden belirli aralıklarla alınan biyogazda %CH₄ değerleri saptanmış, bulunan değerler Tablo 4.3 – 4.6’da gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Granüler çamurun pH 6,8’de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

	t=44 saat	t=185 saat
Kontrol (262 mg/l TAN)	78,4	76,0
1000 mg/l TAN	76,0	77,8
1500 mg/l TAN	79,5	77,6
2000 mg/l TAN	77,5	77,5
2500 mg/l TAN	78,6	77,7
3000 mg/l TAN	78,1	78,7

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

Tablo 4.4 Granüler çamurun pH 7,4’de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

	t=44 saat	t=185 saat
Kontrol (262 mg/l TAN)	88,0	83,9
1000 mg/l TAN	87,5	86,0
1500 mg/l TAN	86,4	84,9
2000 mg/l TAN	86,8	78,5
2500 mg/l TAN	85,8	85,0
3000 mg/l TAN	85,2	85,6

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

Tablo 4.5 Granüler çamurun pH 7,8’de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

	t=51 saat	t=192 saat
Kontrol (262 mg/l)	90,8	90,1
1000 mg/l TAN	89,5	88,6
1500 mg/l TAN	88,8	87,7
2000 mg/l TAN	88,7	89,6
2500 mg/l TAN	86,9	86,9
3000 mg/l TAN	86,3	88,1

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

Biyogaz üretimi bitiminde su banyolarından alınan serum şişelerinin içerdiği çözütilerde aynı gün içinde pH, Alkalinite, ÇOK, AKM, UAKM, TAN, Asetik asit, Propiyonik asit, Bütirik asit, İzobütirik asit, Valerik asit ve İzobalerik asit parametrelerine bakılmıştır.

Tablo 4.6 Granüler çamurun pH 8,4'de farklı zamanlarda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

zaman, saat	TAN, mg/L					
	Kontrol	1000	1500	2000	2500	3000
51	95,7					
192	93,9					
667,5	91,1	90,8				
794		92,6	91,7			
1372				92,4		
1876,5				90,5		
2237					88,8	
2692					88,9	90,2
3561						91,7

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

Serum şişelerinin içerdiği çözeltinin başlangıç ve sonuç parametre değerleri, üç serum şişesinden elde edilen değerlerin ortalaması olarak Tablo D.1 – Tablo D.4'de verilmiştir (Ek D).

4.3 Floküler Anaerobik Arıtma Çamuru ile Yapılan Deneysel Çalışmalar

Granüler çamurun metanojenik aktivitesi üzerine pH 8,4 değerinde amonyanın inhibisyon etkisinin incelendiği deneyel çalışmalarda, pH değerinin biyogaz üretimi bitiminde 0,2–0,3 birim düştüğü belirlenmiştir (Ek D Tablo D.4). pH değerindeki bu düşüşün, inhibisyon nedeniyle gerçekleşen bir azalma olup olmadığının belirlenmesi amacıyla floküler anaerobik çamurun inhibisyon deneyleri öncesinde bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, pH 8,4 ve 3000 mg/l TAN konsantrasyonunda inhibisyon deneyel çalışma programında yürütülmüştür. Çalışmada 4 adet serum şişesi kullanılmıştır. Her bir serum şişesi başlangıçta, manometre düzeneğine bağlandıktan, 1. gün sonunda, 3. gün sonunda ve 10. gün sonunda açılmıştır. Serum şişeleri açıldıktan sonra kaydedilen pH değerleri aşağıda görüldüğü gibidir:

Başlangıç pH: 8,331

Manometre düzeneğine bağlandıktan 1 gün sonraki pH: 8,379

Manometre düzeneğine bağlandıktan 3 gün sonraki pH: 8,332

Manometre düzeneğine bağlandıktan 10 gün sonraki pH: 8,315

Ayrıca, başlangıç ve 10. gün sonunda açılan serum şişelerinde UYA parametresi de belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7 Floküler aşı çamuru ile yapılan ön çalışmada UYA değişimi

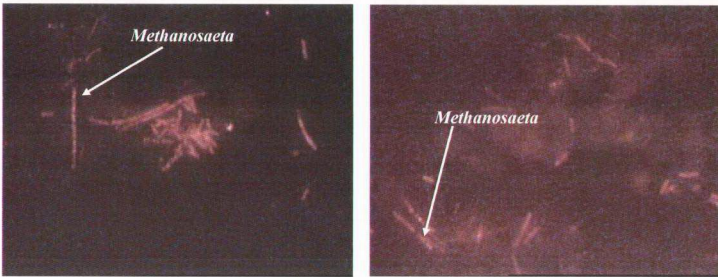
Zaman	Asetik Asit (mg/l)	Propiyonik Asit (mg/l)	İzobutirik Asit (mg/l)	Butirik Asit (mg/l)	İzovalerik Asit (mg/l)	Valerik Asit (mg/l)
Başlangıç	764	109	5,56	107	10,81	0
10. gün sonu	795	110	12,20	92	18,1	0

*10. günde açılan numunedeki UYA’lerinin asetik asit cinsinden toplam konsantrasyonun, başlangıç konsantrasyonundan bir miktar yüksek olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin 50 mg/l ÇOK içeren maya ekstresinin anaerobik ortamda bozunarak uçucu yağ asitlerine dönüşmesinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Ayrıca propiyonik asit ve asetik asit birikimi, izovalerik asit ve izobütirik asit’ in başlangıç değerlerine göre bir miktar artması inhibisyon belirtilerindendir.

pH değerlerinden görüldüğü gibi 10. gün sonunda da pH değerinde değişiklik olmadığı, dolayısıyla inhibisyonun sabit 8,3-8,4 pH aralığında gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Floküler anaerobik arıtma çamurunun metanojenik aktivitesi üzerine amonyanın inhibisyon etkisi, 4 farklı pH değerinde (6,8; 7,4; 7,8; 8,4), her pH değerinde biri kontrol olmak üzere 6 farklı TAN’u konsantrasyonunda (262-1000-1500-2000-2500-3000 mg/l TAN) araştırılmıştır. Deneysel çalışma matrisi Şekil 3.2’de görülmektedir.

Metanojenik aktivite deneyleri öncesi floresanlı yerinde hibritleşme tekniği kullanılarak floküler aşı çamurunda etkin mikroorganizmalar tanımlanmış aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Floküler çamura FISH tekniği uygulanması sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri

1. ARCH 915 oligonükleotit ile yapılan FISH deneylerinde floküler çamurda aktif metanojen miktarının granüler çamura göre çok daha az olduğu belirlenmiştir.
2. Floküler çamurda aktif metanojenik tür olarak asetat kullanan Methanosaeta (MX 825) türleri tespit edilmiştir.
3. Diğer metanojen türlerine rastlanmamıştır.

Çamurun üst fazından alınan numunenin karakterizasyonu sonucunda aşağıdaki değerler bulunmuştur:

pH = 7,354

TAN = 155 mg/l

Çamur tesisten gelebilecek çözünmüş organik maddeyi bertaraf etmek için substrat hariç seyreltme suyu ile 4 kez yıkanmış, son yıkama suyunda ve seyreltme suyunda ÇOK değeri ölçülmüştür. Son yıkama suyu ve seyreltme suyunun ÇOK değerleri sırasıyla 49 mgÇOK/l ve 50 mgÇOK/l bulunmuştur. Seyreltme suyunda ölçülen 50 mgÇOK/l değerinin maya ekstrelerinden (Tablo 3.1) kaynaklanmaktadır.

Seyreltme suyu ile yıkanan floküler çamurun tam karışımından alınan numunede AKM ve UAKM parametreleri yapılmıştır. Bu parametrelerin sonuçları aşağıda verilmiştir.

AKM = 80406 mg/l

UAKM = 43090 mg/l

UAKM/AKM = 0.536

İnhibisyon deneyinde her pH değeri için, biri kontrol olmak üzere 6 farklı TAN konsantrasyonu uygulanmış ve her uygulama için 6 serum şişesi kullanılmıştır. Her pH değerinde, başlangıç koşullarını belirlemek için 18 (her pH-TAN konsantrasyonu kombinasyonunda seyreltme çözeltisinin ilk 50 ml'si, bir önceki transferden peristaltik pompanın ara hatlarında kalabilecek, farklı amonyak konsantrasyonundaki çözeltiyi bertaraf etmek için atılmış, üç serum şişesine transfer edilen çözelti t = t₀ anındaki pH, Çözünmüş Organik Karbon, Alkalinite, Askıda Katı Madde, Uçucu Askıda Katı Madde, Uçucu Yağ Asitleri ve Toplam Amonyak Azotu parametrelerinin başlangıç değerlerini saptamak üzere ayrılmıştır), manometre düzeneğine bağlanmak üzere 18 serum şişesi (biyogaz miktarları ve sonuç parametrelerinin ölçümlerinde 3 serum şişesinin ortalaması) kullanılmıştır. Çamurun önceden belirlenen UAKM konsantrasyonu göz önünde bulundurularak, seyreltme

çözeltisinde 2000 mg/l UAKM oluşturacak miktarı 12 saat içinde N₂ gazı ile yıkanmış transfer reaktörüne ilave edilmiş ve yine anaerobik şartlarda seyreltme suyu ile 3 litreye tamamlanmıştır.

Substrat ilavesinden önce, transfer reaktörlerinin içindeki çözeltinin pH değeri 8 N NaOH (veya 1 N HCL) kullanılarak düzeltilmiş ve 4 transfer reaktörü de 12 saat boyunca 37±1 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübatörden alınan transfer reaktörlerindeki çözeltinin pH kontrolü yapılmış ve litreye 1 ml stok substrat çözeltisi (Tablo 3.5) enjektör yardımıyla ilave edilmiştir. Substrat ilavesi ile düşen pH değeri başlangıç değerine 8N NaOH kullanılarak getirilmiştir. Seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi ve sisteme dolaylı olarak eklenen Na⁺ konsantrasyonları Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8 pH 6,8; 7,4; 7,8; 8,4’de çalıştırılan floküler aşı çamuruna transfer reaktörlerindeki seyreltme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi ve sisteme dolaylı yoldan verilen Na⁺ miktarları

TAN mg/l	İnkübasyon öncesi pH	İnkübasyon sonrası pH	Transfer sırasındaki pH	t=0 anında pH	Na ⁺ mg/l
262 (Kontrol)	6,701	6,570	6,706	6,787	994
1000	6,701	6,570	6,711	6,778	1067
1500	6,701	6,570	6,713	6,799	1113
2000	6,701	6,570	6,707	6,768	1132
2500	6,701	6,570	6,706	6,797	1159
3000	6,701	6,570	6,709	6,815	1178
262 (Kontrol)	7,307	7,152	7,312	7,345	1582
1000	7,307	7,152	7,317	7,399	1684
1500	7,307	7,152	7,305	7,410	1720
2000	7,307	7,152	7,309	7,401	1757
2500	7,307	7,152	7,314	7,397	1785
3000	7,307	7,152	7,311	7,425	1803
262 (Kontrol)	7,702	7,454	7,709	7,784	1840
1000	7,702	7,454	7,711	7,744	1950
1500	7,702	7,454	7,708	7,788	2006
2000	7,702	7,454	7,710	7,838	2042
2500	7,702	7,454	7,719	7,786	2070
3000	7,702	7,454	7,711	7,811	2098
262 (Kontrol)	8,302	7,848	8,327	8,368	2116
1000	8,302	7,848	8,329	8,446	2374
1500	8,302	7,848	8,327	8,448	2558
2000	8,302	7,848	8,328	8,481	2668
2500	8,302	7,848	8,330	8,437	2769
3000	8,302	7,848	8,331	8,470	2861

pH düzeltmeleri sırasında sisteme dolaylı olarak eklenen Na^+ miktarının, sodyumun inhibisyon eşik değerinin (orta derece inhibisyon 3500 - 5500 mgNa^+/L , Rittmann ve McCarty, 2001) altında kaldığı görülmüştür. Substrat ilavesi ve pH düzeltmesi yapılan transfer reaktörlerindeki çözeltinin pH değeri sabit tutulup, TAN konsantrasyonu değiştirilmiştir.

Kontrol amaçlı kullanılan çözeltinin TAN (262 mg/l) konsantrasyonu seyreltme suyunun içeriğinden (Tablo 3.1) kaynaklanmaktadır.

1000 ile 3000 mg/l arasında 5 farklı TAN konsantrasyonu NH_4Cl (300 gr/l) stok çözeltisinden karşılanmıştır.

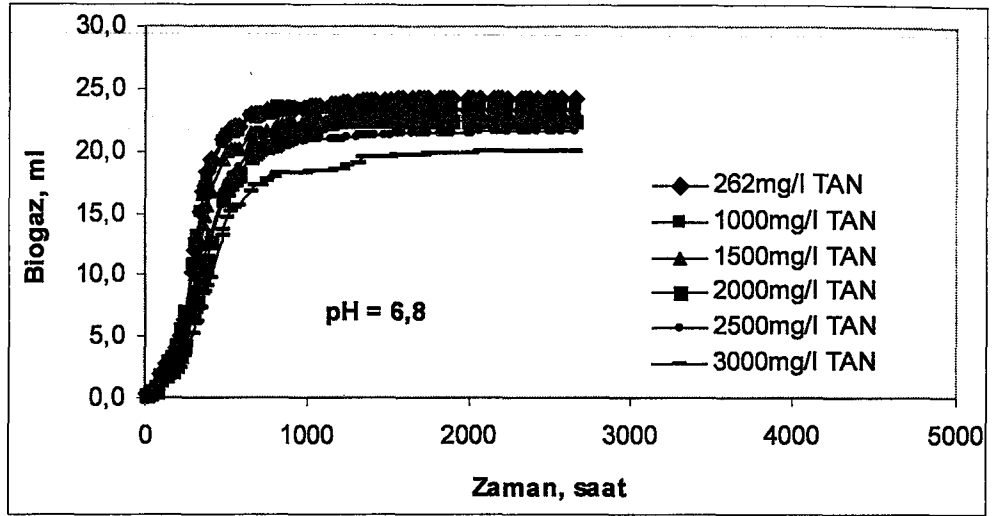
TAN konsantrasyonlarını karşılamakta kullanılan NH_4Cl 'den gelen Cl^- konsantrasyonları Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9 Sisteme dolaylı olarak eklenen Cl^- konsantrasyonları (floküler aşı çamuru)

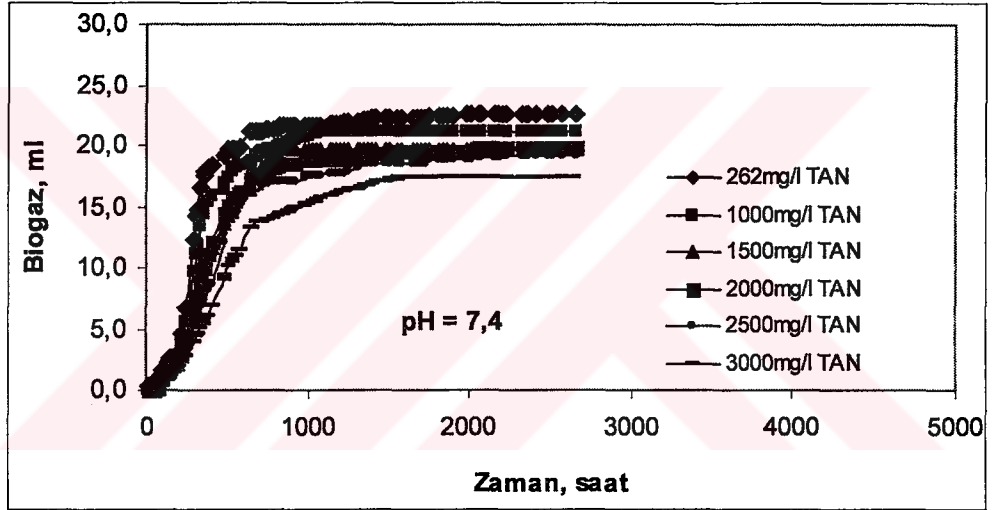
pH	TAN(mg/l)	Cl^- (mg/l)
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	262 (Kontrol)	665
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	1000	2541
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	1500	3809
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	2000	5077
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	2500	6345
6,8; 7,4; 7,8; 8,4	3000	7613

Tablo 4.9'dan görüldüğü gibi sisteme dolaylı olarak eklenen Cl^- konsantrasyonu, tüm pH değerlerinde uygulanan 6 TAN konsantrasyonu için de klorür konsantrasyonunun toksik eşik değerinin (McCarty ve McKinney (1961) yaptıkları çalışmada metanojenler için klorür konsantrasyonunun inhibisyon eşik değerini 8300 mg/L olarak belirtmişlerdir) altında kalmaktadır.

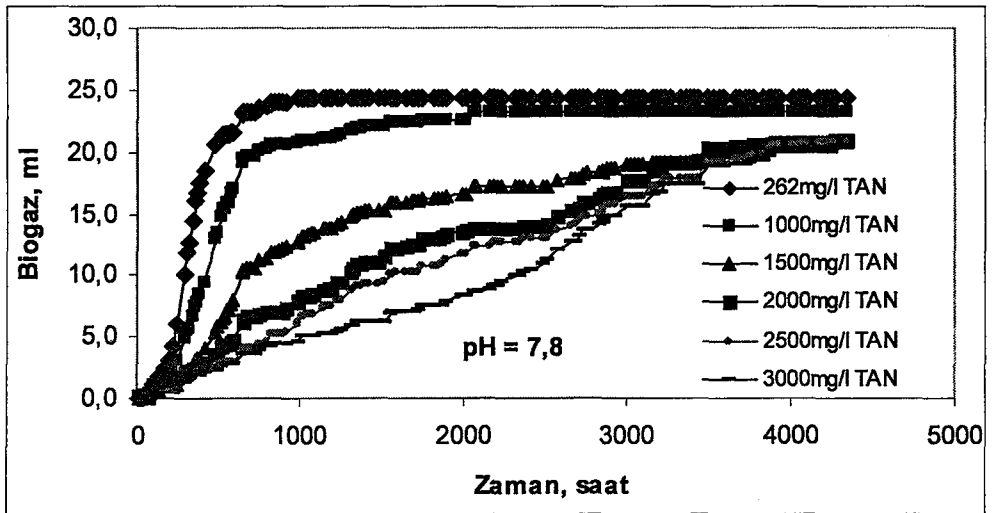
Bölüm 3.2'de açıklandığı gibi, her serum şişesindeki floküler aşı çamurunun ürettiği biyogaz oluşumu günde iki kez ölçülerek belirlenmiştir. Zamana karşı biyogaz oluşum miktarlarını gösteren grafikler Şekil 4.7 – Şekil 4.10'da verilmiştir.



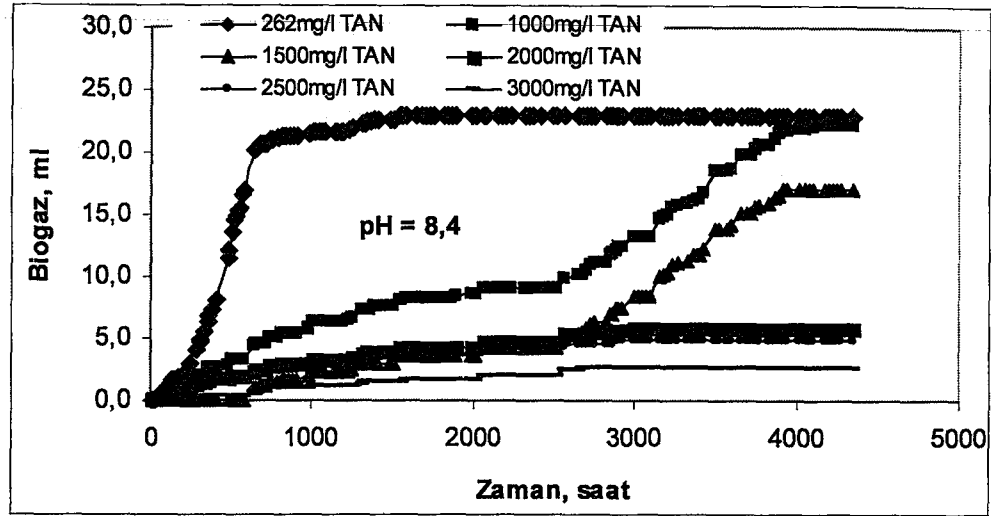
Şekil 4.7 Floküler çamurun pH 6,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği



Şekil 4.8 Floküler çamurun pH 7,4'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği



Şekil 4.9 Floküler çamurun pH 7,8'deki zamana karşı biyogaz değişim grafiği



Şekil 4.10 Floküler çamurun pH 8,4'teki zamana karşı biyogaz değişim grafiği

Serum şişelerinden belirli aralıklarla alınan biyogazda %CH₄ değerleri saptanmış, bulunan değerler Tablo 4.10 – 4.13'de gösterilmiştir.

Tablo 4.10 Floküler çamurun pH 6,8'de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

	t=378 saat	t=714 saat
Kontrol (262 mg/l TAN)	75,0	76,0
1000 mg/l TAN	74,2	77,8
1500 mg/l TAN	73,2	74,4
2000 mg/l TAN	72,8	75,5
2500 mg/l TAN	73,2	74,4
3000 mg/l TAN	70,9	75,0

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

Tablo 4.11 Floküler çamurun pH 7,4'de iki farklı zamanda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

	t=378 saat	t=714 saat
Kontrol (262 mg/l TAN)	84,2	84,4
1000 mg/l TAN	84,0	NA
1500 mg/l TAN	NA	83,8
2000 mg/l TAN	82,6	86,2
2500 mg/l TAN	NA	82,5
3000 mg/l TAN	82,7	83,3

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

NA: Gaz hacmi metan yüzdesini saptamak için yeterli olmadığından numune alınamamıştır.

Tablo 4.12 Floküler çamurun pH 7,8’de dört farklı zamanda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

	t=378 saat	t=714 saat	t=2515 saat	t=4390 saat
Kontrol (262 mg/l TAN)	89,5	89,3	-#	-
1000 mg/l TAN	83,1	86,3	-	-
1500 mg/l TAN	NA	83,4	86,0	82,9
2000 mg/l TAN	NA	82,4	83,5	84,1
2500 mg/l TAN	NA	NA	82,0	82,4
3000 mg/l TAN	NA	NA	81,5	82,1

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

NA: Gaz hacmi metan yüzdesini saptamak için yeterli olmadığından numune alınamamıştır.

: Deneye 2515. saatte son verilmiştir.

Tablo 4.13 Floküler çamurun pH 8,4’de dört farklı zamanda ölçülmüş %CH₄ değerleri*

	t=378 saat	t=714 saat	t=2515 saat	t=4390 saat
Kontrol	91,6	92,1	*	*
1000 NH ₄ -N	NA	NA	NA	87,0
1500 NH ₄ -N	NA	NA	NA	82,3
2000 NH ₄ -N	NA	NA	NA	64,1
2500 NH ₄ -N	NA	NA	NA	63,9
3000 NH ₄ -N	NA	NA	NA	17,5

* Tablodaki her bir %CH₄ değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

NA: Gaz hacmi metan yüzdesini saptamak için yeterli olmadığından numune alınamamıştır.

Deneye 2515. saatte son verilmiştir.

Biyogaz üretimi bitiminde su banyolarından alınan serum şişelerinin içerdiği çözeltilerde aynı gün içinde pH, Alkalinite, ÇOK, AKM, UAKM, TAN, Asetik asit, Propiyonik asit, Bütirik asit, İzo bütirik asit, Valerik asit ve İzo valerik asit parametrelerine bakılmıştır.

Serum şişelerinin içerdiği çözeltinin başlangıç ve sonuç parametre değerleri, üç serum şişesinden elde edilen değerlerin ortalaması olarak Tablo D.5 – Tablo D.8’de verilmiştir (Ek D)

5. DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI VE DEĞERLENDİRME

5.1 Giriş

Bu bölümde, deneysel çalışma sırasında sürekli takip edilen biyogaz üretim eğrilerinin yorumlanması ve aşı çamurlarının özelliklerini yansıtan parametrelerin belirlenmesi amacıyla eklenik metan üretim eğrilerinin oluşturulmasından, ilerleyen bölümlerde açıklandığı şekilde eklenik metan üretim eğrilerinin modellenmesinden, ayrıca amonyak ve pH inhibisyonunu için geliştirilen yeni modelden bahsedilmiştir.

5.2 Eklenik Metan Üretim Eğrilerinin Elde Edilmesi

Bölüm 4.2 ve Bölüm 4.3’de her iki aşı çamuru için zamana karşı çizilen biyogaz üretim eğrileri kullanılarak, aşağıda açıklandığı şekilde zamana karşı eklenik metan üretim eğrileri elde edilmiştir:

$$A = B \cdot C \quad (5.1)$$

A: günlük metan üretimi (ml metan / gün)

B: üretilen biyogaz miktarı (ml biyogaz / gün)

C: üretilen biyogazdaki metan yüzdesi (% metan / biyogaz)

Günlük metan üretimi değerleri, deney süresi boyunca toplanarak eklenik metan üretimi elde edilmiştir. Eklenik spesifik metan miktarları (5.2)’de verilen formül uyarınca belirlenmiştir:

$$M = \frac{\sum A}{V \cdot X} \quad (5.2)$$

$\sum_0^t A$: t süresine kadar elde edilen toplam metan üretimi (ml metan)

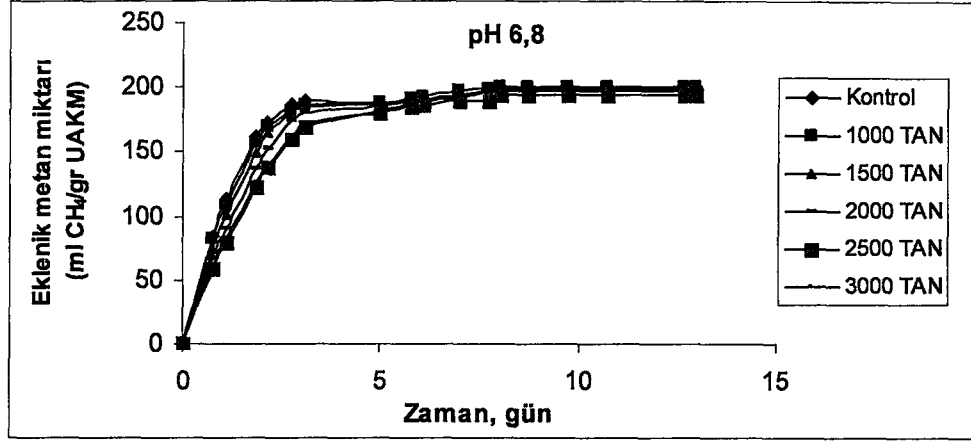
t: zaman (gün)

M: eklenik spesifik metan miktarı (ml CH₄ / gr UAKM)

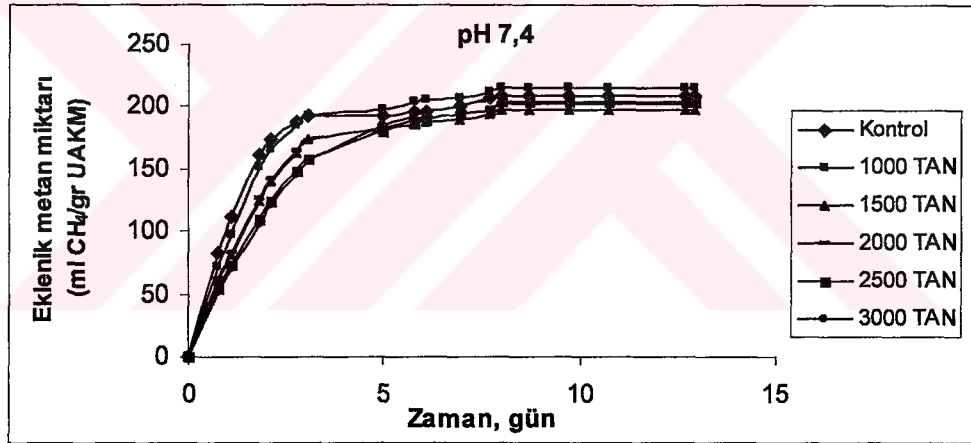
V: reaktör aktif hacmi (litre)

X: reaktörde teste tabii tutulan biyokütle konsantrasyonu (gr UAKM / litre)

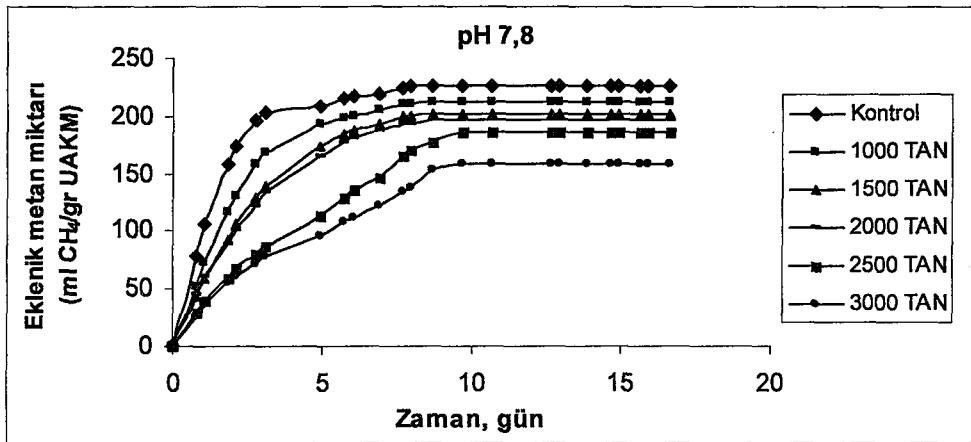
Granüler ve floküler aşı çamurları için 4 farklı pH ve 6 farklı TAN değerleri kullanılarak elde edilen eklenik metan miktarlarının zamana karşı çizilen grafikleri Şekil 5.1 – 5.8’de verilmiştir.



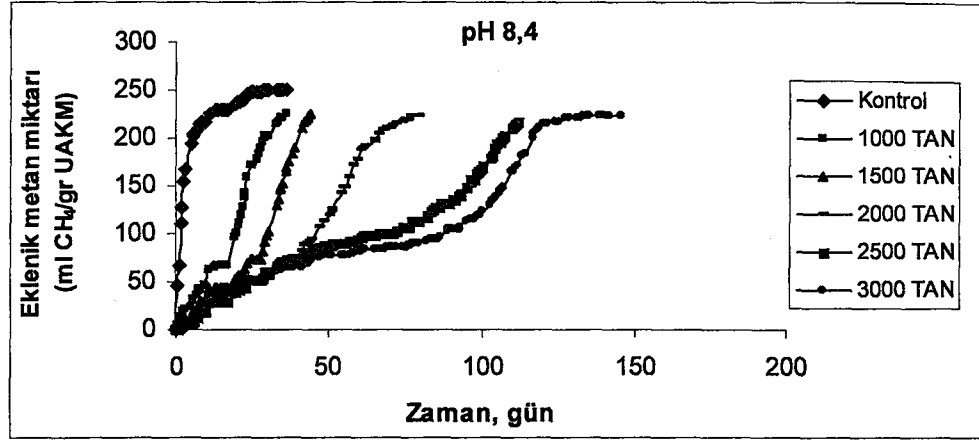
Şekil 5.1 Granüler çamur pH 6,8 için eklenik metan üretim eğrileri



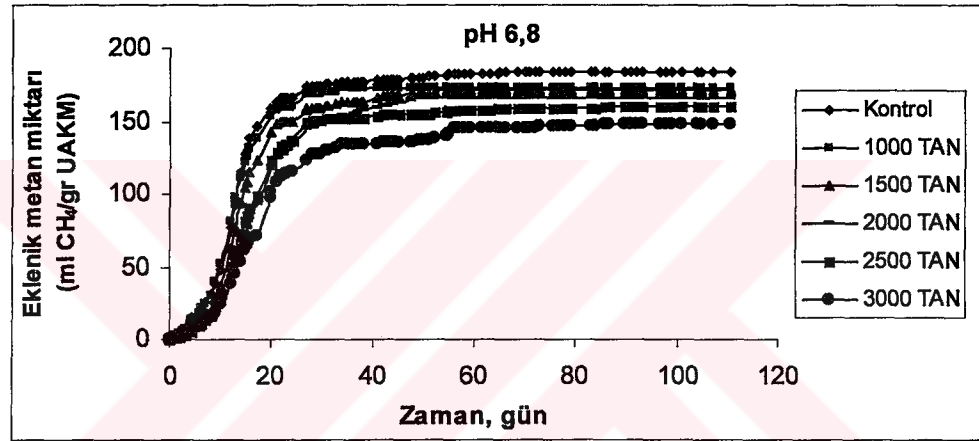
Şekil 5.2 Granüler çamur pH 7,4 için eklenik metan üretim eğrileri



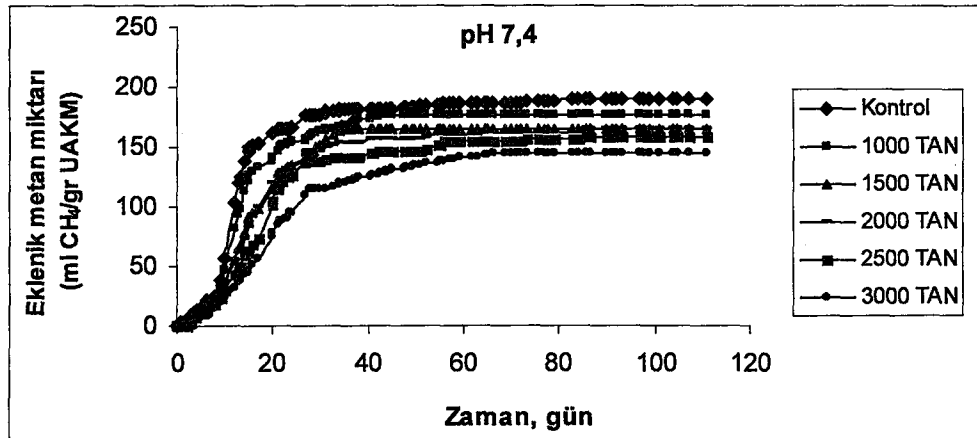
Şekil 5.3 Granüler çamur pH 7,8 için eklenik metan üretim eğrileri



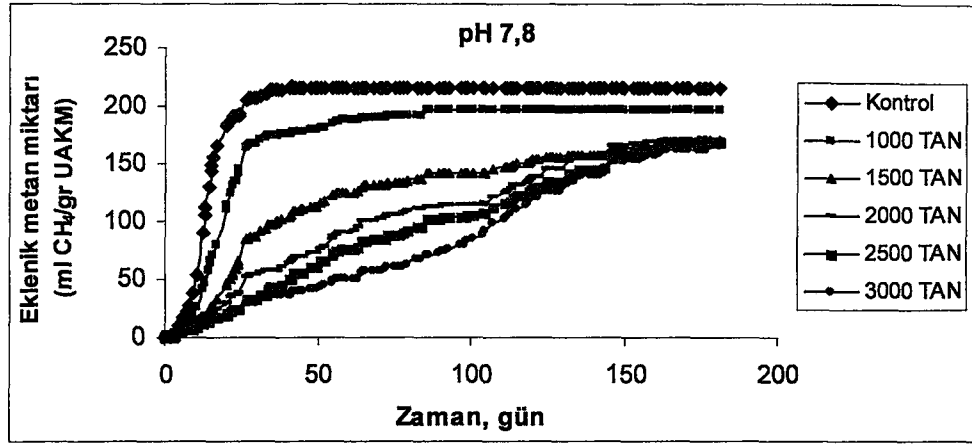
Şekil 5.4 Granüler çamur pH 8,4 için eklenik metan üretim eğrileri



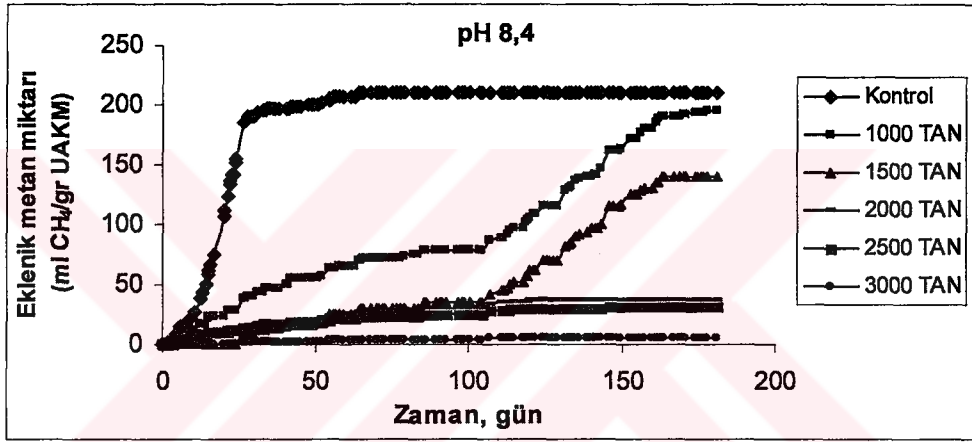
Şekil 5.5 Floküler çamur pH 6,8 için eklenik metan üretim eğrileri



Şekil 5.6 Floküler çamur pH 7,4 için eklenik metan üretim eğrileri



Şekil 5.7 Floküler çamur pH 7,8 için eklenik metan üretim eğrileri



Şekil 5.8 Floküler çamur pH 8,4 için eklenik metan üretim eğrileri

5.3 Eklenik Metan Üretim Eğrilerinin Modellenmesi

Kesikli inhibisyon deneyleri sonucunda elde edilen eklenik metan üretim eğrilerinin değerlendirilmesi için bakteriyal çoğalma ile metabolik biyogaz üretimi arasında ilişki kuran Gompertz modeli kullanılmıştır.

5.3.1 Gompertz modeli

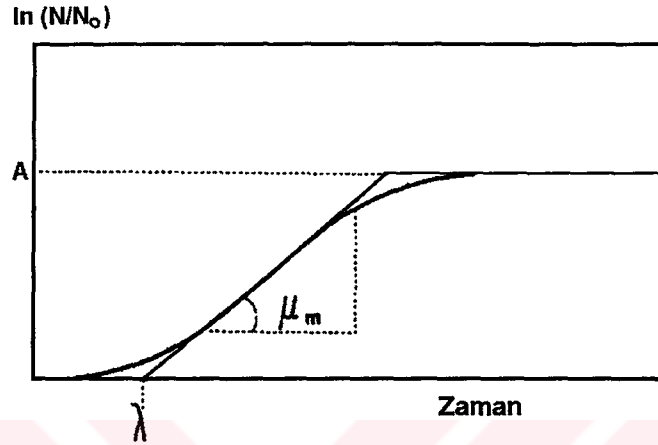
Zwietering ve diğ. (1990) tarafından yapılan çalışmada önerilen bakteri çoğalma eğrisinin modelleme prensipleri aşağıda açıklamıştır:

5.3.1.1 Bakteri çoğalma eğrisi

Bakteriler üstel (eksponansiyel) olarak çoğaldıkları için genelde rölatif populasyon

artışının logaritmasının $\left[y = \ln \frac{N}{N_0} \right]$ zamana göre çizilen grafiği (Şekil 5.9)

kullanılır. Bu formülde N:organizma sayısı, N_0 : başlangıçtaki organizma sayısıdır.



Şekil 5.9 Çoğalma eğrisi

Çoğalma eğrisinin 3 fazı 3 parametrenin kullanımı ile tarif edilebilir:

Maksimum özgül (spesifik) çoğalma hızı (μ_{max}); maksimum artışın gözlemlendiği noktada eğriye çizilen teğetin eğimidir.

Gecikme (Lag) fazı süresi (λ); çizilen bu teğetin x-eksenini kestiği noktanın apsisidir.

Asimtot (A); eğrinin ulaştığı maksimum değerdir: $\left[A = \ln \frac{N_{\infty}}{N_0} \right]$

Eğri bu noktadan sonra bir azalma gösterebilir. Bu tip davranış ölüm fazı olarak adlandırılmaktadır.

5.3.1.2 Bakteri çoğalma modelleri ve model parametreleri

S (sigmoidal) şekilli çoğalma eğrisini tanımlayan bir çok matematik model biyolojik olarak anlamı olan parametreler (A , μ_{max} , λ gibi) yerine matematik parametreler (a , b , c gibi) içerirler. Bu parametrelerin başlangıç değerlerinin tahmini zordur. Bununla birlikte, biyolojik parametrelerin doğrudan denklemden tahmin edilemediği durumlarda, %95 güvenlik aralığının tahmini zor olmaktadır. Bu yüzden bütün çoğalma modellerinde matematik parametreler yerine A , μ_{max} , λ gibi parametrelerin

yazılması gerekir. Bu işlem, temel bağıntıdaki parametrelerin bir fonksiyonu olarak biyolojik parametrelere ait eşitliklerin türetilmesi ve ardından denklemde yerine yazılması ile gerçekleştirilir. Örnek olarak aşağıda Gompertz eşitliğinin modifikasyonunun oluşturulması gösterilmiştir:

$$y = a \cdot \exp[-\exp(b - cx)] \quad (5.3)$$

şeklindedir. Bu denklemde x yerine t yazıldığında;

$$y = a \cdot \exp[-\exp(b - ct)] \quad (5.4)$$

elde edilir.

Eğrinin maksimum artış gösterdiği noktanın bulunması amacıyla fonksiyonun t'ye göre 2. türevi alınır:

$$\frac{dy}{dt} = ac \cdot \exp[-\exp(b - ct)] \exp(b - ct) \quad (5.5)$$

$$\frac{d^2y}{dt^2} = ac^2 \cdot \exp[-\exp(b - ct)] \exp(b - ct) [\exp(b - ct) - 1] \quad (5.6)$$

Maksimum artışın gözlemlendiği $t = t_i$ noktasında 2. türev sıfıra eşittir:

$$\frac{d^2y}{dt^2} = 0 \quad \rightarrow \quad t_i = \frac{b}{c} \quad (5.7)$$

Maksimum spesifik çoğalma hızı bu noktadaki 1. türeve eşittir:

$$\mu_{\max} = \left(\frac{dy}{dt} \right)_{t_i} = \frac{ac}{e} \quad (5.8)$$

Gompertz eşitliğindeki c parametresi yerine $c = \frac{\mu_m e}{a}$ yazılabilir.

Maksimum artışın gözlemlendiği noktada eğriye çizilen teğetin denklemi aşağıdaki gibidir:

$$y = \mu_m t + \frac{a}{e} - \mu_m t_i \quad (5.9)$$

Gecikme fazı süresi teğetin x eksenini kestiği nokta yardımıyla aşağıdaki şekilde hesaplanabilir:

$$0 = \mu_m \lambda + \frac{a}{e} - \mu_m t_i \quad (5.10)$$

(5.7), (5.8) ve (5.10) denklemleri kullanılarak;

$$\lambda = \frac{(b-1)}{c} \quad (5.11)$$

eşitliği elde edilir.

Gompertz eşitliğindeki b parametresi yerine aşağıdaki eşitlik yazılabilir:

$$b = \frac{(\mu_m e)}{a} \lambda + 1 \quad (5.12)$$

t'nin sonsuza gitmesi durumu için asimptot değer elde edilir.

$$t \rightarrow \infty; \quad y \rightarrow a \quad A=a \quad (5.13)$$

Gompertz eşitliğinde a parametresi yerine A yazıldığında modifiye edilmiş Gompertz eşitliği bulunur:

$$y = A \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_m \cdot e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (5.14)$$

Lay ve diğ. (1998a) tarafından yapılan çalışmada, Zwietering ve diğ. (1990)'nin elde ettiği bakteri çoğalma eğrisini modelleyen modifiye edilmiş Gompertz eşitliğini (Eşitlik 5.14) eklenik metan üretimini modelleyecek şekilde değiştirmişlerdir. Lay ve diğ.'nin (1998a) kullandıkları yaklaşım tarzı aşağıda açıklanmıştır:

Lactobacillus plantarum ve *Lactobacillus acidophilus*'un çoğalma verilerine en iyi uyan model Gompertz eşitliğidir (Zwietering ve diğ., 1990; Cho ve diğ., 1996). Gompertz eşitliği aşağıdaki şekilde yazılabilir:

$$N = \int_0^t r_g \cdot dt = A \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_m \cdot e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (5.15)$$

Bakteri çoğalma hızı ve substrat tüketim hızı arasındaki ilişki aşağıdaki eşitlikle ifade edilebilir:

$$r_g = Y_1 \cdot (-r_{su}) \quad (5.16)$$

Burada:

r_g : çoğalma hızı

r_{su} : substrat tüketim hızı

Y_1 : katsayı

Diğer taraftan substrat tüketim hızı ve metan üretim hızı arasındaki ilişki aşağıdaki eşitlikle ifade edilir:

$$-r_{su} = Y_2 \cdot r_m \quad (5.17)$$

r_m : metan üretim hızı

Y_2 : katsayı

(5.16) ve (5.17) eşitlikleri kullanılarak metan üretim hızı;

$$r_m = \frac{r_g}{Y_1 \cdot Y_2} \quad (5.18)$$

şeklinde bulunur.

Sonuç olarak eklenik metan üretimi, M

$$M = \int_0^1 r_m \cdot dt = \int_0^1 \frac{r_g}{Y_1 \cdot Y_2} \cdot dt = \frac{1}{Y_1 \cdot Y_2} \int_0^1 r_g \cdot dt \quad (5.19)$$

şeklinde bulunur.

$\int_0^1 r_g \cdot dt$ terimi (5.15) eşitliğinde yerine yazıldığında eklenik metan üretimi için

aşağıdaki eşitlik elde edilir:

$$M = \frac{A}{Y_1 \cdot Y_2} \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{(\mu_m / Y_1 \cdot Y_2) \cdot e}{(A / Y_1 \cdot Y_2)} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (5.20)$$

$\frac{\mu_m}{Y_1 \cdot Y_2}$ maksimum metan üretim hızını tanımlıyor iken, $\frac{A}{Y_1 \cdot Y_2}$ terimi yerine, metan

üretim potansiyeli olarak tarif edilen P yazılır.

Sonuç olarak elde edilen denklem;

$$M = P \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (5.21)$$

şeklindedir.

Denklem (5.21) modifiye edilmiş Gompertz eşitliğidir. Burada,

M: eklenik spesifik metan miktarı, ml CH₄ / grUAKM

e = exp(1)

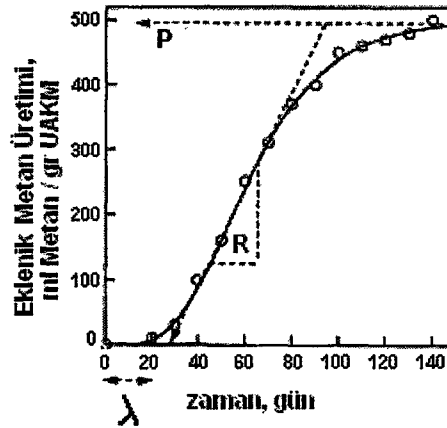
R: maksimum metan üretim hızı, ml CH₄ / grUAKM-gün

P: metan üretim potansiyeli, ml CH₄ / grUAKM

λ: gecikme fazı süresi, gün

göstermektedir. Bu denklemi tarif eden Eklenik Spesifik Metan Üretim eğrisinin şematik gösterimi Şekil 5.10'da verildiği gibidir.

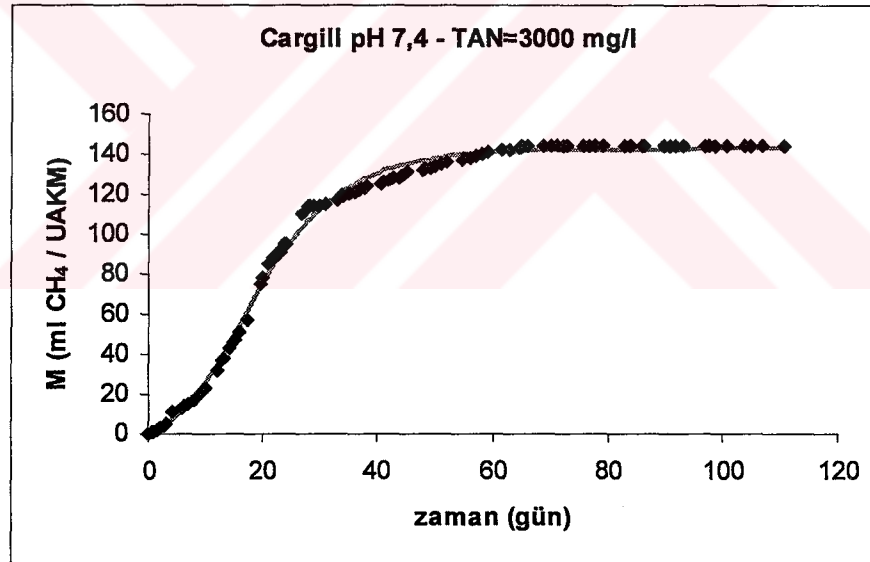
Bu denklem birçok araştırmacı (Lay ve diğ., 1998b; Liu ve Sung, 2002; Sung and Liu, 2003 gibi) tarafından benzer şekilde kullanılmıştır.



Şekil 5.10 Eklenik metan üretimi (modifiye edilmiş Gompertz eşitliği ile elde edilen) eğrisinin şematik gösterimi

5.4 Eklenik Metan Üretim Eğrilerinin Değerlendirilmesi

Metan üretim verilerinin doğrusal olmayan en küçük kareler metodu kullanılarak değerlendirilmesi sonucunda pH ve TAN'ın fonksiyonu olarak P, R ve λ değerleri bulunmuştur. Regresyon probleminin çözümünde Levenberg-Marquardt algoritması (Press ve diğ., 1999) kullanılmıştır. Bazı durumlar için fiziksel açıdan anlamlı parametrelerin elde edilmesi amacıyla $\lambda \geq 0$ sınırlaması gerekli olmuştur. Böyle durumlarda regresyon probleminin çözümünde Sequential Quadratic Programming algoritması (Powell, 1977) kullanılmıştır. Bu algoritma parametreler için sınırlama yapma imkânı vermesi dolayısıyla avantajlı olmuştur. Tablo 5.1 ve Tablo 5.2 sırasıyla 2 farklı set data için P, R ve λ parametrelerinin optimum değerlerini göstermektedir. Şekil 5.11, örnek olarak bir set için deney sonuçlarını ve bu sonuçlara uygulanan model eğrisini (Eşitlik 5.21) göstermektedir (Her 2 aşı çamuruna ait farklı pH ve farklı TAN değerleri için elde edilen, Gompertz modeline göre oluşturulmuş grafikler Ek E'de verilmiştir).



Şekil 5.11 Metan üretim verileri ve bu verilere uygulanan Gompertz modeli (granüler aşı çamuru; pH 7,4 ve TAN = 3000 mg/l)

Şekil 5.1 - 5.8 aşağıdaki parametreler açısından değerlendirilebilir:

R: maksimum metan üretim hızı, ml CH₄ / (grUAKM)(gün)

P: metan üretim potansiyeli, ml CH₄ / grUAKM

λ : gecikme fazı süresi, gün

Bu eğrilerde her farklı pH ve TAN konsantrasyonu kombinasyonu için farklı eklenik metan üretim eğrisi söz konusudur (Şekil 5.1 - 5.4, Şekil 5.5 - 5.8). Sonuç olarak R, P ve λ parametrelerinin değerleri pH ve TAN'a bağlıdır. Sonuçların kalitatif olarak yorumlanması ve değerlendirilmesinde Şekil 5.1 – Şekil 5.8 dikkate alınırsa parametrelerdeki gözle görülür değişimler de model sonuçları ile uyumludur.

Kontrol reaktörleri (TAN'ın inhibe edici konsantrasyonlarını içermeyen reaktörler) için çizilen eklenik metan üretimi eğrilerinden, her iki aşı çamuru için metan üretim potansiyellerinin aynı seviyede (yaklaşık olarak 200 mlCH₄/grUAKM) oldukları görülmektedir. Bu durum her iki deney setinde aynı substratın aynı KOİ konsantrasyonunda kullanılması ile de tutarlıdır.

Tablo 5.1 Granüler aşı çamuru için doğrusal olmayan regresyon sonucunda hesaplanan parametre değerleri

pH	TAN (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	R (ml CH ₄ /grUAKM.gün)	P (ml CH ₄ /grUAKM)	λ (gün)
6,8	262	2,1	259,9	112,6	195,4	0,074
7,4	262	8,2	253,8	105,7	203,6	0,043
7,8	262	19,6	242,4	94,2	222,8	0,005
8,4	262	63,8	198,2	56,1	230,0	0,000
6,8	1000	8,0	992,0	103,5	192,3	0,034
7,4	1000	31,2	968,8	90,6	210,7	0,036
7,8	1000	74,8	925,2	63,2	210,4	0,000
8,4	1000	243,6	756,4	16,8	228,0	14,120
6,8	1500	12,0	1488,0	98,9	193,6	0,065
7,4	1500	46,8	1453,2	72,3	193,6	0,010
7,8	1500	112,3	1387,7	48,5	201,4	0,000
8,4	1500	365,4	1134,6	14,7	227,0	23,340
6,8	2000	16,0	1984,0	83,4	196,3	0,041
7,4	2000	62,4	1937,6	71,8	198,3	0,000
7,8	2000	149,7	1850,3	46,4	195,2	0,000
8,4	2000	487,2	1512,8	7,2	226,0	31,610
6,8	2500	20,1	2479,9	71,6	191,2	0,027
7,4	2500	78,0	2422,0	59,9	199,3	0,000
7,8	2500	187,1	2312,9	26,4	189,0	0,000
8,4	2500	609,0	1891,0	5,0	225,0	60,680
6,8	3000	24,1	2975,9	71,6	195,4	0,000
7,4	3000	93,6	2906,4	56,9	206,3	0,000
7,8	3000	224,5	2775,5	22,2	160,6	0,000
8,4	3000	730,7	2269,3	4,9	223,5	71,130

Şekil 5.1 - 5.8'de yatay eksenler (süre) incelendiğinde, aynı miktarda substratın granüler aşı çamurunda, floküler aşı çamuruna göre çok daha kısa sürede metana dönüştüğü görülmektedir. Bu durum Tablo 5.1'de görüldüğü gibi, granüler aşı çamurunun metan üretim hızının floküler aşı çamurunun metan üretim hızından daha

yüksek olması ile ilgilidir. Bölüm 5.5’de kullanılan modele göre granüler ve floküler aşı çamurları için inhibisyonun olmaması durumundaki maksimum hız (R_m), sırasıyla 123,1 ve 19,3 mlCH₄/grUAKM.gün olarak bulunmuştur. Granüler aşı çamurunun daha yüksek metanojenik aktivite değerlerine sahip olması FISH sonuçları ile de doğrulanmıştır. Granüler aşı çamuru floküler aşı çamuruna göre daha yüksek konsantrasyonda metanojen içermektedir (Bölüm 4.2 ve Bölüm 4.3).

Tablo 5.2 Floküler aşı çamuru için doğrusal olmayan regresyon sonucunda hesaplanan parametre değerleri

pH	TAN (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	R (ml CH ₄ /grUAKM.gün)	P (ml CH ₄ /grUAKM)	λ (gün)
6.8	262	2.1	259.9	13.87	181.0	5.7
7.4	262	8.2	253.8	16.31	184.8	5.8
7.8	262	19.6	242.4	16.22	215.8	6.2
8.4	262	63.8	198.2	11.44	209.5	9.4
6.8	1000	8.0	992.0	13.87	177.1	5.6
7.4	1000	31.2	968.8	12.13	174.9	5.5
7.8	1000	74.8	925.2	8.96	193.7	7.3
8.4	1000	243.6	756.4	3.01	194.2	84.0
6.8	1500	12.0	1488.0	11.54	169.4	6.0
7.4	1500	46.8	1453.2	8.85	165.3	5.8
7.8	1500	112.3	1387.7	2.20	174.2	26.9
8.4	1500	365.4	1134.6	2.59	139.6	96.7
6.8	2000	16.0	1984.0	8.71	165.1	6.1
7.4	2000	62.4	1937.6	8.95	163.1	5.6
7.8	2000	149.7	1850.3	3.15	173.2	67.9
8.4	2000	487.2	1512.8	0.46	36.8	0.0
6.8	2500	20.1	2479.9	10.35	157.6	6.9
7.4	2500	78.0	2422.0	8.03	153.7	6.5
7.8	2500	187.1	2312.9	2.57	169.7	64.4
8.4	2500	609.0	1891.0	0.41	30.4	0.0
6.8	3000	24.1	2975.9	7.43	143.5	6.4
7.4	3000	93.6	2906.4	5.17	142.5	5.3
7.8	3000	224.5	2775.5	2.59	167.8	69.8
8.4	3000	730.7	2269.3	0.05	5.0	2.6

Her iki aşı çamuru için maksimum hız, verilen bir pH değeri için artan TAN konsantrasyonu ile azalmaktadır. Verilen bir pH ve TAN değerindeki maksimum hız (R), zamana karşı çizilen eklenik metan üretiminin maksimum eğimine eşittir. Artan TAN konsantrasyonu ile hız değerlerinde görülen beklenen düşüş, önceki araştırmacıların sonuçları ile de tutarlılık göstermektedir.

Şekil 5.1 - 5.8’deki eğrilerin birbirlerine göre pozisyonları ve metan üretim potansiyelleri (P değerleri) incelendiğinde aşağıdaki sonuçlar gözlenmiştir:

Belirli bir pH'da belirli bir süreye kadar üretilen metan miktarı artan TAN değerleri ile azalmaktadır. Benzer şekilde, yüksek TAN değerlerindeki metan üretim potansiyelleri, daha az TAN değerlerindeki metan üretim potansiyelleri ile karşılaştırıldığında genelde düşük olmuştur. Bu durum floküler aşı çamuru için tüm pH değerlerinde açıkça gözlenmiştir (Şekil 5.5 - 5.8). Granüler aşı çamuru için pH 6,8 ve 7,4'deki eklenik metan üretim eğrileri (P değerleri birbirine yakındır) geniş zaman aralıklarında üst üste düşmüştür (Şekil 5.1 - 5.2). Bununla birlikte pH 7,8 ve 8,4 için metan üretim potansiyeli üzerine TAN etkisi oldukça açık bir şekilde görülmektedir (Şekil 5.3 - 5.4).

Her iki aşı çamuru için serbest amonyağın amonyum iyonundan çok daha toksik olduğu gözlenmiştir. Örneğin floküler aşı çamuru için, Şekil 5.5, 5.6, 5.7 ve 5.8 incelendiğinde (sırasıyla pH 6,8; 7,4; 7,8 ve 8,4 verileri) verilen bir TAN değerinde (TAN=262 mg/l hariç) inhibisyonun artan pH (dolayısıyla artan serbest amonyak) ile arttığı görülür. Şekil 5.5 - 5.8'deki verilerden (Tablo 5.1 ve 5.2'de verilen R değerlerinden) $TAN \geq 1000$ mg/l olduğunda artan pH ile hızdaki azalmanın, kontrolde gözlenen azalmadan çok daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum aşağıda belirtildiği gibi granüler aşı çamuru için bir farklılık dışında aynı olmaktadır.

Floküler aşı çamurunun kontrol datası için, hız değerleri ilk başta artma, daha sonra artan pH ile azalma gösterirken granüler aşı çamuru kontrol datası için hız değerleri artan pH ile monoton bir şekilde azalmıştır (Tablo 5.3). Bu durumun nedeni, TAN'ın inhibe edici konsantrasyonlarının olmaması durumunda (kontrol reaktörleri) floküler aşı çamuru için optimum pH 7,5 iken granüler aşı çamuru için optimum pH'ın 6,8 olmasıdır (Buradaki optimum pH değerleri Bölüm 5.5'de geliştirilen yeni model kullanılarak hesaplanmıştır). Maksimum hız değerlerinin optimum pH ile uygunluğu, Tablo 5.1 ve 5.2'den de görülmektedir. Granüler aşı çamuru için bulunan optimum pH, deneylere başlama aşamasında bilinmediği için pH 6,8'den daha düşük pH değerleri deneysel çalışmada kullanılmamıştır.

$TAN \geq 1000$ mg/l konsantrasyonları için artan pH'ın yarattığı yüksek inhibisyon etkileri pH'ın direkt inhibitör etkisinden çok, büyük ölçüde pH'ın amonyak-amonyum dağılımı üzerindeki etkisine bağlı olmuştur.

Tablo 5.3 Granüler ve floküler kontrol reaktörlerinde R değerlerinin pH ile değişimi

pH	TAN (mg/L)	Granüler aşı çamuru R (ml CH ₄ /grUAKM.gün)	Floküler aşı çamuru R (ml CH ₄ /grUAKM.gün)
6.8	262	112.6	13.87
7.4	262	105.7	16.31
7.8	262	94.2	16.22
8.4	262	56.1	11.44

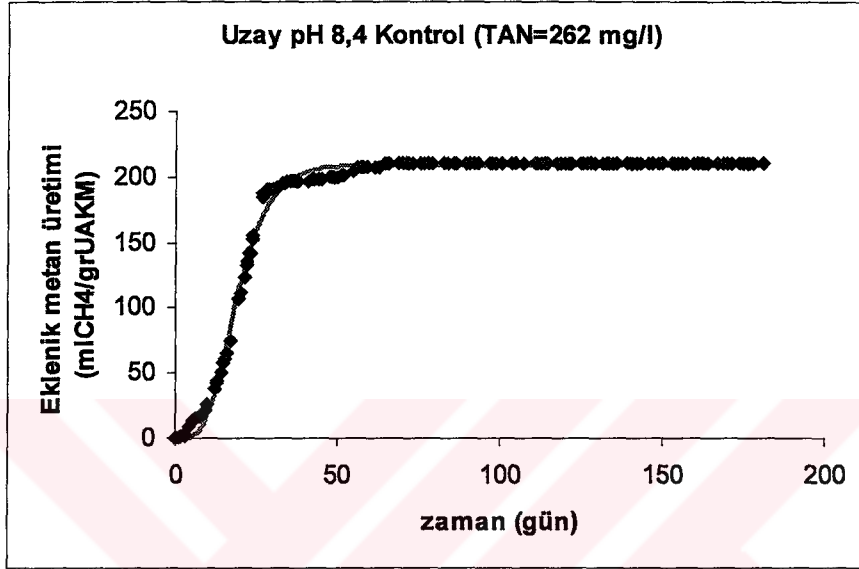
Amonyak genel olarak amonyuma göre daha toksik bilinmekle birlikte, amonyum iyonunun da direkt inhibe edici etkisinin olup olmadığı sorusu akla gelebilir. Bu sorunun cevabı için yapılacak araştırmaları, amonyak ve amonyumun her ikisinin birlikte denge halinde ortamda bulunması (bir tür bulunurken diğer tür de ortamda mevcuttur) karmaşık hale getirmektedir. Gallert ve diğ. (1998) “literatürdeki çalışmalar toplam amonyak ve serbest amonyak arasındaki farkı çok iyi belirleyememekte ve inhibe edici konsantrasyonların çok geniş aralıklarda verilmesinin bir nedeni bu durum olabilmektedir” şeklinde bir açıklama getirmişlerdir. Bu çalışmada sunulan her iki aşı çamuru için pH 6,8’deki (Tablo 5.1 ve Tablo 5.2) data incelendiğinde TAN’ın 262 mg/l’den 3000 mg/l’ye artması durumunda hızın azaldığı görülmektedir. Bu TAN konsantrasyonlarına karşılık gelen serbest amonyak konsantrasyonu 2,1 mg/l’den 24,1 mg/l’ye değişmektedir. Amonyaga alıştırılmamış çamurlar üzerinde yapılan literatür çalışmaları amonyanın ilk inhibe edici etkilerinin gözlemlendiği konsantrasyonu 55 mg/l (Bhattacharya ve Parkin, 1989), 80 mg/l (De Baere ve diğ., 1984; Koster, 1986) veya 150 mg/l (McCarty ve McKinney, 1961) serbest amonyak azotu olarak vermişlerdir. Bu çalışmada kullanılan maksimum değer olan 24,1 mg/l serbest amonyak azotu (pH 6,8’de) konsantrasyonu bu değerlerin çok altında olduğundan, pH 6,8’de (Şekil 5.1 ve Şekil 5.5) artan TAN’a bağlı gözlenen inhibisyonunun tamamen amonyum iyonundan kaynaklandığı tahmin edilebilir. Bu durumun daha fazla araştırmaya ihtiyaç gösterdiği düşünülmektedir; çünkü bazı araştırmacılar, sadece serbest amonyanın inhibe edici eşik konsantrasyonlarını azaltacak yöndeki girişimleri, amonyum iyonunun kendisinin de direkt inhibe edici etkisini (az da olsa) dikkate almadan devam ettirmektedirler. Örneğin mezofilik şartlarda (25 °C ve 35 °C) serbest amonyak konsantrasyonunu 100 mg/l’nin altında tutacak şekilde düşük pH’larda (pH 7) yapılan çalışmalarda, amonyum azotu konsantrasyonu 10.000 mg/l’nin üzerine çıkabilmektedir (Grady ve diğ., 1999).

Oysa ki gözlenen herhangi bir toplam inhibisyon etkisi, amonyak ve amonyum iyonunun toplamından kaynaklanabilmektedir. Bunun da ötesinde bazı araştırmacılar ise, aslında amonyak ve amonyum azotu toplamlarından söz ederlerken sadece “amonyak-N” veya “amonyum-N” terimlerini kullanmaktadırlar.

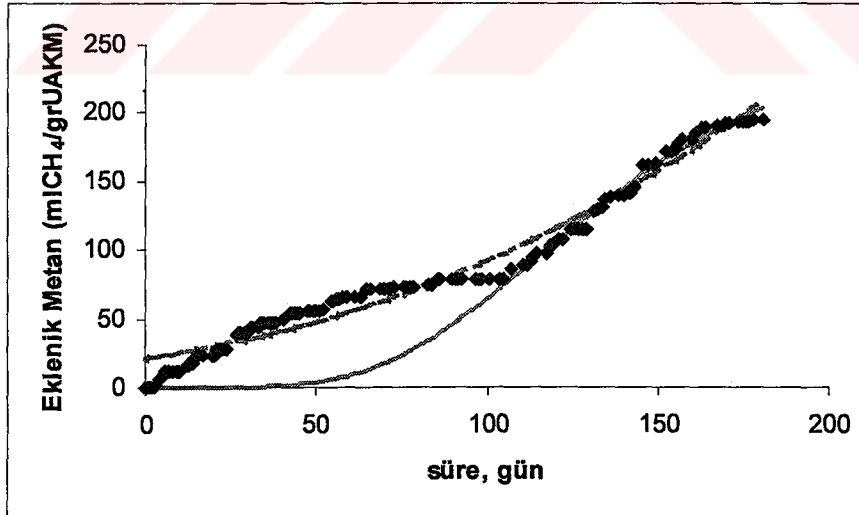
Gecikme fazı varlığı ve tipi dikkate alındığında, bu çalışmada kullanılan iki aşı çamuru oldukça dikkat çekici tipte davranış sergilemektedir. Veriler incelendiğinde, floküler aşı çamuru için pH 8,4 ve TAN 1500 mg/l dışında herhangi bir belirgin gecikme fazı (metan üretiminin sıfır olduğu başlangıç periyodu) görülmemektedir. Bahsedilen durumda (pH 8,4 ve TAN 1500 mg/l) 25 günlük bir gecikme fazı gözlenmiştir. Diğer tüm durumlarda, metan üretimi en fazla iki gün içerisinde başlamıştır. Bu sıradışı durumun (pH 8,4 ve TAN 1500 mg/l) nedeni bilinmemektedir. Granüler aşı çamuru için ise tüm pH ve TAN konsantrasyonları kombinasyonlarında metan üretimi deneylerin başlaması ile birlikte başlamıştır (bütün kombinasyonlarda gecikme fazı süresi sıfırdır). Her iki aşı çamurunun da bahsedilen kesikli deneyler öncesinde yüksek seviyelerde amonyak azotuna alıştırlmadığı dikkate alınmalıdır. Bu sonuçlar (özellikle granüler aşı çamuru için), alıştırlmamış aşı çamurunun yüksek seviyelerde TAN konsantrasyonlarına maruz bırakıldığında metan üretiminin sıfır olduğu bir başlangıç gecikme fazı periyodunun görülmesinin gerekli olmadığını göstermektedir.

Gecikme fazı süresi her iki aşı çamurunda olmasa da veya bu süre kısa olsa bile eklenik metan eğrisi, bazı durumlarda bir başlangıç hörgücü göstermektedir. Floküler aşı çamurunda bu durum $\text{pH} \geq 7,8$ ve $\text{TAN} \geq 1500\text{-}2000 \text{ mg/l}$ 'de görülürken, granüler aşı çamuru için sadece pH 8,4 ve $\text{TAN} \geq 1000 \text{ mg/l}$ değerlerinde gözlenmiştir. Bahsedilen hörgüç, floküler aşı çamuru için pH 8,4 metan üretim eğrilerinde (Şekil 5.8) çok belirgin olmuştur. Şekil 5.8'deki datanın bir kısmı Şekil 5.12 ve Şekil 5.13'de tekrar değerlendirilmiştir. Başlangıç hörgücü kontrolde gözlenmez iken (Şekil 5.12) TAN 1000 mg/l datası için açık bir şekilde gözlenmektedir (Şekil 5.13). İkinci durumda (Şekil 5.13), metan üretimi inkübasyon periyodunun başlangıcından kısa bir süre sonra başlamıştır. Metan üretim hızı, deneyin yaklaşık 80. gününden sonra sıfırlanmaya başlamıştır. Yaklaşık 100 gün sonra, metan üretimi tekrar başlamış ve maksimum metan üretim hızı bu ikinci periyotta gözlenmiştir. Her iki aşı çamuru için, bahsedilen hörgücün gözleendiği durumlarda ikinci periyotta gözlenen maksimum metan üretim hızları, birinci

periyotta gözlenen metan üretim hızlarından daha yüksek olmuştur. Benzer şekilde TAN 1500 mg/l için de yaklaşık 100 günden sonra metan üretimi tekrar başlamıştır (Şekil 5.8). Bununla birlikte, 2000, 2500 ve 3000 mg/l TAN değerleri için 6 aylık inkübasyon süresinden sonra dahi metan üretimi gözlenmemiştir. Böyle durumlarda, bu çalışmada bahsedilen “başlangıç hörgücü”, deney süresinin tamamına yayılmış ve metanojenik aktivite hiç başlamamıştır.



Şekil 5.12 Floküler aşı çamurunda pH 8,4 ve TAN 262 mg/l için model ve deneysel datanın değişimi



Şekil 5.13 Floküler aşı çamuru pH 8,4 ve TAN 1000 mg/l için model ve deneysel data. Kesikli eğri tüm deney datasının kullanılması ile, sürekli eğri ise başlangıç hörgücü datası haricindeki deney datasının kullanılması ile elde edilmiştir.

Yukarıda bahsedildiği gibi floküler aşı çamuru için başlangıç hörgücü pH 7,8'de TAN = 1500 – 2000 mg/l'de görülmeye başlanmıştır. Granüler aşı çamuru ise sadece

pH 8,4 ve TAN ≥ 1000 mg/l için bu davranışı göstermiştir. Ek E'deki grafiklerde görüldüğü gibi, granüler aşı çamurunda (pH 8,4) 1000, 1500, 2000, 2500 ve 3000 mg/l TAN değerleri için sırasıyla yaklaşık olarak 20, 28, 35, 70 ve 80 gün sonra metan üretimi tekrar başlamıştır. Granüler aşı çamurunun floküler aşı çamurundan diğer bir farklılığı granüler aşı çamurunda başlangıç hörgücünün ardından bu çalışmada kullanılan en yüksek TAN konsantrasyonu olan 3000 mg/l'de dahi her zaman bir iyileşme periyodunun yaşanmış olmasıdır (Şekil 5.4).

Benzer bakış açısı ile, metan üretiminde bir iyileşme ile sonuçlanan başlangıç hörgücü, Koster (1986) tarafından yapılan çalışmada da mevcuttur. Bununla birlikte, deneysel şartlar açısından Koster'in çalışması ile bazı farklılıklar söz konusudur. Koster'in çalışmasında, metan üretiminin başlangıçtaki durmasının ardından, TAN konsantrasyonu reaktörlerin dördünde sürekli olarak artırılmış ve pH reaktörlerin üçünde düşürülmüştür. Bu çalışmada bahsedilen deneylerde ise her reaktördeki TAN konsantrasyonları ve pH değerleri sabit tutulmuştur. Şekil 5.13'de verilen durumun literatürde yapılan çalışmalarda belirtilmediğine inanılmaktadır (Eldem ve diğ., 2004b).

Bu deneylerde gözlenen alışmanın, aşı çamurlarında zaten baskın olan metanojenik arke türündeki metabolik değişim dolayısıyla veya amonyağa daha dirençli yeni mikroorganizmaların üremesi dolayısıyla olabileceği tahmin edilmektedir.

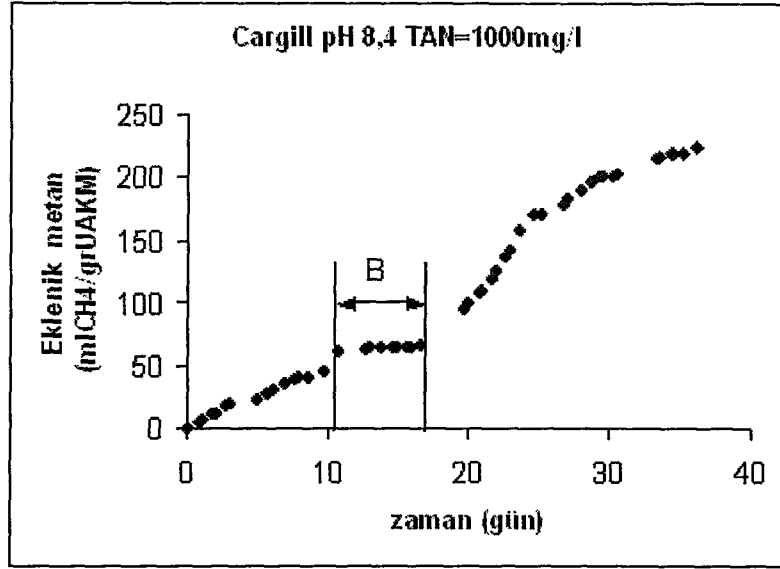
Şekil 5.13'de verilen eğrinin eğiminde görülen ani değişim, sistemde görülen iki paralel mekanizmanın açıklanmasına ışık tutmaktadır: Bunlardan birincisi düşük TAN değerlerinde daha hızlı ilerleyen bir mekanizma iken, ikinci mekanizma (veya tür), birinci mekanizma inhibe olduğunda baskın hale gelmektedir. Bu durumun (aktivitenin sıfır olduğu başlangıç periyodu yerine başlangıç hörgücünün görülmesi durumu) diğer bir açıklaması ise şu şekilde olabilir: Ortamda bulunan arke, amonyak toksik etki göstermeye başlamadan önce, başlangıç hörgücünü oluşturacak şekilde metan üretimine başlamakta ve ardından metan üretimi durmaktadır. Bu periyot sırasında yaşanan alışma, daha sonra metanojenik aktivitenin tekrar başlaması ile sonuçlanabilmektedir.

Çoğu durumlarda Gompertz eşitliği, metan üretim datasına oldukça iyi uyum göstermiştir (örneğin Şekil 5.12). Bununla birlikte, yukarıda bahsedilen yüksek pH ve TAN konsantrasyonlarında gözlenen başlangıç hörgücü, Gompertz eşitliği

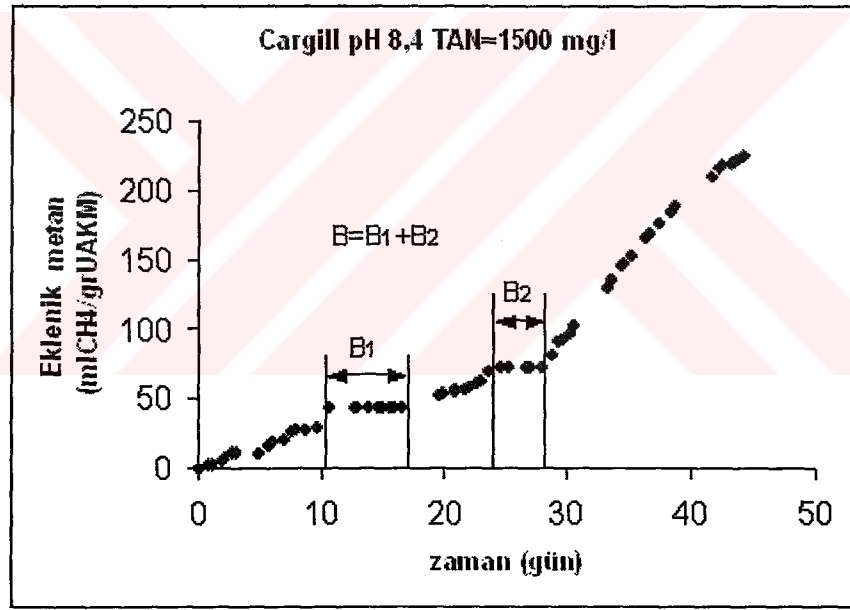
kullanılarak doğru bir şekilde tahmin edilememiştir (Şekil 5.13'deki kesikli eğri). Böyle durumlarda, maksimum hızın (R) belirlenmesi için Şekil 5.13'de gösterilen yaklaşım kullanılmıştır. Eşitlik 5.21'deki parametreler, ikinci periyottaki metan üretim datasının doğrusal olmayan regresyon analizi ile belirlenmiştir (başlangıç hörgücü dikkate alınmamıştır). Bu yaklaşım ile maksimum hızı (her zaman başlangıç hörgücünden sonra oluşan) veren R değerleri oldukça iyi bir şekilde tahmin edilebilmiştir (Şekil 5.13'deki sürekli eğri). Aynı zamanda hesaplanan P değerleri, gözlenen üretim potansiyelleri ile iyi uyum göstermektedir. Bununla birlikte, bu yaklaşım tarzı ile belirlenen λ değerleri, sıfır metan üretimi periyodunu göstermemektedir. Örneğin Şekil 5.13'deki durum için λ değeri 84 gün olarak elde edilmiştir. Böyle durumlar için bulunan λ değerlerinin uygun bir şekilde yorumlanması, “metanojenik aktivitenin başlaması öncesinde, amonyağa dirençli türlerin alışıması için geçen süre” şeklinde yapılabilir.

Eklenik metan üretim eğrileri incelendiğinde, bazı pH – TAN kombinasyonlarında mikroorganizmaların belirli β sürelerinde $\Delta_{\text{eklenik metan üretimi}} = 0$ olacak şekilde tepkiler verdikleri ve bu süre sonunda yeniden belirli bir hızla metan üretimini (veya substrat giderimini) devam ettirdikleri gözlenmiştir. Söz konusu kısmi aklımasyon (duraklama) sürelerinin (β) ardından, yukarıda da bahsedildiği gibi mikroorganizmalar inhibisyon etkisini kırıcı mekanizmalar geliştirerek yeniden aktif faaliyetlerini sürdürmüşlerdir. Kısmi aklımasyon süreleri bazen tek (Şekil 5.14), bazı durumlarda ise birden fazla bileşen (Şekil 5.15) ihtiva edebilmektedir. Burada verilen β değerleri birden fazla zaman aralığında duraklama gözlenmesi durumlarında bu sürelerin toplamına karşılık gelmektedir.

Granüler ve floküler aşı çamurları ile sürdürülen çalışmalarda gözlenen β değerleri ve bu değerlerin bir veya daha fazla kademede gerçekleşmesi durumu Tablo 5.4 ve Tablo 5.5'de verilmiştir.



Şekil 5.14 Tek kademeli β duraklama süresinin görüldüğü granüler çamur pH 8,4 ve TAN 1000 mg/l deney datası



Şekil 5.15 İki kademeli β duraklama süresinin görüldüğü granüler çamur pH 8,4 ve TAN 1500 mg/l deney datası

Tablo 5.4 Granüler aşı çamuru için β değerleri (gün)

pH	Toplam Amonyak Azotu, mg/l					
	262	1000	1500	2000	2500	3000
6,8	0	0	0	0	0	0
7,4	0	0	0	0	0	0
7,8	0	0	0	0	0	0
8,4	0	6 ^a	10 ^b	12 ^b	22 ^b	31 ^b

^atek kademeli β duraklama süresinin gözlemlendiği durumlar

^bbirden fazla kademeli β duraklama süresinin gözlemlendiği durumlar

Tablo 5.5 Floküler aşı çamuru için β değerleri (gün)

pH	Toplam Amonyak Azotu, mg/l					
	262	1000	1500	2000	2500	3000
6,8	0	0	0	0	0	0
7,4	0	0	0	0	0	0
7,8	0	0	3 ^a	18 ^b	29 ^b	39 ^b
8,4	0	55 ^b	59 ^b	-	-	-

^atek kademeli β duraklama süresinin gözlemlendiği durumlar

^bbirden fazla kademeli β duraklama süresinin gözlemlendiği durumlar

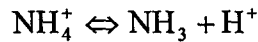
Δ eklenik metan üretimi (ml CH₄/gr UAKM) = 0 durumu, özellikle yüksek pH değerlerinde (pH 7,8 - 8,4) ortaya çıkmaktadır.

Tablo 5.4 ve Tablo 5.5’de de görüldüğü gibi granüler aşı çamurunun kullanıldığı kesikli deneylerde pH 8,4’de 1000 mg/l TAN’dan itibaren β ara aklimasyon süresi gözlenmiş ve TAN konsantrasyonu arttıkça β süresinin de arttığı görülmüştür. β ara aklimasyon süresi, floküler aşı çamurunda ise pH 7,8’de TAN 1500 mg/l’den itibaren gözlenmiş, pH 8,4’de 1500 mg/l TAN konsantrasyonunda 59 gün gibi oldukça uzun sürelerle ulaşmıştır.

5.5 Amonyak ve pH İnhibisyonunun Modellenmesi

5.5.1 Amonyak – amonyum dağılımı

Amonyak ve amonyum iyonunun her ikisi de metanojenlere toksik etki gösterdiği bilinmesine rağmen genelde serbest amonyak amonyum iyonundan çok daha kuvvetli bir inhibitördür (Koster ve Koomen, 1988; Angelidaki ve Ahring, 1993). Bu nedenle, belirli bir TAN konsantrasyonu (amonyak ve amonyum azotu toplamı) için inhibisyon derecesi pH’a bağlıdır. Bu çalışmada amonyak ve amonyum iyonunun birbirlerine göre miktarları aşağıdaki denge uyarınca hesaplanmıştır:



iyonize olmamış (serbest) amonyağın F fraksiyonu:

$$F = \left(1 + 10^{(\text{pK}_a - \text{pH})}\right)^{-1} \quad (5.22)$$

denklemini kullanılarak hesaplanmıştır. Burada K_a = amonyum iyonunun iyonizasyon sabitidir. Bu sabit aşağıdaki ampirik bağıntı kullanılarak hesaplanabilir (Emerson ve diğ., 1975):

$$pK_a = 0.09018 + \frac{2729.92}{T} \quad (5.23)$$

burada T, Kelvin olarak mutlak sıcaklıktır. Bu çalışmada kullanılan sıcaklıkta (37 °C), $pK_a = 8,89$ 'dur. Serbest amonyak konsantrasyonu F(TAN) ve amonyum iyonu konsantrasyonu (1-F)(TAN) değerine eşittir. Burada TAN, NH_4^+ -N ve NH_3 -N toplamını göstermektedir.

Lay ve diğ. (1998b), spesifik bir pH değerinde amonyum veya serbest amonyanın metanojenik aktivite üzerine etkisini aşağıdaki eşitliği (Han ve Levenspiel, 1988) kullanarak incelemişlerdir (Ek B).

$$R = R_0 \left(1 - \frac{C}{C^*} \right)^n \quad (5.24)$$

Burada

R_0 : inhibitör ilavesiz durum için metan üretim hızı, ml CH_4 / (grUAKM)(gün)

C: amonyum veya serbest amonyak konsantrasyonu, mg/l

C^* : reaksiyonun daha fazla devam edemediği kritik amonyum veya serbest amonyak konsantrasyonu, mg/L

n: sabit

Han ve Levenspiel (1988) tarafından ileri sürülen bu eşitlik bakteriyal aktivite üzerine inhibitör madde konsantrasyonu etkisini açıklayan basit ve kullanışlı bir matematik modeldir.

Liu ve Sung (2002) ve Sung ve Liu (2003), substrat (KOİ) konsantrasyonunun kısıtlayıcı olmaması durumunda Eşitlik 5.24'e dönüşen bir bağıntı kullanmışlardır. Lay ve diğ. (1998b) C için serbest amonyak veya amonyum iyonu konsantrasyonunu (her ikisini birlikte değil) kullanırken Sung ve Liu (2003) C yerine TAN konsantrasyonunu kullanmışlardır. Amonyak ve amonyumun toksisiteleri farklı olduğundan ve birbirlerine göre rölatif miktarları pH ile değişiklik gösterdiğinden, inhibisyon bu 3 konsantrasyondan (TAN, amonyak veya amonyum) sadece birine

bağılı olarak ifade edilemez. Sonuç olarak bahsedilen araştırmacılar, çalışmalarında pH ile değişen n ve C^* değerlerini tablolatırmışlardır.

Lay ve diğ. (1998b) sabit bir TAN konsantrasyonunda pH etkisini modellemek için Michaelis pH fonksiyonunu (denklem 5,25a) kullanmışlardır (Ek B).

$$R = \frac{K_m}{1 + \frac{K_2}{H^+} + \frac{H^+}{K_1}} = \frac{K_m}{1 + 10^{(pH-pK_2)} + 10^{(pK_1-pH)}} \quad (5.25a)$$

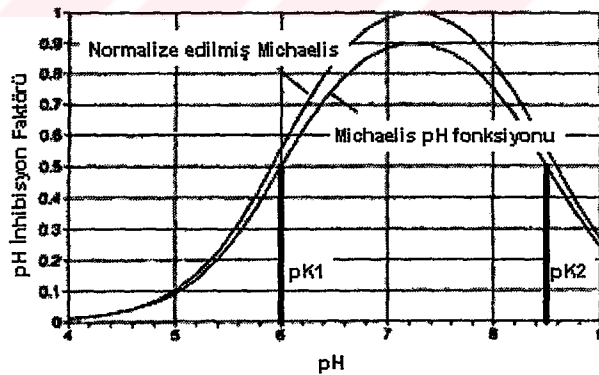
Sung ve Liu (2003) ise çalışmalarında normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonunu (denklem 5.25b) (Şekil 5.16) kullanmışlardır (5.25a denklemi ile karşılaştırma yapmak açısından notasyonları 5.25a denklemine benzetilerek kullanılmıştır).

$$R = \frac{K'_m (1 + 2 \times 10^{0.5(pK_1-pK_2)})}{1 + 10^{(pH-pK_2)} + 10^{(pK_1-pH)}} \quad (5.25b)$$

burada

K_m ve K'_m : belirtilen bir TAN konsantrasyonunda maksimum spesifik metan üretim hızını, ml CH_4 / (grUAKM)(gün)

pK_1 ve pK_2 : sırasıyla metanojenik aktivitenin %50 azaldığı düşük ve yüksek pH değerlerini göstermektedir (Şekil 5.16).



Şekil 5.16 Michaelis ve normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu (Angelidaki ve diğ., 1993)

Denklem 5.25a ve 5.25b maksimum değerlerini $pH = \frac{(pK_1 + pK_2)}{2}$ değerinde almaktadır (Bailey ve Ollis, 1986). 5.25b denkleminin bir avantajı, denklemi maksimum yapan bu pH değeri yerine yazıldığında $R = K'_m$ olmasıdır. Halbuki 5.25a eşitliği için bu durum R 'nin K_m 'den küçük olması ile sonuçlanmaktadır. Bu

nedenle K'_m parametresinin “maksimum spesifik metan üretim hızı” olarak adlandırılması daha doğru olacaktır.

pH'ın aynı zamanda direkt inhibisyon etkisinin (amonyakın inhibe edici konsantrasyonlarının olmaması durumunda dahi) olduğu da gözden kaçmamalıdır. Ayrıca pH amonyak ve amonyum arasındaki dağılımda etkili olduğundan, dolaylı olarak inhibe edici fonksiyona da sahiptir. Serbest amonyak, amonyum iyonundan çok daha toksik olarak bilindiği için, TAN değerinin yüksek olması durumunda optimum pH değerinin TAN konsantrasyonlarının düşük değerlerine göre daha az olması beklenir. Bu nedenle R'yi maksimum yapan pH değeri [5.25a ve 5.25b

eşitlikleri kullanılarak hesaplandığı gibi, $pH = \frac{(pK_1 + pK_2)}{2}$ TAN

konsantrasyonuna bağlıdır. Sonuç olarak pK_1 ve pK_2 “sabitleri”nin her ikisi veya herhangi birinin değeri TAN konsantrasyonuna bağlı olacaktır.

(5.24) ve (5.25b) eşitliklerinin sağ taraflarının eşitlenmesi ile aşağıdaki denklem elde edilir:

$$\frac{K'_m (1 + 2 \times 10^{0.5(pK_1 - pK_2)})}{1 + 10^{(pH - pK_2)} + 10^{(pK_1 - pH)}} = R_0 \left(1 - \frac{C}{C^*} \right)^n \quad (5.26)$$

pH ve C birbirinden bağımsız olarak değişebildiğinden, bu eşitlik ancak K'_m , pK_1 ve pK_2 parametrelerinden en az birinin C'ye bağlı olması durumunda ve aynı zamanda R_0 , C^* ve n parametrelerinden en az birinin pH'a bağlı olması durumunda sağlanabilir. Lay ve diğ. (1998b) ve Sung ve Liu (2003), her farklı pH için farklı R_0 , C^* ve n değerleri tablosu ve her farklı TAN konsantrasyonu için ise farklı K'_m , pK_1 ve pK_2 tabloları vermişlerdir.

Amonyak, amonyum ve pH'ın inhibisyon etkilerini açıklayan bir model için tek bir denklemin (5.24 ve 5.25 denklemleri yerine) yazılması daha avantajlı olacaktır. Ayrıca, model parametrelerinin reaksiyon ortamındaki farklı türlerin konsantrasyonları ile değişmemesi istenir. Bu durum aynı zamanda kinetik katsayıların konsantrasyona değil sadece sıcaklığa bağlı olduğu kimyasal kinetik disiplini ile de uyusmaktadır. Bu çalışmada, bir reaksiyon sıcaklığında verilen aşı çamuru için model parametreleri pH ve TAN konsantrasyonundan bağımsız olmuştur.

Çalışmanın 1. aşamasında Gompertz eşitliğine göre her farklı pH ve TAN değerleri için elde edilen R değerleri kullanılarak Şekil 5.17 ve 5.18’de görüldüğü gibi R – TAN grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 5.17 ve 5.18’deki noktalar).

Bu çalışmada elde edilen her iki set data için, Han ve Levenspiel eşitliği (denklem 5.24) verilere uygun bir eğilim göstermemiştir. Şekil 5.17 ve 5.18’de görüldüğü gibi metanojenik aktivite kritik bir amonyak veya amonyum değerinde aniden azalma yerine eksponansiyel olarak azalmaktadır. Bu nedenle amonyak ve amonyum etkileri aşağıdaki orantı uyarınca modellenmiştir:

$$R \propto \exp(-aC_{NH_3})\exp(-bC_{NH_4^+}) = \exp[-(aF + b(1 - F))TAN] \quad (5.27)$$

Bu eşitliğin sağ tarafı serbest amonyak ve amonyum iyonu arasındaki denge göz önünde bulundurularak elde edilmiştir. a ve b; pH ve amonyak/amonyum konsantrasyonlarından bağımsız, gerçek sabitlerdir.

Amoyağın aynı zamanda metanojenler için gerekli bir nütrient olduğu dikkate alınmalıdır. Bu nedenle TAN’ın sıfırdan yüksek değerlerinde başlangıçta bir aktivite artışını tahmin eden bir model, denklem (5.27)’den daha doğru olacaktır. Hız başlangıçta bir maksimumdan geçmeli, ardından TAN konsantrasyonu daha fazla arttıkça bir düşüş göstermelidir. Bu çalışmanın öncelikli amacı inhibe edici TAN konsantrasyonlarının etkisini görmek olduğundan ve kısıtlayıcı (sıfıra yakın) TAN konsantrasyonları için veri toplanmadığından buradaki çözümlerde denklem (5.27) yeterli olacaktır. Han ve Levenspiel eşitliği (denklem 5.24) ise TAN=0 da maksimum aktivite vermektedir.

Amonyak ve amonyumun verilen konsantrasyonlarında metanojenik aktivite üzerine pH’ın doğrudan etkisi, normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu (Şekil 5.16) kullanılarak tahmin edilmiştir:

$$R \propto \frac{(1 + 2 \times 10^{0.5(pK_1 - pK_2)})}{1 + 10^{(pH - pK_2)} + 10^{(pK_1 - pH)}} \quad (5.28)$$

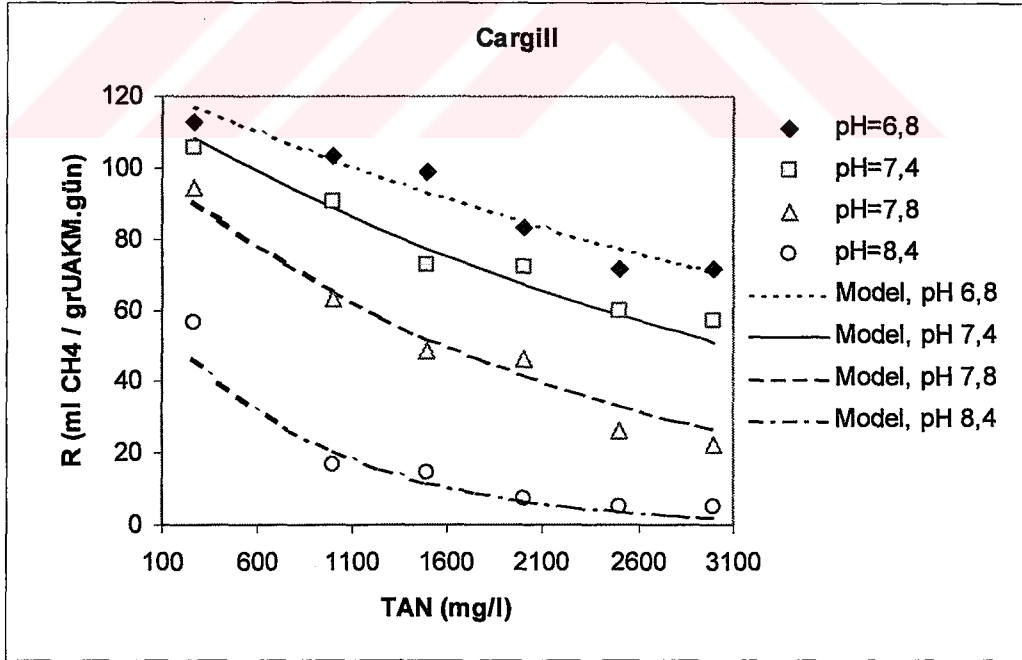
Burada esas alınan yaklaşıma göre denklem (5.28) pH’ın sadece direkt etkisine (amonyağın inhibe edici konsantrasyonları olmadığında gözlenen etki) karşılık gelmektedir. Deklem (5.27) amonyak ve amonyumun ayrı ayrı inhibitör etkilerini gösterdiği için bu yaklaşım doğrudur. K₁ ve K₂ parametreleri aynı zamanda pH,

amonyak/amonyum konsantrasyonlarından bağımsız gerçek sabitler olarak alınmıştır.

pH'in olduğu gibi serbest amonyak ve amonyum iyonunun inhibitör etkileri bu çalışmada denklem 5.27 ve denklem 5.28'in birleştirilerek aşağıdaki denklemin elde edilmesi suretiyle modellenmiştir (Eldem ve diğ., 2004a):

$$R = R_m \exp[-(aF + b(1-F))TAN] \frac{(1 + 2 \times 10^{0.5(pK_1 - pK_2)})}{1 + 10^{(pH - pK_2)} + 10^{(pK_1 - pH)}} \quad (5.29)$$

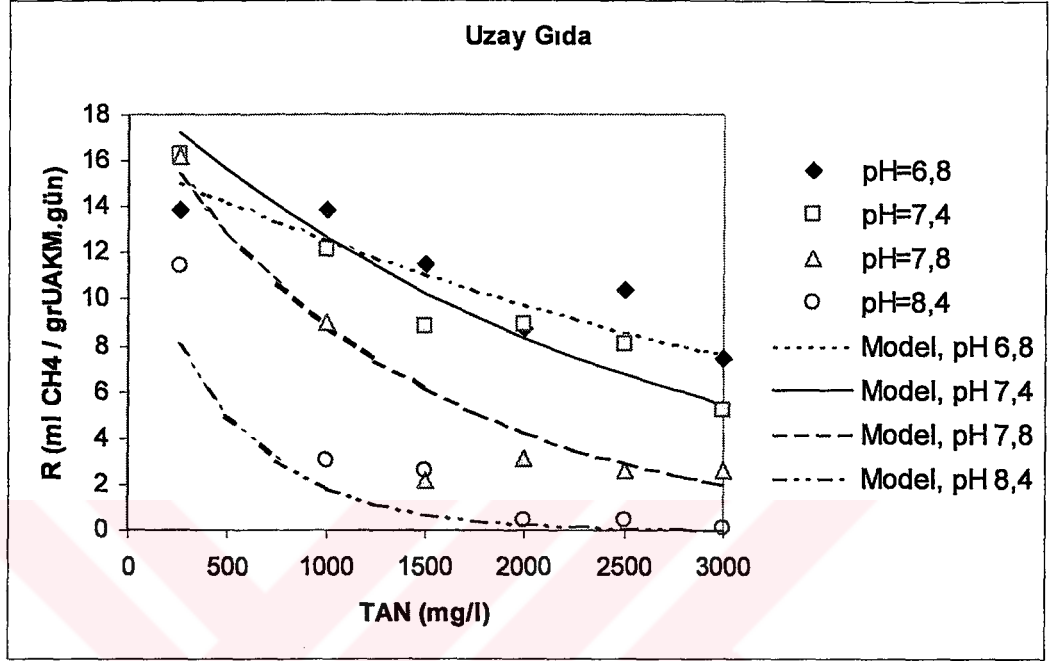
Burada R_m maksimum metan üretim hızını $[pH = \frac{(pK_1 + pK_2)}{2}]$ değerinde ve inhibitörün mevcut olmaması durumu için gözlenen hız] göstermektedir. K_1 ve K_2 parametreleri TAN konsantrasyonundan bağımsız olduğu için bu pH değeri normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonunu maksimum yapan pH değeridir. Bununla birlikte F pH'a bağlı olduğu için optimum pH (R 'yi maksimum yapan pH değeri) genel olarak $\frac{(pK_1 + pK_2)}{2}$ 'ye eşit değildir. Optimum pH hesabı Bölüm 5.5.2.2 açıklanacaktır.



Şekil 5.17 Granüler aşı çamuru için Tablo 5.1'de verilen hız değerleri ve Eşitlik (5.29) uyarınca elde edilen model eğrileri.

Denklemin (5.29), aşağıdaki nedenlerden dolayı alışılmışın dışında bir modelleme yaklaşımını temsil etmektedir:

- i) Amonyak/amonyum inhibisyonu için eksponansiyel bir ifade kullanılmıştır
- ii) Serbest amonyak ve amonyum iyonunun etkileri ayrı ayrı dikkate alınmıştır (denklem 5.27'nin sol tarafı)



Şekil 5.18 Floküler aşı çamuru için Tablo 5.2’de verilen hız değerleri ve Eşitlik (5.29) uyarınca elde edilen model eğrileri.

Denklem (5.27) yerine aşağıdaki daha basit ifadelerin (sadece birinin) kullanımı iyi olacaktır:

$$R \propto \exp(-a'C_{\text{NH}_3}) \quad (5.30a)$$

$$R \propto \exp(-b'C_{\text{NH}_4^+}) \quad (5.30b)$$

$$R \propto \exp(-d(\text{TAN})) \quad (5.30c)$$

Burada “sabitlerin” herbiri (a' , b' ve d) pH ile değişmelidir: Denklem 5.30a, 5.30b ve 5.30c’deki gibi amonyak ve amonyum etkileri birarada dikkate alındığında denklemdeki “sabitler” pH’ya bağlı olacaktır. Çünkü sabit bir serbest amonyak veya amonyum iyonu konsantrasyonunda diğer amonyak türünün konsantrasyonu pH ile değişmektedir. Michaelis fonksiyonu pH’ın direkt etkisini (TAN yokluğunda gözlenen etki) gösterirken a' , b' ve d parametrelerinin pH’a bağımlılığı amonyak/amonyum dağılımının pH ile değişmesi dolayısıyladır.

Denklem 5.27'nin kullanımı (denklem 5.29) ile d katsayısının pH'a bağımlılığı fonksiyonel olarak [$d = (aF + b(1-F))$] ile ifade edilmekte ve böylece d katsayısı tablolarına ihtiyaç duyulmamaktadır.

Ayrıca denklem 5.27, denklem 5.30'dan daha anlamlıdır, çünkü a ve b parametrelerinin değerleri çalışılan aşı çamuru için sırasıyla serbest amonyak ve amonyum iyonunun rölatif toksisitesini yansıtmaktadır. Serbest iyonize olmamış amonyak amonyum iyonundan çok daha toksik olduğu için a katsayısının değeri b'den daha büyük olmalıdır.

5.5.2 Amonyak ve pH inhibisyonun modellenmesi ile elde edilen sonuçlar ve değerlendirme

Eşitlik 5.25b kontrol reaktörlerinin R değerlerine (Tablo 5.1 ve Tablo 5.2'de TAN = 262 mg/l) uygulandığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Floküler aşı çamuru için: $pK_1 = 6,37$; $pK_2 = 8,58$ ve $K'_m = 16,59$ ($r^2 = 0,9914$).

Granüler aşı çamuru için $pK_1 = 5,30$; $pK_2 = 8,36$ ve $K'_m = 112,5$ ($r^2 = 0,9987$).

Tablo 5.1 ve 5.2'den kontrol reaktörlerinde serbest amonyak azotu konsantrasyonlarının 2,1 – 63,8 mg/l arasında değiştiği görülmektedir. McCarty ve McKinney (1961), 150 mg/l'yi aşan serbest amonyak azotu konsantrasyonlarının metan üretim fazını inhibe edici özellik gösterebileceğini belirtmişlerdir. De Baere ve diğ. (1984) ve Koster (1986) aklime olmamış metanojenler için yaklaşık 80 mg/l serbest amonyak azotu konsantrasyonunda inhibisyonun başladığını bulmuşlardır. Bu bilgiye dayanarak, kontrol reaktörlerine ait hız değerlerindeki pH'a bağlı değişikliklerin pH'ın doğrudan etkisi dolayısıyla olduğu (TAN'ın amonyak – amonyum dağılımı ile ilgili olmadığı) söylenebilir.

Eşitlik 5.29'daki a, b ve R_m parametreleri, Tablo 5.1 ve 5.2'de verilen tüm R değerleri ve bunlara karşılık gelen pH, NH_3 ve NH_4^+ konsantrasyonları kullanılarak yapılan doğrusal olmayan regresyon analizi ile belirlenmiştir. Regresyon hesaplamalarında Levenberg-Marquardt algoritması kullanılmıştır. Elde edilen bu parametrelerin değerleri Sequential Quadratic Programming algoritmasının bağımsız olarak kullanılması ile ikinci kez doğrulanmıştır. Böylece aşağıdaki değerler elde edilmiştir.

Floküler aşı çamuru için: $R_m = 19,318$ ml CH_4 /grUAKM-gün; $a = 0,00756$; $b = 0,000191$ ($r^2 = 0,9209$).

Granüler aşı çamuru için $R_m = 123,13 \text{ mlCH}_4/\text{grUAKM-gün}$; $a = 0,00407$; $b = 0,000154$ ($r^2 = 0,9841$).

Şekil 5.17 ve 5.18, bu parametre değerleri ile birlikte Eşitlik 5.29'un kullanımıyla elde edilen model eğrilerini göstermektedir. Bu şekillerdeki noktalar sırasıyla Tablo 5.1 ve Tablo 5.2'de verilen hız (R) değerleridir.

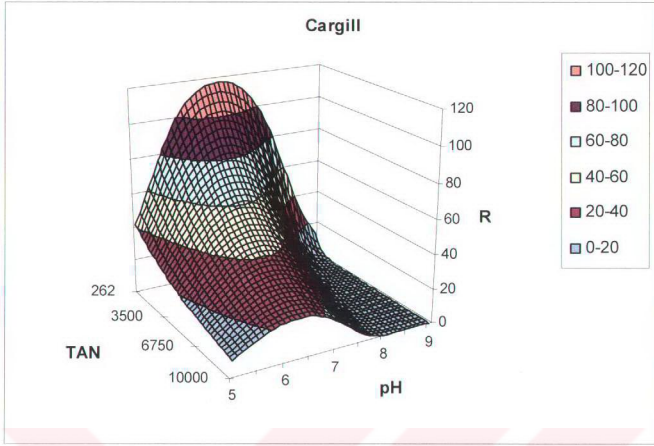
Şekil 5.17 ve 5.18'in r^2 değerleri incelendiğinde sunulan modelin her iki set dataya iyi uyduğu görülür. Granüler aşı çamurunun datasına uygunluk oldukça iyidir. Bu sonuçlar amonyak ve pH inhibisyonunun, bu çalışmada sunulduğu gibi serbest amonyak ve amonyum iyonu inhibitör etkilerini ayrı ayrı dikkate alan basit ve kullanışlı bir model ile temsil edilebileceğini desteklemektedir.

pK_1 ve pK_2 katsayıları Eşitlik 5.29'a sadece kontrollerin hız verilerinin uygulanması ile belirlenirken, a , b ve R_m katsayıları Eşitlik 5.29'a tüm hız verilerinin uygulanması ile belirlenmiştir. Bu yaklaşım aşağıdaki kabule dayanmaktadır:

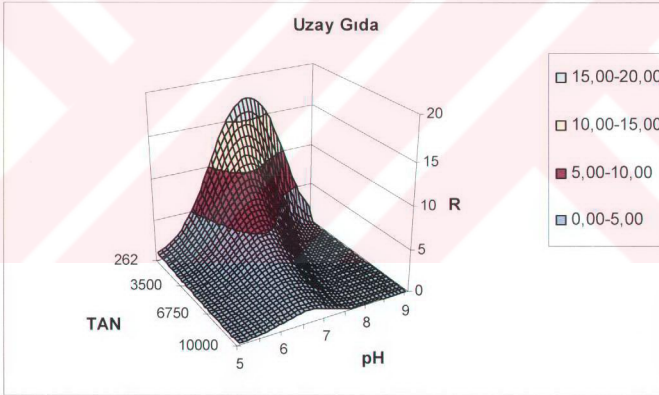
262 mg/l TAN konsantrasyonunda amonyak ve amonyum herhangi bir inhibisyon yapıcı etkiye sahip değildir. Bu TAN konsantrasyonunda hızlarda gözlenen değişiklik tamamıyla, normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu ile verilen pH'ın direkt etkisi dolayısıyladır. Alternatif bir yaklaşım, tüm hız verilerine Eşitlik 5.29'un uygulanmasıyla 5 parametrenin (pK_1 , pK_2 , a , b ve R_m) belirlenmesidir. Bu hesaplamalar yapıldığında a , b ve R_m parametrelerine ek olarak pK_1 ve pK_2 katsayıları da denkleme uygulandığı için daha iyi korelasyonlar elde edilmiştir. Fakat sonuçta elde edilen pK_1 ve pK_2 parametreleri fiziksel anlamlarını yitirmektedirler. Örneğin floküler aşı çamuru için hesaplamalar sonucunda $K_2 = 0$ bulunmaktadır. Bu nedenle bu yaklaşım ile hesaplara devam edilmemiştir.

Her iki aşı çamuru için a ve b değerlerinin optimumlarının araştırılması serbest amonyanın amonyum iyonuna göre oldukça fazla toksik olduğunu göstermiştir: Floküler aşı çamuru için $a/b \approx 40$, granüler aşı çamuru için $a/b \approx 26$ 'dır.

Şekil 5.19 ve 5.20 iki aşı çamuru için pH ve TAN'ın bir fonksiyonu olarak model tahminlerini göstermektedir. Bu şekiller kullanılarak, çalışmada kullanılan sınırların dışında pH ve TAN değerleri için maksimum metan üretim hızı tahminlerini de yapmak mümkün olabilmektedir.



Şekil 5.19 Granüler aşı çamuru için TAN ve pH'nın bir fonksiyonu olarak R'nin (maksimum metan üretim hızı) model tahminleri



Şekil 5.20 Floküler aşı çamuru için TAN ve pH'nın bir fonksiyonu olarak R'nin (maksimum metan üretim hızı) model tahminleri

5.5.2.1 Maksimum metan üretim hızında % 50 azalmaya yol açan amonyak konsantrasyonlarının bulunması

%50 inhibisyona (maksimum metan üretim hızında %50 azalmaya) yol açan TAN konsantrasyonu (TAN_{50}) aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenebilir:

$$\frac{1}{2} = \exp[-(aF + b(1 - F))TAN_{50}] \quad (5.31a)$$

Bu eşitliğin yeniden düzenlenmesi ile aşağıdaki denklem elde edilir:

$$TAN_{50} = \frac{\ln(2)}{aF + b(1 - F)} \quad (5.31b)$$

Serbest amonyağın F fraksiyonu pH'a bağlı olduğundan (Eşitlik 5.22), 5.31b denklemi TAN_{50} değerinin pH'ın bir fonksiyonu olarak hesabına imkan vermektedir. Şekil 5.23 ve 5.24 denklem 5.31b kullanılarak her iki aşı çamuru için TAN_{50} eğrilerini (şekiller üzerinde kalın çizgiler ile belirtilmiş) göstermektedir.

Denklem 5.31, pH'ın direkt etkisi dikkate alınmadığında maksimum metan üretim hızında %50 azalmaya neden olan TAN değerini vermektedir. TAN_{50} 'nin alternatif bir tanımı olarak “denklemi $R=0,5R_m$ yapan TAN konsantrasyonu” ifadesi kullanılabilir. Bu durum aşağıdaki eşitlikle açıklanmaktadır:

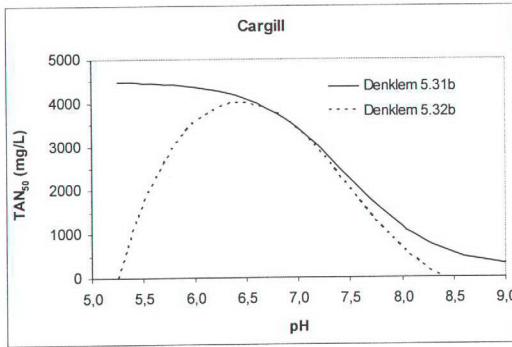
$$\frac{1}{2} = \exp[-(aF + b(1 - F))TAN_{50}]Mi(pH) \quad (5.32a)$$

Burada $Mi(pH)$, normalize edilmiş Michaelis fonksiyonudur. Denklem 5.32a'nın yeniden düzenlenmesi ile 5.32b denklemi elde edilir:

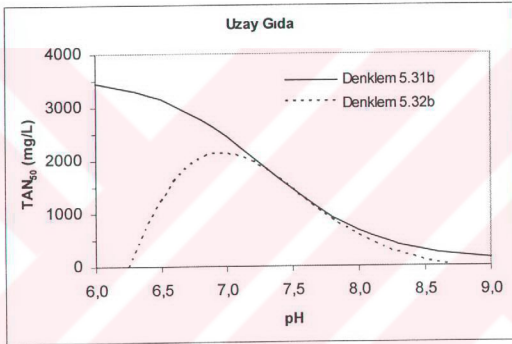
$$TAN_{50} = \frac{\ln(2Mi(pH))}{aF + b(1 - F)} \quad (5.32b)$$

Bu eşitliğin uygulanması ile elde edilen eğriler aynı zamanda Şekil 5.21 ve 5.22'de gösterilmiştir (kesikli çizgiler). Bu eğriler üzerindeki herhangi bir pH ve TAN değerleri kombinasyonu hız değerlerinde %50 azalmadan daha fazla bir azalma ile sonuçlanacaktır. Bu durum, “denklem 5.32b kullanılarak bulunan eğrinin altında kalan bölge; hızın mümkün olan maksimum değer R_m 'nin %50'sinden fazla olduğu bölgeyi gösterir” şeklinde farklı bir ifade ile de açıklanabilir.

Bu çalışmada kullanılan pH değerleri için her iki çamura ait TAN_{50} değerleri Tablo 5.6'da verilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi artan pH ile %50 inhibisyona yol açan TAN değerleri azalmaktadır.



Şekil 5.21 Granüler aşı çamuru için pH'ın bir fonksiyonu olarak TAN_{50} değerleri



Şekil 5.22 Floküler aşı çamuru için pH'ın bir fonksiyonu olarak TAN_{50} değerleri

Tablo 5.6 Çalışmada kullanılan pH değerleri için her iki aşı çamuruna ait TAN_{50} konsantrasyonları

pH	TAN_{50} (mg/l)	
	Granüler Çamur	Floküler Çamur
6,8	3742	2040
7,4	2317	1642
7,8	1128	882
8,4	6	165

5.5.2.2 Optimum pH

Herhangi bir TAN konsantrasyonu için, optimum pH, geliştirilen yeni modelin H'a göre türevinin alınması ve elde edilen eşitliğin sıfıra eşitlenmesi ile bulunabilir:

$$\frac{\partial R}{\partial H} = 0 \quad (5.33a)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial R}{\partial H} = & \frac{1}{1 + \frac{K_{OH}}{H} + \frac{H}{K_H}} \cdot R_m \left(-\text{TAN} \left(\frac{-10^{pK_a} \cdot a + 10^{pK_a} \cdot b}{(1 + 10^{pK_a} \cdot H)^2} \right) \right. \\ & \left. \cdot \exp \left[- \left(\frac{a}{1 + 10^{pK_a} \cdot H} + b - \frac{b}{1 + 10^{pK_a} \cdot H} \right) \text{TAN} \right] \right) \end{aligned} \quad (5.33b)$$

$$+ R_m \cdot \exp \left[-\text{TAN} \left(\frac{a}{1 + 10^{pK_a} \cdot H} + b - \frac{b}{1 + 10^{pK_a} \cdot H} \right) \right] \cdot \left(\frac{-\frac{K_{OH}}{H^2} + \frac{1}{K_H}}{\left(1 + \frac{K_{OH}}{H} + \frac{H}{K_H} \right)^2} \right) = 0$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial R}{\partial H} = & \frac{R_m}{1 + \frac{K_{OH}}{H} + \frac{H}{K_H}} \cdot \exp \left[- \left(\frac{a}{1 + 10^{pK_a} \cdot H} + b - \frac{b}{1 + 10^{pK_a} \cdot H} \right) \text{TAN} \right] \\ & \left[\text{TAN} \left(\frac{-10^{pK_a} \cdot a + 10^{pK_a} \cdot b}{(1 + 10^{pK_a} \cdot H)^2} \right) + \frac{\frac{K_{OH}}{H^2} - \frac{1}{K_H}}{\left(1 + \frac{K_{OH}}{H} + \frac{H}{K_H} \right)} \right] = 0 \end{aligned} \quad (5.33c)$$

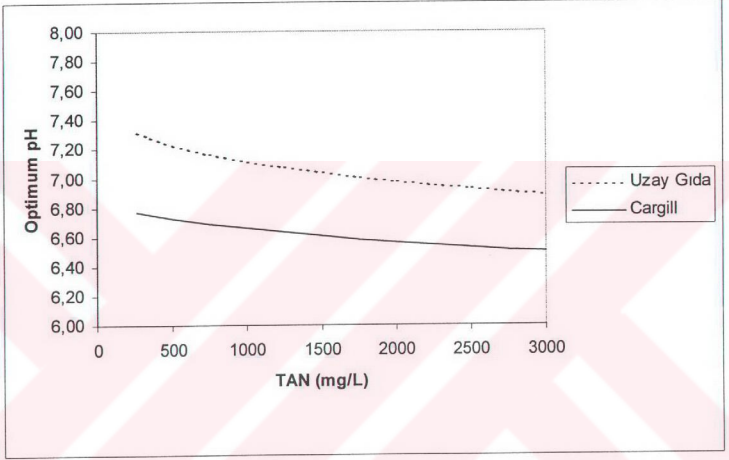
$$pK_a = -\log K_a \Rightarrow 10^{-pK_a} = K_a$$

$$(\text{TAN}) 10^{pK_a} (a - b) \left(\frac{1}{(1 + 10^{pK_a} \cdot H)} \right)^2 = \frac{\frac{1}{K_H} - \frac{K_{OH}}{H^2}}{1 + \frac{K_{OH}}{H} + \frac{H}{K_H}} \quad (5.33d)$$

$$\frac{(a - b)(\text{TAN})F^2}{K_a} = \frac{\frac{1}{K_1} - \frac{K_2}{H^2}}{\left(1 + \frac{K_2}{H} + \frac{H}{K_1} \right)} \quad (5.33e)$$

Burada H Hidrojen iyonu konsantrasyonunu göstermektedir ve F Eşitlik (5.22)'de verilmiştir. Denklem 5.33e doğrusal olmayan cebirsel bir eşitliktir ve H'nin iterasyonu ile çözülebilir. Bu hesaplamalar her iki aş çamuru için yapılmış ve sonuçlar Şekil 5.23'de gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi model, TAN konsantrasyonu

arttıkça azalan bir optimum pH değeri tahmin etmektedir. Bu tahmin, serbest amonyanın amonyum iyonundan çok daha toksik olduğu gerçeği ile de örtüşmektedir. TAN artışı ile metanojenik aktivite sürekli azalırken (burada dikkate alınan yüksek TAN konsantrasyonları aralıkları için) TAN'ın inhibitör etkileri pH değerinin düşürülmesi ile bir ölçüde azaltılabilmektedir. TAN'ın inhibe edici olmayan konsantrasyonları için optimum pH değerleri granüler aşı çamuru için 6,8; floküler aşı çamuru için 7,5 olarak bulunmuştur.



Şekil 5.23 Granüler ve floküler aşı çamurları için TAN'ın bir fonksiyonu olarak optimum pH değerleri

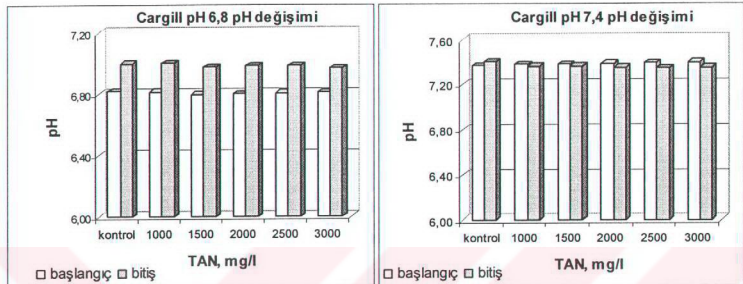
Bütün verilerin tek bir denklem ve gerçek sabitler kullanılarak hesabı TAN_{50} ve optimum pH değerlerinin tahminine imkan vermiştir. Böyle basit ve kullanışlı bir model ile datanın kolaylıkla analizi ve bu analizden birçok farklı faydalı neticenin çıkartılması mümkün olmaktadır.

5.6 Diğer Parametrelerin Değerlendirilmesi

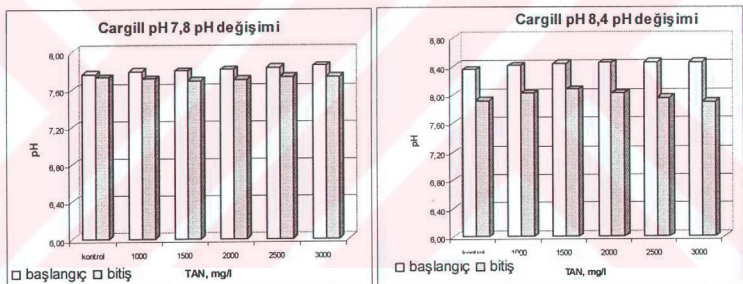
5.6.1 pH, uçucu yağ asitleri ve alkalinite

Her iki aşı çamuru ile yürütülen deneylerde başlangıç ve bitiş pH değerleri arasındaki fark inhibisyon gözlenen pH değerlerinde (granüler aşı çamuru için pH 8,4; floküler aşı çamuru için pH = 7,8 ve 8,4) TAN seviyesine bağlı olarak

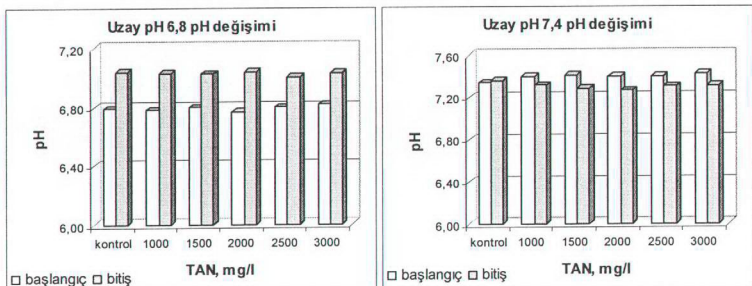
artmaktadır (Şekil 5.24 – 5.27). Aradaki farkın metanojenlerin inhibisyona uğraması dolayısıyla reaktörlerde uçucu yağ asit birikiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Granüler aşı çamurunda pH 8,4, floküler aşı çamurunda pH 7,8 ve pH 8,4 kontrol reaktörlerinde pH’da başlangıca göre gözlenen düşüşün pH’ın direkt inhibe edici etkisinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.



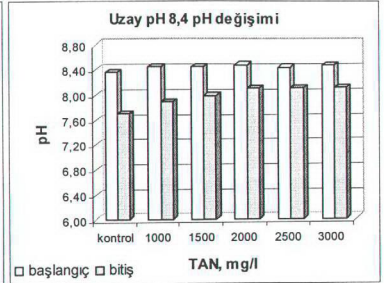
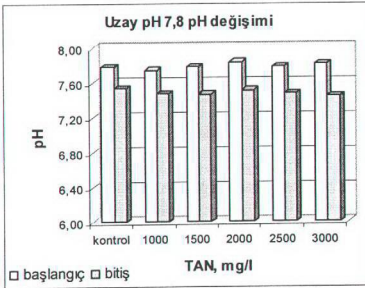
Şekil 5.24 Granüler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için pH değişimi



Şekil 5.25 Granüler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için pH değişimi

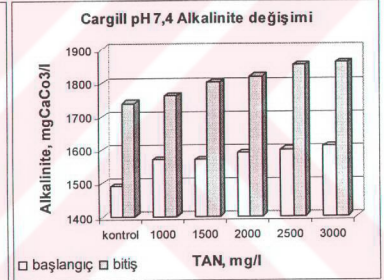
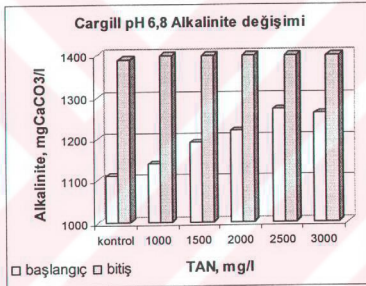


Şekil 5.26 Floküler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için pH değişimi

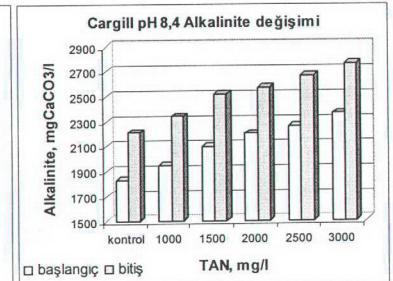
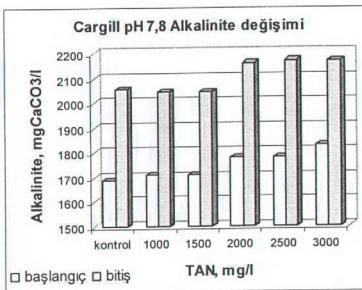


Şekil 5.27 Floküler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için pH değişimi

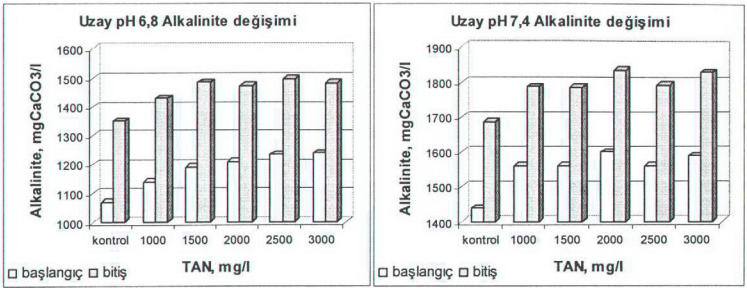
Her iki çamuru için, bütün serilerde alkalinitenin başlangıç değerine göre önemli oranda arttığı görülmektedir (Şekil 5.28 – 5.31). Alkalinitedeki bu artışın ortamda oluşan NH_4HCO_3 'ın artışıyla açıklanabilir.



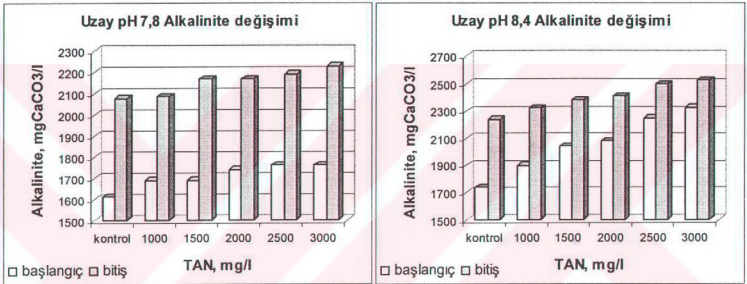
Şekil 5.28 Granüler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için alkalinite değişimi



Şekil 5.29 Granüler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için alkalinite değişimi



Şekil 5.30 Floküler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için alkalinite değişimi



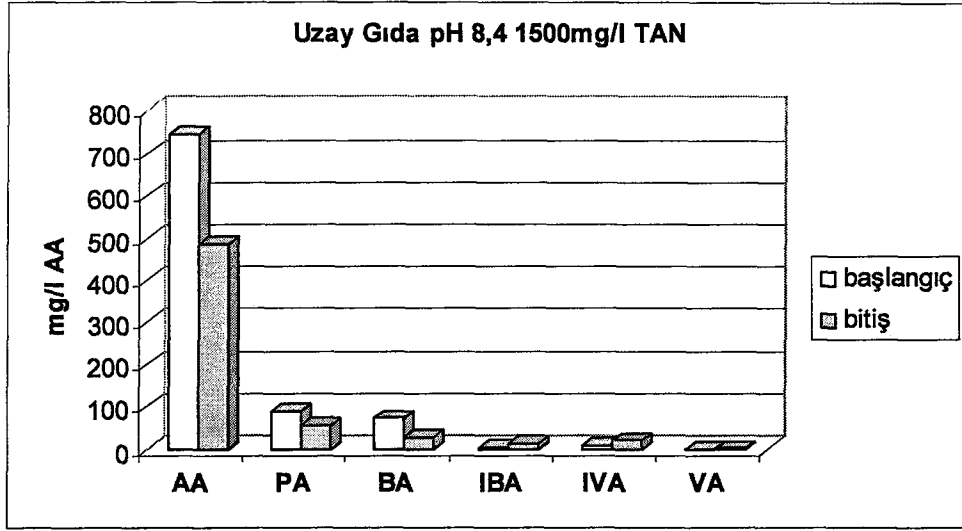
Şekil 5.31 Floküler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için alkalinite değişimi

Sistemdeki alkalinite konsantrasyonu ile uçucu yağ asidi birikimi arasında doğrudan bir ilişki kurulabilir. İnhibisyon gözlenen deney serilerinde, söz konusu alkalinite farklarının, ortamdaki serbest uçucu yağ asitlerinin birikimi sonucu olarak belirli miktarda küçüldüğü görülmektedir (Ek F). Bununla birlikte toksisitenin yaşandığı durumlarda alkalitenin bir kontrol parametresi olarak kullanılması çok anlamlı olmamaktadır (Jenkins ve diğ., 1983).

İnhibisyon gözlenen deney serilerinde toplam uçucu asit miktarı içindeki yüksek zincirli (PA, İVA, İBA gibi) yağ asitleri yüzdesinin arttığı belirlenmiştir (Şekil 5.32 – 5.35).

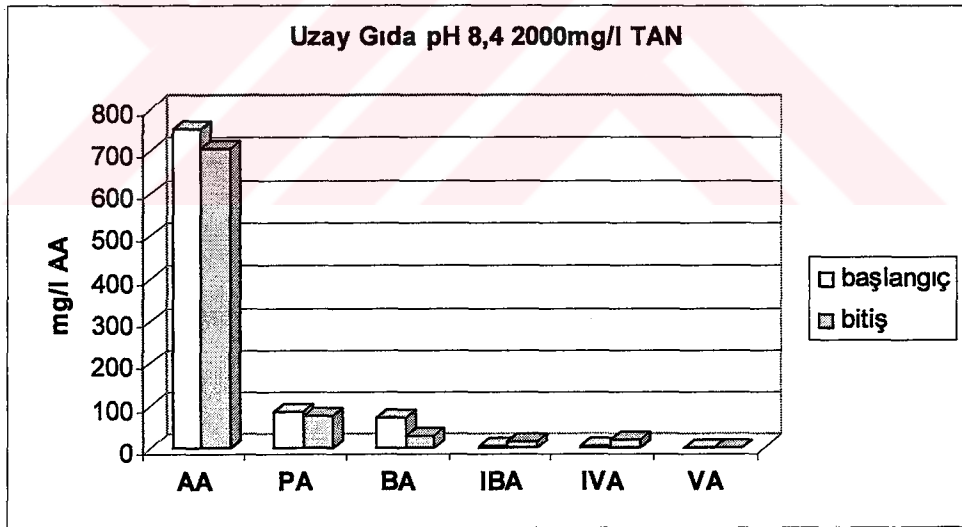
Metanojenlerin inhibisyonu dolayısıyla uçucu yağ asitlerinin ortamda birikmesi doğaldır. %100 inhibisyon hallerinde (Floküler aşı çamuru pH =8,4, TAN= 2000-3000 mg/l) yüksek oranda asetik ve propiyonik asit birikimi gözlenmiştir. İBA ve İVA miktarında bir artış belirlenmiştir. İzobütirik veya izovalerik asit

konsantrasyonunun, inhibisyon sonucu başlangıç değerine göre bir miktar artması literatürde de (Gallert ve diğ., 1998) belirtildiği üzere, kuvvetli TAN ve pH inhibisyonunu gösteren önemli bir işaret olarak alınabileceği düşünülmektedir.



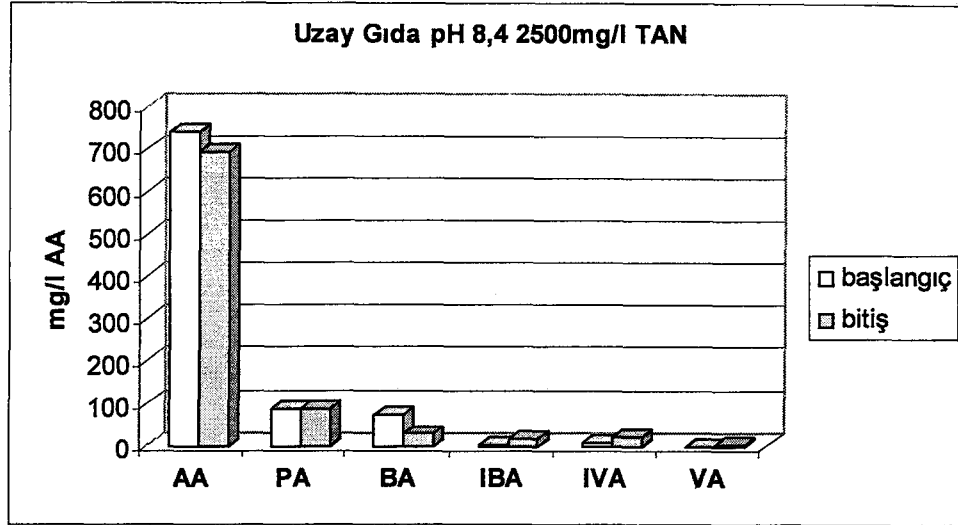
Şekil 5.32 Floküler aşı çamuru pH 8,4 1500 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi*

*AA: Asetik Asit, PA: Propiyonik Asit, BA: Butirik Asit, VA: Valerik Asit, IBA: İzobutirik Asit, IVA: İzovalerik Asit



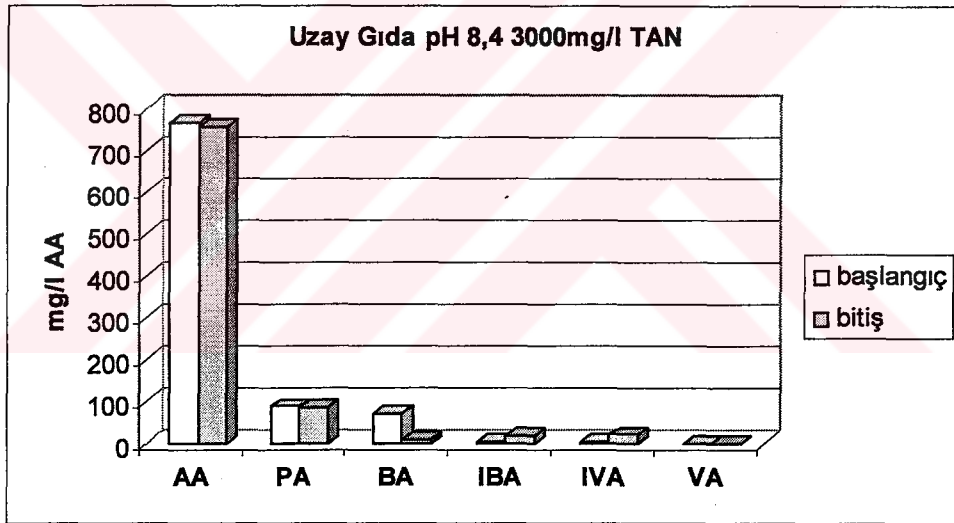
Şekil 5.33 Floküler aşı çamuru pH 8,4 2000 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi*

*AA: Asetik Asit, PA: Propiyonik Asit, BA: Butirik Asit, VA: Valerik Asit, IBA: İzobutirik Asit, IVA: İzovalerik Asit



Şekil 5.34 Floküler aşı çamuru pH 8,4 2500 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi*

*AA: Asetik Asit, PA: Propiyonik Asit, BA: Butirik Asit, VA: Valerik Asit, İBA: İzobutirik Asit, İVA: İzovalerik Asit

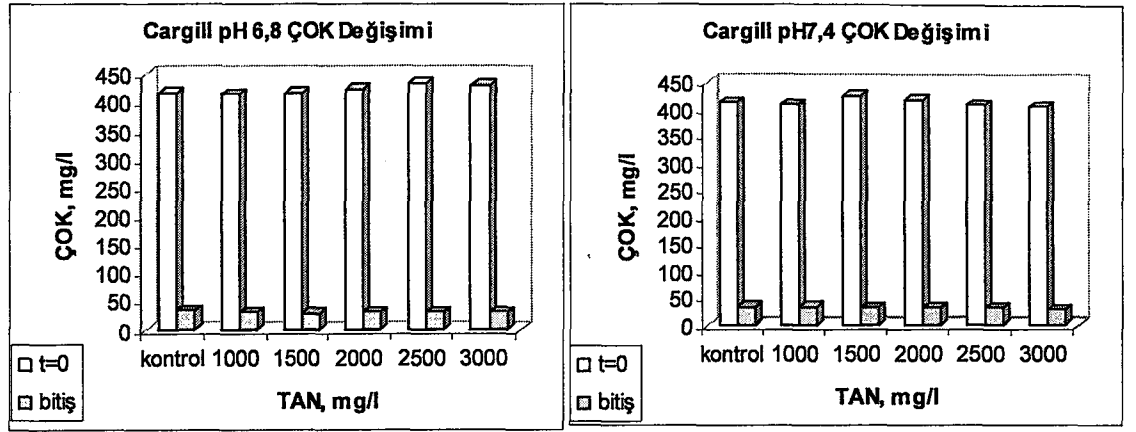


Şekil 5.35 Floküler aşı çamuru pH 8,4 3000 mgTAN/l için deney başlangıcında ve deney başlangıcından 184 gün sonra ölçülen UYA konsantrasyonlarının değişimi*

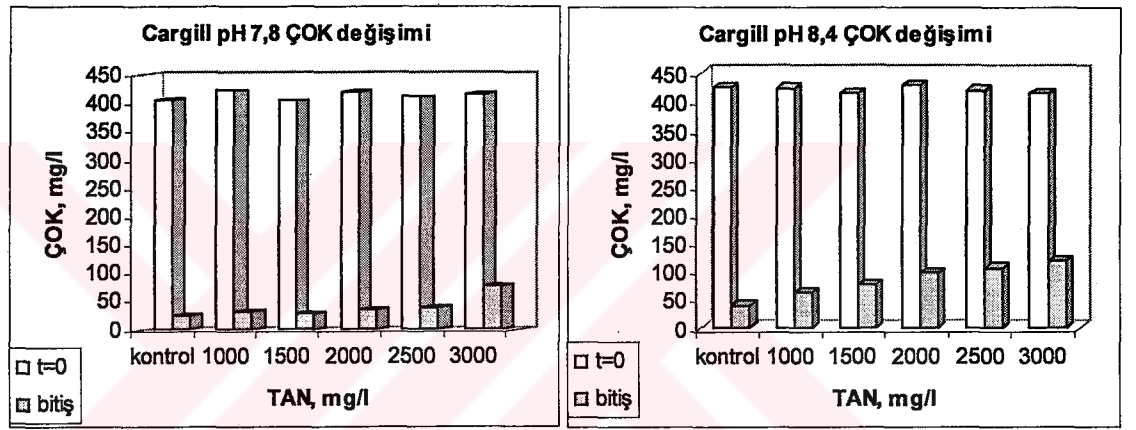
*AA: Asetik Asit, PA: Propiyonik Asit, BA: Butirik Asit, VA: Valerik Asit, İBA: İzobutirik Asit, İVA: İzovalerik Asit

5.6.2 Çözünmüş organik karbon

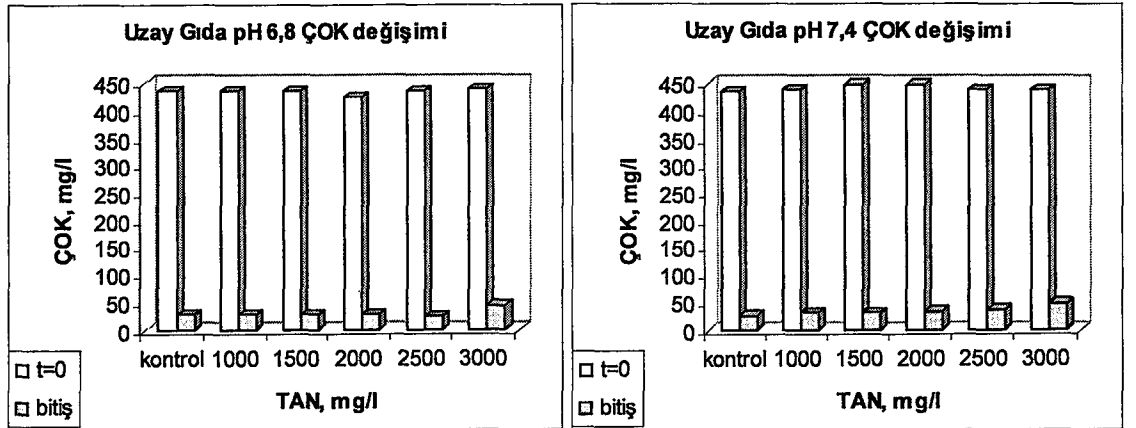
Deneysel çalışmalarda belirlendiği gibi, başlangıç ve bitiş ÇOK seviyeleri arasındaki fark, toplam uçucu yağ asidi parametresine benzer tarzda, pH ve TAN inhibisyonuna bağlı olarak azalmıştır (Şekil 5.36 – 5.39).



Şekil 5.36 Granüler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için ÇOK değişimi



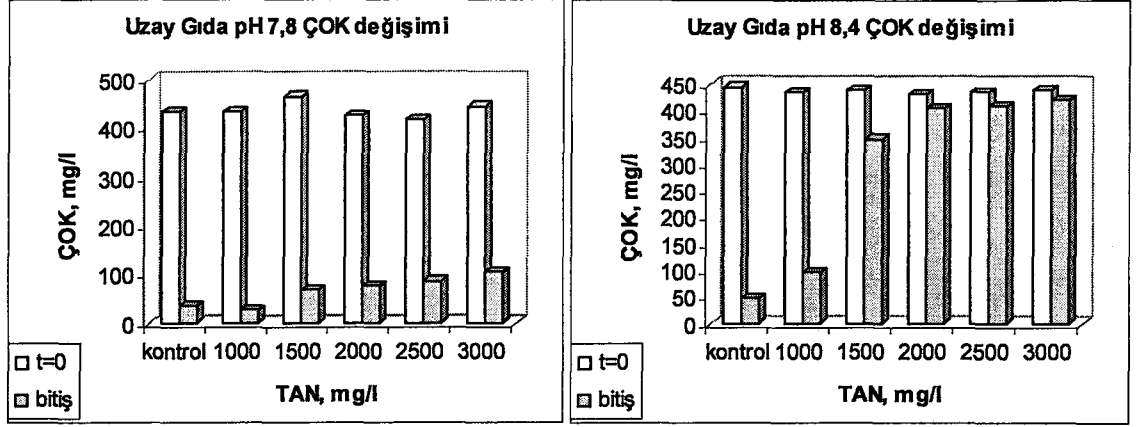
Şekil 5.37 Granüler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için ÇOK değişimi



Şekil 5.38 Floküler aşı çamuru pH 6,8 ve pH 7,4 için ÇOK değişimi

Özellikle pH = 8,4 1500 mg/l TAN'dan itibaren floküler aşı çamuru ile yürütülen deneylerde, inhibisyon sonucu yüksek oranda uçucu asit birikimlerine bağlı olarak bitiş ÇOK seviyeleri de yükselmiştir. Ek D'de verilen Tablo D.1 – D.4 ve Tablo D.5 – D.8'de görüldüğü gibi uçucu yağ asitlerinin ÇOK cinsinden eşdeğerleri

incelendiğinde bu değerlerin ölçülen ÇOK değerlerine göre daha düşük konsantrasyonda olduğu görülmüştür. Bu farkın ÇOK deneyi öncesinde numunenin 0,45 µm filtreden geçirilmesi esnasında süzüntüye mikrobiyal atıkların geçmesi dolayısıyla olduğu düşünülmektedir.



Şekil 5.39 Floküler aşı çamuru pH 7,8 ve pH 8,4 için ÇOK değişimi

5.6.3 Toplam amonyak azotu

Deneylerde reaksiyon ortamına ilave edilen TAN konsantrasyonlarının kontrolü amacıyla TAN analizleri yapılmıştır. Deney başlangıcı ve sonunda alınan numunelerde TAN konsantrasyonlarının Ek D’de verilen Tablo D.1 – D.4 ve Tablo D.5 – D.8 incelendiğinde çok fazla değişmediği görülmektedir. Çıkış numunelerindeki TAN konsantrasyonları incelendiğinde, başlangıç konsantrasyonlarına göre yaşanan artışın maya ekstresinden (maya ekstresinin TKN konsantrasyonu 22 mg/l ve TAN konsantrasyonu 0,5 mg/l’dir) içerisindeki organik azotun amonyak azotuna dönüşmüş olması dolayısıyla gerçekleştiği tahmin edilmektedir.

5.6.4 Biyogazdaki CH₄ Oranı

Reaktörlerde anaerobik biyokimyasal bozunma sonucu oluşan biyogaz içindeki CH₄ oranı, yüksek pH’larda CO₂’in sıvı ortamdaki çözünürlüğü arttığı için yükselmiştir (Bölüm 4.2 Tablo 4.3 – 4.6 ve Bölüm 4.3 Tablo 4.10 – 4.13).

5.6.5 FISH tekniği çalışma sonuçlarının yorumlanması

FISH deneyleri ile granüler aşı çamurunda floküler aşı çamuruna göre çok daha fazla sayıda metanojen olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, floküler aşı çamurundaki metanojenlerin dağınık halde bulundukları, granüler aşı çamurunda ise granül

yapının verdiği avantaj ile metanojenlerin kümelenmiş halde ve daha aktif oldukları gözlenmiştir. Metanojenlerin aktiviteleri verdikleri hibridizasyon sinyali ile doğru orantılıdır.

Aşı çamuru olarak floküler çamurun kullanıldığı deneylerde serbest amonyak inhibisyonu, granül aşı çamuru kullanılan deneylere göre daha düşük pH ve amonyak değerlerinde gözlenmiştir. FISH deneyleri ile floküler aşı çamurunda daha az sayıda metanojenin tespit edilmesi bu sonucu desteklemektedir. Ayrıca, FISH deneylerinde görüntülenen kümeleşmiş *Methanosaeta* yapıları sayesinde, granül aşı çamuru serbest amonyak inhibisyonu karşısında daha iyi direnç göstermiştir. Floküler aşı çamurunda dağınık halde bulunan az sayıdaki *Metanosaeta* ise daha düşük pH ve toplam amonyak seviyelerinde bile ciddi şekilde inhibe olmuşlardır. Bunun sebebi, mikroorganizmalara hücre zarından difüzyon ile geçerek enzim aktivitelerini bozan serbest amonyağın geniş yüzey alanına sahip uzun ipliksi *Metanosaeta* hücrelerini dağınık halde bulundukları zaman daha fazla etkilemesidir. Bununla birlikte, *Methanosaeta* metanojenlerin yüksek toplam amonyak konsantrasyonlarına daha az toleranslı olduğu bilinir. Ayrıca, küresel hücreler içeren *Methanosarcina*, rod (çubuksu) hücreler içeren *Methanosaeta*'dan çok daha büyük hacim-yüzey oranına sahip olduğu için, serbest amonyağın *Methanosaeta* hücresine diffizyonu çok daha fazla olacaktır. Amonyağa karşı daha fazla direnç gösterdiği tahmin edilen *Methanosarcina* türüne granüler aşı çamurunda az da olsa (<%5) rastlanmış olması (floküler aşı çamurunda ise hiç gözlenmemesi), floküler aşı çamurunun granüler aşı çamuruna göre düşük amonyak değerlerinde daha fazla inhibe olmasını açıklamaktadır (Eldem ve diğ., 2004c) .

Bütün bunlarla birlikte, zaten fiziksel olarak granül çamurların, inhibisyon karşısında floklu çamurlara göre daha dayanıklı olduğu da bilinmektedir.

Metanojenik türlerdeki değişimi incelemek için amonyak inhibisyonu deneylerinin sonunda da FISH deneyleri yapılmıştır. Özellikle yüksek pH ve yüksek amonyak değerlerinin denendiği deney setlerinde sürenin (~6 ay) çok uzaması sebebiyle sağlıklı FISH sonuçları elde edilememiştir. Bunun nedeni, sadece deney başlangıcında beslenen reaktörlerdeki mikroorganizmaların geçen uzun süre içinde içsel solunum ile parçalanması ve FISH deneyine girişim yapan nükleik asitlerin ortamda çoğalması olarak açıklanabilir. Her deneyi bitiminde ölçülen ÇOK değerlerinin beklenenden bir miktar yüksek olması, bu sonucu desteklemektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Amonyanın inhibe edici konsantrasyonlarına alıştırılmamış floküler ve granüler aşılarla karakterize edilen farklı anaerobik mikroorganizma gruplarının mezofilik şartlarda pH ve amonyak inhibisyonu karşısındaki davranışlarının incelendiği bu çalışmadan elde edilen temel sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- Deneysel çalışma sırasında sürekli olarak takip edilen biyogaz üretim eğrilerinin yorumlanması ve bunun sonucunda aşı çamurunun özelliklerini yansıtan parametrelerin (R: maksimum metan üretim hızı, P: metan üretim potansiyeli, λ : gecikme fazı süresi gibi) belirlenmesi amacıyla eklenik metan üretim eğrileri oluşturulmuştur. Metan üretim verilerinin doğrusal olmayan en küçük kareler metodu kullanılarak değerlendirilmesi sonucunda pH ve TAN'ın fonksiyonu olarak P, R ve λ değerleri bulunmuştur. Regresyon probleminin çözümünde Levenberg-Marquardt algoritması kullanılmıştır. Bazı durumlar için fiziksel açıdan anlamlı parametrelerin elde edilmesi amacıyla $\lambda \geq 0$ sınırlaması gerekli olmuştur. Böyle durumlarda regresyon probleminin çözümünde Sequential Quadratic Programming algoritması kullanılmıştır. Bu algoritma parametreler için sınırlama yapma imkanı vermesi dolayısıyla avantajlı olmuştur.
- Kontrol reaktörleri için çizilen eklenik metan üretimi eğrilerinden, her iki aşı çamuru için metan üretim potansiyellerinin aynı seviyede (yaklaşık olarak 200 mlCH₄/grUAKM) oldukları görülmüştür. Bu durum her iki deney setinde aynı substratın aynı KOİ konsantrasyonunda kullanılması ile de tutarlıdır.
- Metan üretim eğrileri incelendiğinde, aynı miktarda substratın granüler aşı çamurunda, floküler aşı çamuruna göre çok daha kısa sürede metana dönüştüğü görülmüştür. Bu durum, granüler aşı çamurunun metan üretim hızının floküler aşı çamurunun metan üretim hızından daha yüksek olması ile ilgilidir.

- Amonyaga alıştırılmamış floküler ve granüler yapıdaki her iki aşı çamuru için sabit pH'da, maksimum metan üretim hızı (R , $\text{mlCH}_4/\text{grUAKM-gün}$) artan TAN konsantrasyonları için belirgin bir şekilde azalmıştır. Artan TAN konsantrasyonu ile hız değerlerinde görülen beklenen düşüş, önceki araştırmacıların sonuçları ile de uyumlu olmuştur.
- Floküler aşı çamurunda metan üretim potansiyeli (P : $\text{mlCH}_4/\text{grUAKM}$) sabit pH'da artan TAN konsantrasyonları ile azalmıştır. Granüler yapıdaki aşı çamuru için bu etki sadece en yüksek pH değerlerinde (pH 7,8 ve 8,4) gözlenmiştir.
- İnhibisyon deneyleri öncesinde her iki aşı çamuru yüksek amonyak seviyelerine alıştırılmamış olmasına rağmen, deneysel veriler incelendiğinde her iki durumda da, metan üretiminin sıfır olduğu önemli bir başlangıç gecikme fazı süresi gözlenmemiştir.
- Eklenik metan üretim eğrisi, bazı yüksek pH/TAN kombinasyonlarında başlangıç hörgücü içermektedir. Floküler aşı çamuru için bu durum $\text{pH} \geq 7,8$ ve $\text{TAN} \geq 1500 - 2000 \text{ mg/l}$ 'de, granüler aşı çamuru ile yapılan çalışmada ise sadece pH 8,4 ve $\text{TAN} \geq 1000 \text{ mg/l}$ 'de gerçekleşmiştir.
- Aktivitenin durmasının ardından metan üretiminin tekrar başladığı durumlarda (başlangıç hörgücü sonrası), aktivitenin tekrar başladığı ikinci periyottaki maksimum hız, başlangıç hörgücünde (iyileşme süreci öncesi) gözlenen hızdan daha yüksek olmuştur. Floküler aşı çamurunda (pH 8,4) 1000 ve 1500 mg/l TAN değerleri için yaklaşık olarak 100 gün sonra metan üretimi tekrar başlarken 2000, 2500, 3000 mg/l TAN değerleri için 6 aylık inkübasyon süresinden sonra dahi metan üretimi gözlenmemiştir. Bu TAN değerlerinde, bu çalışmada bahsedilen "başlangıç hörgücü", deney süresinin tamamına yayılmış ve metanojenik aktivite hiç başlamamıştır. Granüler aşı çamurunda ise (pH 8,4) 1000, 1500, 2000, 2500 ve 3000 mg/l TAN değerleri için sırasıyla yaklaşık olarak 20, 28, 35, 70 ve 80 gün sonra metan üretimi tekrar başlamıştır.
- Çoğu durumlarda Gompertz eşitliği, metan üretim datasına oldukça iyi uyum göstermiştir. Bununla birlikte, yukarıda bahsedilen yüksek pH ve TAN konsantrasyonlarında gözlenen başlangıç hörgücü, Gompertz eşitliği

kullanılarak doğru bir şekilde tahmin edilememiştir. Böyle durumlarda, maksimum hızın (R) belirlenmesi için modifiye edilmiş Gompertz eşitliğindeki parametreler, başlangıç hörgücünün gözlenmesinin ardından yaşanan periyottaki metan üretim datasının doğrusal olmayan regresyon analizi ile belirlenmiştir (başlangıç hörgücü dikkate alınmamıştır). Bu yaklaşım ile maksimum hızı (her zaman başlangıç hörgücünden sonra oluşan) veren R değerleri oldukça iyi bir şekilde tahmin edilebilmiştir. Aynı zamanda hesaplanan P değerleri, gözlenen üretim potansiyelleri ile iyi uyum göstermektedir. Bununla birlikte, bu yaklaşım tarzı ile belirlenen λ değerleri, sıfır metan üretimi periyodunu göstermemektedir. Örneğin floküler aşı çamuru pH 8,4 ve 1000 mg/l TAN için λ değeri 84 gün olarak elde edilmiştir. Böyle durumlar için bulunan λ değerlerinin uygun bir şekilde yorumlanması, “metanojenik aktivitenin başlaması öncesinde, amonyağa dirençli türlerin alışması için geçen süre” şeklinde yapılabilir.

- Başlangıç hörgücünün öncesi ve sonrasında metan üretim eğrilerinin eğimlerinde görülen ani değişim, sistemde yürüyen iki muhtemel paralel mekanizmanın açıklanmasına ışık tutmaktadır: Bunlardan birincisi düşük TAN değerlerinde daha hızlı ilerleyen bir mekanizma iken, ikinci mekanizma (veya tür), birinci mekanizma inhibe olduğunda baskın hale gelmektedir. Bu durumun (aktivitenin sıfır olduğu başlangıç periyodu yerine başlangıç hörgücünün görülmesi durumu) diğer bir açıklaması ise şu şekilde olabilir: Ortamda bulunan arke, amonyak toksik etki göstermeye başlamadan önce, başlangıç hörgücünü oluşturacak şekilde metan üretimine başlamakta ve ardından metan üretimi durmaktadır. Bu periyot sırasında yaşanan alışma, daha sonra metanojenik aktivitenin tekrar başlaması ile sonuçlanabilmektedir.
- Amonyak ve amonyumun artan konsantrasyonları ile eksponansiyel olarak azalan metan üretim hızı gözlemlerine dayanarak amonyak/amonyum inhibisyonu için basit ve kullanışlı bir eksponansiyel model öne sürülmüştür. Bu modelde, serbest amonyak ve amonyum iyonu arasındaki denge ilişkisi sağlanıyorken, iyonize olmamış amonyak ve amonyumun inhibitör etkileri ayrı ayrı dikkate alınmıştır. pH'ın direkt inhibitör etkisinin modellenmesinde normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu kullanılmıştır. Eksponansiyel ifade ve normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu, toplam inhibisyon

etkisini yansıtacak modeli oluşturmak üzere, basit ve kullanışlı bir denklem verecek şekilde birleştirilmiştir. Modeldeki tüm parametreler, pH ve TAN konsantrasyonlarından bağımsız, gerçek sabitlerdir.

- Geliştirilen yeni modele göre granüler ve floküler aşı çamurları için inhibisyonun olmaması durumundaki maksimum hız (R_m) değerleri, sırasıyla 123,1 ve 19,3 mlCH₄/grUAKM-gün olarak bulunmuştur.
- Öne sürülen modelin kullanımı ile ilgili olarak maksimum metan üretim hızında %50 azalmaya neden olan TAN konsantrasyonu ve optimum pH ifadeleri elde edilmiştir. Modelin, metan üretim hızı verilerinin detaylı bir şekilde analizine olanak tanıdığı gösterilmiştir. Artan pH ile TAN₅₀ değerleri azalmıştır. Optimum pH değerleri granüler aşı çamuru için 6,8; floküler aşı çamuru için 7,5 olarak bulunmuştur.
- Her iki aşı çamuru için serbest amonyak, amonyum iyonu ile karşılaştırıldığında daha toksik olarak bulunmuştur. Her iki aşı çamuru için, TAN konsantrasyonu arttıkça optimum pH yavaş bir şekilde azalmıştır. Bu durum serbest amonyanın, amonyum iyonundan daha toksik olduğu gerçeği ile de uyumaktadır.
- İnhibisyon gözlenen deney serilerinde toplam uçucu asit miktarı içindeki yüksek zincirli (PA, İVA, İBA gibi) yağ asitleri yüzdesinin arttığı belirlenmiştir. %100 inhibisyon hallerinde (floküler aşı çamuru pH =8,4, TAN= 2000-3000 mg/l) yüksek oranda asetik ve propiyonik asit birikimi gözlenmiştir. İBA ve İVA miktarında bir artış belirlenmiştir. İBA veya İVA konsantrasyonunun, inhibisyon sonucu başlangıç değerine göre bir miktar artmasının literatürde de belirtildiği gibi, kuvvetli TAN ve pH inhibisyonunu gösteren önemli bir işaret olarak alınabileceği düşünülmektedir.
- Granüler aşı çamurunun daha yüksek metanojenik aktivite değerlerine sahip olması FISH sonuçları ile de doğrulanmıştır. Granüler aşı çamuru floküler aşı çamuruna göre daha yüksek konsantrasyonda metanojen içermektedir (granüler aşı çamurunda %95'in üzerinde *Methanosaeta* ve %5'in altında *Methanosarcina* türüne rastlanmıştır. Floküler aşı çamurunda ise aktif metanojenik tür olarak asetat kullanan *Methanosaeta* türleri tespit edilmiş, diğer metanojen türlerine rastlanmamıştır). Aşı çamuru olarak floküler aşı

çamurunun kullanıldığı deneylerde serbest amonyak inhibisyonu, granüler aşı çamurunun kullanıldığı deneylere göre daha düşük pH ve amonyak değerlerinde gözlenmiştir. FISH deneyleri ile floküler aşı çamurunda daha az sayıda metanojenin tespit edilmesi bu sonucu desteklemektedir. Bütün bunlarla birlikte, zaten fiziksel olarak granül çamurların, inhibisyon karşısında floklu çamurlara göre daha dayanıklı olduğu da bilinmektedir.

Anaerobik arıtmada pH ve amonyak inhibisyonunun incelendiği bu çalışmanın sonucunda aşağıdaki öneriler sunulmuştur:

- Değişik konsantrasyonlarda amonyağa alıştırılmış, farklı çamurlar üzerinde mezofilik veya termofilik şartlarda bu tür inhibisyon çalışmalarının tekrarı ile konunun daha detaylı olarak değerlendirilmesi mümkün olabilecektir. Bu tür çalışmaların sürekli sistemlerle doğrulanıp özellikle mikroorganizma tür değişimlerinin de incelenmesi sistemde baskın olan türlere göre sistemin değerlendirilebilmesini sağlayacaktır.
- Başlangıç hörgücü olmadığında modifiye edilmiş Gompertz eşitliği deneysel dataya iyi uyum sağlamıştır. Bu modelleme yaklaşımı, başlangıç hörgücünün olası durumları için modifiye edilmelidir.
- Bu çalışmada sunulan her iki aşı çamuru için pH 6,8'deki data incelendiğinde TAN'ın 262 mg/l'den 3000 mg/l'ye artması durumunda hızın azaldığı görülmektedir. Bu TAN konsantrasyonlarına karşılık gelen serbest amonyak konsantrasyonu 2,1 mg/l'den 24,1 mg/l'ye değişmektedir. Bu serbest amonyak konsantrasyonları literatürde verilen amonyağın inhibe edici etkilerinin gözlemlendiği konsantrasyonların çok altında olduğundan pH 6,8'de artan TAN'a bağlı gözlenen inhibisyonun tamamen amonyum iyonundan kaynaklandığı tahmin edilebilir. Bu durum daha fazla araştırmaya ihtiyaç göstermektedir.
- Anaerobik koşulların sağlanması için uygulanan gaz içeriğinin (N_2 veya CO_2 + N_2 karışımı) tüm pH-TAN kombinasyonlarında aynı olması gerekmektedir. Bu durum aşağıdaki nedenler dolayısıyla büyük önem taşımaktadır: i) Biyogazın metan içeriği standart %60 metan ve %40 karbondioksit gazı esas alınarak gaz kromatografisi kullanılarak belirlenmiştir. Literatürde yapılan bazı çalışmalarda olduğu gibi CO_2 + N_2 gazı ile yıkanan serum şişeleri boşluk kısmından alınan biyogaz örnekleri CO_2 içerdiğinden metan yüzdesi gerçek

değerine göre daha düşük olarak bulunmuştur (Ek A'da yapılan ön çalışmada görüldüğü gibi). ii) Aynı pH-TAN kombinasyonu için iki farklı gaz ile (N_2 veya $CO_2 + N_2$ karışımı) yıkanan serum şişelerindeki biyogaz üretim miktarları farklı olmuştur. $CO_2 + N_2$ karışımı kullanılan serum şişesinde deney başlangıcından belirli bir süre sonra manometredeki asitlendirilmiş tuzlu su çözeltisi yükselirken, sadece N_2 kullanılan serum şişesinde biyogaz üretimine bağlı olarak alçalmaktadır. Sonuç olarak aynı pH-TAN kombinasyonunda farklı gaz içeriği ile yıkanan serum şişelerinde biyogaz üretim miktarı ve metan yüzdesi farklı olmaktadır. Deneyler öncesinde yapılan ön çalışmada (Ek A) bu durumun belirlenmesi üzerine, bu çalışmada sadece N_2 gazı ile yıkama yapılmıştır.

- Deney sisteminin sabit sıcaklığın ve elektrik kesintilerine karşı jenaratör imkanının sağlandığı ortamlarda gerçekleştirilmesi, olası sıcaklık değişimlerinin önlenmesi için gereklidir. Ayrıca biyogaz ölçümlerinin yapılmasında otomasyonun kullanılması deneysel verilerin sürekli takibine imkan tanıyarak sistemin daha verimli bir şekilde modellenmesini sağlayacaktır.
- Deneysel çalışmada 100 ml'lik serum şişeleri yerine daha büyük hacimlerin kullanılması, deney sırasında da bazı parametrelerin (özellikle substrat tüketim hızının) takibi için numune alınabilmesine olanak tanıyacaktır. Fakat bu durumda oluşacak metan miktarlarının da artacağı dikkate alınarak manometre sisteminde değişiklikler yapılması ya da otomasyonun kullanılması gereği dikkate alınmalıdır.
- Deneysel çalışmada uçucu yağ asitleri ve biyogaz bileşimi ölçümü için numune sayısının çok fazla olması dolayısıyla, manuel ölçüm sistemleri yerine otomatik numune ölçüm sistemlerinin kullanılması daha verimli olacaktır.
- Bu tür deneysel çalışmalarda aynı anda çok sayıda parametrenin bütün numunelerde bakılması zorunluluğu olduğundan grup çalışmalarının yapılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahring, B.K. and Westermann, P., 1983.** Toxicity of heavy metals to thermophilic anaerobic digestion, *Eur. J. Appl. Microbiol Biotechnol.*, **17**, 365-370.
- Ahring, B.K., Sandberg, M. and Angelidaki, I., 1995.** Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **41**, 559-565.
- Amann, R.I., Krumholz, L. and Stahl, D.A., 1990.** Fluorescent oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic and environmental studies in microbiology, *J. Bact.*, **172**, 762-770.
- Anderson, G.K., Donnelly, T. and McKeown, K. J., 1982.** Identification and control of inhibition in anaerobic treatment of industrial wastewaters, *Process Biochem.*, **17**, 28-32.
- Andrews, J.F., 1969.** Dynamic model of the anaerobic digestion process, *Journal of the Sanitary Engineering Division, ASCE*, **95**, 95-116.
- Angelidaki, I. and Ahring, B.K., 1993.** Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: Effect of ammonia, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **38**, 560-564.
- Angelidaki, I. and Ahring, B.K., 1994.** Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: effect of temperature, *Water Research*, **28**, 727-731.
- Angelidaki, I., Ellegaard, L. and Ahring, B.K., 1993.** A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates; focusing on ammonia inhibition, *Biotech. Bioeng.*, **42**, 159-166.
- Angenent, L.T., Sung, S., Raskin, L., 2002.** Methanogenic population dynamics during start-up of a full-scale anaerobic sequencing batch reactor treating swine waste, *Water Research*, **36**, 4647-4654.
- APHA, AWWA, and WPCF., 1998.** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed., Washington D.C.

- Aspé, E., Marti, M.C., Jara, A., Roeckel, M., 2001.** Ammonia inhibition in the anaerobic treatment of fishery effluents, *Water Environment Research*, **73**, 154-164.
- Aydın, A.F., 2002.** Afyon Alkaloidleri Endüstrisi Atıksularının biyolojik prosesler fenton oksidasyonu ile arıtımı, *Doktora Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Bailey, J.E. and Ollis, D.F., 1986.** Biochemical Engineering Fundamentals. 2nd Ed., McGraw-Hill, New York.
- Balch, W.E., Fox, G.E., Magnum, L.J., Woese, C.R. and Wolfe, R.S., 1979.** Methanogenesis: Reevaluation of a unique biological group. *Microbiol. Rev.*, **143**, 260-296.
- Bhattacharya, S.K. and Parkin, G.F., 1989.** The effect of ammonia on methane fermentation processes, *Journal Water Pollution Control Federation*, **61**, 55-59.
- Bhattacharya, S.K., Madura, R.L., Uberoi V. and Haghghi-Podeh, M.R., 1995.** Toxic effects of cadmium on methanogenic systems, *Water Research*, **29**, 2339-2345.
- Bitton, G., 1994.** Wastewater Microbiology, A John Wiley & Sons, Inc., Publication, New York, USA.
- Blomgren, A., Hansen, A. and Svensson, B., 1990.** Enrichment of a mesophilic, syntrophic bacterial consortium converting acetate to methane at high ammonium concentrations, in *Microbiology and Biochemistry of Strict Anaerobes Involved in Interspecies Transfer*, pp. 225-234. Ed. J.P. Bélaich. Plenum Press, New York.
- Blum, D.J.W. and Speece, R.E., 1992.** The toxicity of organic chemicals to treatment processes, *Water Sci. Technol.*, **25**, 23-31.
- Blum, D.J.W., Hengenroeder, R., Parkin, G.F. and Speece, R.E., 1986.** Anaerobic treatment of coal conversion wastewater constituents: biodegradability and toxicity, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **58**, 122-131.
- Borja, R., Sánchez, E. and Weiland. P., 1996.** Influence of ammonia concentration on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors, *Process Biochemistry*, **31**, 477-483.

- Braun, R., Huber, P. and Meyrath, J.** 1981. Ammonia toxicity in liquid piggery manure digestion, *Biotechnol. Letters*, **3**, 159-164.
- Calli, B.**, 2003. Elucidation of ammonia inhibition in anaerobic treatment process by using 16S rRNA/DNA based microbial identification techniques, *PhD Thesis*, Boğaziçi University, Istanbul, Turkey.
- Calli, B., Mertoglu, B., Tas, N., Inanc, B., Yenigun, O. and Ozturk, I.**, 2003. Investigation of variations in microbial diversity in anaerobic reactors treating landfill leachate, *Water Science and Technology*, **48**, 105-112.
- Cho, H.Y., Yousef, A.E. and Sastry, S.K.**, 1996. Growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* under ohmic heating, *Biotechnology and Bioengineering*, **49**, 334-340.
- Concannon, F., Reynolds, P.J., Hennigan, A. and Colleran, E.**, 1988. Automated measurement of the specific methanogenic activity of anaerobic digestion biomass, *Biochem. Soc. Transact.*, **17**, 425-433.
- De Baere, L.A., Devocht, M., Van Assche, P. and Verstraete, W.**, 1984. Influence of high NaCl and NH₄Cl salt levels on methanogenic associations, *Water Research*, **18**, 543-548.
- Dinopoulou, G., Rudd, T. and Lester, J.N.**, 1988. Anaerobic acidogenesis of a complex wastewater. II. kinetics of growth, inhibition and product formation, *Biotechnol. Bioeng.*, **31**, 969-978.
- Dolfing, J. and Bloemen, W.G.B.M.**, 1985. Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments, *Journal of Microbiological Methods*, **1**, 1-12.
- Eldem, Ö. N., Akgiray, Ö., Ozturk, I., Soyer, E. and Calli, B.**, 2004a. Ammonia and pH inhibition in anaerobic treatment of wastewaters, Part II: Model development. *J. Environ. Sci. Health, Part A*. **A39**, 2421-2435.
- Eldem, Ö. N., Ozturk, I., Soyer, E., Calli, B. and Akgiray, Ö.**, 2004b. Ammonia and pH inhibition in anaerobic treatment of wastewaters, Part I: Experimental. *J. Environ. Sci. Health, Part A*. **A39**, 2405-2420.
- Eldem, Ö. N., Ozturk, I., Soyer, E., Calli, B., Mertoglu, B. and Akgiray, Ö.**, 2004c. Ammonia and pH Inhibition in Anaerobic Treatment, *Proceedings of the 10th World Congress on Anaerobic Digestion (AD10-2004)*, Montreal, Canada, 29 August – 2 September 2004, 306-311.

- Emerson, K., Russo, R.C., Lund, R.E. and Thurston, R.V., 1975.** Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effect of pH and temperature, *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **32**, 2379-2383.
- Ficker, M., Krastel, K., Orlicky, S. and Edwards, E., 1999.** Molecular characterization of a toluene-degrading methanogenic consortium, *Applied and Environmental Microbiology*, **65**, 5576-5585.
- Field, J.A. and Lettinga, G., 1987.** The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of a hydrolyzable tannin, *Water Research*, **21**, 367-374.
- Florencio, L., Field, J.A., and Lettinga, G., 1994.** Importance of cobalt for individual trophic groups in an anaerobic methanol-degrading consortium, *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 227-234.
- Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M. and Nagai, S., 1990.** Inhibition of the fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate and propionate, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 719-723.
- Gallert, C. and Winter, J., 1997.** Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic wastes: effect of ammonia on glucose degradation and methane production, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **48**, 405-410.
- Gallert, C., Bauer, S. and Winter, J., 1998.** Effect of ammonia on the anaerobic degradation of protein by mesophilic and thermophilic biowaste population, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **50**, 495-501.
- Grady, C.P.L., Daigger, G.T. and Lim, H.C., 1999.** Biological Wastewater Treatment, Marcel Dekker Inc., New York.
- Grosskopf, R., Janssen, P.H., Liesack, W., 1998.** Diversity and structure of the methanogenic community in anoxic rice paddy soil microcosms as examined by cultivation and direct 16S rRNA gene sequence retrieval, *Applied and Environmental Microbiology*, **64**, 960-969.
- Guerrero, L., Omil, F., Mendez, R., Lema, J.M., 1997.** Treatment of salina wastewaters from fish meal factories in an anaerobic filter under extreme ammonia concentrations, *Bioresource Technology*, **61**, 69-78.
- Han, K. and Levenspiel, O., 1988.** Extended Monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition, *Biotechnology and Bioengineering*, **32**, 430-437.
- Hansen, K.H., Angelidaki, I. and Ahring, B.K., 1998.** Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia, *Water Research*, **32**, 5-12.

- Hansen, K.H., Angelidaki, I. and Ahring, B.K., 1999.** Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure, *Water Research*, **33**, 1805-1810.
- Harmsen, H.J.M., Kengen, H.M.P., Akkermans, A.D.L., Stams, A.J.M., de Vos, W.M., 1996.** Detection and localization of syntrophic propionate-oxidizing bacteria in granular sludge by in situ hybridization using 16S rRNA-based oligonucleotide probes, *Applied and Environmental Microbiology*, **62**, 1656–1663.
- Hashimoto, A.G., 1986.** Pretreatment of wheat straw for fermentation to methane, *Biotechnology and Bioengineering*, **28**, 1857-1866.
- Heinrichs, B.D.M., Poggi-Varaldo, H.M., and Oleszkiewicz, J.A., 1990.** Effects of ammonia on anaerobic digestion of simple organic substrates, *Journal of Environmental Engineering*, **116**, 698-710.
- Hendriksen, H.V. and Ahring, B.K., 1991.** Effects of ammonia on growth and morphology of thermophilic hydrogen-oxidizing methanogenic bacteria, *FEMS Microbiol Ecol.*, **85**, 241-246.
- Henze, M. and Harremous, P., 1983.** Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors: A Literature Review, *Water Sci. Technol.*, **15**, 1-101.
- Heyes, R.H. and Hall, R.J., 1981.** Anaerobic digestion modelling – the role of H₂, *Biotechnology Letters*, **3**, 431-436.
- Hickey, R.F., Vanderwielen, J. and Switzenbaum, M.S., 1987.** The effect of organic toxicants on methane production and hydrogen gas levels during the anaerobic digestion of waste activated sludge, *Water Research*, **21**, 1417-1427.
- Hickey, R.F., Vanderwielen, J. and Switzenbaum, M.S., 1989.** The effect of heavy metals on methane production and hydrogen and carbon monoxide levels during batch anaerobic sludge digestion, *Water Research*, **23**, 207-218.
- Hill, D.T. and Barth C.L., 1977.** A dynamic model for simulation of animal waste digestion, *J. Water Pollut, Control Fed.*, **49**, 2129-2143.
- Hobson, P.N. and Shaw, B.G., 1976.** Inhibition of methane production by *Methanobacterium formicicum*, *Water Research*, **10**, 849-852.
- Hugenholtz, P., Goebel, B.M. and Pace, N.R., 1998.** Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity, *Journal of Bacteriology*, **180**, 4765-4774.

- Hunik, J.H., Hamelers, H.V.M., Koster, I.W., 1990.** Growth-rate inhibition of acetoclastic methanogens by ammonia and pH in poultry manure digestion, *Biological Wastes*, **32**, 285-297.
- Inanc, B., Calli, B., Alp, K., Ciner, F., Mertoğlu, B. and Ozturk, I., 2002.** Toxicity assessment on combined biological treatment of pharmaceutical industry effluents, *Water Science and Technology*, **45**, 135-142.
- Inanc, B., Calli, B. and Mertoğlu, B., 2000a.** Performances of anaerobic filter UASB and hybrid reactors treating high ammonia landfill leachate, *Proceedings of the 4th International Symposium on Environmental Biotechnology*, Noordwijkerhout, The Netherlands, 10-12 April 2000, 500-503.
- Inanc, B., Calli, B., Saatçi, A., 2000b.** Characterization and anaerobic treatment of the sanitary landfill leachate in İstanbul, *Water Science and Technology*, **41**, 223-230.
- James, A., Chernicharo, C.A.L. and Campos, C.M.M., 1990.** The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity, *Water Research*, **24**, 813-825.
- Jarrell, K.F. and Saulnier, M. 1987.** Inhibition of methanogenesis in pure cultures by ammonia, fatty acids, and heavy metals, and protection against heavy metal toxicity by sewage sludge, *Can. J. Microbiol.*, **33**, 551-554.
- Jenkins, S.R., Morgan, J.M., Sawyer, C.L., 1983.** Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration, *Journal of Water Pollution Control Federation*, **55**, 448-453.
- Jin, P., Bhattacharya, S.K., Williams, C.J. and Zhang, H., 1998.** Effects of sulfide addition on copper inhibition in methanogenic systems, *Water Research*, **32**, 977-988.
- Kayhanian, M., 1994.** Performance of a high-solids anaerobic digestion process under various ammonia concentrations, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **59**, 349-352.
- Khan, A.W. and Trottier, T.M., 1978.** Effect of sulfur-containing compounds on anaerobic degradation of cellulose to methane by mixed cultures obtained from sewage sludge, *Appl. Envir. Microbiol.*, **35**, 1027-1034.

- Koster, I.W.**, 1986. Characteristics of the pH-influenced adaptation of methanogenic sludge to ammonia toxicity, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **36**, 445-455.
- Koster, I.W. and Cramer, A.**, 1987. Inhibition of methanogenesis from acetate in granular sludge by long-chain fatty acids, *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 403-409.
- Koster, I.W. and Koomen, E.**, 1988. Ammonia inhibition of the maximum growth rate of hydrogenotrophic methanogens at various pH-levels and temperatures, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **28**, 500-505.
- Koster, I.W. and Lettinga, G.**, 1984. The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge, *Agric. Wastes*, **9**, 205-216.
- Koster, I.W. and Lettinga, G.**, 1988. Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations, *Biological Wastes*, **25**, 51-59.
- Koster, I.W., Rinzema, A., de Vegt, A.L. and Lettinga, G.**, 1986. Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels, *Water Research*, **20**, 1561-1567.
- Kroeker, E.J., Shultte, D.D., Sparling, A.B. and Lapp, H.M.**, 1979. Anaerobic treatment process stability, *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **51**, 718-727.
- Krylova, N., Khabiboulline, R., Naumova, R. and Nagel, M.**, 1997. The influence of ammonium and methods for removal during the anaerobic treatment of poultry manure, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **70**, 99-105.
- Kugelman I.J. and McCarty P.L.**, 1965. Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment, *Journal WPCF*, **37**, 97-116.
- Lau, I.W.C. and Fang, H.H.P.**, 1997. Effect of temperature shock to thermophilic granules, *Water Research*, **31**, 2626-2632.
- Lawrence, A.W. and McCarty P.L.**, 1965. The role of sulfide in preventing heavy metal toxicity in anaerobic treatment, *J. Water Pollution Control Federation*, **37**, 392-406.
- Lay, J.J., Li, Y.Y. and Noike, T.**, 1998a. Mathematical model for methane production from landfill bioreactor, *Journal of Environmental Engineering*, **124**, 730-736.

- Lay, J.J., Li, Y.Y. and Noike, T., 1998b.** The influence of pH and ammonia on the methane production in high-solids digestion processes, *Water Environment Research*, **70**, 1075-1082.
- Lens, P., Zeeman, G. and Lettinga, G., 2001.** Decentralised Sanitation and Reuse: Concepts, Systems and Implementation, IWA Publishing
- Levenspiel, O., 1980.** The Monod equation - a revisit and a generalization to product inhibition situations, *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, 1671-1687.
- Liu, T. and Sung, S., 2002.** Ammonia inhibition on thermophilic acetoclastic methanogens, *Water Science and Technology*, **45**, 113-120.
- Luong, J.H.T., 1985.** Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation, *Biotechnology and Bioengineering*, **27**, 280-285.
- Luong, J.H.T., 1987.** Generalization of Monod kinetics for analysis of growth data with substrate inhibition, *Biotechnology and Bioengineering*, **29**, 242-248.
- Macleod, C. and Forster, C., 1988.** Heavy metal inhibition of gas production by thermophilic anaerobic sludges, *Microbios*, **54**, 31-40.
- Manz, W., Wagner, M., Amann, R. and Schleifer, K.H., 1994.** In situ characterization of the microbial consortia active in two wastewater treatment plants, *Water Res.*, **28**, 1715-1723.
- McCartney, D.M. and Oleszkiewicz, J.A., 1993.** Competition between methanogens and sulphate reducers: effect of COD: sulfate ratio and acclimation, *Water Environment Research*, **65**, 655-664.
- McCarty, P.L., 1964.** Anaerobic waste treatment fundamentals, Part III. Toxic materials and their control, *Public Works*, **95**, 91-94.
- McCarty, P.L. and McKinney, R.E., 1961.** Salt toxicity in anaerobic treatment, *Journal of Water Pollution Control Federation*, **33**, 399-415.
- Mehrotra, A., Mehrotra, I. and Tandon, S.N., 1993.** Role of Cu(II) and Zn(II) species on the anaerobic digestion of synthetic activated sludge, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **56**, 185-190.
- Melbinger, N.R. and Donnellon, J., 1971.** Toxic effects of ammonia nitrogen in high-rate digestion, *J. Water Pollut. Contr. Fed.*, **43**, 1658-1670.
- Miller, T.L. and Wolin, M.J., 1974.** A serum bottle modification of the hungate technique for cultivating obligate anaerobes, *Appl. Microbiol.*, **27**, 985-987.

- Mosey, F.E. and Hughes, D.A., 1975.** The toxicity of heavy metal ions to anaerobic digestion, *Wat. Pollut. Control*, **74**, 18-39.
- Mosey, F.E., Swanwick, J.D., Hughes, D.A., 1971.** Factors affecting the availability of heavy metals to inhibit anaerobic digestion, *Wat. Pollut. Control*, **70**, 668-679.
- Mueller, R.F. and Steiner, A., 1992.** Inhibition of anaerobic digestion caused by heavy metals, *Wat. Sci. Tech.*, **26**, 835-846.
- Mulchandani, A. and Luong, J.H.T., 1989.** Microbial inhibition kinetics revisited, *Enzyme Microb. Technol.*, **11**, 66-73.
- Muyzer, G., de Waal, E.C. and Uitterlinden, A.G., 1993.** Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA, *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 695-700.
- Omil, F., Méndez, R., and Lema, J.M., 1995.** Anaerobic treatment of saline wastewaters under high sulphide and ammonia content, *Bioresource Technology*, **54**, 269-278.
- Oude Elferink, S.J.W.H., van Lis, R., Heilig, H.G.H.J., Akkermans, A.D.L. and Stams, A.J.M., 1998.** Detection and quantification of microorganisms in anaerobic bioreactors, *Biodegradation*, **9**, 169-177.
- Owen, W.F., Stuckey, D.C., Healy, J.B., Young, L.Y., and McCarty, P.L., 1979.** Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity, *Water Research*, **13**, 485-492.
- Öztürk, İ., 1999.** Anaerobik Biyoteknoloji ve Atık Arıtımındaki Uygulamaları, Su Vakfı Yayınları, İstanbul.
- Parkin, G.F. and Owen, W.F., 1986.** Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges, *J. Environ. Engineer., Am. Soc. Civil Eng.*, **112**, 867-920.
- Parkin, G.F., and Speece, R.E., 1982.** Modeling toxicity in methane fermentation systems, *J. Environ. Eng. Div. Am. Soc. Civ. Eng.*, **108**, 515-531.
- Parkin, G.F., Lynch, H.A., Kui, W.C., Van Keuren, E.L. and Bhattacharya, S.K. 1990.** Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate, *Res. J. Water Pollut. Control Fed.*, **62**, 780-788.

- Patel, G.B., Agnew, B.J. and Dicaire, C.J., 1991.** Inhibition of pure culture of methanogens by benzene ring compounds, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2969-2974.
- Pearson, F., Chung, C.S. and Gautier, M., 1980,** Toxic inhibition of anaerobic biodegradation, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **52**, 472-482.
- Poggi-Varaldo, H.M., Rodriguez-Vázquez, R., Fernández-Villagómez, G. and Esparza-Garcia, F., 1997.** Inhibition of mesophilic solid-substrate anaerobic digestion by ammonia nitrogen, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **47**, 284-291.
- Poggi-Varaldo, H.M., Tingley, J. and Oleszkiewicz, J.A., 1991.** Inhibition of growth and acetate uptake by ammonia in batch anaerobic digestion, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **52**, 135-143.
- Powell, M.J.D., 1977.** A Fast algorithm for nonlinearly constrained optimization calculations. In *Numerical Analyses*, Lecture Notes in Math.630, Ed., Watson, G.A., Springer-Verlag, Dundee.
- Press, W.H., Teukolsky, S.A., Vetterling, W.T. and Flannery, B.P., 1999.** Numerical Recipes in Fortran 77, 2nd Ed. Corrected Reprinting, Cambridge University Press, Cambridge, I.
- Raskin, L., Poulsen, L.K., Noguera, D.R., Rittmann, B.E. and Stahl, D.A., 1994.** Quantification of methanogenic groups in anaerobic biological reactors by oligonucleotide probe hybridization, *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 1241-1248.
- Rittmann, B.E., McCarty, P.L., 2001.** Environmental Biotechnology: Principles and Applications, McGraw-Hill Book Co., New York.
- Rocheleau, S., Greer, C.W., Lawrence, J. R., Cantin, C., Laramée, L. and Guiot, S.R., 1999.** Differentiation of methanosaeta concilii and methanosarcina barkeri in anaerobic mesophilic granular sludge by fluorescent in situ hybridization and confocal scanning, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 2222-2229.
- Sekiguchi, Y., Kamagata, Y. and Harada, H., 2001.** Recent advances in methane fermentation technology, *Current Opinion in Biotechnology*, **12**, 277–282.
- Sekiguchi, Y., Kamagata, Y., Nakamura, K., Ohashi, A. and Harada, H., 1999.** Fluorescence in situ hybridization using 16S rRNA-targeted oligonucleotides reveals localization of methanogens and selected

- uncultured bacteria in mesophilic and thermophilic sludge granules, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 1280-1288.
- Shelton, D.R. and Tiedje, J.M.**, 1984. General method for determining anaerobic biodegradation potential, *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 850-857.
- Shen, F.C., Kosaric, N., and Blaszczyk, R.**, 1993. Properties of anaerobic granular sludge as effected by yeast extract, cobalt and iron supplements, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **39**, 132-137.
- Sorensen, A.H., Torsvik, V.L., Torsvik, T., Poulsen, L.K., Ahring, B.K.**, 1997. Whole-cell hybridization of *Methanosarcina* cells with two new oligonucleotide probes, *Applied and Environmental Microbiology*, **63**, 3043-3050.
- Soto, M., Méndez, R. and Lema, J.M.**, 1991. Biodegradability and toxicity in the anaerobic treatment of fish canning wastewaters, *Environmental Technology*, **12**, 669-677.
- Soto, M., Méndez, R. and Lema, J.M.**, 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up, *Water Research*, **27**, 1361-1376.
- Speece, R.E.**, 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment, *Environmental Sci. Technol.*, **17**, 416A-427A.
- Speece, R.E.**, 1988. A Survey of municipal anaerobic sludge digesters and diagnostic activity assay, *Water Research*, **22**, 365-372.
- Speece R. E.**, 1996. Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters, Archae Press, Nashville, Tennessee.
- Speece, R.E., Parkin, G.F. and Gallagher, D.**, 1983. Nickel stimulation of anaerobic digestion, *Water Research*, **17**, 677-683.
- Sprott, G.D. and Patel, G.B.**, 1986. Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria, *Systematic and Applied Microbiology*, **7**, 358-363.
- Sprott, G.D., Shaw, K.M. and Jarrell, K.F.**, 1984. Ammonia/Potassium exchange in methanogenic bacteria, *J. Biol. Chem.*, **259**, 12602-12608.
- Sprott, G.D., Shaw, K.M. and Jarrell, K.F.**, 1985. Methanogenesis and K⁺ transport system are activated by divalent cations in ammonia-treated cells of *Methanospirillum hungatei*, *Journal of Biological Chemistry*, **260**, 9244-9250.

- Stahl, D.A., Amann, R.,** 1991. Development and application of nucleic acid probes in *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, pp. 205-248, Eds. Stackebrandt E., Goodfellow M., John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
- Stams, A.J.M. and Oude Elferink, S.J.W.H.,** 1997. Understanding and advancing wastewater treatment, *Current Opinion in Biotechnology*, **8**, 328-334.
- Sterling Jr, M.C., Lacey, R.E., Engler, C.R. and Ricke, S.C.,** 2001. Effects of ammonia nitrogen on H₂ and CH₄ production during anaerobic digestion of dairy cattle manure, *Bioresource Technology*, **77**, 9-18.
- Streicher, C., Milande, N., Capdeville, B. and Roques, H.,** 1990. Improvement of the anaerobic digestion of diluted whey in a fluidized bed by nutrient additions, *Environ. Technol.*, **12**, 333-342.
- Stuckey, D.C., Owen, W.F., McCarty, P.L.,** 1980. Anaerobic toxicity evaluation by batch and semi-continuous assays, *Journal WPCF*, **52**, 721-729.
- Sung, S. and Liu, T.,** 2003. Ammonia inhibition in thermophilic anaerobic digestion, *Chemosphere*, **53**, 43-52.
- Tagawa, T., Syutsubo, K., Sekiguchi, Y., Ohashi, A., Harada, H.,** 2000. Quantification of methanogen cell density in anaerobic granular sludge consortia by fluorescence in-situ hybridization, *Water Science and Technology*, **42**, 77-82.
- Tijero, J., Guardiola, E., Mirada, F., Cortijo, M.,** 1991. Effect of Cu⁺², Ni⁺² and Zn⁺² on an anaerobic digestion system, *J. Environ. Sci. Health, A* **26**, 799-811.
- Tomlin, C. and Forster, C.F.,** 1988. A further examination of heavy metal inhibition of gas production by thermophilic anaerobic sludges, *Microbios*, **56**, 7-17.
- Torsvik, V., Daae, F.L., Sandaa, R.A. and Ovreas, L.,** 1998. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural, *Journal of Biotechnology*, **64**, 53-62.
- Valcke, D. and Verstraete, W.,** 1983. A practical method to estimate the acetoclastic methanogenic biomass in anaerobic sludges, *Journal of Water Pollution Control Federation*, **55**, 1191-1195.
- Van den Berg, L.,** 1977. Effect of temperature on growth and activity of a methanogenic culture utilising acetate, *J. Can. Microbiol.*, **23**, 898-902.

- Van den Berg, L., Lentz, C.P., Athey, R.J. and Rooke, E.A., 1974.** Assessment of methanogenic activity in anaerobic digestion: Apparatus and method, *Biotech. Bioeng*, **16**, 1459-1469.
- Van Velsen, A.F.M., 1979.** Adaptation of methanogenic sludge to high ammonia-nitrogen concentrations, *Water Research*, **13**, 995-999.
- Vavilin, V.A., Vasiliev, V.B., Rytov, S.V. and Ponomarev, A.V., 1995.** Modeling ammonia and hydrogen sulfide inhibition in anaerobic digestion, *Water Research*, **29**, 827-835.
- Visser, A., Gao, Y. and Lettinga, G., 1993.** Effects of short-term temperature increases on the mesophilic anaerobic breakdown of sulfate containing synthetic wastewater, *Water Research*, **27**, 541-550.
- Wang, Y.T., Gabbard, H.D. and Pai, P.C., 1991.** Inhibition of acetate methanogenesis by phenols, *J. Environ. Eng.*, **117**, 487-496.
- Weiland, P. and Rozzi, A., 1991.** The start-up operation and monitoring of high-rate anaerobic treatment systems: discussor's Report, *Water Science and Technology*, **24**, 257-277.
- Wiegant, W.M. and Zeeman, G., 1986.** The mechanism of ammonia inhibition in thermophilic digestion of livestock wastes, *Agricultural Wastes*, **16**, 243-253.
- Williams, C.M., Shih, J.C.H. and Spears, J.W., 1986.** Effect of nickel on biological methane generation from a laboratory poultry waste digester, *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 1608-1610.
- Yang, J. and Speece, R.E., 1986.** The effects of chloroform toxicity on methane fermentation, *Water Research*, **20**, 1273-1279.
- Yenigün, O., Köksal, G. and Yilmazer, G., 1995.** Nickel and cadmium inhibition in acidogenesis during anaerobic digestion, *J. Environ. Sci. Health, A* **30**, 981-987.
- Yue Lin, C., 1992.** Effect of heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion, *Water Research*, **26**, 177-183.
- Yue Lin, C., 1993.** Effect of heavy metals on acidogenesis in anaerobic digestion, *Water Research*, **27**, 147-152.
- Zeeman, G., Wiegant, W.M., Koster-Treffers, M.E. and Lettinga, G., 1985.** The influence of the total ammonia concentration on the thermophilic digestion of cow manure, *Agricultural Waste*, **14**, 19-35.

Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rimbouts, F.M. and van't Riet, K., 1990.
Modeling of bacterial growth curve, *Applied and Environmental Microbiology*, **56**, 1875-1881.



EK A – ANAEROBİK ARITMADA AMONYAK İNHİBİSYONU İLE İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALARDAN ÖRNEKLER

Bu bölümde, anaerobik arıtmada amonyak inhibisyonu ile ilgili literatürden alınan çalışmalar kronolojik olarak özetlenmiştir.

Kugelman ve McCarty (1965): Bu çalışmada, asetat kullanan metanojenler üzerine, Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{++} ve Mg^{++} 'un tek başına ve birlikte değişik konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Araştırmada katyonların etkisi, ortamda zorlaştırıcı faktörlerin olmaması halinde belirlenmiştir. Sadece katyonların mevcut olduğu ortamda, toksisite, sinerjizm (katyon çiftinin, her bir katyonun tek başına oluşturduğu inhibisyon etkisinden daha fazla inhibisyon etkisi göstermesi), antagonizm (diğer katyonun toksik etkisini azaltan bir katyonun mevcut olduğu durum), ve stimülasyon (uyarıcı etki) arasındaki ilişki belirlenmiştir. Deneysel çalışmada 5 adet 8 litre kapasiteli laboratuvar ölçekli çürütücü kullanılmıştır. Aşı olarak çürütülmüş kanal çamuru kullanılmıştır. Çürütücülerde sıcaklık 35°C 'de muhafaza edilmiştir. Organik substrat olarak asetik asit kullanılmıştır. Tüm araştırmalar kimyasal olarak tanımlanmış ortamda gerçekleştirilmiştir. Her çürütücüde bikarbonatların sadece biri tampon madde olacak şekilde, 5 ayrı tampon (Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{++} ve Mg^{++} bikarbonat) 2500 mg/l CaCO_3 seviyesinde kullanılmıştır. Tüm katyon etkileri, slug (şok) ilave temelinde araştırılmıştır. Katyon ilavesi sonrası, substrat kullanım hızı, katyon etkisinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Substrat kullanım hızı Warburg cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışma sonunda;

- Anaerobik arıtmada katyon etkilerinin, çevrede mevcut tüm katyonların konsantrasyonu ve tiplerinin bir fonksiyonu olduğu,
- Anaerobik arıtmada maksimum verim elde edebilmek için, optimum iyonik konsantrasyonlarının, monovalent iyonlar için 0,01M (Na^+ , K^+ , NH_4^+) ve divalent iyonlar için 0,005 M (Ca^{++} ve Mg^{++}) olduğu,
- Optimumdan daha düşük veya daha yüksek iyonik konsantrasyonların maksimum verimden daha düşük verimlerin elde edilmesine neden olduğu,
- Molar bazda, Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{++} ve Mg^{++} 'un optimum konsantrasyonlarının aşılması halinde inhibisyona neden olduğu,

- İncelenen iyonların herhangi birinin aşırı konsantrasyonunun neden olduğu inhibisyonun, diğer incelenen katyonların en azından birinin optimum konsantrasyonda ilavesiyle minimize edilebileceği,
- Bir inhibitör katyonun inhibitör etkisinin en aza inmesinde, diğer katyonların sadece birinden ziyade birkaçının optimum konsantrasyonda ilavesi ile elde edilebileceği,
- Katyonun inhibitör konsantrasyonuna, belirli katyonların ilavesinin katyonun inhibitör etkisini arttıracak şekilde sinerjistik etki oluşturabileceği,
- Çoğu durumlarda, sinerjistik katyonun kendi inhibitör seviyesinin çok altındaki konsantrasyonlarda zararlı etki yaratabileceği,
- Anaerobik arıtmada maksimum verimin, temel katyonların mümkün olduğu kadar optimum değerlerine yakın değerlerde muhafaza edilmesi ile elde edilebileceği belirtilmiştir.

Van Velsen (1979): 1500 mg/l'den daha fazla amonyak azotu konsantrasyonlarının, uçucu yağ asitlerinden metan oluşumu üzerine yaptıkları etki, iki tip metanojenik çamur kullanılarak, kesikli deneylerle araştırılmıştır. Metanojenik çamur olarak, 815 mg/l amonyak azotuna aklime edilmiş çürütülmüş kanalizasyon çamuru ve 2420 mg/l amonyak azotuna aklime edilmiş çürütülmüş domuz gübresi kullanılmıştır. Deneyler, beş adet 1 litrelik cam şişede, sıcaklığı $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de kontrol edilen bir odada gerçekleştirilmiş ve iki seri halinde yürütülmüştür. İlk seride, çürütücüler amonyak azotu konsantrasyonu 815 mg/l olan çürütülmüş kanal çamuruyla aşılanmıştır. İkinci seride, 2420 mg/l amonyak azotu konsantrasyonuna aklime edilmiş çürütülmüş domuz gübresi kullanılmıştır. Çürütme üniteleri 250 ml aşı materyali ile aşılanmıştır. 500 ml musluk suyu eklenmesinin ardından, çürütülmüş kanal çamuru içeren çürütücülere 730-4990 mg/l arasında beş farklı amonyak azotu konsantrasyonu, çürütülmüş domuz gübresi içeren çürütücülere 605-3075 mg/l arasında beş farklı amonyak azotu konsantrasyonu uygulanmıştır. Amonyak azotunu istenen düzeye yükseltmek için NH_4Cl kullanılmıştır. Besleme çözeltisi olarak asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit karışımı kullanılmıştır. Daha sonra, çürütücüler musluk suyu ile 1 litreye tamamlanmıştır. Her çürütücünün pH değeri HCl ya da NaOH ile 7,0'ye ayarlanmıştır. Deneylerin başlangıcında, anaerobik koşulları temin etmek amacıyla, çürütücü içeriklerinden azot gazı geçirilmiştir. Çürütülmüş kanal çamuru ile yapılan deneylerde, metan oluşumu 5000 mg/l kadar yüksek bir amonyak azotu konsantrasyonunda dahi gözlenmemiştir. Bununla birlikte, 730 – 4990 mg/l aralığındaki artan amonyak azotu konsantrasyonlarında artan bir gecikme fazı gözlenmiştir. Diğer taraftan, çürütülmüş domuz gübresinde metan oluşumu, 605-3075 mg/l amonyak azotu konsantrasyon aralığında, hiç gecikme fazı olmaksızın hemen başlamıştır. Her iki tip çamurla yapılan deneylerde, maksimum metan oluşum hızı, artan amonyak azotu konsantrasyonlarıyla, yavaşça

azalmıştır. Tüm deney periyodu boyunca toplanan gazın metan içeriği % 90-95 arasında kalmıştır. Deneylerin sonunda ölçülen pH, kanal çamuru ile yapılan deneylerde 7,2 - 7,4; çürütülmüş domuz gübresiyle yapılan deneylerde 7,5 - 7,6 arasında tespit edilmiştir. Sonuç olarak;

- Çürütülmüş kanal çamurunda bulunan metan üreten organizmalar, 5000 mg/l'ye kadar yüksek amonyak azotu konsantrasyonlarına uyum sağlayabilmiştir.
- Çürütülmüş kanal çamurunun, 1210 ile 2360 mg/l arasında bir yerde bulunan bir eşik değerinin üzerindeki amonyak azotu konsantrasyonlarına uyum sağlaması sırasında dikkate değer uzunlukta bir zaman gerekmiştir. Bu durumda metan oluşumunun başlamasının ardından, daha önceden 2420 mg/l'lik bir amonyak azotu konsantrasyonuna uyum sağlamış olan çamurunkiyile karşılaştırılabilir bir metabolizma hızı bulunmuştur.
- Çürütülmüş domuz gübresi, 605-3075 mg/l aralığındaki tüm amonyak azotu konsantrasyonlarına iyi adapte olmuştur.
- Kesikli deneylerde gözlenen maksimum gaz üretim hızı, hem uyum sağlamış hem de sağlamamış çamur için, 600-3000 mg/l aralığındaki artan amonyak azotu konsantrasyonlarıyla yavaşça azalmıştır.

De Baere ve diğ. (1984): Bu çalışmada, yüksek konsantrasyonlarda NaCl ve NH₄Cl'in poliüretan taşıyıcıya bağlı olarak çoğalan metanojenlerin aktivitesi üzerine etkileri yarı sürekli reaktör sistemlerinde incelenmiştir. Deneysel çalışmada, yarı sürekli beslemeli 4 adet yukarı akışlı anaerobik reaktör kullanılmıştır. Tüm reaktörler mezofilik şartlarda (30-35°C) çalıştırılmıştır. İki reaktöre tuzlar şok yükleme ile verilmişken, diğer iki reaktöre NaCl ve NH₄Cl konsantrasyonları kademeli olarak arttırılarak verilmiştir. Reaktörler, konvensiyonel bir kanal çamuru çürütücüsünden alınan çamur ile aşılanmıştır. Reaktörlere, içeriği makalede verilmiş olan 10 gr/l KOI içeren standart ortam yarı sürekli olarak beslenmiştir. 5 gr/l tuz içeren standart ortama farklı konsantrasyonlarda NaCl ve NH₄Cl ilave edilmiştir. Gaz üretimi ve TOK giderim verimi günlük olarak izlenmiştir. Periyodik olarak alınan numunelerde mikrobiyal populasyonlardaki değişimler belirlenmiştir.

Yapılan çalışma sonunda;

- Başlıca asetat ve etanol içeren ortamda büyüyen methanojenlerin NaCl ve NH₄Cl'e oldukça dirençli oldukları,
- 30 gr/l NaCl ve NH₄Cl konsantrasyonunun, şok yüklemeli reaktörlerde bir başlangıç inhibisyonuna neden olduğu, kademeli olarak artan tuz seviyelerine maruz kalan reaktörlerin bu seviyelere çok iyi adapte olduğu ve tolerans seviyelerinin adapte olmamış benzerlerine göre daha arttığı,

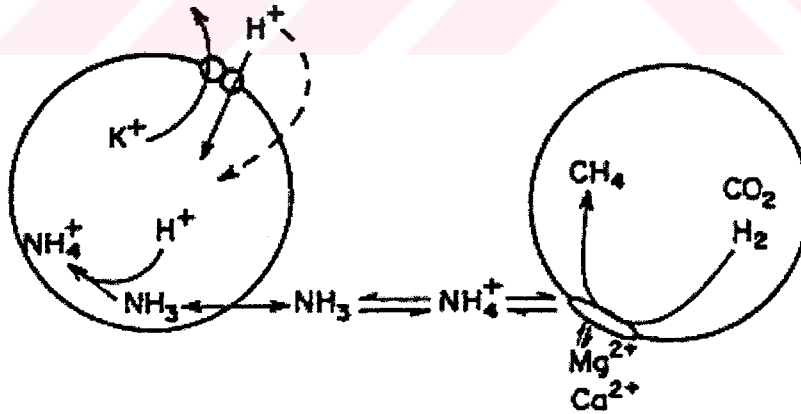
- NaCl'e adapte olan reaktörlerde başlangıç inhibisyonunun 65 gr/l NaCl konsantrasyonunda, %50 inhibisyonun 95 gr/l NaCl konsantrasyonunda görüldüğü,
- NH₄Cl'e adapte olan reaktörlerde başlangıç inhibisyonunun 30 gr/l NH₄Cl konsantrasyonunda, %50 inhibisyonun 45 gr/l NH₄Cl konsantrasyonunda görüldüğü,
- NH₄Cl içeren reaktörlerde optimum performans için serbest amonyak azotunun 80-100 mg/l'nin altındaki konsantrasyonlarda muhafaza edilmesi gerektiği,
- Reaktörlerde bakteriyal popülasyonun çoğunluğunu (biyokütlenin % 99'unun üzerinde) *Methanosarcina*'nın oluşturduğu belirlenmiştir.

Koster ve Lettinga (1984): Bu araştırmada, tablet haline getirilmiş çamurun metanojenik aktivitesi üzerine 680-2601 mg/l aralığında amonyum azotu konsantrasyonlarının etkisi belirlenmiştir. Kesikli deneyler, sıcaklığı 30±2°C'de tutulan odaya yerleştirilmiş 4 litrelik cam şişelerde yapılmıştır. Metan üretimi, NaOH çözeltisi ile yer değiştirme sistemi kullanılarak saptanmıştır. Substrat olarak, asetik, propiyonik ve bütirik asitin karışımı kullanılmıştır.

Sürekli beslemeli deney, 14±1°C'de 5,25lt UASB reaktöründe gerçekleştirilmiştir. Substrat olarak 3 kez seyreltilmiş patates suyu kullanılmıştır. Organik yükleme kademeli olarak arttırılmış ve çıkış suyunda UYA 3,0-3,5 gr/l (KOI olarak) değerine ulaştıktan sonra organik yükleme hızı aynı değerde tutulmuştur. Biyogazdaki CO₂ giderimi NaOH çözeltisinden biyogaz geçirilerek sağlanmış ve metan üretimi gazmetre ile izlenmiştir. Tüm deneylerde, şeker pancarı fabrika çıkış suyunu arıtan UASB reaktöründen alınan tablet halindeki metanojenik çamur kullanılmıştır. Kesikli deneylerde amonyum azotu konsantrasyonu 680 mg/l'den 2601 mg/l'e kademeli olarak arttırılmıştır. Yeni substrat ilavesi, önceki beslemeden üretilmesi mümkün metan üretimi sonrası yapılmıştır. Reaktör muhtevasının pH değeri 7,6-7,95'te muhafaza edilmiştir. 2601 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda deney başladıktan yaklaşık 1000 saat sonra çamurun metanojenik aktivitesinin düştüğü, bundan sonraki 800 saat boyunca çamurun aktivitesinin geriye dönmediği görülmüştür. Kesikli deneylerde asetik asit birikmesi olduğu gözlenmiştir. Sürekli reaktörün çıkış suyunda UYA'leri içindeki baskın türün propiyonik asit olduğu belirlenmiştir. Amonyum azotu konsantrasyonu ve metan üretimi arasında, sürekli olmayan negatif eğimli lineer bir korelasyon bulunmuştur. Sürekli olmayan korelasyonun eğiminin, 1600-1700 mg/l aralığındaki amonyum azotu konsantrasyonunda keskin bir şekilde değiştiği görülmüştür. UASB reaktörü kullanılan sürekli beslemeli deneyde, 900-1400 saatleri arasında propiyonik asit konsantrasyonunun arttığı gözlenmiş, amonyum azotu konsantrasyonu patates suyunun seyreltme faktörü 3'ten 4'e çıkarılarak azaltıldığında çıkış suyundaki UYA konsantrasyonunda keskin bir azalma görülmüştür. Asetat tüketen metanojenlerin, hidrojen tüketen metanojenlere göre amonyum azotundan daha fazla etkilendiği belirtilmiştir.

Kademeli olarak arttırılan amonyum azotu konsantrasyonunda, metanojenik çamurun bir gecikme fazı oluşmaksızın 1700 mg/l üzerindeki amonyum azotu konsantrasyonlarına adapte olabileceği belirtilmiştir.

Sprott ve Patel (1986): Bu çalışmada, amonyağın bazı metanojenlerin çoğalması üzerine toksik etkisi, bir amonyak/potasyum değişim reaksiyonu ve metan üretim fazının inhibisyonu dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Bazı metanojenlerde amonyağın toksik etkisi karşılaştırılmış ve modelde (Şekil A.1) açıklanan reaksiyonların varlığı test edilmiştir. Aynı zamanda, saf kültürdeki amonyak toksisitesinin diğer iyonlar tarafından giderilebileceği gösterilmiştir. Model; amonyağın, *Methanospirillum hungatei* hücreleri ile iki ayrı etkileşimini açıklamak için öne sürülmüştür. İlk etki; bir amonyak/ K^+ değişim reaksiyonu aracılığıyla sitoplazmik potasyum iyonunun %98'ine kadar varabilen bir kısmının hücre dışına akmasıdır. Model (Şekil A.1) bir K^+/H^+ antiporterinin, NH_3 türlerinin hücre içerisine akışı sırasında tüketilen protonları yerine koymak için uyarılmasını göstermektedir. Yüksek pH ve yüksek amonyak konsantrasyonunda, $amonyak_{içe}/K^+_{dışa}$ oranının 1'den büyük olması, bu şartlar altında protonların pasif olarak hücre içine akışında gerçekleşiyor olduğunu düşündürmüştür. Amonyağın ikinci etkisi; metanojenesise olan inhibisyon etkisidir. K^+ u tükenmiş *Methanospirillum hungatei* hücrelerinde metan sentezleme aktivitesi, tampona Ca^{++} ya da Mg^{++} eklenerek geri döndürülmüştür. Amonyak giderimi sırasında sitoplazmik Mg^{++} içeriği korunduğu için, iki değerlikli katyonların sitoplazmanın dış yüzeyinden aktive edildiği sonucuna varılmıştır.



Şekil A.1. *M. Hungatei* hücreleri ile amonyağın iki farklı etkileşimini göstermek için öne sürülen model.

Yapılan çalışmada, amonyağın, sitoplazmik K^+ içeriği ve metan sentezi üzerine etkilerine dayanılarak, metanojenler direçli ve duyarlı olarak ikiye ayrılmıştır. Dirençli gruplar, *M. arboriphilus*, *M. smithii* ve *Methanobacterium G2R*, 400 mM'a kadar NH_4Cl ve $NaCl$ konsantrasyonlarına yüksek direnç göstermişlerdir. Bu grup arasında yer alan *M. arboriphilus*'ün daha hassas olduğu görülmüştür. Duyarlı olarak sınıflandırılan metanojenler,

amonyak ile amonyak/ K^+ değişim reaksiyonu kadar, metanojenlerde de inhibisyon sergilemişlerdir. Asetiklastik organizma *M. concilii*, *M. hungatei* ve *M. barkeri* duyarlı grup olarak belirtilmiştir. *M. concilii*'nin NH_4Cl 'e oldukça duyarlı olduğu, 40 mM kadar az bir NH_4Cl 'de metan sentezinin %100 inhibisyona uğradığı görölmüştür. *M. barkeri*'de, 200 mM NaCl konsantrasyonunda inhibisyon olmadığı, sadece NH_4Cl 'ün inhibisyona neden olduğu belirlenmiş, 30 mM üzerinde $CaCl_2$, $MgCl_2$ ve KCl ilavesinde herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir. *M. bryantii* yüksek konsantrasyonlarda NH_4Cl 'e maruz bırakıldığında, metan sentezinde anlamlı bir inhibisyon ve kısmi bir K^+ akışı gözlenmiştir. NH_4Cl 'ün yokluğunda, 0,4 M NaCl'ün *M. bryantii*'de metanojenesis ya da sitoplazmik K^+ içeriği üzerinde etkisi görölmemiştir. Metal katyonlarının etkisi, *M. concilii* ve *M. hungatei* ile de test edilmiştir. *M. concilii*'nin asetattan metan oluşturma yeteneği NaCl ile artmıştır. NaCl'e ters olarak, $MgCl_2$ ya da $CaCl_2$, 10 mM ya da daha düşük konsantrasyonlarda, metan oluşum hızları üzerinde hiçbir uyarıcı etki göstermemiştir. Diğer yandan, $MgCl_2$ (5 mM) toksisiteyi kısmen engellemiş ve $CaCl_2$ (20-40 mM) metanojenizin inhibisyonunda tam bir geri dönüş sağlamıştır. Bununla birlikte, yukarıdaki iyonların hiçbirisi *M. hungatei*'nin hücre süspansiyonunda, NH_4Cl 'ün metan sentezi üzerindeki toksisitesini hafifletememiştir. Amonyağa direnç gösteren metanojenlerin, aynı zamanda çoğalma çalışmalarında da en dirençli oldukları görölmüştür. *M. arboriphilus*, *M. smithii* ve *Methanobacterium* G2R'un, 3 ya da 400 mM NH_4Cl içeren ortamlarda eşit derecede iyi çoğaldıkları, diğer metanojenlerin daha duyarlı oldukları gözlenmiştir. *M. hungatei* ve *M. barkeri* 200 mM'a kadar NH_4Cl içeren ortamda iyi çoğalmış, daha yüksek konsantrasyonlar çoğalma zamanlarını arttırmıştır. *M. bryantii*'nin çoğalması sırasında 100 mM kadar az NH_4Cl mevcut olduğunda, çoğalma hızı ve sitoplazmik K^+ içeriğinde düşmeler gözlenmiştir. *M. hungatei* ve *M. bryantii*'nin durumunda, 300 mM NH_4Cl 'de sadece bir kitle halinde ikiye katlanma görölmüştür. Test edilen tüm türler içinde asetat kullanan metanojen, *M. concilii*, 120 mM NH_4Cl 'de eklenik metanda %80 azalma ile amonyağa en duyarlı olarak belirlenmiştir. Metanojenlerin bazılarının, yüksek amonyak konsantrasyonlarına direnmek için, bir adaptasyon periyoduna ihtiyaçları olmadığı, başlangıçta duyarlı olan bir suşun genetik değişiklikler aracılığıyla adaptasyonu gerçekleşebilecek olsa da, bir reaktörün geri dönme periyodunun, daha büyük olasılıkla, çamurda zaten mevcut olan dirençli suşların seçimi için gerekli olan çoğalma periyodunu temsil ettiği belirtilmiştir.

Wiegant ve Zeeman (1986): Bu çalışmada, termofilik ($55^{\circ}C$) metanojenlerin spesifik çoğalma hızı üzerine (metanojenlerin spesifik çoğalma hızlarının ölçülmesi, amonyak inhibisyonunun doğasının anlaşılması bakımından önemli bilgiler sağlayabilir) amonyağın inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Tüm deneyler $55^{\circ}C$ 'de yapılmıştır. Aşı, işletme sıcaklığı $55^{\circ}C$ olan taze inek gübresinin esas bakteri kaynağı olduğu çürütücülerden alınmıştır.

Substrat olarak asetat kullanan metanojenlerin çoğalma hızı üzerine amonyağın inhibisyon etkisi, 320 ml serum şişeleri kullanılarak saptanmıştır. Serum şişelerine 2,0 gr/l asetat ile makalede içeriği verilen çoğalma ortamı ve bir seri (100 ve 500 mg/l artışlarla 500 ile 4500 mg-N/l) NH_4Cl konsantrasyonları ilave edilmiştir. 20 ml aşı, seyreltilmiş inek gübresi (%2,5 UKM) ile beslenmiş bir çürütücüden (çürütücü içeriği 3000 mg- NH_4^+ -N/l) alınmıştır. Serum şişelerinden oksijen giderimi yapıldıktan sonra, termostatlı su banyosuna yerleştirilen serum şişelerinde sıcaklık 55°C'e ulaşmış, aşı lastik tıpa boyunca serum şişelerine enjekte edilmiştir. Aşılama sonrası serum şişelerinde sıvı hacmi 250 ml'e ulaşmıştır. Metan üretimi, sıvı yer değiştirme yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Sıvı olarak 1 M NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Asetat, propiyonat, NH_4Cl ve NaCl'ün yüksek konsantrasyonlarının mevcudiyetinde asetat üzerinden çoğalma hızı, 5,5 litre kullanım hacimli 6 litrelik çürütücülerde ölçülmüştür. 200 ml aşı, yüksek bekleme süreli (40 günün üzerinde) ve esas olarak propiyonat dönüştürme aktivitesi içermeyen çürütücülerden (toplam amonyak konsantrasyonu, 3500 mg-N/l) alınmıştır. Matan üretimi, 0,4 M NaOH çözeltisi ile yer değiştirme sistemi ile belirlenmiştir. Spesifik çoğalma hızı, Powell (1983)'e göre hesaplanmıştır. H_2 tüketen metanojenlerin çoğalma hızı, 470 ml'lik reaktörlerde 300 ml kullanım hacminde belirlenmiştir. Belirlenen ortama 0 ile 4250 mg/l NH_4^+ -N ilave edilmiş, reaktöre %80 H_2 ve %20 CO_2 karışımı bir şırınga vasıtasıyla verilmiştir. Reaktör içeriğinin pH değeri 6,7-6,9 arasında belirlenmiştir. Reaktör manyetik karıştırıcı ile karıştırılmış ve 18,2 gün bekleme süresinde 50,000 mg-KOI/l, 2310 mg/l toplam amonyak konsantrasyonu içeren vinas ile beslenen bir çürütücüden alınan 10 ml aşı kullanılmıştır. Ölçümler aşılama sonrası yaklaşık 16 saat sonra başlamıştır. Spesifik çoğalma hızı, gazdaki metan konsantrasyonunun doğal logaritmasının eğimini ölçmek suretiyle saptanmıştır. Gaz fazındaki metan konsantrasyonları gaz kromatografisi ile belirlenmiştir.

Deney sonuçlarına göre, asetat kullanan metanojenlerin amonyak inhibisyonuna karşı çok dirençli oldukları belirlenmiştir. Bunun nedeni aşının, alındığı çürütücülerdeki yüksek toplam amonyak konsantrasyonlarına (3000 mg-N/l) adaptasyonuna bağlanmıştır. Asetat kullanan metanojenlerin spesifik çoğalma hızından, bu metanojenlerin *Methanosarcina* cinsine (diğer asetat kullanan metanojen *Methanothrix*'in 55°C'de çok daha düşük spesifik çoğalma hızına sahip olduğu daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir) ait olduğu tahmin edilmiştir. *Methanothrix* metanojenlerin yüksek toplam amonyak konsantrasyonlarına daha az toleranslı olduğunun (Koster ve Lettinga, 1984) belirlenmesi ve ayrıca, küresel hücreler içeren *Methanosarcina*'nın hacim-yüzey oranının, çubuksu hücreler içeren *Methanothrix*'ten çok daha büyük olması, serbest amonyağın *Methanothrix* hücresine difüzyonunun çok daha fazla olacağı göz önünde bulundurularak, *Methanosarcina*'nın amonyağa karşı daha fazla direnç gösterdiği tahmin edilmiştir. Bununla beraber, hidrojen kullanan metanojenlerin

çoğalma hızlarının, toplam amonyak konsantrasyonundan şiddetle etkilendiği belirtilmiştir. Yüksek amonyak konsantrasyonlarında hidrojen kullanan metanojenlerin inhibe olması ile hidrojen birikiminin, propiyonat birikimine yol açacağı, propiyonat birikiminin de asetat kullanan metanojenlerin inhibitörü olarak görev alacağı ileri sürülmüştür. Yüksek amonyak seviyelerinde, H_2/CO_2 'den metanojenesisin inhibisyonunun aslında sadece propiyonat dönüşümünü inhibe etmeyeceği, aynı zamanda asetat kullanan metanojenin fazla propiyonat üretimine doğru ürün oluşumunda, bir değişime de neden olacağı belirtilmiştir. H_2 kullanan metanojenlerin inhibisyonu ile biriken propiyonatın, çürütücülerde asetat birikiminde önemli bir rol oynayabileceği, asetat birikiminin de asetat kullanan metanojenlerde, substrat inhibisyon seviyesi üzerinde bir inhibitör etkiyi tetikleyebileceği belirtilmiştir.

Jarrell ve Saulnier (1987): Amonyum klorür, sodyum bütirat, sodyum propiyonat ve ağır metallardan nikel, çinko ve bakırın, pH 6,5'te, *Methanospirillum hungatei*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanobacterium thermoautotrophicum* ve *Methanobacterium formicicum* saf kültürlerinde, metanojenesis üzerine etkisi araştırılmıştır. Kullanılan tüm metanojenlerin $CO_2:H_2$ (1:4, hacim/hacim) altında, 1 litrelik basıçlı şişelerde kültürü yapılmıştır. İnhibisyon çalışmalarında, toplam hacmi 38 ml olan serum şişeleri kullanılmıştır. Biyogaz kompozisyonu, 2,5 saatlik periyotta her 30 dakikada bir serum şişelerinden alınan gaz örneklerinin analizi ile izlenmiştir.

Çalışma sonunda,

Uçucu yağ asitleri bütirat ve propiyonat, sodyum tuzları olarak eklendiklerinde, yüksek konsantrasyonlara erişilene kadar, test edilen hiçbir metanojene toksik etki yapmadıkları belirlenmiştir. *Methanosarcina barkeri*, *Methanobacterium thermoautotrophicum* ve *Methanobacterium formicicum*'un bütirat ve propiyonata *Msp. Hungatei*'den daha dirençli oldukları, 60 gr/l üzerindeki konsantrasyonlarda uçucu yağ asitlerinin metanojenesisinde %50 inhibisyona neden olduğu görülmüştür. pH 6,5'te test edilen kültürlerin, 3 gr/l'nin çok üzerindeki amonyak azotu konsantrasyonlarına dayandıkları görülmüştür. Metanojenesisin %50 inhibisyonu için 19,8 gr/l amonyak azotu konsantrasyonu ile *Methanobacterium thermoautotrophicum*'un amonyak toksisitesine en dirençli, 4,2 gr/l amonyak azotu konsantrasyonu ile *Msp. Hungatei*'nin en duyarlı olduğu belirlenmiştir. Tüm metanojenlerin, hem bakıra (1-5 mg/l), hem de çinkoya (1-10 mg/l) çok duyarlı oldukları fakat nikel çok dirençli oldukları görülmüştür. Özellikle *Methanobacterium formicicum*'un nikel çok dirençli olduğu, metanojenesisini %50 inhibe etmek için 15 gr/l üzerinde nikel gerektiği tesbit edilmiştir. Diğer metanojenlerin, 0,25-1,2 gr/l arasında nikel duyarlı oldukları görülmüştür. Kanal çamurunda inkübe edilen *Msp. hungatei*'nin inhibisyonunu sağlamak için, tamponla karşılaştırıldığında, 30-270 kat daha yüksek çinko ve bakır konsantrasyonları gerektiği

belirlenmiştir. Bu durum, çamurun ağır metal toksisitesine karşı güçlü koruyucu bir çevre sağladığının göstergesi olarak yorumlanmıştır.

Bhattacharya ve Parkin (1989): Asetat ve propiyonat ile zenginleştirilmiş anaerobik kültürler üzerine amonyağın şok ve sürekli ilavesinin etkisi kemostatlar (1,5 litre kültür ihtiva eden 2,0 litrelik cam şişeler) kullanılarak incelenmiştir. Deneylerde, asetat ve propiyonata alıştırmış kültürler kullanılmıştır. Kemostatlar anaerobik ortamda her bir stok kültüründen aşılınmış ve 40, 25, 15 günlük çamur yaşında muhafaza edilmiştir. Sistemlere nütrient çözeltisi ve asetat/propiyonat (250 mg/l.gün) pompa ile beslenmiştir. Sülfat indirgeyen bakterileri elimine etmek için sülfat ilave edilmemiştir. Sistem kararlı hale geldikten sonra NH_4Cl , bir kerelik dozlamada doğrudan kemostatların içine, sürekli dozlamada herbir besleme şişesine ilave edilmiştir. Deney süresi boyunca $\text{NH}_3\text{-N}$, UYA, uçucu katılar ve pH ölçümleri yapılmıştır. Kemostatlarda pH 6,9-7,1 arasında değişmiştir. Şok ilavelerde, 15 günlük çamur yaşında 8000 mg/l'e kadar toplam amonyak azotu tolere edilmiş, 40 ve 25 günlük çamur yaşında sadece en fazla 7000 mg/l toplam amonyak azotu tolere edilebilmiştir. Sürekli ilavelerde, 40 günlük çamur yaşında 5000 mg/l TAN'a kadar herhangi bir etki görülmemiş, fakat 15 günlük çamur yaşında sadece 2000 mg/l TAN'u tolere edilebilmiştir. Amonyağın sürekli beslendiği sistemler, 40 günlük çamur yaşında 5gr/l TAN'dan az etkilenmiş oysa 6gr/l TAN sistemin bitmesine neden olmuştur. İyonize olmamış amonyak azotu konsantrasyonları, TAN ve pH ölçümlerinden hesaplanmıştır. Sürekli beslenen asetatla zenginleştirilmiş kültürlerde, 40 günlük çamur yaşında maksimum tolere edilebilir $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu 55 ± 11 mg/l iken, 15 günlük çamur yaşında 22 ± 4 mg/l olarak belirlenmiştir. Fakat yine asetatla zenginleştirilmiş kültürlerde amonyağın şok ilavesinde 25 günlük çamur yaşında maksimum tolere edilebilir $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu 32 ± 6 mg/l iken, 15 günlük çamur yaşında 19 ± 4 mg/l olarak belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarından,

- Asetat kullanan metanojenlerin, amonyak tarafından propiyonat kullanan metanojenlere göre daha fazla etkilendiği
- Amonyağın sürekli beslendiği sistemlerde, yüksek çamur yaşına sahip sistemlerin düşük çamur yaşına sahip sistemlere göre daha yüksek konsantrasyonlardaki amonyağı tolere edebildikleri
- Yüksek konsantrasyonlarda amonyağın sisteme bir kerede verilmesi halinde bakteriyal aktivitenin derhal durduğu
- Amonyak konsantrasyonundaki çok küçük bir artışın bile sistemin etkisiz halden tamamen çökme durumuna gelmesine neden olabildiği
- Deneysel şartlar altında, maksimum tolere edilebilir iyonize olmamış amonyak konsantrasyonunun 55 ± 11 mg/l olarak tesbit edildiği

- İyonize olmamış amonyağın toksik seviyesinin çamur yaşının kuvvetli bir fonksiyonu olduğu belirlenmiştir.

Blomgren ve diğ. (1990): Bu çalışmada, yüksek amonyum konsantrasyonlarında asetati metana dönüştüren mikrobiyal mekanizmaların belirlenmesi amaçlanmıştır. Asetat kullanan metanojenleri izole etmek için, zenginleştirme hem kesikli hem de sürekli sistemlerde gerçekleştirilmiştir. Her iki sistemde kullanılan aşı, laboratuvar ölçekli mezofilik çamur çürütücüsünden alınmıştır. Çürütücü, günlük olarak domuz gübresi ile beslenmiş, 5,5-6,0 gr- NH_4^+ -N/l ve pH 7,5'ta çalıştırılmıştır. Sürekli kültür, 1 litrelik serum şişelerine azot gazı altında 7,0 gr- NH_4^+ -N/l sağlayacak miktarda NH_4Cl , 400 ml mineral ortam, 100 ml çamur ve 5mM sodyum asetate ilavesi ile 37°C'de pH 8,0'de, kesikli kültürlerde zenginleştirmeler ise, 500 ml'lik serum şişelerine 50 ml çamur, 350 ml mineral ortam, 7,0 gr- NH_4^+ -N/l sağlayacak miktarda NH_4Cl ve 50 mM sodyum asetate ilavesi ile 37°C'de pH 8,0'de gerçekleştirilmiştir. Kontrol amaçlı serum şişesine NH_4^+ -N'u ilave edilmemiştir. Metan oluşturan bakteri popülasyonları, 9 ay gibi uzun bir inkübasyon periyodu sonrası geliştirilmiştir. Amonyum klorür ilave edilmemiş kesikli kültürlerde *Methanosarcina* baskın tür olurken, kesikli ve sürekli kültürlerin her ikisinde de 7,0 gr- NH_4^+ -N/l'de mezofilik metanojenlerden sadece asetati stikiometrik olarak CH_4 ve CO_2 'e dönüştüren ne *Methanosarcina* ne de *Methanotrix* görülmüştür. Amonyak içeren ve içermeyen kesikli ve sürekli kültürlerde asetatin tamamı stikiometrik olarak metana dönüşmesine rağmen, çalışma sonunda H_2/CO_2 'den metan oluşturma kabiliyetine sahip hidrojen kullanan metanojen olan düzensiz florasan kok ve iki farklı çubuk bulunmuştur. Kültürde yüksek amonyum konsantrasyonunda hidrojenotrofik metanojen ve asetojenin mevcudiyeti, bir ara tür olan hidrojen transferinin asetate ayrışması ile ilgili olabileceği belirtilmiştir. Bu tahmin, asetatin metan ve karbondioksit iki mekanizma yolu ile dönüştüğü göz önünde bulundurularak yapılmıştır; Asetiklastik mekanizma, asetate üzerindeki metil grubunu CH_4 'a dönüştürür, karboksil grubu CO_2 oluşumuna yol açar. *Methanosarcina* ve *Methanotrix* çoğalma için enerji gereksinimini bu reaksiyondan sağlar. İkinci mekanizma iki adımlıdır. İlk adımda asetate, H_2 ve CO_2 'e okside olur, ikinci adımda CO_2 , H_2 yolu ile CH_4 'a indirgenir. Bu bilgiler çerçevesinde muhtemelen, yüksek amonyum azotu konsantrasyonlarında asetatin, hidrojenotrofik metanojen ve asetate okside eden bakteri arasında bir sintrofik (birlikte) ilişkinin var olmasını gerektiren iki adımlı mekanizma yolu ile metana dönüştürülebildiği belirtilmiştir. Yüksek amonyum seviyelerinde, organik maddenin metana dönüşmesi için gerekli adaptasyon süresinin uzamasının nedeni, asetate kullanan metanojenlerin değişimine bağlanmıştır.

Heinrichs ve diğ. (1990): Amonyakın, asetate, propiyonat, asetate-propiyonat karışımı ve laktatin mezofilik çürütülmesi üzerine etkisi, serum şişelerinin kullanıldığı kesikli deneylerle araştırılmıştır. Deneysel çalışmada, 160 ml'lik serum şişeleri kullanılmıştır. Gaz hacmi ve

bileşimi, ÇOK, UYA, UKM, TAN, pH değerleri saptanmıştır. Aşı çamuru, 0.5 kg-KOI/m³-gün yükleme ile sodyum asetat, glukoz ve kazein ile yarı sürekli beslenen anaerobik reaktörden alınmıştır. Çamur süpernatantının toplam amonyak konsantrasyonu, 2,080 mg-N/l olarak belirlenmiştir.

5 seri serum şişesi 35°C' de inkübe edilmiştir. 1. seri: 1000 mg/l asetik asit (AA), 2. seri: 970 mg/l propiyonik asit (PA), 3. seri: propiyonik asit ve asetik asit'in %50 karışımı (760 mg/l AA ve 560 mg/l PA), 4. seri: 3. seri'ye Na₂SO₄ olarak 500 mg-S/l ilavesi, 5. seri: 1310 mg/l laktik asit ve Na₂SO₄ olarak 500 mg-S/l içerecek şekilde hazırlanmıştır. Her seriye TAN konsantrasyonu 900; 1,300; 2,700; 5,700; 10,500; 12,700 ve 15,250 mg-N/l olacak miktarda NH₄Cl eklemesi yapılmıştır. Serbest amonyak azotu, $SAN = TAN / [1 + 10^{(pKa-pH)}]$ formülünden hesaplanmıştır. pKa = sıcaklığa bağlı amonyum iyonu disosiasyon sabiti. 1.2. ve 3. serilerde pH 7,7'den 7,4'e, 4. ve 5. serilerde pH 7,7'den 7,5'e değişmiştir. Göreceli maksimum biyogaz veya metan üretimi, $A = v / V$ eşitliği kullanılarak belirlenmiştir.

Burada,

A= göreceli maksimum gaz ya da metan üretimi

v = toksik madde içeren reaktörden elde edilen maksimum gaz (metan) üretimi

V = kontrol reaktöründen (toksik madde eklenmemiş) elde edilen maksimum gaz (metan) üretimi

Göreceli gaz üretimi A'nın, toksik madde konsantrasyonu T ile ilişkisi Ek B'de açıklandığı şekilde modellenmiştir. Bu çalışmada sonuçlar, serbest amonyak azotunun tek tek organik substratların giderimi, ÇOK' un giderimi ve maksimum biyogaz ve metan üretiminde %50 azalma eşikleri üzerindeki etkileri şeklinde verilmiştir.

Çalışmanın sonunda;

- Serbest amonyak azotunun, aklima edilmiş karışık kültürlerdeki asetat kullanan mikroorganizmaları, propiyonat kullanan bakteriler ya da diğer trofik gruplara göre daha fazla etkilediği,
- Propiyonat kullanan mikroorganizmaların, hem toplam hem de serbest amonyak azotundan daha az etkilendiği,
- Serbest amonyak azotunun, ÇOK giderimi ve metan/biogaz oluşumu üzerine etkilerinin sülfat içeren şişelerde daha az şiddette olduğu, sülfatın varlığında, sülfat indirgeyen bakterilerin, SAN'nun toksisite eşik değerlerini yükselttiği, fakat SAN'nun tetikleme özelliklerini değiştirmediği,
- İnhibisyon verilerini gaz üretimine dayanarak yorumlamada kullanılan modelin biyogaz uygulamasında yetersiz olduğu, fakat metan üretimini karakterize etmekte uygun olduğu,

- Serbest amonyak azotunun, anaerobik kültürlerde diğer sık görülen toksik maddelere göre çok daha yüksek düzeylerde inhibitör olduğu belirlenmiştir

Poggi-Varaldo ve diğ. (1991): Aklime edilmemiş anaerobik mezofilik kültürler üzerine amonyağın inhibisyon etkisi kesikli deney düzeneği kullanılarak araştırılmıştır. Amonyağın inhibisyon etkisi, iyonize olmamış amonyak azotunun asetat kullanan metanojenlerin maksimum spesifik büyüme hızı ve spesifik asetat kullanım hızı kinetik parametrelerinin üzerindeki etkisine ve gecikme süresi üzerine etkisine bağlı olarak açıklanmıştır. Deneyler, 100 ml'lik cam şırıngalarda yürütülmüştür. Şırıngalara, 12 ml atıksu arıtma tesisindeki yüksek hızlı çürütücüden alınan anaerobik çamur 48 ml stok çözelti (sodyum asetat, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaHCO_3 , CuCO_3 , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ile karıştırılarak doldurulmuş, bu karışıma iz element çözeltisi ve değişik miktarlarda NH_4Cl ilave edilerek deiyonize su ile 60 ml'e tamamlanmıştır. Şırıngalar 35°C 'de su banyosunda inkübe edilmişlerdir. Deney sırasında, günlük gaz üretimi ve gaz içeriği, pH, ÇOK, AKM, UAKM, $\text{NH}_3\text{-N}$, UYA değerleri saptanmıştır. Şırıngalardaki iyonize olmamış amonyak azotu konsantrasyonu, toplam amonyak azotu konsantrasyonundan ve her şırınganın ortalama pH değerinden $\text{SAN} = \text{TAN} / (1 + 10^{(\text{pKa} - \text{pH})})$ denklemi kullanılarak ve 35°C 'de amonyağın iyonizasyon sabiti pKa 'nın 8.35'e eşit olduğu kabul edilerek hesaplanmıştır. Gaz üretimi ve spesifik asetat kullanım hızından hesaplanan asetoklastik metanojenlerin çoğalma hızı, SAN (serbest amonyak azotu) tarafından 3 aşamada inhibe olduğu gözlenmiştir; maksimum spesifik çoğalma hızının %50 azalmasına neden olan başlangıç inhibisyonu 0 ile 113 mg/l SAN aralığında meydana gelmiş, bunu 540 mg/l SAN konsantrasyonuna kadar uzanan bir plato ve 541-700 mg/l SAN konsantrasyonuna kadar orjinal maksimum spesifik çoğalma hızının yaklaşık %10'una kadar başka bir düşüş izlemiştir.

Deney sonuçlarına, Luong modeli ve un-kompetetiv inhibisyon modeli uygulanmıştır. İnhibisyon eğrisi en iyi, iki un-kompetetiv inhibisyon modeli benzeri denklemden ve bir platodan oluşan 3 aşamalı bir model (Ek D) kullanılarak modellenmiştir. Luong modeli, verilere un-kompetetiv inhibisyon modelinden daha iyi uymamıştır. SAN tarafından aşamalı inhibisyon eğrisinin görülmesi, karışık kültürde birden fazla SAN inhibisyon mekanizmasının etkili olduğunu bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. SAN'nun gecikme süresi üzerine etkisinin 3 aşamalı bir eğri gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmada 3 aşama; bir artış evresi, bunu takip eden bir plato ve sonra iyonize olmamış amonyak konsantrasyonundaki artışla birlikte gecikme süresinde hızlı bir artış olan 3. evre olarak belirlenmiştir. SAN konsantrasyonunun artması ile başlangıçta, asetat konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. Bu artışın biyolojik temeli ve kaynağı saptanamamıştır.

Angelidaki ve Ahring (1993): Bu çalışmada, laboratuvar ölçekli reaktörlere sürekli beslenen sığır gübresinin anaerobik termofilik çürütülmesi sırasında amonyağa adaptasyon

kabiliyeti ve farklı amonyak konsantrasyonları ilavesinin etkileri incelenmiştir. Amonyak tarafından inhibe olmuş ve olmamış reaktörün spesifik metanojenik aktivitesi (SMA) rapor edilmiştir. Ayrıca kesikli deneylerle termofilik asetiklastik ve hidrojenotrofik metanojenlerin üzerinde değişik amonyak konsantrasyonlarının etkisi araştırılmıştır. Sürekli beslemeli reaktörlerde substrat olarak sığır gübresi kullanılmıştır. Sığır gübresi, 1,5 gr-N/l ve 2,5 gr-N/l amonyak konsantrasyonu içeren iki kesikli deney düzeneğinden temin edilmiştir.

Sürekli deneyler, 3,0 litre çalışma hacimli 4,5 litrelik laboratuvar ölçekli reaktörlerde gerçekleştirilmiştir. Reaktörler 55°C'de 15 gün HRT'de çalıştırılmıştır. Deneyler iki seri halinde yürütülmüştür. İlk seride 4,0 ve 6,0 gr-N/l amonyağın etkisi 1,5 gr-N/l amonyak içeren kontrol reaktörünün performansı ile karşılaştırılmıştır. İkinci seride, 6,0 gr-N/l amonyak konsantrasyonunun etkisi, kademeli olarak arttırılmış amonyak konsantrasyonunun etkisi ile karşılaştırılmıştır. Azot konsantrasyonu kademeli olarak 30 gün aralıklarla 2,5; 3,0; 4,0 ve 5,0 grN/l'e arttırılmıştır. Bu deneyde elde edilen sonuçlar, 2,5 gr-N/l amonyak içeren kontrol reaktörleri ile karşılaştırılmıştır. Her iki deneyde de fazladan ilave edilen amonyak azotu konsantrasyonu NH_4Cl 'den karşılanmıştır. Kontrol reaktörleri ve 6,0 gr-N/l amonyak içeren reaktörlerin SMA değerleri karşılaştırılmıştır. Testler 58 ml hacimli serum şişelerinde yapılmıştır. Deney sırasında pH 7,9-8,0'de tutulmuştur. Substrat olarak asetat veya H_2/CO_2 (80/20) kullanılmıştır. Şişeler, %25 (hacim/hacim) reaktör muhtevası ile anaerobik şartlarda aşılansmıştır ve 55°C'de su banyosunda inkübe edilmiştir. SMA, her gram biyokütlenin (uçucu katılar) başlangıç metan üretim hızı olarak belirlenmiştir. Asetiklastik ve hidrojenotrofik metanojenik popülasyonlar üzerine amonyağın farklı konsantrasyonlarının etkisi, aşısı olarak %5 (hacim/hacim) çürütülmüş gübre kullanılarak kesikli deneylerle belirlenmiştir. Bu deneyler pH 7,2-7,3'de yapılmıştır. Substrat olarak asetat ve H_2/CO_2 kullanılmıştır. Asetat serisinde 0,26-13,0 gr-N/l, H_2/CO_2 serisinde 0,26-20,0 gr-N/l amonyak konsantrasyonu aralığında çalışılmıştır. Sürekli beslenen reaktör deneylerinde, 4,0 gr-N/l veya daha yüksek amonyak konsantrasyonlarının sığır gübresinin termofilik çürütülmesini inhibe ettiği görülmüştür. 6 ay çalıştırma sonrası, 6,0 gr-N/l'e kadar amonyak konsantrasyonlarında sığır gübresinin stabil olarak çürütülmesinin mümkün olacağı belirlenmiştir. Fakat bu durumda, 2,5 gr-N/l amonyak konsantrasyonuna sahip kontrollere göre metan üretiminin azaldığı ve uçucu yağ asitleri (asetat olarak) konsantrasyonlarının 1,0 gr/l'den 3,0 gr/l'e arttığı gözlenmiştir. Amonyak konsantrasyonunda tek kademeli artışı takiben oluşan sürekli olmayan kuvvetli inhibisyonun, kademeli bir artış uygulamakla azalacağı belirlenmiştir. 6,0 gr-N/l amonyak konsantrasyonu içeren reaktörlerde, asetiklastik ve hidrojenotrofik metanojenik popülasyonların aktivitesinin önemli miktarda azaldığı, aktivitedeki azalmanın asetiklastik popülasyonda (%73), hidrojenotrofik metanojenlerden (%52) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Asetat ve hidrojen kullanan popülasyonlar üzerine

amonyak toksisitesini belirlemek için yapılan testlerde, asetiklastik metanojenlerin hidrojenotrofik metanojenlere göre daha hassas olduğu görülmüştür. 3,5 gr-N/l amonyak konsantrasyonunda asetat kullanan metanojenlerin, 7,0 gr-N/l amonyak konsantrasyonunda hidrojen kullanan metanojenlerin spesifik çoğalma hızının yarıya indiği gözlenmiştir.

Angelidaki ve Ahring (1994): Sıcaklığın ve amonyağın birlikte etkisi, sürekli beslemeli reaktörler kullanılarak incelenmiştir. Beş adet 4,5 litrelik 3,0 litre çalışma hacimli laboratuvar ölçekli reaktörler kullanılmıştır. Tüm reaktörler uçucu katı muhtevası % 4,2 olan sığır gübresi ile beslenmiştir. İki reaktör amonyak içeriği 2,5 gr-N/l olan sığır gübresi ile, diğer iki reaktör ise, amonyak azotu konsantrasyonu NH_4Cl eklenmesi ile 6,0 gr-N/l düzeyine ayarlanmış aynı gübre ile beslenmiştir. 5. reaktör kontrol amaçlı kullanılmış ve sadece 2,5 gr-N/l amonyak içeriği olan sığır gübresi ile beslenmiştir. Kontrol amaçlı reaktör deney periyodu boyunca 55°C 'de tutulmuştur. Reaktörler, test edilen amonyak konsantrasyonlarına alışması için, 55°C 'de aynı substrat ve amonyak konsantrasyonları ile yaklaşık 1 yıl işletilen laboratuvar ölçekli reaktörlerden alınan çamur ile aşılanmıştır. Deney boyunca tüm reaktörlere 15 gün bekleme süresi uygulanmıştır. Tüm reaktörlerde, kararlı duruma erişildikten sonra, her setin bir reaktöründe sıcaklık 55, 58, 61 ve 64°C 'e arttırılmış, diğerinde 55, 51, 46 ve 40°C 'e azaltılmıştır. Deney boyunca, biyogaz üretimi ve kompozisyonu, pH, UYA konsantrasyonları izlenmiştir. Kontrol reaktöründe deney süresince biyogaz oluşumu $0,3 \text{ l-CH}_4/\text{gr-UKM}$ ile sabit kalmıştır. Deney başlangıcında, düşük amonyak yüklü reaktörlerde biyogaz oluşumu yaklaşık $0,3 \text{ l-CH}_4/\text{gr-UKM}$ iken yüksek amonyak yüklü reaktörlerde biyogaz oluşumu $0,18 \text{ l-CH}_4/\text{gr-UKM}$ olarak belirlenmiştir. Tüm reaktörlerde biyogaz kompozisyonu aynı kalmış ve hacminin yaklaşık % 60-65'ini metan oluşturmuştur. Düşük amonyak yüklü reaktörlerde, sıcaklık kademeli olarak 55°C 'den 40°C 'e düşürüldüğünde kararlı durumda reaktör performansında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Sıcaklıktaki her değişikliğin ardından biyogaz üretimi hemen 55°C 'deki reaktörle aynı düzeye ulaşmıştır. Deney boyunca UYA konsantrasyonları aynı düşük düzeyde kalmıştır. Sıcaklığın kademeli olarak 55°C 'den 64°C 'e arttırılması ile biyogaz oluşumunda azalma, UYA konsantrasyonunda artma gözlenmiştir. Yüksek amonyak yüklü reaktörlerde sıcaklığın 55°C 'den 51°C 'e düşürülmesi ile biyogaz oluşumunda bir artış gözlenmiştir. Sıcaklık 51°C 'den 46°C 'e düşürüldüğünde ise 55°C 'de amonyaktan inhibe olmamış reaktördeki biyogaz seviyesine ulaşılmıştır. Sıcaklığın 46°C 'den 40°C 'e düşürülmesi ile biyogaz oluşumunda yavaş bir azalma gözlenmiştir. Sıcaklığın düşmesi uçucu yağ asitlerinin ayrışmasında pozitif etkiye neden olmuş, asetat 40 mM 'den 15 mM 'e düşmüş, propiyonat başlangıçta 25 mM 'den 50 mM 'e artmışken son olarak 10 mM 'e düşmüştür. Daha yüksek karbonlu uçucu yağ asitleri sıcaklık düşüşünden etkilenmemiştir. Yüksek amonyak konsantrasyonlu reaktörlerde sıcaklığın her artışı sonrası biyogaz

retiminde azalma gözlenmiş, yüksek sıcaklıklarda uzun adaptasyon süresi tanınsada, işlemin tamamen eski haline dönmesi mümkün olmamıştır. Düşük amonyak konsantrasyonlu reaktörlerde pH 7,7-8,2 arasında değişirken, yüksek amonyak konsantrasyonlu reaktörlerde ise pH 7,4-7,9 arasında değişmiştir. Ayrıca kararlı hal sıcaklık ve pH değerine bağlı olarak hesaplanmış serbest amonyak konsantrasyonuna göre UYA, 0,7 gr/l serbest amonyak azotundan daha yüksek serbest amonyak konsantrasyonlarında hızla artmış, biyogaz oluşumu azalmıştır. Düşük amonyak konsantrasyonu içeren reaktörlerde, 40-55°C sıcaklık aralığından biyogaz oluşumu ve benzer şekilde UYA konsantrasyonları etkilenmemiş, biyogaz oluşumunun artması, çıkış suyunda UYA konsantrasyonlarının düşmesi ile belirlenen daha iyi bir proses stabilitesinin sağlanmasıya neden olmuştur. Düşük ve yüksek amonyak konsantrasyonu içeren reaktörlerin her ikisinde de sıcaklığın 55°C'den 64°C'e çıkarılması ile biyogaz oluşumunda azalma gözlenmiştir. Yüksek amonyak konsantrasyonlu reaktörlerde sıcaklığın 55°C'nin altına düşmesi, biyogaz oluşumunda yükselmenin yanısıra, UYA konsantrasyonlarında bir azalma ile amonyağın neden olduğu inhibisyonun bertaraf olmasına neden olmuştur. Düşük ve yüksek konsantrasyonda amonyakla yüklü reaktörlerde sıcaklığın etkisi, serbest amonyağın, amonyaktaki toksik bileşik olduğu kabul edilerek açıklanmıştır. Reaktörlerdeki toplam UYA konsantrasyonu serbest amonyak konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çizildiğinde, yüksek serbest amonyak konsantrasyonları ile, yüksek UYA konsantrasyonları arasında iyi bir korelasyon grlmştir. Serbest amonyağın, biyogaz oluşumuna karşı çizimi de benzer bir inhibisyon düzeyi göstermiştir. Yapılan deneylerden, 2,5 gr-N/l amonyak yüklerinde 55°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ve 6,0 gr-N/l amonyak yüklerinde 45°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda reaktör performansının azaldığı grlmştir.

Bu koşullar, daha önce bildirilen inhibisyon düzeylerinden daha yüksek olan 0,6-0,8 gr-N/l serbest amonyak konsantrasyonuna karşılık gelmektedir. Bunun nedeni, deneylerde kullanılan aşının uzun süre aklime edilmesine ve bekleme süresinin uzunluğuna bağlanmıştır.

Bu araştırma sonunda;

- Serbest amonyak inhibisyon limitinin, çamur yaşı ve kullanılan aşının amonyağa alıştırılmasına bağlı olduğu,
- Proses sıcaklığındaki değişimin, hem bakteriyal büyüme hızında değişmeye neden olduğu ve hem de amonyak inhibisyonunda etkili olduğu,
- Proses sıcaklığını düşürmenin, anaerobik reaktörlerde amonyak inhibisyonunun üstesinden gelebilmek için iyi bir seçenek olabileceği açıkça gösterilmiştir.

Kayhanian (1994): Çalışmada, anaerobik kompost reaktöründe evsel katı atıkların biyolojik olarak ayrışabilen organik fraksiyonunun çürütülmesinde, amonyak konsantrasyonunun

çalışma ve inhibitör sınırlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam amonyak azotunun değişik konsantrasyonlarının plot ölçekli anaerobik kompost reaktörü performansına etkisi araştırılmıştır. Deneyler, 2,54 m³ hacimli plot ölçekli anaerobik kompost reaktöründe gerçekleştirilmiştir. Reaktör, termofilik (54 – 60°C) ve tam karışımli olarak dizayn edilmiştir. Çalışmada kullanılan substrat, evsel katı atığın biyolojik olarak ayrışabilen kısmının benzeri olacak şekilde kağıt, besin atığı ve çiftlik atığının karıştırılmasından meydana gelmiştir. Substratın C/N oranı, biyolojik olarak ayrışabilen karbon ve toplam azot konsantrasyonlarına bağlı olarak hesaplanmıştır. Organik substratlar, biyolojik olarak ayrışabilen uçucu katılara (BVS) bağlı bir yükleme hızında beslenmiştir ve gr BVS/kg aktif reaktör kütlesi olarak ifade edilmiştir. Değişik TAN konsantrasyonlarında anaerobik kompost reaktörlerin performansını belirlemek için iki ayrı deney yapılmıştır. İlk deneyde, anaerobik kompost reaktör, organik yükleme hızı 6,5 gr BVS/kg aktif reaktör kütlesi ve substrat C/N=25'te sabit tutularak 30, 20 ve 15 günlük çamur yaşlarında çalıştırılmıştır. İkinci deneyde, amonyak konsantrasyonu anaerobik kompost reaktörde amonyak konsantrasyonunun en üst limitini saptamak için kademeli olarak arttırılmıştır. Proses performansı, gaz üretimine ve performans indeksine bağlı olarak belirlenmiştir.

$$PI = (A / B) \times 100$$

Burada,

PI = performans indeksi

A = belirlenen bir TAN konsantrasyonunda metan üretim hızı

B = optimum (750 mg/l) TAN konsantrasyonunda belirlenmiş maksimum metan üretim hızı

Çalışma sonunda,

- 1000 mg/l veya daha yüksek amonyak konsantrasyonlarının, anaerobik kompost reaktörün performansını düşürdüğü ve metan gaz üretimini azalttığı,
- Plot ölçekli anaerobik kompost reaktörlerin, 600 ile 800 mg/l arasındaki amonyak konsantrasyonlarında işletildiklerinde en iyi performansı gösterdikleri,
- Yaklaşık 2500 mg/l amonyak konsantrasyonlarında, prosesin başarısızlıkla sonuçlandığı belirlenmiştir.
- Anaerobik kompost reaktörlerinde amonyak inhibisyonu ile ilgili problemlere çözüm getirmesi açısından, 1- Sıvı fazdaki amonyak konsantrasyonunu azaltmak için çürütücü muhtevasını seyreltmek, 2 - Organik atığın C/N oranını ayarlamak, 3 - amonyak absorpsiyonu önerilmiştir.

Borja ve diğ. (1996): Bu çalışmada, sığır gübresinin UASB (yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı) reaktörlerinde anaerobik termofilik çürütülmesi sırasında amonyaka adaptasyon kabiliyeti ve farklı amonyak konsantrasyonlarının ilavesinin etkileri araştırılmıştır. Amonyak tarafından inhibe olmuş ve olmamış reaktörün spesifik metanojenik aktivitesi (SMA) rapor

edilmiştir. Ayrıca, kesikli deneylerle termofilik asetat kullanan ve hidrojen kullanan metanojenler üzerinde değişik amonyak konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. İki kontrol reaktörü kullanılmıştır. Kontrol reaktörlerinden birine 2 gr/l amonyak azotu konsantrasyonu (pH 7,6 ve 7,9 gr-UYA/l), diğerine 3 gr/l amonyak azotu (pH 7,8 ve 8,2 gr-UYA/l) uygulanmıştır. Deneyler 3 litre çalışma hacimli 4 litrelik UASB reaktörlerinde gerçekleştirilmiştir. Reaktörler 55°C'de ve 15 günlük HRT (hidrolik bekletme süresi) de çalıştırılmıştır. Reaktörler, kuru ağırlık bazında % 68,3'ü uçucu katı ve % 4,9'ü toplam katı olan 750 ml çürütülmüş çamur ile aşılanmıştır. Reaktörlerde iki seri deney yapılmıştır. İlk yapılan deneyde, 5 ve 7 gr-N/l amonyak ilavesinin etkisi, 2 gr-N/l amonyak konsantrasyonu içeren kontrol reaktörünün performansı ile ikinci deneyde, 7 gr-N/l amonyak konsantrasyonunun etkisi, amonyağın kademeli artan konsantrasyonun etkisi ile karşılaştırılmıştır. Azot konsantrasyonu, 30 günlük aralıklarla 3, 4, 5 ve 6 gr-N/l olarak artırılmıştır. Bu deneylerden elde edilen sonuçlar, 3 gr-N/l amonyak içeren kontrol reaktöründen elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. 7 gr-N/l amonyak içeren reaktörlerin SMA değerleri kontrol reaktörlerinin SMA değerleri ile karşılaştırılmıştır. SMA deneyleri 60 ml'lik serum şişeleri kullanılarak yapılmıştır. Substrat olarak asetat veya 200 Pa (80/20) H₂/CO₂ kullanılmıştır ve metan üretimi substrat ilave edilmeyen şişelerdeki metan üretimi ile karşılaştırılmıştır. Serum şişeleri, 0,5 gr-N/l amonyak içeren seyreltilmiş sığır gübresini arıtan laboratuvar ölçekli CSTR (tam karışımli reaktör) den alınan çürütülmüş çamur ile anaerobik ortamda aşılanmış ve 55°C'de inkübe edilmiştir. SMA, her gram biyokütlenin (uçucu katılar, UK) metan üretim hızı olarak belirtilmiştir. Asetat kullanan ve hidrojen kullanan metanojenik popülasyonlar üzerine amonyağın farklı konsantrasyonlarının etkisi, başlangıçta 0,25 gr-N/l amonyak ihtiva eden ortama %5 (hacim/hacim) çürütülmüş gübre verilerek kesikli deneylerle belirlenmiştir. Bu deneylerde pH değeri, bu bakteriyel gruplar için optimum pH'ın 7,2 olduğu düşünülerek ayarlanmıştır. Substrat olarak 30 mM asetat veya 200 Pa H₂/CO₂ (80:20) uygulanmıştır. 0,3-13 gr-N/l amonyak konsantrasyonu asetat serilerinde, 0,3-20 gr-N/l amonyak konsantrasyonu H₂/CO₂ serilerinde uygulanmıştır. Yapılan deneylerin sonucunda;

- 5 gr-N/l veya daha fazla amonyak azotu konsantrasyonlarında, UASB reaktörlerinde sığır gübresinin termofilik anaerobik çürümesinin inhibe olduğu,
- Sığır gübresinin kararlı olarak çürütülmesinin, 7 gr/l'e kadar amonyak azotu konsantrasyonlarında 6 aylık bir çalışma sonrası mümkün olduğu, fakat metan oluşumunun azaldığı ve uçucu yağ asitlerinin konsantrasyonunun arttığı,
- Amonyak konsantrasyonundaki tek kademeli bir artışı takiben oluşan geçici kuvvetli inhibisyonun kademeli bir artış uygulanarak azaltılabileceği,

- 7 gr/l amonyak azotu konsantrasyonunda inhibe olan reaktörlerin spesifik metanojenik aktivitesinin, substrat olarak asetat kullanıldığında %72, H₂ kullanıldığında %56 oranında düştüğü,
- Asetat kullanan metanojenlerin, hidrojen kullanan metanojenlere göre daha hassas olduğu, asetat kullanan metanojenlerin spesifik çoğalma hızının 4 gr-N/l amonyak konsantrasyonunda yarıya inerken, hidrojen kullanan metanojenlerin spesifik çoğalma hızının 7,5 gr-N/l amonyak konsantrasyonunda yarıya indiği belirtilmiştir.

Gallert ve Winter (1997): Bu çalışmada, laboratuvar ölçekli reaktörlerde evsel atıkların yaş organik fraksiyonunun fermentasyonu, mezofilik ve termofilik şartlar altında karşılaştırılmış, organik azotun amonyağa dönüşen konsantrasyonu ve amonyak tarafından karbon gideriminin inhibisyonu incelenmiştir. Evsel atıkların yaş organik fraksiyonu anaerobik şartlarda 37°C ve 55°C'de çürütülmüştür. Mezofilik ve termofilik reaktörün çıkış suyu santrifüj edilerek, katı atık partiküllerinin %80'i askıdaki biyokütleden ayrılmıştır. Askıdaki bakteri ve küçük partiküllü çamur floklarını ihtiva eden supernatant fraksiyonunun çoğunlukla *Methanosarcina sp.* içerdiği mikroskopik çalışmada belirlenmiştir. Askıdaki bakteri ve küçük partiküllü çamur floklarını ihtiva eden supernatant, anaerobik fermentasyon esnasında metanojenik aktivite ve glukoz fermentasyonu üzerinde amonyağın etkisini test etmek için aşı olarak kullanılmıştır. Kesikli deneyler toplam hacmi 120 ml olan serum şişelerinde gerçekleştirilmiştir. Şişelere 45 ml potasyum fosfat tamponu, 4,5 mM glukoz ve 5 ml aşı ve amonyak inhibisyonunu belirlemek için 0-35 gr/l NH₄Cl ilave edilmiştir. Metan üretimi ve glikoz fermentasyonu inhibisyon çalışmaları sonunda, pH 7,6'da 37°C'de, glikoz fermentasyonu için %50 inhibisyona neden olan amonyak azotu 3,7 gr/l (=0,28 gr-NH₃-N) ve 55°C'de 3,4 gr/l (= 0,68 gr-NH₃-N) olarak belirlenmiştir. Metan üretimi için %50 inhibisyon glikoz ayrışmasında belirlenen değerlere yakın bulunmuştur. Mezofilik reaktörde, %50 inhibisyon, 3,0 gr/l amonyak azotu (= 0,22 gr/l NH₃-N) ve termofilik reaktörde, 3,5 gr amonyak azotu (= 0,69 gr/l NH₃-N) olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlardan termofilik floranın mezofilik floradan en az iki kere daha çok serbest amonyağı tolere edebildikleri, ayrıca termofilik floranın daha fazla proteini ayrıştırabildikleri çıkarılmıştır. Mezofilik ve termofilik reaktörlerde belirlenen amonyak konsantrasyonlarının, her iki prosesin metan üretimi ve glikoz fermentasyonunu inhibe edemeyecek kadar düşük fakat, protein ayrışmasını inhibe edecek yeterlilikte olabildiği belirtilmiştir. Mezofilik ve termofilik protein ayrıştırıcılarının serbest amonyağa karşı farklı hassasiyet gösterdikleri, mezofilik popülasyonların daha fazla ayrışmamış proteinin sistemde kalmasına izin verdikleri belirtilmiştir.

Krylova ve diğ. (1997): Bu çalışmada, kümes hayvanları gübresinin anaerobik çürütülmesi sırasında azot bileşenleri oluşumundaki değişimleri saptamak, metanojenlerin mikrobiyal kompozisyonu üzerine aşırı amonyak azotu konsantrasyonunun etkisini incelemek, tabii

minerallerin ilavesiyle amonyak azotu inhibisyonunun azalma veya önlenmesini belirlemek ve amonyak inhibisyonunu gideren metodları bulmak amaçlanmıştır. Metanojenlerin çoğaltılması, doğal kümes hayvanları gübresi ve sentetik ortam üzerinden yapılmıştır. Deneyler, serum şişelerinde değiştirilmiş Hungate tekniği kullanılarak yapılmıştır. Karbon kaynağı olarak sodyum asetat ve indirgeyici olarak sodyum sülfür, aşı olarak fosfatla tamponlanmış bazal ortamda çoğalan mikroorganizmalar kullanılmıştır. Serum şişeleri 30-35 gün 37°C ve 55°C'de inkübe edilmiştir. Metanojenik ortamın kompozisyonu ve aktivitesi üzerine amonyum azotunun etkisini belirlemek için, kümes hayvanları gübresi ve sentetik ortama aşırı NH_4Cl ilavesi yapılmıştır. Biyogaz ve metan üretimi günlük olarak izlenmiş, oluşan biyogaz hacmi doygun NaCl çözeltisi ile yer değiştirmek suretiyle saptanmıştır. Tabii minerallerin ilavesiyle amonyak inhibisyonunun azalma veya önlenmesini belirlemek amacıyla yapılan deneylerde, fermentasyon ortamına, %1-20 (ağırlık/hacim) toz mineral cevheri ilave edilmiştir. Kümes hayvanları gübresinin anaerobik artırımında farklı besinsel grupların sayısını belirlemek için en muhtemel sayı tekniği (MPN) kullanılmıştır.

Yapılan çalışmaların sonucunda;

- Metan ve biyogaz üretiminin 2-10 gr/l (0,5-2,6 gr- NH_4^+ -N/l) aralığında değişen NH_4Cl konsantrasyonlarından etkilenmediği,
- Amonyum klorürün daha yüksek konsantrasyonlarında, 10-30 gr/l (2-8 gr- NH_4^+ -N/l) aralığında biyogazda %50-60 ve metanda %80-90 oranında önemli miktarda azalma olduğu,
- Amonyum klorürün 30 gr/l (7.8 gr- NH_4^+ -N/l)'den daha yüksek konsantrasyonları fermentasyon ortamına ilave edildiğinde (özellikle proteolitik ve metanojenik) tüm grupların bakteri sayısında önemli bir azalma gözlemlendiği,
- Toz mineral cevherinin %10 (ağırlık/hacim) ilavesi ile, 30 gr/l NH_4Cl konsantrasyonlarında metan ve biyogaz üretiminin arttığı ve aynı zamanda metanojenik ortamın kompozisyonunun değiştiği,
- Sülfat indirgeyicilerin yoğunluğundaki azalma ile bağlantılı olarak proteolitik ve metanojenik bakteri sayısında kısmi bir iyileşme gözlemlendiği,
- 50 gr/l'den daha yüksek konsantrasyonlarda NH_4Cl 'ün metan üretim fazının geri dönüşümü olmayan inhibisyonunun nedeni olarak görüldüğü ve toz mineral cevherin ilavesi ile giderilemediği belirtilmiştir.

Hansen ve diğ. (1998): 6 gr-N/l amonyak içeriği olan domuz gübresinin, 4 farklı sıcaklıkta (37- 45 – 55 ve 60 °C) anaerobik çürütülmesi sırasında amonyağın inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Üç kesikli deney yapılmıştır. İlk deneyde, domuz ve sığır gübresinin çeşitli oranlardaki karışımının ayrışması 58 ml'lik serum şişelerinde test edilmiştir. Serum şişelerine, amonyak konsantrasyonu 3 gr-N/l olan sığır gübresi ile 55°C'de 15 günlük

HRT’de çalıştırılan laboratuvar ölçekli reaktörden alınan aşı ilave edilmiştir. Ek olarak farklı karışımlarda (100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100) taze sığır ve domuz gübresi eklenmiştir. İkinci deneyde, domuz gübresinin 6 farklı amonyak konsantrasyonunda (3,1; 4,1; 5,1; 6,1; 7,1 ve 8,1 gr-N/l) ayrıştırılması test edilmiştir. Testler, 118 ml serum şişelerinde, taze domuz gübresi ve amonyak konsantrasyonu 6 gr-N/l olan domuz gübresi ile 55°C’de 15 günlük HRT’de çalıştırılan laboratuvar ölçekli reaktörden alınan aşı ile yapılmıştır. Amonyak konsantrasyonu, NH₄Cl eklenerek kontrol edilmiştir. nc deneyde, domuz gübresinin termofilik çürütülmesi sırasında, H₂/CO₂ (80:20) tarafından metan üretim fazı, 3 farklı amonyak konsantrasyonunda (3,3; 4,8 ve 5,8 gr-N/l) incelenmiştir. Deneyler 118 ml’lik serum şişelerinde , deney ikide belirtilen aynı ölçekli reaktörden alınan aşı ile yürütülmüş, NH₄Cl eklenerek amonyak konsantrasyonu arttırılmıştır. Serum şişeleri 55°C’de inkübe edilmiştir. Metan konsantrasyonu her gün bir kere llmştir.

Sıcaklığın domuz gübresinin çürütülmesine etkisi, 3 litre kullanım hacimli 4 adet 4,5 litrelik biyogaz reaktöründe test edilmiştir. Tüm reaktörlerde domuz gübresi tek substrat olarak kullanılmıştır. Dört reaktör, 37, 45, 55 ve 60 C’de çalıştırılmıştır. Metan retimi her gün, pH, UYA ve amonyak konsantrasyonu haftada 3-4 kere llmştir. Uçucu katılar, lipid, protein ve karbonhidrat değeri belirlenmiştir. Serbest amonyak konsantrasyonu, (NH₃)/(TNH₃) = (1+ 10^{-pH} /10^{-(0.09018+2729.92/T(K))})-¹ eşitliğinden hesaplanmıştır. Metan retim hızı, metanojenlerin büyümesi ile orantılı olduğu ve hiç gecikme fazı olmadığı kabul edilerek, ln(p₀+p) = μ x t + ln (p₀) (Powell, 1983) belirlenmiştir. Bu formülde, p = ölçülen metan üretimi, p₀ = aşının metan üretimi, μ = göreceli spesifik çoğalma hızı, t = geçen süredir. Her deneyde göreceli spesifik çoğalma hızları, 1,1 gr-N/l serbest amonyak konsantrasyonunda göreceli spesifik çoğalma hızı (μ_{ref}) ile bağlantılı olarak normalize edilmiştir. Göreceli μ’ler μ_r olarak (μ_r = μ/μ_{ref}) tayin edilmiştir. Amonyak konsantrasyonu, domuz gübresinde 5,3 gr-N/l, sığır gübresinde 3,3 gr-N/l bulunmuştur. Domuz gübresinin lipid içeriği, sığır gübresinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna rağmen her iki gübrenin karbonhidrat ve protein içeriği birbirine yakın bulunmuştur. Toplam UYA içeriği, domuz ve sığır gübresi için sırasıyla asetat olarak 11060 ve 8860 mg/l, potansiyel metan üretimi 300 ml-CH₄/gr-UKM olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, 6 gr-N/l amonyak konsantrasyonu içeren domuz gübresinin, 4 farklı sıcaklıkta (37, 45, 55 ve 60C) stabil olarak çürütülmesinin mümkün olduğu fakat metan üretim potansiyellerinin (188,141, 67, ve 22 ml-CH₄/gr-UKM) kullanılan domuz gübresinin potansiyel metan üretiminden (300 ml-CH₄/gr-UKM) anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. pH 8,0’de 1,1 gr-N/l ya da daha fazla serbest amonyak konsantrasyonunun kesikli kültürlerde inhibisyona neden olduğu, daha yüksek serbest amonyak konsantrasyonlarında spesifik çoğalma hızlarında azalma olduğu grlmştir. Domuz ve sığır gübrelerinin çeşitli karışımlarıyla yapılan kesikli

deneylerde, domuz-sığır gübresi oranı, yaklaşık 1,1 gr-N/l serbest amonyak konsantrasyonuna karşılık gelen 25:75 (sığır gübresi:domuz gübresi) oranından yüksek olduğunda biyogaz üretiminin inhibe olduğu görülmüştür. Biyogaz prosesinin inhibisyonu ve bu nedenle metan üretiminde bir azalma, 4 evreli bir yol izlemiştir: 1,1 gr-N/l serbest amonyak eşiğinin altında kalan konsantrasyonlarda işlem inhibe olmamış, bu konsantrasyonun üzerinde, önce başlangıç inhibisyonundan oluşan bir faz, sonra bir plato ve daha sonra göreceli spesifik çoğalma hızının artan serbest amonyak konsantrasyonlarıyla azaldığı bir inhibisyon evresi oluşturduğu görülmüştür. Asetat kullanan metanojenlerin, yüksek amonyak içerikli domuz gübresinin anaerobik çürütülmesinde hız kısıtlayıcı olduğu kabulü yapılmıştır.

Lay ve diğ. (1998b): Katı içeriği yüksek çamur çürütme prosesinde, pH ve amonyum azotunun metan üretimi üzerine etkisi, çamur kekiyle beslenmiş mezofilik kesikli çürütücü kullanılarak araştırılmıştır. Gompertz denkleminde elde edilen matematiksel bir model kullanılarak ve deneysel verilere dayanarak, farklı amonyum azotu ve pH düzeylerinde metanojenik aktivite ve gecikme süresi değerlendirilmiştir. Ayrıca, amonyak azotu ve serbest amonyağın metan üretimi üzerine etkisi, amonyağa aklime edilmiş ve edilmemiş bakteriyel sistemler için kantitatif olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan aşı çamuru, $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 20 gün HRT'de 10 litrelik laboratuvar çürütücüsünden alınmıştır. Kesikli deneyler, 120 ml'lik serum şişelerinde yürütülmüştür. Farklı pH ve amonyum azotu konsantrasyonlarına sahip toplam 60 serum şişesi eş zamanlı olarak işletilmiştir. Biyogaz üretimi, 5-50 ml'lik şiringalar kullanılarak saptanmıştır. Nem içeriğini %96'a ve amonyum azotu konsantrasyonunu 100 - 6000 mg/l'e ayarlamak için, her çürütücüye aynı aşı çamurundan 40 gr, uygun bir miktarda çamur keki ve NH_4Cl eklenmiştir. Serum şişeleri oksijen içermeyen distile su ile 80 ml'e tamamlanmıştır. 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 ve 9,0 pH değerlerinde ve her pH değeri için 100, 200, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000 ve 6000 mg/l $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 'da çalışmıştır. pH ve amonyak konsantrasyonlarının metan üretimine etkisini değerlendirmek için üç eşitlik (Ek B) kullanılmıştır. Kesikli deneyde eklenik metan üretim eğrisini açıklamak için bakteriyel çoğalma ve metabolik üretim arasındaki ilişkiye dayandırılarak geliştirilen değiştirilmiş Gompertz eşitliği kullanılmıştır. Spesifik bir amonyum azotu konsantrasyonunda, pH'ın metanojenik aktivite üzerindeki etkisi modifiye edilmiş Haldane eşitliği kullanılarak matematiksel olarak belirlenmiştir. Spesifik bir pH durumunda metanojenik aktivite üzerinde amonyum ve serbest amonyağın etkilerini saptamak için, Han ve Levenspiel (1988) tarafından bakteriyel aktivite üzerine inhibitör konsantrasyonunun etkisini belirlemek için geliştirilen matematiksel model kullanılmıştır. Çürütücülerdeki toplam amonyak azotunun serbest amonyak fraksiyonu, $F_{\text{NH}_3} = [1 + 10^{(\text{pK}_w - \text{pK}_b - \text{pH})}]^{-1}$

formülünden hesaplanmıştır. K_w = suyun çözünürlük sabiti, K_b = amonyanın iyonizasyon sabitidir. 37°C'de pK_w 13,6 ve pK_b 4,73 olarak alınmıştır.

Bu çalışmanın sonunda;

- İyi aklime edilmiş bir sistemin metanojenik aktivitesini etkilemede amonyum azotu konsantrasyonunun serbest amonyaktan çok daha anlamlı bir faktör olduğu,
- Metanojenik aktivitenin, 6,5 - 8,5 pH aralığında amonyum azotundaki artışla azaldığı, 1670 - 3720 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda %10, 4090 - 5550 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda %50 azaldığı, 5880 - 6000 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda 0'a düştüğü,
- Kesikli deneyde, gecikme fazı süresinin amonyuma değil serbest amonyak düzeyine bağlı olduğu ve serbest amonyak konsantrasyonunun 500 mg/l'den fazla olması halinde bir şok yükleme etkisi gözlemlendiği,
- Amonyum azotu konsantrasyonu 100'den 6000 mg/l'e yükseldiğinde, çamurun maksimum metana dönüşme kapasitesinin 28,0'den 0.9 ml-CH₄/gr-UKM.gün'e değiştiği belirlenmiştir.

Aspé ve diğ. (2001): Bu çalışmada, tuz ve protein içeriği yüksek balık işleme proses atıksuyunun, 37°C'de anaerobik filtrelerde arıtımı sırasında, organik madde tüketim hızı üzerine serbest amonyanın inhibitör etkisini belirlemek ve en düşük hız adımına göre reaktör dizaynını yapabilmek için serbest amonyak tarafından en çok etkilenen anaerobik adımları (hidroliz veya metan üretim fazı) saptamak amaçlanmıştır.

İki özdeş reaktör, farklı amonyak konsantrasyonları veya farklı organik yüklerde metanojenik aktiviteyi değerlendirmek için kullanılmıştır. Aşı, deniz sedimentinden sağlanmıştır. Reaktör sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur. Filtreler, bu çalışma öncesi pH 8,0'de yaklaşık 6 ay ortalama 1000 mg-TAN/l toplam amonyak azotu konsantrasyonunda çalıştırılmıştır. Her iki reaktörde benzer HRT de çalıştırılmış ve aşağıda belirtilen kompozisyon aralığındaki balık işleme proses atıksuyu ile beslenmiştir. KOİ: 2294-4959 mg/l; TOK: 1050-2294 mg/l; Toplam Azot: 540-700 mg/l; TAN: 90-400 mg/l (NH₄⁺ olarak); SO₄⁻²: 1975-2400 mg/l; S: 2140-2770 mg/l; Fosfat: 6,7-14,2 mg/l; Sodyum klorür olarak tuzluluk: 24,700-40,700 mg/l; pH 4,5 – 5,9. İlk reaktöre, proses atık suyunda var olan başlangıç amonyak konsantrasyonundan daha yüksek amonyak konsantrasyonları tarafından oluşturulacak inhibisyonu incelemek için 864, 1296, 2557, 5478 ve 8100 mg-TAN/l konsantrasyonlarını sağlayacak miktarda NH₄Cl ilave edilmiştir ve HRT, artan azot yükleme hızlarının üstesinden gelebilmek için değiştirilmiştir. İkinci reaktörün performansı, HRT'nin değiştirilmesi ile elde edilen (0,46; 0,61; 1,24; 1,45 ve 2,06 gr-TOK/l) artan organik yüklerde saptanmıştır. Hız sınırlayıcı adımı belirlemek için metanojenik aktivite deneyleri yapılmıştır. Balık işleme proses atıksuyu ilk önce hidroliz edilip daha sonra metan üretimi öncesi

bakteriyal popülasyon tarafından uçucu yağ asitlerine fermente edileceğinden, balık işleme proses atıksularının ve aynı TOK içerikli uçucu yağ asitlerinden meydana getirilen sentetik substratın oluşturacağı metan üretim hızlarının mukayesesi ve farklı amonyak konsantrasyonları, serbest amonyak tarafından oluşturulan inhibisyona en hassas adımı belirlemek için kullanılmıştır. Metanojenik aktivite deneyleri, herbiri 100 ml kullanma hacmine sahip 10 kesikli reaktörde yapılmıştır. Aynı TOK konsantrasyonunu içeren iki substrat kullanılmıştır; balık işleme proses atıksuyu ve UYA'leri (asetik asit, propionik asit ve bütirik asit 4:1:1 oranındaki karışımı) çözeltisi. pH 8,0-8,2'e ayarlanmıştır. Aşı, 6 aydan daha uzun süre balık işleme proses atık suyu ile haftada iki kez beslenen 37°C'deki yarı sürekli reaktörden alınmıştır. Bu reaktörlerin herbirinde substrat aşı ile karıştırılmış ve metan üretimi kireç çözeltisi ile yer değiştirme yoluyla ölçülmüştür. Reaktörler, 37°C'deki su banyosunda muhafaza edilmiş ve NH₄Cl pH 8,0-8,2'de farklı başlangıç konsantrasyonlarını oluşturmak için (41 ile 819 mg-NH₃-N/l) ilave edilmiştir. Filtre reaktörlerinde serbest amonyak inhibisyon modeli olarak Luong ve non-kompetetiv modeller kullanılmıştır (Ek B). Luong modelinde, substrat tüketim hızının %50 inhibisyonuna neden olan amonyak azotu konsantrasyonu 147 mg-NH₃-N/l, non-kompetetiv modelde ise substrat tüketim hızının %50 inhibisyonuna neden olan amonyak azotu konsantrasyonu 325 mg-NH₃-N/l olarak belirlenmiştir. Bu belirlenen inhibisyon eşik değerlerinin yüksek olmasının nedeni, inhibisyon çalışması öncesi, anaerobik filtrelerde biyokütlenin ortalama 80 mg-NH₃-N/l amonyak konsantrasyonuna adaptasyonuna bağlanmıştır. Luong modeli, balık işleyen proses atık sularının anaerobik çürütülmesi sırasında amonyak inhibisyonunun maksimum verimin %65,1'ni, non-kompetetiv model ise maksimum verimin %58,6'nı inhibe edeceğini göstermiştir. Çürütme fazları üzerine amonyanın etkisi, substrat olarak uçucu yağ asitleri ile balık işleyen proses atık sularının metanojenik aktiviteleri karşılaştırılmak suretiyle saptanmıştır. Kesikli reaktörlerdeki askıda biyokütlenin metanojenik aktivitesi üzerine NH₃'ın inhibisyon etkisini belirlemek için Luong ve non-kompetetiv modeller (Ek B) kullanılmıştır. Non-kompetetiv model, balık işleyen tesis çıkış suyu için 196,6 mg-NH₃-N/l amonyak azotu konsantrasyonunda metan üretim hızının %50 inhibisyona uğrayacağını, uçucu yağ asitleri için ise 188,6 mg-NH₃-N/l amonyak konsantrasyonunda metan üretim hızının %50 inhibe olacağını göstermiştir. Her iki substrat için benzer sonuçlar elde edilmesi, amonyak tarafından en çok etkilenen fazın metanojenik faz olduğunu kanıtlamıştır.

Sterling ve diğ. (2001): Bu çalışmada, amonyanın şok yüklenmesi ile çürütücüde meydana gelebilecek kararsızlığı, hidrojen gazının izlenmesiyle kontrol edebilmenin uygulanabilirliği araştırılmıştır. Ayrıca, çürütücüye ilave edilen amonyak azotunun, hidrojen üretimi, metan üretimi ve uçucu katıların giderimi üzerine etkileri belirlenmiştir. Deneyler 35±1°C'de gerçekleştirilmiştir. Dokuz adet çürütücü, sığır gübresi ile sürekli

çalıştırılan anaerobik reaktörden alınan çamur ile aşılanmış, 10 gün HRT ve 0,5 kg-UKM/m³.gün organik yükleme hızında çalıştırılmıştır. Çürütücüler kararlı hale geldikten sonra, aşırı amonyak yüklemeli deneyleri gerçekleştirmek için kesikli moda geçilmiştir. Çürütücülere, farklı amonyak azotu konsantrasyonlarını sağlamak için üre ilavesi yapılmıştır. 1., 4., 9. reaktörlere kontrol reaktörü olarak sadece sığır gübresi, 2. ve 6. reaktörlere sığır gübresi + 600 mg-N/l, 5. ve 7. reaktörlere sığır gübresi + 1500 mg-N/l, 3. ve 8. reaktörlere sığır gübresi + 3000 mg-N/l içerecek miktarda üre ilave edilmiştir. Çıkış suyu numuneleri, t=0 anında ve üre ilavesi sonrası 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde alınmıştır. Gaz hacimleri günlük ölçülmüştür. Gaz numunelerinde metan, karbondioksit ve azot bileşimi belirlenmiştir. Hidrojen konsantrasyonları, kalay oksit sensörlerle sürekli olarak ölçülmüştür. Serbest amonyak azotu konsantrasyonları, $[NH_3] = 1.13 \cdot 10^{-9} \times [T-NH_3] / [H^+]$ eşitliğinden hesaplanmıştır. Bu eşitlikte, $[NH_3]$ = iyonize olmamış amonyak konsantrasyonu (mg/l), $[T-NH_3]$ = toplam amonyak konsantrasyonu (mg/l), $[H^+]$ = hidrojen iyonu konsantrasyonu (mol/l) belirtmektedir.

Bu çalışma sonunda,

- Çürütücülere beslenen amonyak azotu miktarının H₂ üretimi, metan üretimi ve uçucu katıların giderimi üzerinde etkili olduğu,
- Amonyak azotu konsantrasyonundaki küçük artışların, H₂ ve metan üretiminde artışa neden olduğu, daha büyük artışların ise H₂ ve metan üretiminde inhibisyona neden olduğu,
- Toplam biyogaz üretiminin amonyağın küçük artışlarından etkilenmediği fakat büyük artışların biyogaz üretimini orjinal değerinin %50'si kadar düşürdüğü,
- Üre ilavesinin, pH ve alkaliniteye anlık artışlara neden olurken serbest amonyak konsantrasyonunda daha yavaş artışlar oluşturduğu,
- Deney süresince serbest amonyak konsantrasyonunun, 600 mg-N/l içeren çürütücülerde inhibitör seviyesinin altında kaldığı, fakat 1500 ve 3000 mg-N/l içeren çürütücülerde 12 saat içersinde inhibitör seviyeye ulaştığı,
- Çıkış suyundaki uçucu katı madde konsantrasyonlarının, amonyak azotu konsantrasyonun iki büyük değeri (sığır gübresi+1500/3000 mgN/l) ile artış gösterdiği, amonyak konsantrasyonu düşük olan (sığır gübresi+600 mgN/l) çürütücü çıkış suyunda ise kontrol çürütücüsüne göre uçucu katı konsantrasyonunda herhangi bir belirgin artışın gözlenmediği belirtilmiştir.

Liu ve Sung (2002): Termofilik koşullar altında toplam amonyak azotunun, asetat kullanan metanojenlerin aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi, pH ve aklimasyonun etkileriyle birlikte araştırılmıştır.

Biyokütlenin farklı amonyak konsantrasyonlarına aklime edilmesi için 2 tam karışimli reaktör kullanılmıştır. Tam karışimli reaktörler organik substrat olarak yağsız süt tozu ile beslenmiş ve termofilik koşullarda ($55\pm 1^{\circ}\text{C}$), 4,0 gr/l.gün KOI yükleme hızı, 7 gün HRT'de işletilmişlerdir. Tam karışimli reaktörlerde biyokütle 400, 1200 ve 3050 mg/l TAN konsantrasyonuna alıştırılmıştır. Reaktörler kararlı duruma ulaştıktan sonra, tam karışimli reaktörlerden alınan aklime olmuş biyokütle kesikli toksisite deneylerinde kullanılmıştır. Kesikli deneyler 259 ml'lik serum şişelerinde yürütülmüş, asetat kullanan metanojenlerin aktivitesini incelemek için substrat olarak asetik asit kullanılmıştır. Serum şişeleri 55°C 'de inkübe edilmiştir. Her deneyin başlangıcında pH ve TAN değeri saptanmış, 4-12 saatte bir biyogaz üretimi ölçülmüştür. Eklenik metan üretimi hesaplanmış ve spesifik metanojenik aktivite saptanmıştır. Değiştirilmiş Gompertz denklemi, kesikli deneydeki eklenik metan üretimi eğrisini modellemek için kullanılmıştır. Spesifik bir pH değerinde amonyum ya da amonyağın metanojenler üzerine etkisi genişletilmiş Monod denklemi ile açıklanmıştır. Verilen bir TAN konsantrasyonunda, pH'ın metanojenik aktivite üzerine etkisi, normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu ile analiz edilmiştir. Çalışmanın ilk kısmında Monod sabitlerini belirlemek için farklı substrat (asetik asit) konsantrasyonlarında bir seri kesikli deney yapılmıştır. Kullanılan biyokütle, sadece süt tozundan gelen 400 mg/l amonyak azotu konsantrasyonu içeren tam karışimli reaktörlerden alınmıştır. Her kesikli deneyden, eklenik metan üretimi kaydedilmiş ve en küçük kareler lineer olmayan regresyonla Gompertz denklemi kullanılarak eğriye uydurulmuştur. Farklı TAN konsantrasyonlarında işletilen reaktörlerden alınan aklime olmuş biyokütle amonyak toksisite çalışmasında kullanılmıştır. Toksisite deneyleri, 6,5; 7,0; 7,5 ve 8,0 pH değerlerinde serum şişelerinde yürütülmüş ve pH'ı stabilize etmek için fosfat tampon çözeltisi kullanılmıştır. Her pH değerinde, serum şişelerindeki amonyak konsantrasyonları, NH_4Cl eklenerek 400-10,000 mg/l TAN konsantrasyonuna kadar ayarlanmıştır. Serum şişesi deneylerinde 400, 1200 ve 3050 mg/l amonyak azotu konsantrasyonlarına aklime edilmiş biyokütle kullanılmıştır. Aklime edilmiş biyokütlelerinin her biri için, değişik pH ve TAN konsantrasyonlarında spesifik metan aktivitesi saptanmıştır. Belirlenen her pH değerinde amonyak inhibisyonunu incelemek için genişletilmiş Monod eşitliği kullanılmıştır. 400 mg/l TAN konsantrasyonuna aklime edilmiş biyokütle için eğrilerin, artan TAN konsantrasyonları ile spesifik metan aktivitesinde keskin bir doğrusal azalma gösterirken, 1200 ve 3050 mg/l TAN konsantrasyonlarına aklime edilmiş biyokütle için eğrilerin konveks bir eğilim gösterdiği belirlenmiştir. Metanojenlerin daha yüksek TAN düzeylerine aklime olduktan sonra, TAN ve pH'daki değişikliklere daha az duyarlı hale geldikleri saptanmıştır. pH değerinin amonyak inhibisyonundaki rolünü ortaya koymak için 400, 1200 ve 3050 mg/l TAN konsantrasyonlarına aklime edilmiş biyokütle için çeşitli pH değerlerindeki spesifik metan aktivite değerleri belirlenmiş, pH etkisini modellemek için normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu kullanılmıştır. Aklime

edildikten sonra, SMA-pH eğrilerinde optimum spesifik metan aktivite değerlerinde bir azalma olmuş olsada, metanojenlerin daha geniş bir pH ve TAN konsantrasyon aralığında işlev görebileceğini ileri sürer şekilde, eğrilerin düzleştiği görülmüştür. Aklime olmuş biyokütle için kesikli deneylerde en yüksek aktivite 7,0-7,5 arasında dar bir pH aralığında gözlenmiştir.

Bu araştırmanın sonuçlarına dayanılarak;

- Yüksek TAN konsantrasyonlarının, asetat kullanan metanojenlerin inhibisyonuna neden olduğu,
- Yüksek TAN konsantrasyonlarına aklime olmuş biyokütlede, inhibisyon etkisinin azaldığı,
- Metanojenler için öldürücü TAN konsantrasyonunun yaklaşık 10,000 mg/l olduğu,
- Belirli bir TAN konsantrasyonunda, metanojenik aktivitenin pH değerleri ile değiştiği, belirlenen en yüksek metanojenik aktivitenin 7,0-7,5 pH aralığında gözlendiği,
- Aklimasyonun pH tolerans aralığını arttırdığı ve bu durumun metanojenleri pH değişikliklerine daha az duyarlı yaptığı belirlenmiştir.

Sung ve Liu (2003): Bu çalışmada, aklimasyon konsantrasyonları üzerindeki amonyak konsantrasyonlarında sentetik atıksuyun termofilik anaerobik çürütülmesinde, amonyanın kronik ve akut toksisite etkisi belirlenmiş ve amonyanın inhibisyon etkisi, termofilik asetat kullanan metanojenlerin amonyaya aklimasyonu durumunda değişik pH değerlerinde araştırılmıştır. Deneysel çalışmanın ilk setinde, metanojenlere TAN'nun kronik toksik etkisini belirlemek amaçlanmıştır. Aktif hacmi 14 litre olan iki tam karışimli reaktör, termofilik şartlarda ($55\pm1^{\circ}\text{C}$), 7gün HRT'de çalıştırılmıştır. Reaktörlere organik substrat olarak çözünmüş yağsız süt tozu 4 gr/l.gün organik yükleme hızında beslenmiştir. TAN konsantrasyonu ardışık olarak 5 kademede (0,4; 1,20; 3,05; 4,92 ve 5,77 gr/l TAN) arttırılmıştır. Deneysel çalışmanın ikinci setinde kesikli anaerobik toksisite deneyleri, kronik toksisite değerlerini belirlemek için kullanılmış tam karışimli reaktörden alınan aklime olmuş biyokütle üzerine pH ve TAN'un birlikte akut toksik etkisini incelemek için yapılmıştır. ATA deneyleri, her aklimasyon durumu için 4 farklı pH değerinde (6,5; 7,0; 7,5 ve 8,0) ve 0-10,0 gr/l TAN konsantrasyon aralığında yürütülmüştür. Deneyler, reaktörlerden alınan 100 ml karışık sıvıyı ihtiva eden 250 ml'lik serum şişelerinde yapılmıştır. Substrat olarak asetik asit kullanılmıştır. Her deney başlangıcında, pH ve TAN konsantrasyonu belirlenen değerlere ayarlanmıştır. Tüm serum şişeleri, $55\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Değiştirilmiş Gompertz eşitliği, ATA deneylerinde eklenik metan üretimini modellemek için kullanılmıştır. Spesifik bir pH değerinde, metanojenler üzerine amonyum veya

amonyanın etkisi, genişletilmiş Monod eşitliği kullanılarak belirlenmiştir. Belirlenen bir TAN konsantrasyonunda metanojenik aktivite üzerine pH'ın etkisi Michaelis pH fonksiyonu kullanılarak analiz edilmiştir. Michaelis pH fonksiyonu, %50 inhibisyondan daha fazla inhibisyona neden olmayan pH aralığını tahmin etmek için kullanılmıştır. Tam karışımli reaktörlerde asetat kullanan metanojenlerin TAN tarafından kronik inhibisyonunu belirlemek için yapılan çalışmalarda, 4,92 gr/l TAN konsantrasyonunda SMA'da kontrole göre %39'luk, 5,77 gr/l TAN konsantrasyonunda ise %64'lük bir azalma görülmüştür. Aklime olmuş metanojenik kültürlerde akut toksisiteyi belirlemek için yapılan kesikli ATA deneylerinde, 1,5 gr/l TAN konsantrasyonundan daha düşük konsantrasyonlarda metanojenik aktivitede bir artış, 4,0 gr/l TAN konsantrasyonunun üzerindeki konsantrasyonlarda metan üretim fazının inhibe olduğu belirlenmiştir. ATA deneyi sonuçlarına göre yapılan modelleme sonunda, yüksek TAN konsantrasyonlarına alıştırılmış asetat kullanan metanojenlerin, TAN konsantrasyonundaki artıştan daha az etkilendikleri ve daha geniş bir pH aralığını tolere ettikleri gözlenmiştir. %100 inhibisyona neden olan TAN konsantrasyonu, aklimasyona ve sistemin pH değerine bağlı olarak 8-13 gr/l aralığında bulunmuştur.

EK B - LİTERATÜRDE ANAEROBİK ARITMADA AMONYAK İNHİBİSYONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALARDA KULLANILAN MODELLER

Serbest amonyak inhibisyonunun kompleks bir yapı içermesinden dolayı metabolik bir model henüz açıkça tesbit edilmemiştir. İnhibitör tarafından etkilenen metabolik yolun tesbit edilmesinin zorluğu nedeniyle, kinetik modellerin çoğu deneysel bir yapıya sahiptir ve enzimatik inhibisyonu tarif eden modellere dayanır.

Bu bölümde literatürde anaerobik arıtmada amonyak inhibisyonu ile ilgili çalışmalarda kullanılan modeller kronolojik olarak özetlenmiştir.

Heinrichs ve diğ. (1990): Amonyaga alıştırılmış çamur kullanılarak asetat, propiyonat, asetat-propiyonat karışımı ve laktatın mezofilik çürütülmesi üzerine amonyanın etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, biyogaz ve metan üretim eğrilerine Pearson ve diğ. (1983) tarafından belirlenen yarı-ampirik bir model uygulanmıştır.

Göreceli maksimum biyogaz ya da metan üretimi $A = \frac{v}{V}$ olarak tanımlanmıştır. A = göreceli maksimum gaz ya da metan üretimi (birimsiz); v = toksik madde içeren reaktörlerden elde edilen maksimum gaz (metan) üretimi, ml; V = kontrol reaktöründe (toksik madde içermeyen) elde edilen maksimum gaz (metan) üretimi, ml.

Göreceli gaz üretimi A'nın toksik madde konsantrasyonu T ile verdiği ters-S şeklindeki eğriler, iki parametrelili bir fonksiyon (Eşitlik B.1) ile modellenmiştir.

$$A = \left[1 + \left(\frac{T}{T_{50}} \right)^a \right]^{-1} \quad (B.1)$$

Burada; T_{50} = maksimum gaz üretiminde %50 azalmaya neden olan toksik madde konsantrasyonu, mg/l; a = verilen konsantrasyon değerlerinde gaz üretim değişim hızını tanımlayan duyarlılık katsayısıdır.

İnhibisyon verilerinin gaz üretimine dayanılarak yorumlanması için Pearson ve diğ. (1983) tarafından önerilen bu model, metan üretimini çok iyi karakterize etmiş fakat biyogaz üretimine uygulandığında yetersiz kalmıştır.

Poggi-Varaldo ve diğ. (1991): Araştırmacılar, iyonize olmamış amonyağın, mezofilik aklime edilmemiş asetat kullanan metanojenlerin maksimum spesifik çoğalma hızı, spesifik asetat kullanım hızı kinetik parametreleri ve gecikme süresi üzerindeki etkisini belirledikleri deneysel çalışma sonuçlarını Luong (B.2) ve un-kompetetiv (B.3) modele uygulamışlardır.

$$\frac{\mu_{i,max}}{\mu_{max}} = 1 - \left(\frac{SAN}{SAN_c} \right)^\gamma \quad \text{Luong} \quad (B.2)$$

$$\mu_{i,max} = \frac{\mu_{max}}{\left[1 + \frac{SAN}{K_i} \right]} \quad \text{Un- kompetetiv} \quad (B.3)$$

Bu modellerde;

$\mu_{i,max}$ = inhibitör olması durumunda maksimum spesifik çoğalma hızı (gün⁻¹)

μ_{max} = inhibitör içermemesi durumunda maksimum çoğalma hızı (gün⁻¹)

SAN_c = kritik SAN konsantrasyonu (mg/l)

γ = $\mu_{i,max}$ 'a karşı SAN eğrisinin şekli ve konkavlığı ile ilişkili ampirik üst

K_i = inhibisyon katsayısıdır (mg/l SAN)

Modeller, SAN'nun tüm dağılım aralığındaki verilere uydurulduğunda 0-700 mg/l SAN için denklem (B.4) ve (B.5) elde edilmiştir.

$$\text{Luong} \quad 0,20 \left[1 - \left(\frac{SAN}{1367} \right)^{0,351} \right] \quad (B.4)$$

$$\text{Un-kompetetiv} \quad \frac{0,18}{1 + \frac{SAN}{216}} \quad (B.5)$$

(B.4) ve (B.5) denklemleri, eğriyi 3 kısma ayırarak çoğalma inhibisyon eğrilerine kademeli olarak uygulanmıştır; 0-113 mg/l SAN çoğalmanın hızlı inhibisyonu, 114-540 mg/l SAN'nun negatif etkisi olmaksızın sabit yavaş çoğalma platosu, 541-700 mg/l SAN çoğalmanın hızlı inhibisyonunun son aşaması.

Asetat kullanan metanojenlerin maksimum spesifik çoğalma hızı, aşamalı Luong inhibisyon modeline 3 aşamada (B.6) (B.7) ve (B.8) denklemleri kullanılarak uygulanmıştır.

$$0-113 \text{ mg/l SAN} \quad 0,20 \left[1 - \left(\frac{SAN}{209} \right)^{0,958} \right] \quad \text{Luong} \quad (B.6)$$

$$113-541 \text{ mg/l SAN} \quad 0,086 \quad \text{sabit plato} \quad (B.7)$$

$$541-700 \text{ mg/l SAN} \quad 0,20 \left[1 - \left(\frac{SAN}{721} \right)^{1,621} \right] \quad \text{Luong} \quad (B.8)$$

Ayrıca, asetat kullanan metanojenlerin maksimum çoğalma hızı aşamalı bir un-kompetetiv benzeri inhibisyon modeline 3 aşamada (C.9) (C.10) ve (C.11) denklemleri kullanılarak uygulanmıştır.

$$0-113 \text{ mg/l SAN} \quad \frac{0,24}{1 + \frac{SAN}{61,6}} \quad \text{un- kompetetiv} \quad (B.9)$$

$$113-541 \text{ mg/l SAN} \quad 0,086 \quad \text{sabit plato} \quad (B.10)$$

$$541-700 \text{ mg/l SAN} \quad \frac{0,24}{-11,5 + \frac{SAN}{35,6}} \quad \text{un- kompetetiv} \quad (B.11)$$

İnhibisyon eğrisine en iyi, iki un-kompetetiv (B.9) (B.11) ve bir platodan (B.10) oluşan 3 aşamalı model uymuştur. Luong modeli verilere un-kompetetiv modelden daha az uyum sağlamıştır.

Angelidaki ve Ahring (1993): Gübre gibi kompleks organik maddelerin anaerobik olarak ayrıştırılmasında uygulanabilecek bir matematiksel model geliştirmişlerdir. Model, enzimatik adımı (çözünmemiş organik maddelerin hidrolizi) ve dört bakteriyel grubu (glukoz fermente eden asidojenler, propiyonatı ayrıştıran asetojenler, butiratı ayrıştıran asetojenler ve asetat kullanan metanojenler) içermektedir. Model, amonyak inhibisyonu üzerine odaklanmıştır. Serbest amonyak konsantrasyonunu doğru olarak uygulamak için pH ve sıcaklığın detaylı bir tarifini de içermektedir. Modelde, asetat kullanarak metan üreten adımın serbest amonyak inhibisyonu, asetojenik adımların asetat inhibisyonu ve başlangıçtaki enzimatik hidrolitik adımın uçucu yağ asit inhibisyonu da dikkate alınmıştır. Enzimatik hidrolitik adıma, bu adımın kinetiklerini en iyi tarif eden birinci derece reaksiyon hızı (B.12) uygulanmıştır.

$$R_s = k.C_s \quad (B.12)$$

Burada; C_s = substrat konsantrasyonu, k = reaksiyon hızı, R_s = substrat kullanım hızı

Hidrolitik reaksiyon hızının UYA toplamı (asetat, propiyonat ve bütirat) tarafından inhibe edildiği farzedilmiştir. Non-kompetetiv inhibisyon fonksiyonu (B.13) seçilmiştir.

$$k = k_0 \frac{K_i}{\sum VFA + K_i} \quad (B.13)$$

Burada; k_0 = inhibe olmamış hız, K_i = inhibisyon hız sabitidir.

Asidojenik adım için Monod çoğalma kinetikleri (B.14) tahmin edilmiştir.

$$\mu = \mu_{\max(T)} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{S}} \quad (B.14)$$

Burada; $\mu_{\max(T)}$ = temperatüre bağlı maksimum çoğalma hızı, S = substrat konsantrasyonu, K_s = monod doygunluk sabitidir.

Asetojenik (propiyonat ve bütiratı ayrıştıran) adım, asetat tarafından non-kompetetiv inhibisyon ile monod çoğalma kinetikleri ve pH ayarı (B.15) eşitliğinden tahmin edilmiştir.

$$\mu = \mu_{\max(T)} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{[A]}} \cdot \frac{1}{1 + \frac{[H_{Ac}]}{K_i}} F(pH) \quad (B.15)$$

Burada; K_i = inhibisyon katsayısı, $[A]$ = propiyonat veya bütirat konsantrasyonudur.

Çoğalma hızı üzerine pH'ın etkisi normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu (B.16) ile tarif edilmiştir.

$$F(pH) = \frac{1 + 2 \cdot 10^{0,5(pK_1 - pK_h)}}{1 + 10^{(pH - pK_h)} + 10^{(pK_1 - pH)}} \quad (B.16)$$

Burada; pK_1 ve pK_h = çoğalma hızlarının inhibe olmamış hızın yaklaşık %50'si olduğu durumunda en düşük ve en yüksek pH değerlerini göstermektedir.

Asetat kullanarak metan üreten adım, non-kompetetiv serbest amonyak inhibisyonu ile monod çoğalma kinetikleri ve pH inhibisyonu (B.17) eşitliği kullanılarak tahmin edilmiştir.

$$\mu = \mu_{\max(T)} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{[Hac]}} \cdot \frac{1}{1 + \frac{[NH_3]}{K_i}} F(pH) \quad (B.17)$$

Çoğalma hızlarının sıcaklığa bağlılığı;

$$\mu_{\max(T)} = \mu_{\max} T_{opt} - \alpha(T_{opt} - T) \quad T < T_{opt} \quad (B.18)$$

$$\mu_{\max(T)} = \mu_{\max} T_{opt} \frac{(T_{\max} - T)}{(T_{\max} - T_{opt})} \quad T > T_{opt} \quad (B.19)$$

Eşitlik (B.18) ve (B.19)'da, $T_{\max}$ = maksimum çoğalma hızı sıcaklığı, T_{opt} = çoğalmanın bittiği andaki maksimum sıcaklık, α = sıcaklık katsayısını göstermektedir. Model, büyükbaş hayvan gübresinin sürekli tam karışimli reaktörlerde çürütülmesi benzer şartlarına uygulanmış, model tahminleri ile deneysel değerler arasında çok iyi uyum sağladığı görülmüştür.

Poggi-Varaldo ve diğ. (1997): Evsel katı atıkların ve atık aktif çamurun mezofilik anaerobik çürütülmesi üzerine amonyak azotunun etkilerinin belirlendiği bu çalışmada Luong ve Pearson modelleri, TAN veya iyonize olmamış amonyak azotunun bir fonksiyonu olarak proses inhibisyonunu ifade etmek için seçilmiştir.

$$\text{Tepki} = R_0 \left[1 - \left(\frac{N}{N_c} \right)^a \right] \quad (\text{Luong}) \quad (B.20)$$

R_0 = Luong modelindeki maksimum yanıt değeri; N = amonyak azotu konsantrasyonu, N_c = amonyak azotu kritik konsantrasyonu, a = Luong modelindeki üs değeridir.

$$\text{Tepki} = A_0 \left[1 + \left(\frac{N}{N_{50}} \right)^b \right]^{(-1)} \quad (\text{Pearson}) \quad (B.21)$$

A_0 = Pearson modelindeki maksimum aktivite, N = amonyak azotu konsantrasyonu, N_{50} = proses yanıtının kontrol değerinin %50'ine ulaştığı noktadaki amonyak azotu konsantrasyonu, b = Pearson modelindeki üs değeridir.

Luong ve Pearson inhibisyon modelleri deneysel verilere uygulanmış ve her iki model de anaerobik çürütme üzerine azot ilavesinin akut etkilerini çok iyi temsil etmiştir. Bununla beraber Luong modeli, 2800 mg/kg kritik amonyak konsantrasyonunda prosesin devam etmediğini göstermiştir.

Hansen ve diğ. (1998): 6,0 gr-N/l amonyak içeriği olan domuz gübresinin 4 farklı sıcaklıkta (37-45-55 ve 60°C) anaerobik çürütülmesi sırasında amonyağın inhibisyon etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, serbest amonyak konsantrasyonunun biyogaz prosesi üzerindeki etkisi matematiksel olarak açıklanmıştır. Metan üretim hızının metanojenlerin çoğalması ile orantılı olduğu ve hiç gecikme fazı olmadığı kabul edilerek aşağıda belirtilen eşitlik (B.22) kullanılmıştır.

$$\ln (P+P_0) = \mu .t + \ln(P_0) \quad (B.22)$$

Eşitlik (B.22)'de; P = ölçülen metan üretimi, P_0 = aşıdan elde edilen metan üretimi, μ = göreceli spesifik çoğalma hızı, t = geçen süreyi göstermektedir.

Matematiksel terimlerde, $P_0 = X_0.Y$ (X_0 = aktif aşı miktarı, Y = kullanılan substrat başına oluşan metanı gösteren bir sabit). P_0 'ın doğal logaritması, doğrusal regresyonla y-ekseni ile kesişme noktası olarak hesaplanmıştır. P_0 daha sonra $\ln (P+P_0)$ 'a eklenmiş ve doğrusal regresyon uygulanmıştır. Bu uygulama, P_0 ve dolayısıyla, μ sabit olana kadar tekrarlanmıştır. Göreceli spesifik çoğalma hızı, μ ve her deneyde 1,1 gr-N/l'lik serbest amonyak konsantrasyonunda görünen spesifik çoğalma hızı, μ_{ref} olarak tanımlanmıştır. Diğer koşullardaki göreceli spesifik çoğalma hızları μ_{ref} ile bağlantılı olarak normalize edilmiştir. Göreceli μ 'ler, μ_r ($\mu_r = \mu / \mu_{ref}$) olarak tayin edilmiştir. Deneylerde belirlenen μ_r değerleri serbest amonyak konsantrasyonuna karşı çizildiğinde, 4 evreli bir eğri görülmüştür; serbest amonyak konsantrasyonu yaklaşık 1,1 gr-N/l olana kadar μ_r sabit kalmış, ikinci evrede serbest amonyak konsantrasyonu 1,1'den 1,2gr-N/l'e çıkınca μ_r 0,67'e düşmüş, üçüncü evrede serbest amonyak konsantrasyonu 1,2 ile 1,3 gr-N/l arasındayken μ_r 0,67 azalmış hızında sabit kalmış ve dördüncü evrede μ_r artan serbest amonyak konsantrasyonuyla çok düşük sabit bir hızla azalmıştır. Bu 4 evre matematiksel olarak aşağıdaki gibi ifade edilmiştir.

$$1. \text{ evre } 0 < (NH_3) < 1,10 \quad \mu_r = 1,0 \quad (B.23)$$

$$2. \text{ evre } 1,1 < (NH_3) < 1,16 \quad \mu_r = \frac{1}{-7,6 + \frac{(NH_3)}{0,128}} \quad (B.24)$$

$$3. \text{ evre } 1,16 < (NH_3) < 1,34 \quad \mu_r = 0,67 \quad (B.25)$$

$$4. \text{ evre } 1,34 < (NH_3) \quad \mu_r = \frac{1}{-12 + \frac{(NH_3)}{0,0995}} \quad (B.26)$$

Lay ve diğ. (1998b): Katı içeriği yüksek çamur çürütme prosesinde, pH ve amonyum azotunun metan üretimi üzerine etkisi, çamur kekiyle beslenmiş mezofilik kesikli çürütücü kullanılarak araştırılmıştır. Gompertz denkleminde elde edilen matematiksel bir model kullanılarak ve deneysel verilere dayanılarak, farklı amonyum azotu ve pH düzeylerinde metanojenik aktivite ve gecikme fazı süresi değerlendirilmiştir. Ayrıca, amonyak azotu ve serbest amonyağın metan üretimi üzerine etkisi, amonyağa aklime edilmiş ve edilmemiş bakteriyal sistemler için kantitatif olarak belirlenmiştir. pH ve amonyak konsantrasyonlarının

metan üretimine etkisini değerlendirmek için üç eşitlik kullanılmıştır. Kesikli deneyde eklenik metan üretim eğrisini açıklamak için bakteriyel çoğalma ve metabolik üretim arasındaki ilişkiye dayandırılarak geliştirilen değiştirilmiş Gompertz eşitliği (B.27) kullanılmıştır.

$$M = P \cdot \exp \left\{ \left[\frac{R_e}{P} (\lambda - 1) + 1 \right] \right\} \quad (B.27)$$

M = eklenik metan üretimi (ml/grUK)

λ = gecikme fazı süresi (gün)

P = metan üretim potansiyeli (ml/grUK)

R = metan üretim hızı (ml-CH₄/grUK.gün)

E = exp. 1

t = zaman (gün)

Spesifik bir amonyum azotu konsantrasyonunda, pH'ın metanojenik aktivite üzerindeki etkisi modifiye edilmiş Haldane eşitliği (B.28) kullanılarak matematiksel olarak belirlenmiştir.

$$R = \frac{K_m [H^+]}{[H^+] + K_{OH} + \frac{[H^+]}{K_H}} \quad (B.28)$$

K_m = maksimum spesifik metan üretim hızı, ml-CH₄/gr-UK.gün

K_{OH} ve K_H = hız sabitleri, M.

Spesifik bir pH durumunda metanojenik aktivite üzerinde amonyum ve serbest amonyakın etkilerini saptamak için, bakteriyel aktivite üzerinde inhibitör konsantrasyonunun etkisini belirlemek için Han ve Levenspiel (1988) tarafından geliştirilen matematiksel model (B.29) kullanılmıştır.

$$R = R_0 \left(1 - \frac{C}{C^*} \right)^n \quad (B.29)$$

R₀ = inhibitör ilave edilmemiş metan üretim hızı, ml-CH₄/gr-UK.gün

C = amonyum veya serbest amonyak konsantrasyonu, mg/l

C* = reaksiyonun devamına imkan sağlamayan kritik amonyum ve serbest amonyak konsantrasyonu, mg/l

n = sabit

Deneysel verilerin yukarıda belirtilen 3 modele uygulanmasıyla,

- İyi akliye edilmiş bir sistemin metanojenik aktivitesini etkilemede amonyum azotu konsantrasyonunun serbest amonyaktan çok daha anlamlı bir faktör olduğu,
- Metanojenik aktivitenin, 6,5–8,5 pH aralığında amonyum azotundaki artışla azaldığı,
- Metanojenik aktivitenin 1670-3720 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda %10, 4090-5550 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda %50 azaldığı, 5880-6000 mg/l amonyum azotu konsantrasyonunda 0'a düştüğü,
- Kesikli deneyde, gecikme fazı süresinin amonyuma değil serbest amonyak düzeyine bağlı olduğu ve serbest amonyak konsantrasyonunun 500 mg/l'den fazla olması halinde bir şok yükleme etkisi gözlemlendiği,
- Amonyum azotu konsantrasyonu 100'den 6000 mg/l'e yükseldiğinde, çamurun maksimum metana dönüşme kapasitesinin 28,0'den 0,9 ml-CH₄/gr-UK.gün'e değiştiği belirlenmiştir.

Aspé ve diğ. (2001): Tuzlu ve protein içeriği yüksek atıksularda, serbest amonyak tarafından organik madde tüketim hızının inhibisyonu 37°C'de anaerobik filtreler kullanılarak değerlendirilmiştir. Amonyak tarafından substrat tüketim hızının inhibisyonuna Luong ve non-kompetetiv modelleri ((B.30) ve (B.31)) uygulanmıştır.

$$\frac{\mu_{gözlenen}}{\mu_{max}} = 1 - \left[\frac{C_{NH_3}}{K_{NH_3}} \right]^\gamma \quad (\text{Luong}) \quad (\text{B.30})$$

$$\frac{\mu_{gözlenen}}{\mu_{max}} = \frac{1}{1 + \frac{C_{NH_3}}{I_{NH_3}}} \quad (\text{non-kompetetiv}) \quad (\text{B.31})$$

Bu iki modelde; $\mu_{gözlenen}$ = gözlenen spesifik çoğalma hızı, gün⁻¹, C_{NH_3} = reaktördeki amonyak konsantrasyonu, mg-NH₃-N/l, K_{NH_3} ve γ = inhibisyon parametresi ve Luong modelindeki üs, I_{NH_3} = non-kompetetiv model parametresidir.

Model, Luong ve non-kompetetiv model tarafından düzeltilmiş Monod fonksiyonu ile ifade edilmiştir. Deneysel ve hesaplanan substrat tüketim hızı arasındaki oran Eşitlik (B.32) ile belirtilmiştir.

$$\frac{r_s}{r_{sw/0}} = \left(\frac{(S_0 - S)}{\tau} \right) / \left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} X \right) \quad (\text{B.32})$$

Eşitlik (B.32)'de,

r_s = substrat tüketim hızını, (mg-TOK/l.gün)

$r_{sw/o}$ = inhibisyon olmaksızın substrat tüketim hızını, (mg-TOK/l.gün)

S_o = beslenen substrat konsantrasyonunu, (mg-TOK/l)

S = çıkış substrat konsantrasyonunu, (mg-TOK/l)

$Y_{X/S}$ = oluşum katsayısını, (mg-VSS/mg-TOK)

K_s = ortalama doygunluk sabitini, (mg-TOK/l),

X = bakteri konsantrasyonunu, (mg-UKM/l.gün)

τ = Hidrolik bekletme süresini, (gün) göstermektedir.

Luong ve non-kompetetiv model, Eşitlik (B.33) ve Eşitlik (B.34)'de görüldüğü gibi düzenlenmiştir.

$$\frac{r_s}{r_{sw/o}} = 1 - \left[\frac{C_{NH_3}}{K_{NH_3}} \right]^\gamma \quad (B.33)$$

$$\frac{r_s}{r_{sw/o}} = \frac{1}{1 + \frac{C_{NH_3}}{I_{NH_3}}} \quad (B.34)$$

Luong modeli kullanılarak hesaplanan kinetik parametreler, maksimum spesifik çoğalma hızı $\mu_{max} = 0,28 \text{ gün}^{-1}$, ortalama doygunluk sabiti $K_s = 568 \text{ mg-TOK/l}$, Luong inhibisyon parametresi $K_{NH_3} = 1707 \text{ mg-NH}_3\text{-N/l}$ ve Luong üst $\gamma = 0,283$ olarak belirlenmiştir. Non-kompetetiv modelden hesaplanan parametreler; $\mu_{max} = 0,26 \text{ gün}^{-1}$, $K_s = 703 \text{ mg-TOK/l}$, inhibisyon parametresi $I_{NH_3} = 325 \text{ mg-NH}_3\text{-N/l}$ olarak belirlenmiştir. Luong modelinde, substrat tüketim hızının %50 inhibisyonuna neden olan amonyak azotu konsantrasyonu $147 \text{ mg-NH}_3\text{-N/l}$, non-kompetetiv modelde ise, substrat tüketim hızının %50 inhibisyonuna neden olan amonyak azotu konsantrasyonu $325 \text{ mg-NH}_3\text{-N/l}$ olarak belirlenmiştir. Luong ve non-kompetetiv modeller, balık ürünlerini işleyen tesis atıksularının anaerobik çürütülmesi sırasında oluşan amonyağın sırasıyla maksimum verimin %65,1 ve %58,6'nı inhibe edeceğini göstermiştir. Çürütme fazları üzerine amonyağın etkisi substrat olarak uçucu yağ asitleri ile balık ürünü işleyen tesis atıksularını karşılaştırmak suretiyle saptanmıştır. Non-kompetetiv model, balık işleyen tesis çıkış suyu için $196,6 \text{ mg-NH}_3\text{-N/l}$ konsantrasyonunda metan üretim hızının %50 inhibisyona uğrayacağını, uçucu yağ asitleri için ise $188,6 \text{ mg-NH}_3\text{-N/l}$ konsantrasyonunda metan üretiminin %50 inhibe olacağını göstermiştir. Bu sonuçlardan amonyak tarafından en çok etkilene fazın, metan üretim fazı olduğu belirlenmiştir.

Liu ve Sung (2002): Aklime edilmiş termofilik asetat kullanan metanojenlerin aktivitesi üzerine TAN'un inhibisyon etkisinin araştırıldığı bu çalışmada eklenik metan üretim

eğrisine, bakteriyal çoğalmayı metabolik biyogaz üretimi ile ilişkilendiren değiştirilmiş Gompertz eşitliği (B.35) uygulanmıştır.

$$M = P \cdot \exp \left\{ \exp \left[\frac{R' \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (B.35)$$

Eşitlik (B.35)'de; M = eklenik metan üretimi, λ = gecikme fazı süresi, P = metan üretim potansiyeli, R' = kesikli deneyde metan üretim hızı, e = exponensiyel 1 göstermektedir. Spesifik pH'da amonyum ya da amonyağın metanojenler üzerine etkisi genişletilmiş Monod denklemi (B.36) ile açıklanmıştır.

$$R(I)' = R_m \left(1 - \frac{I}{I^*} \right)^n \left[\frac{S}{S + K_s \left(1 - \frac{I}{I^*} \right)^m} \right] \quad (B.36)$$

Denklem (B.36)'da; R(I)' = pH ve substrat düzeyinde gözlemlenen metan üretim hızı, R_m = maksimum metan üretim hızı, S = substrat konsantrasyonu, K_s = yarı-doygunluk katsayısı, I^* = öldürücü amonyum/amonyak konsantrasyonu, n, m = katsayılarıdır.

Verilen bir TAN konsantrasyonunda pH'ın metanojenik aktivite üzerine etkisi, merkezi değer olarak 1'i vermek üzere normalize edilmiş Michaelis pH fonksiyonu (B.37) ile analiz edilmiştir.

$$F(pH) = R_0 \frac{1 + 2 \times 10^{0,5(pK_1 - pK_h)}}{1 + 10^{(pH - pK_h)} + 10^{(pK_1 - pH)}} \quad (B.37)$$

Denklem (B.37)'de; F = sabit TAN konsantrasyonunda belirli bir pH'da spesifik metanojenik aktivite, R_0 = optimum pH'da metan üretim hızı, pK_1 = metanojenik aktivitenin %50 azaldığı en düşük pH değeri, pK_h = metanojenik aktivitenin %50 azaldığı en yüksek pH değerini göstermektedir.

130 mg/l TAN konsantrasyonu ve pH 7,3'teki kesikli deneylerden hiç amonyak inhibisyonu olmayan koşullarda Monod sabitleri $K_s = 694,4$ mg/l (KOI olarak) ve $R_{max} = 1,927,4$ ml CH_4 /grUKM.gün saptanmıştır. Genişletilmiş Monod modeli TAN inhibisyonunu, normalize edilmiş Michaelis fonksiyonu pH etkisini çok iyi açıklamıştır. Genişletilmiş Monod modeline en iyi uyan parametreler, amonyak inhibisyonunun un-kompetetiv özellikler belirttiğini göstermiştir.

Sung ve Liu (2003): Amonyağın inhibisyon etkisinin, termofilik asetat kullanan metanojenlerin amonyağa aklımasyonu durumunda değişik pH değerlerinde araştırıldığı bu

çalışmada modifiye edilmiş Gompertz eşitliği (B.38), ATA deneylerinde eklenik metan üretimini modellemek için kullanılmıştır.

$$M = P \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{B \cdot R' \cdot e}{P} (\lambda - 1) + 1 \right] \right\} \quad (B.38)$$

M = inkübasyon süresinde t (gün) eklenik metan üretimi (ml),

λ = gecikme fazı süresi (gün)

P = metan üretim potansiyeli (ml)

R' = spesifik metanojenik aktivite (ml-CH₄/gr-UKM.gün)

e = exp.(1) = 2,71828

B = şişelerdeki toplam biyokütle, (grUKM)

Spesifik bir pH'da, metanojenler üzerine amonyum veya amonyağın etkisi, genişletilmiş Monod eşitliği (B.39) kullanılarak belirlenmiştir.

$$R' = R_m \left(1 - \frac{I}{I^*} \right)^n \left[\frac{S}{S + K_s \left(1 - \frac{I}{I^*} \right)^m} \right] \quad (B.39)$$

R_m = spesifik bir pH'da maksimum metan üretim hızı (ml-CH₄/gr-UKM.gün)

S = substrat konsantrasyonu (gr/l KOI)

K_s = yarı doygunluk sabiti (gr/l KOI)

I = inhibitör konsantrasyonu (gr/l TAN)

I* = öldürücü amonyum/amonyak konsantrasyonu (gr/l TAN)

n, m = sabitler

Belirlenen bir TAN konsantrasyonunda metanojenik aktivite üzerine pH'ın etkisi Michaelis pH fonksiyonu (B.40) ile analiz edilmiştir.

$$R' = R_0 \frac{1 + 2 \times 10^{0,5(pK_1 - pK_h)}}{1 + 10^{(pH - pK_h)} + 10^{(pK_1 - pH)}} \quad (B.40)$$

R' = kesikli deneyde belirlenen spesifik metanojenik aktivite (ml-CH₄/gr-UKM.gün)

R₀ = belli bir TAN seviyesinde optimum pH'deki SMA (ml-CH₄/gr-UKM.gün)

pK₁ = metanojenik aktivitenin %50 azaldığı en düşük pH değeri

pK_h = metanojenik aktivitenin %50 azaldığı en yüksek pH değeri

Michaelis pH fonksiyonu, %50 inhibisyondan daha fazla inhibisyona neden olmayan pH aralığını tahmin etmek için kullanılmıştır. Anaerobik toksisite deneyi sonuçlarına göre yapılan modelleme sonunda, yüksek TAN konsantrasyonlarına alıştırılmış asetat kullanan metanojenlerin, TAN konsantrasyonundaki artıştan daha az etkilendikleri ve daha geniş bir

pH aralığını tolere ettikleri gözlenmiştir. %100 inhibisyona neden olan TAN konsantrasyonu, aklimasyona ve sistemin pH değeri ne bağlı olarak 8-13 gr/l aralığında bulunmuştur.



EK C - İNHİBİSYON DENEYLERİ ÖNCESİ ARAŞTIRMALAR

Bu çalışma, inhibisyon deneyleri öncesinde, deneylerde kullanılacak tüm şartların uygulanabilir olup olmadığını araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada kullanılan anaerobik çamur, mısır işlenerek gıda sektörü için ara maddeler üreten Cargill Orhangazi Mısır İşleme Tesisindeki granüler çamurlu ve yukarı akışlı genleşmiş havasız çamur yataklı reaktörden temin edilmiştir.

Çamurun üst fazından alınan numunenin karakterizasyonu sonucunda, aşağıdaki değerler bulunmuştur:

pH = 6,834

TAN = 90 mg/l

Başlangıçta çamur, substrat hariç seyreltme suyu ile dört defa yıkanmıştır. Bu işlemi takiben 12 saat içerisinde, tam karışımdan alınan numunede AKM-UAKM ve TKM-TUM parametre değerleri belirlenmiştir. Bu analizlerin sonuçları aşağıda verilmiştir.

AKM = 47707 mg/l

UAKM = 41380 mg/l

TKM = 63053 mg/l

TUM = 54754 mg/l

Her biri farklı pH'da çalıştırılmak üzere 4 adet transfer reaktörü kullanılmıştır.

1. Transfer reaktörünün pH = 7,0
2. Transfer reaktörünün pH = 7,5
3. Transfer reaktörünün pH = 8,0
4. Transfer reaktörünün pH = 8,5'te çalıştırılması düşünülmüştür.

pH'ı 7,0'ye ayarlanacak transfer reaktörü % 65 N₂ + % 35 CO₂ gazı ile, pH'ı 7,5 8,0 ve 8,5'e ayarlanacak transfer reaktörleri ise N₂ gazı ile yıkanmıştır. Transfer reaktörlerine, her serum şişesinde 2000 mg/l UAKM olacak miktarda tam karışımdan alınan biyokütle ve seyreltme suyu anaerobik ortamda ilave edilmiştir. Seyreltme suyunun içeriği ile ilgili değerler Tablo C.1'de verilmiştir. Farklı KOİ konsantrasyonlarındaki atıksulara ait iz element ihtiyacı Weiland ve Rozzi tarafından 1991 yılında yapılan çalışmada Tablo C.2'de görüldüğü gibi belirlenmiştir. Bu çalışma göz önünde bulundurularak Fe²⁺ = 0,5 mg/l, Ni²⁺ =

0,05 mg/l, $\text{Co}^{2+} = 0,05 \text{ mg/l}$, $\text{Mo}^{2+} = 0,01 \text{ mg/l}$ olacak şekilde çalışmada kullanılacak iz element çözeltisi içeriği Tablo C.3'deki gibi belirlenmiştir.

Tablo C.1. Seyreltme suyunun kimyasal içeriği (Valcke ve Verstraete, 1983)

Kimyasal Madde	Konsantrasyon mg/l
NH_4Cl	1000
K_2HPO_4	763,35
KH_2PO_4	2500
$\text{Na}_2\text{S} \cdot \text{XH}_2\text{O}$	100
Maya ekstresi	200

Tablo C.2. Farklı KOİ konsantrasyonlardaki atıksuların iz element ihtiyacı (Weiland ve Rozzi, 1991)

Atıksudaki KOİ konsantrasyonu (mg/l)	Konsantrasyon aralığı (mg/l)			
	Fe^{2+}	Ni^{2+}	Co^{2+}	Mo^{2+}
10,000	0,5-20	0,05-3	0,05-2	0,01 – 0,05
50,000	3 -100	0,3-15	0,3 - 10	0,05 – 0,2

Tablo C.3. Çalışmada kullanılan iz element çözeltisi

Kimyasal Madde	Konsantrasyon mg/l
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,776
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,2024
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,2018
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,0252

Tablo C.1 ve Tablo C.3'deki çözeltilere 3090 mg/l NaHCO_3 ilave edilmiş, Tablo C.4'de içeriği belirtilen içme suyu ile litreye tamamlanmıştır.

Tablo C.4. İçme suyunun içeriği

Ca^{+2} 51 mg/l	Cl^- 2,9 mg/l
Mg^{+2} 9 mg/l	NO_3^- 3,4 mg/l
Na^+ 2,3 mg/l	$\text{SO}_4^{=}$ 8,2 mg/l
K^+ 0,4 mg/l	HCO_3^- 179 mg/l

pH'ları 7,5 ve 8,0 olarak belirlenen transfer reaktörlerinde başlangıç pH değerlerinin reaksiyon sonunda bir miktar artacağı göz önüne alınarak pH değerleri sırasıyla 7,3 ve 7,7'e 8 N NaOH kullanılarak ayarlanmıştır. 8,5 pH değerinde çalıştırılacak reaktörde inhibisyon dolayısıyla pH değerinde düşme bekleneyeceği için başlangıç pH'sında bir değişiklik yapılmamıştır. 7,0 pH değerinde çalışılacak reaktörde ise kullanılan yıkama gazının (% 65 N_2 + % 35 CO_2) pH'yı sabit tutacağı göz önünde bulundurularak başlangıç pH'sında bir değişiklik yapılmamıştır.

Yukarıda belirtilen şekilde hazırlanan transfer reaktörleri 1 gece $37\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. İnkübatörden alınan transfer reaktörlerine 1000 mgKOI/l sağlayacak miktarda (%70 asetik asit + % 15 Propionik asit + %15 Bütirik asit) substrat, Tablo C.5'de verilen miktarlarda ilave edilmiştir. Substrat ilavesiyle düşen pH değeri başlangıç değerine 8N NaOH kullanılarak ayarlanmıştır. Besleme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar sürede geçirmiş olduğu pH değişimi Tablo C.6'da gösterilmiştir.

Tablo C.5 Stok substrat çözeltisinin içeriği *

Kimyasal	Miktar (ml/100ml)
CH_3COOH	62.5
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$	10.1
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$	8.8

* Stok substrat çözeltisinin 1 ml'si seyreltme suyunun 1 lt'ine ilave edildiğinde 1000 mg/l KOİ konsantrasyonu sağlamaktadır.

Tablo C.6. Seyrelme çözeltisinin serum şişelerine transferine kadar geçen aşamalarda pH değişimi

İnkübatör öncesi pH	İnkübatör sonrası pH	Transfer sırasında pH	t = 0 anında pH
7,009	6,892	6,998	6,915
7,308	7,367	7,306	7,395
7,706	7,614	7,709	7,785
8,502	8,125	8,522	8,576

pH düzeltmeleri için kullanılan 8N NaOH'den gelen Na^+ miktarının sodyumun inhibisyon eşik değerinin (orta derece inhibisyon 3500 – 5500 mg Na^+ /l Rittmann ve McCarty, 2001) altında kaldığı görülmüştür. pH düzeltmeleri sırasında kullanılan 8 N NaOH'den kaynaklanan Na^+ konsantrasyonları Tablo C.7'de verilmiştir.

Tablo C.7. pH düzeltmeleri sırasında sisteme dolaylı olarak eklenen Na^+ konsantrasyonları

pH	Na^+ mg/l
7,0	1570
7,3	1552
7,7	1809
8,5	2140

Peristaltik pompa vasıtasıyla, seyreltme çözeltisi transfer reaktöründen anaerobik ortamda her serum şişesine 50ml eşit hacimlerde dağıtılmıştır. Seyreltme çözeltisi serum şişelerine transfer edilmeden önce, pH 7,0 için serum şişeleri % 65 N_2 + % 35 CO_2 gaz karışımı ile diğer pH değerlerinde kullanılacak serum şişeleri ise N_2 ile yıkanmıştır. Transfer sonrası serum şişelerinin ağızları plastik tıpa ve alüminyum kapak ile kapatılmıştır. Her pH değeri için 7 adet serum şişesi kullanılmıştır. Altı serum şişesi manometre düzeneğine bağlanmış,

bir serum şişesi $t = 0$ anındaki başlangıç değerlerini saptamak için ayrılmıştır. Manometre düzeneğine bağlanan üç serum şişesi pH değişimini izlemek amacıyla, diğer üç serum şişesi ise biyogaz oluşumunu izlemek amacıyla kullanılmıştır.

Tüm pH değerlerinde transferler sağlandıktan sonra, $t = 0$ anındaki başlangıç değerlerini saptamak için kullanılan serum şişeleri haricindeki serum şişeleri $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'deki su banyosuna yerleştirilmiş, yarım saat sonunda sıcaklık farkından dolayı oluşacak basıncı bertaraf etmek amacıyla her serum şişesine iğne batırılarak bu fark sıfırlanmıştır.

pH değişimini izlemek amacıyla monometre düzeneğine bağlanan serum şişeleri 1., 2. ve 5. gün sonunda açılmış belirlenen değerler Tablo C.8'de gösterilmiştir.

Tablo C.8. pH'nın zamana bağlı olarak değişimi

t = 0	t = 24 saat	t = 48 saat	t = 120 saat
6,915	6,958	7,068	7,056
7,395	7,558	7,656	7,617
7,785	7,857	7,919	7,865
8,576	8,460	8,441	8,306

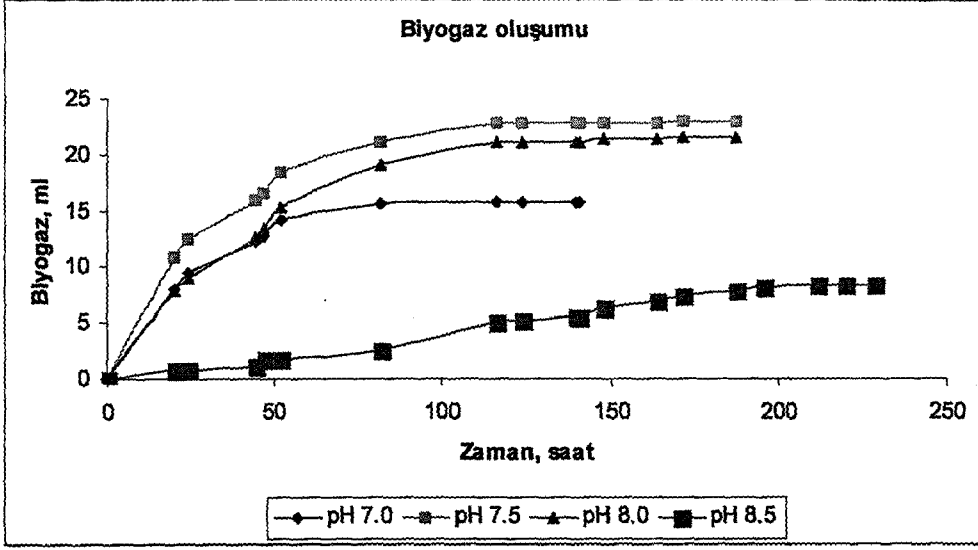
5. gün sonunda açılan serum şişelerinde alkalinite ve Uçucu Yağ Asidi parametrelerine de bakılmış, bulunan değerler Tablo C.9'da gösterilmiştir.

Tablo C.9. Alkalinite, pH ve UYA parametrelerinin başlangıç ve sonuç değerleri

pH		Alkalinite mg/l		Asetik Asit mg/l		Propiyonik Asit. mg/l		Bütirik Asit mg/l		İzo Bütirik Asit mg/l		İzo Valerik Asit mg/l	
t=0	t=120	t=0	t=120	t=0	t=120	t=0	t=120	t=0	t=120	t=0	t=120	t=0	t=120
6,915	7,056	2800	3120	588	0	111,7	0	107,2	0	0	0	0	0
7,395	7,617	2800	3070	568	5,6	109,4	0	107,1	0	0	0	0	0
7,785	7,865	3000	3400	578	4,1	111,1	0	107,5	0	0	0	0	0
8,576	8,306	3520	3450	637	558	112,9	40,6	109,0	7,5	3,8	12,9	2,8	10,7

Biyogaz oluşumunun izlendiği serum şişelerinde toplam amonyak azotunun başlangıç değerleri sırasıyla 265 mg/l, 265 mg/l, 263 mg/l ve 262 mg/l'dir.

Biyogaz üretimi, her serum şişesindeki biyogaz üretiminin bitimine kadar günde iki kez ölçülmüş, zamana karşı biyogaz üretimi Şekil C.1'de verilmiştir.



Şekil C.1. Zamana karşı biyogaz üretimi

Her serum şişesindeki numuneye ait parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri Tablo C.10'da gösterilmiştir.

pH	Alkalinite (mgCaCO ₃ /l)	ÇOK (mg/l)		AKM (mg/l)		UAKM (mg/l)		Asetik Asit (mg/l)		Propionik Asit (mg/l)		Butirik Asit (mg/l)		İzo Butirik Asit (mg/l)		İzo Valerik Asit (mg/l)	
		t=0	t=167	t=0	t=167	t=0	t=167	t=0	t=167	t=0	t=167	t=0	t=167	t=0	t=167	t=0	t=167
pH 7,0	1	6,915	6,990	2800	3140	380	20	1926		1626		603	-	110	-	-	-
	2	6,915	6,970	2800	3050	380	20	1926		1626		603	-	110	-	-	-
	3	6,915	7,004	2800	3120	380	20	1926		1626		603	-	110	-	-	-
pH 7,5	7	7,395	7,565	2800	3050	400	20	1720	1710	1360	1463	582	-	110	-	-	-
	8	7,395	7,568	2800	3090	400	23	1720		1360		582	-	110	-	-	-
	9	7,395	7,563	2800	3070	400	20	1720		1360		582	-	110	-	-	-
pH 8,0	13	7,785	7,797	3000	3390	380	22,5	1845		1563		593	-	110	-	-	-
	14	7,785	7,797	3000	3540	380	27,5	1845	1816	1563	1530	593	3	110	-	-	-
	15	7,785	7,784	3000	3440	380	25	1845		1563		593	0	110	-	-	-
pH 8,5	19	8,576	8,300	3520	3540	425	337	2063	1661	1645	1373	653	547	112	3	7	13
	20	8,576	8,287	3520	3890	425	210	2063	1926	1645	1622	653	366	112	0	4	10
	21	8,576	8,302	3520	3680	425	283	2063	1828	1645	1506	653	545	112	1	7	14

Biyogaz oluşumunun izlendiği serum şişelerinden belirli aralıklarla metan yüzdesini (%CH₄) belirlemek amacıyla gaz alınmıştır. Bulunan değerler Tablo C.11’de gösterilmiştir.

Tablo C.11. Metan, karbondioksit yüzdeleri*

	47. saat			141. saat			229. saat		
pH	Biyogaz, ml	%CH ₄	% CO ₂	Biyogaz, ml	%CH ₄	%CO ₂	Biyogaz, ml	%CH ₄	%CO ₂
7,0	11,78	42,04	57,96	13,98	0,15	99,85	-	-	-
7,5	15,38	73,26	26,74	20,65	74,94	25,06	-	-	-
8,0	13,11	77,71	22,29	21,07	82,49	17,51	-	-	-
8,5	1,55	-	-	5,12	86,71	13,29	7,72	83,55	16,45

* Tablodaki değerler üç ölçümün ortalamasını göstermektedir.

Yapılan bu ön çalışmada, hedeflenen pH değerleri 7,0; 7,5; 8,0 ve 8,5’dir. Anaerobik ortamı sağlamak için, pH 7,0’de çalışan tüm serum şişelerinde % 65 N₂ + % 35 CO₂ gaz karışımı, diğer pH değerlerinde çalışan serum şişelerinde N₂ gazı kullanılmıştır. % 65 N₂ + % 35 CO₂ gaz karışımının, hedeflenen pH 7,0 değerini sağladığı (Tablo C.8) fakat bu pH değerinde tutulan tüm serum şişelerinde, zamana karşı biyogaz üretiminin ve biyogazdaki % CH₄’nın düşük olduğu görülmektedir (Şekil C.1 ve Tablo C.11). pH 7,5 ve pH 8,0 olarak belirlenen serum şişelerindeki başlangıç pH değerleri, reaksiyon sonunda pH değerinin bir miktar artacağı göz önüne alınarak hedeflenen pH değerlerinin 0,2-0,3 birim altındaki değerlerde tutulmuştur. pH değeri 8,5 olarak belirlenen serum şişelerindeki başlangıç pH değeri, inhibisyonundan dolayı pH değerinde azalma olacağı tahmin edilerek değiştirilmemiştir. Başlangıç pH değeri 7,395 olan serum şişelerindeki çözeltinin biyogaz üretimi bitiminde pH değeri 0,2 birim artarak 7,617’ye, başlangıç pH değeri 7,785 olan serum şişelerindeki çözeltinin biyogaz üretimi bitiminde pH değeri 0,1 birim artarak 7,865’e yükselmiştir. Başlangıç pH değeri 8,576 olan serum şişelerindeki çözeltinin biyogaz üretimi bitiminde pH değeri ise 0,2 birim azalarak 8,306’ya düşmüştür (Tablo C.8 - Tablo C.11).

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurularak, inhibisyon deneylerinde 6,8; 7,4; 7,8 ve 8,4 pH değerlerinde çalışılmasına, % 65 N₂ + % 35 CO₂ gaz karışımı yerine pH 7,0 civarında çalıştırılacak reaktörlerde de anaerobik ortamı sağlamak için N₂ gazı kullanılmasına karar verilmiştir.

EK D – PARAMETRE DEĞİŞİMLERİ

Tablo D.1 Granüler aşı çamuru ile pH 6,8'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA**, mg/l	PA**, mg/l	BA**, mg/l	IBA**, mg/l	VA**, mg/l	UYA, mgAA/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOl/l	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
t=0	6,816	1110	2684	2364	656,0	99,1	97,1	6,1	8,8	0,0	812,0	376,0	379	271	T=37°C pH 6,8 262 mgTAN/l
t=233	6,996	1390			1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,7	2,6	25	291	2 mgSAN/l
%değişim		25			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,8	-99,8	-99,8	-93,4		2 mgSAN/l
t=0	6,812	1140	2680	2304	654,0	96,7	102,0	6,5	9,0	0,0	812,0	377,0	378	992	T=37°C pH 6,8 1000 mgTAN/l
t=233	6,999	1417			1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,7	2,6	25	1016	8 mgSAN/l
%değişim		24			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,8	-99,8	-99,8	-93,4		8 mgSAN/l
t=0	6,797	1190	2410	2130	650,0	97,7	103,0	7,1	8,4	0,0	809,2	377,0	379	1494	T=37°C pH 6,8 1500 mgTAN/l
t=233	6,974	1467			1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,6	1,6	25	1518	12 mgSAN/l
%değişim		23			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,8	-99,8	-99,8	-93,4		12 mgSAN/l
t=0	6,798	1220	2410	2158	651,0	100,7	99,4	6,8	7,7	0,0	809,6	376,0	382	1986	T=37°C pH 6,8 2000 mgTAN/l
t=233	6,980	1467			2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,8	2,1	27	2017	16 mgSAN/l
%değişim		20			-99,7	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,8	-99,8	-99,8	-92,9		16 mgSAN/l
t=0	6,803	1270	2275	2030	655,0	99,1	101,5	6,6	9,9	0,0	815,0	379,0	385	2485	T=37°C pH 6,8 2500 mgTAN/l
t=233	6,981	1510			1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,7	1,9	28	2502	20 mgSAN/l
%değişim		19			-99,7	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,8	-99,8	-99,8	-92,7		20 mgSAN/l
t=0	6,810	1260	2066	1854	655,0	98,3	101,7	5,8	9,7	0,0	813,7	378,0	382	2968	T=37°C pH 6,8 3000 mgTAN/l
t=233	6,967	1510			1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	0,6	1,5	27	2998	24 mgSAN/l
%değişim		20			-99,7	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,8	-99,8	-99,8	-92,9		24 mgSAN/l

* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

**Uçucu yağ asitlerinin GC'de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

Tablo D.2 Granüler aşı çamuru ile pH 7,4'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA**, mg/l	PA**, mg/l	BA**, mg/l	IBA**, mg/l	IVA**, mg/l	VA**, mg/l	UYA, mgAA/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOl/l	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
t=0	7,367	1490	2378	2062	654,0	100,1	98,4	6,7	7,8	0,0	811,4	376,0	1056,0	391	276	T=37°C pH 7,4
t=233	7,405	1740			1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,6	1,6	26	297	262 mgTAN/l
%değişim		16,8			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,8	-99,8	-99,85	-93,4		8 mgSAN/l
TAN (mg/l)																
t=0	7,383	1570	2078	1834	659,0	99,4	98,3	7,0	7,9	0,0	816,0	378,0	1061,0	382	986	T=37°C pH 7,4
t=233	7,365	1763			1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,6	1,6	26	1008	1000 mgTAN/l
%değişim		12,3			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,8	-99,8	-99,85	-93,2		31 mgSAN/l
t=0	7,381	1570	2296	2008	654,0	100,7	97,3	7,0	7,4	0,0	811,1	376,0	1056,0	379	1479	T=37°C pH 7,4
t=233	7,361	1803,0			1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,6	1,5	25	1503	1500 mgTAN/l
%değişim		14,8			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,8	-99,8	-99,85	-93,4		47 mgSAN/l
t=0	7,385	1590	2292	2010	661,0	98,4	97,2	6,6	7,5	0,0	816,0	377,0	1058,0	379	1985	T=37°C pH 7,4
t=233	7,351	1820,0			1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,6	1,5	25	2010	2000 mgTAN/l
%değişim		14,5			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,8	-99,8	-99,86	-93,4		62 mgSAN/l
t=0	7,392	1600	2244	1966	656,0	98,6	97,0	5,8	6,9	0,0	810,1	374,0	1050,0	385	2478	T=37°C pH 7,4
t=233	7,346	1853,0			1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,7	1,9	28	2508	2500 mgTAN/l
%değişim		15,8			-99,7	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,8	-99,8	-99,82	-92,7		78 mgSAN/l
t=0	7,399	1610	2608	2290	660,0	98,5	97,9	6,5	7,3	0,0	815,3	377,0	1058,0	380	2965	T=37°C pH 7,4
t=233	7,352	1863,0			1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,5	1,4	25	2972	3000 mgTAN/l
%değişim		15,7			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,8	-99,9	-99,87	-93,4		94 mgSAN/l

* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

** Uçucu yağ asitlerinin GC'de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

Tablo D.3 Granüler aşı çamuru ile pH 7,8’de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA**, mg/l	PA**, mg/l	BA**, mg/l	IBA**, mg/l	VA**, mg/l	UYA, mgAA/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOl/l	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
i=0	7,760	1690	2508	2156	639,0	98,0	97,0	6,6	9,3	0,0	794,6	1037,0	360	281	T=37°C pH 7,8
i=399	7,725	2053			2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	2,6	1,1	2,3	25	298	262 mgTAN/l
%değişim		21			-99,6	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,7	-99,7	-99,8	-93,4		20 mgSAN/l
TAN (mg/l)															
i=0	7,791	1710	2636	2260	698,0	100,7	100,7	7,3	8,4	0,0	858,2	1110,0	410	1008	T=37°C pH 7,8
i=399	7,710	2043			4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	4,2	1,7	4,4	28	1015	1000 mgTAN/l
%değişim		19			-99,4	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,5	-99,6	-99,6	-93,2		75 mgSAN/l
i=0	7,798	1710	2574	2204	688,0	105,2	104,0	6,4	8,4	0,0	853,5	1095,0	405	1504	T=37°C pH 7,8
i=399	7,687	2045			4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	4,8	1,9	5,1	27	1515	1500 mgTAN/l
%değişim		20			-99,3	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,4	-99,5	-99,5	-93,3		112 mgSAN/l
i=0	7,810	1780	2724	2340	726,0	105,2	104,6	6,6	7,7	0,0	891,6	1140,0	410	1982	T=37°C pH 7,8
i=399	7,706	2180			4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	4,2	1,7	4,5	28	1997	2000 mgTAN/l
%değişim		21			-99,4	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,5	-99,6	-99,6	-93,2		150 mgSAN/l
i=0	7,832	1780	2386	2048	695,0	104,0	102,7	6,2	7,7	0,0	858,1	1102,0	400	2485	T=37°C pH 7,8
i=399	7,731	2170			5,1	0,0	0,0	0,0	0,0	5,1	2,0	5,4	30	2490	2500 mgTAN/l
%değişim		22			-99,3	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,4	-99,5	-99,5	-92,5		187 mgSAN/l
i=0	7,853	1830	2634	2276	699,0	105,3	104,0	6,0	7,8	0,0	864,0	1110,0	410	2983	T=37°C pH 7,8
i=399	7,735	2167			70,1	3,0	2,0	9,5	21,1	0,0	127,0	143,2	78	3000	3000mgTAN/l
%değişim		18			-90,0	-97,2	-98,1	58,2	170,0	0,0	-85,3	-87,1	-81,0		225 mgSAN/l

* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

** Uçucu yağ asitlerinin GC’de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

Tablo D.4 Granüler aşı çamuru ile pH 8,4'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA**, mg/l	PA**, mg/l	BA**, mg/l	IBA**, mg/l	VA**, mg/l	UYA, mgAA/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOl/l	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
t=0	8,356	1830	2590	2222	689,0	99,6	101,8	5,4	6,1	0,0	846,4	386,0	1093,0	392	282
t=686,5	7,913	2210			5,3	1,3	1,2	1,2	1,9	0,0	9,1	5,2	16,0	39	314
%değişim		21			-99,2	-98,7	-98,8	-77,6	-68,7	0,0	-98,9	-98,6	-98,5	-91,1	64 mgSAN/l
TAN (mg/l)															
t=0	8,406	1950	2440	2076	676,0	101,8	104,9	4,4	6,1	0,0	836,7	383,0	1087,0	365	1008
t=893	8,018	2337			18,1	1,0	0,0	2,0	0,0	0,0	20,2	8,8	24,3	63	1008
%değişim		20			-97,3	-99,0	-100,0	-54,7	-100,0	0,0	-97,6	-97,7	-97,8	-83,6	244 mgSAN/l
t=0	8,440	2100	2534	2186	667,0	101,1	103,4	4,6	5,9	0,0	826,1	378,0	1072,0	379	1512
t=1058	8,073	2517			38,3	8,6	0,0	4,4	13,9	0,0	79,0	30,0	90,0	76	1523
%değişim		20			-94,3	-91,5	-100,0	-3,4	135,5	0,0	-90,4	-92,1	-91,6	-79,9	365 mgSAN/l
t=0	8,449	2200	2836	2440	678,0	105,1	108,8	3,9	5,8	0,0	843,5	387,0	1099,0	392	2004
t=1876	8,019	2567			31,5	50,9	0,0	0,7	0,0	0,0	73,2	37,7	111,7	97	2018
%değişim		17			-95,4	-51,6	-100,0	-82,3	-100,0	0,0	-91,3	-90,3	-89,8	-75,3	487 mgSAN/l
t=0	8,458	2260	2410	2066	678,0	104,7	105,0	3,5	5,3	0,0	840,0	385,0	1090,0	392	2488
t=2692	7,951	2663			49,3	74,0	0,0	0,9	16,8	0,0	119,9	66,3	200,7	106	2506
%değişim		18			-92,7	-29,3	-100,0	-73,0	217,4	0,0	-85,7	-82,8	-81,6	-73,0	609 mgSAN/l
t=0	8,460	2360	2410	2078	662,0	104,6	110,6	3,6	5,9	0,0	828,1	382,0	1084,0	385	2988
t=3561	7,900	2760			4,1	103,5	0,0	0,0	0,6	0,0	88,4	52,4	161,0	118	2996
%değişim		17			-99,4	-1,1	-100,0	-100,0	-89,8	0,0	-89,3	-86,3	-85,1	-69,4	731 mgSAN/l

* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

** Uçucu yağ asitlerinin GC'de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

Tablo D.5 Floktüler aşı çamuru ile pH 6,8'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA**, mg/l	PA**, mg/l	BA**, mg/l	IBA**, mg/l	VA**, mg/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOl/l	UYA, mgAA/l	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
i=0	6,787	1070	4232	2256	709,0	106,0	97,6	5,7	10,6	0,0	398,0	1126,0	872,0	410	282
2180	7,039	1360	3980	2180	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	3,3	3,1	27	295	262 mgTAN/l
%değişim		26,2			-99,6	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,7	-99,7	-99,6	-93,4		2 mgSAN/l
TAN (mg/l)															
i=0	6,778	1140	4012	2186	731,0	107,5	100,1	5,3	9,1	0,0	407,0	1152,0	895,0	412	1008
2180	7,030	1430			3,8	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	4,0	3,8	28	1034	1000 mgTAN/l
%değişim		25,4			-99,5	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,6	-99,6	-99,6	-93,2		8 mgSAN/l
i=0	6,799	1190	4200	2200	740,0	107,0	101,1	5,5	9,9	0,0	412,0	1170,0	905,0	418	1508
2180	7,025	1487			4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	4,2	4,0	27	1512	1500 mgTAN/l
%değişim		25,0			-99,5	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,6	-99,6	-99,6	-93,5		12 mgSAN/l
i=0	6,768	1210	4102	2215	760,0	109,8	101,0	5,8	10,0	0,0	422,0	1192,0	928,0	427	1988
2180	7,038	1475	3760	2130	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	3,1	2,9	28	2013	2000 mgTAN/l
%değişim		21,9			-99,6	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,7	-99,7	-99,7	-93,4		16 mgSAN/l
i=0	6,797	1235	4122	2310	736,0	109,0	101,0	5,6	10,0	0,0	412,0	1165,0	903,0	418	2492
2180	7,001	1497			3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	3,4	3,2	24	2520	2500 mgTAN/l
%değişim		21,2			-99,6	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,7	-99,7	-99,7	-94,2		20 mgSAN/l
i=0	6,815	1240	4048	2254	751,0	109,0	101,0	5,6	9,9	0,0	417,0	1180,0	918,0	425	2982
2180	7,028	1483	4140	2330	8,3	0,0	0,0	0,0	5,3	0,0	6,5	19,8	11,4	44	2996
%değişim		19,6			-98,9	-100,0	-100,0	-100,0	-46,0	0,0	-98,5	-98,3	-89,6		24 mgSAN/l

* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

**Uçucu yağ asitlerinin GC'de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

Tablo D.6 Floküler aşı çamuru ile pH 7,4' de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA ^{**} , mg/l	PA ^{**} , mg/l	BA ^{**} , mg/l	IBA ^{**} , mg/l	VA ^{**} , mg/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOL/l	UYA, mgAA/l	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
t=0	7,345	1440	4248	2230	732,0	112,0	111,9	5,7	9,5	0,0	417,0	1184,0	908,6	422	280
t=2180	7,363	1687	3880	2100	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	2,7	2,6	26	297	262 mgTAN/l
%değişim		17,1			-99,6	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,8	-99,8	-99,7	-93,8		8 mgSAN/l
TAN (mg/l)															
t=0	7,399	1560	4178	2228	743,0	105,0	101,0	5,4	9,4	0,0	412,0	1164,0	906,2	417	1006
t=2180	7,316	1787			1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	2,0	1,9	31	1025	1000 mgTAN/l
%değişim		14,5			-99,7	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,7	-99,8	-99,8	-92,6		31 mgSAN/l
t=0	7,410	1560	4168	2246	744,0	105,6	101,6	4,4	9,6	0,0	413,0	1167,0	907,5	420	1484
t=2180	7,283	1785			4,9	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	5,2	4,9	31	1507	1500 mgTAN/l
%değişim		14,4			-99,3	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	-99,5	-99,6	-99,5	-92,6		47 mgSAN/l
t=0	7,401	1600	4082	2214	734,0	104,0	101,0	4,9	9,4	0,0	407,0	1152,0	896,1	417	1985
t=2180	7,264	1835	3870	2110	9,2	0,0	0,0	0,0	1,9	0,0	4,8	10,3	33	2016	2000 mgTAN/l
%değişim		14,7			-98,8	-100,0	-100,0	-100,0	-79,7	0,0	-98,8	-98,8	-92,1		62 mgSAN/l
t=0	7,397	1560	4046	2194	748,0	105,4	100,6	4,7	9,1	0,0	413,0	1168,0	910,6	417	2492
t=2180	7,307	1793			1,8	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	1,4	2,5	37	2500	2500 mgTAN/l
%değişim		14,9			-99,8	-100,0	-100,0	-100,0	-86,8	0,0	-99,7	-99,7	-91,1		78 mgSAN/l
t=0	7,425	1590	4044	2190	743,0	106,0	101,0	4,9	9,2	0,0	412,0	1164,0	906,6	417	2982
t=2180	7,311	1830			20,0	0,0	0,2	2,0	7,8	0,0	13,8	41,3	36,5	48	3009
%değişim		15,1			-97,3	-100,0	-99,8	-59,9	-15,4	0,0	-96,7	-96,5	-88,5		94 mgSAN/l

* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

** Uçucu yağ asitlerinin GC'de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

Tablo D.7 Floktüler aşı çamuru ile pH 7,8'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA**, mg/l	PA**, mg/l	BA**, mg/l	IBA**, mg/l	IVA**, mg/l	VA**, mg/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOl/l	UYA, mgAA/l	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
t=0	7,784	1610	4148	2178	720,0	104,1	101,7	5,2	10,7	0,0	404,0	1142,0	883,6	417	283	T=37°C pH 7,8
t=2515	7,535	2080	4410	2110	5,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1	5,6	5,2	27	306	262 mgTAN/l
%değişim		29,2			-99,3	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0		-99,5	-99,5	-99,4	-93,5		20 mgSAN/l
TAN (mg/l)																
t=0	7,744	1690	4132	2208	746,0	107,1	103,0	5,3	10,7	0,0	416,0	1177,0	913,0	417	1009	T=37°C pH 7,8
t=2515	7,480	2090			2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	3,0	2,8	26	1014	1000 mgTAN/l
%değişim		23,7			-99,6	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,7	-99,7	-99,7	-93,8		75 mgSAN/l
t=0	7,788	1690	4184	2270	778,0	110,0	106,5	5,1	10,5	0,0	432,0	1221,0	949,5	438	1496	T=37°C pH 7,8
t=4370	7,470	2170			29,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	11,9	31,3	29,3	68	1510	1500 mgTAN/l
%değişim		28,4			-96,2	-100,0	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-97,2	-97,4	-96,9	-84,4		112 mgSAN/l
t=0	7,838	1740	4064	2140	767,0	110,0	106,4	5,6	10,7	0,0	427,0	1200,0	938,9	427	2013	T=37°C pH 7,8
t=4370	7,518	2170			17,3	0,0	0,7	4,7	10,0	0,0	15,7	48,7	26,9	76	2015	2000 mgTAN/l
%değişim		24,7			-97,7	-100,0	-99,3	-16,9	-6,9	0,0	-96,3	-95,9	-97,1	-82,2		150 mgSAN/l
t=0	7,786	1760	4098	2246	762,0	108,0	105,7	6,1	10,3	0,0	424,0	1200,0	931,9	427	2487	T=37°C pH 7,8
t=4370	7,479	2193			18,5	0,6	0,7	8,5	16,4	0,0	23,5	74,7	36,0	87	2494	2500 mgTAN/l
%değişim		24,6			-97,6	-99,5	-99,4	39,7	77,9	0,0	-94,5	-93,8	-96,1	-79,6		187 mgSAN/l
t=0	7,811	1760	4238	2232	719,0	113,0	111,1	5,4	10,5	0,0	413,0	1171,0	896,2	417	2999	T=37°C pH 7,8
t=4370	7,479	2230			26,5	19,7	2,9	13,8	22,5	0,5	42,9	135,4	67,4	106	3002	3000mgTAN/l
%değişim		26,7			-96,3	-82,6	-97,4	156,3	114,8		-89,6	-88,4	-92,5	-74,6		225 mgSAN/l

* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

** Uçucu yağ asitlerinin GC'de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

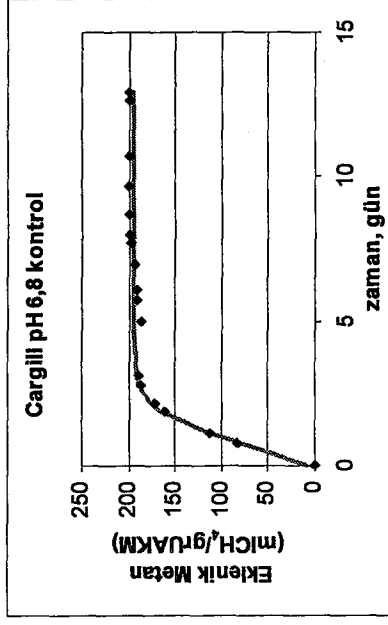
Tablo D.8 Floküler aş çamuru ile pH 8,4'de yapılan deneylerde ölçülen parametrelerin başlangıç ve sonuç değerleri*

Parametre	pH	Alkalinite, mgCaCO ₃ /l	AKM, mg/l	UAKM, mg/l	AA**, mg/l	PA**, mg/l	BA**, mg/l	IBA**, mg/l	IVA**, mg/l	VA**, mg/l	UYA, mgAA/l	UYA, mgÇOK/l	UYA, mgKOL	ÇOK, mg/l	TAN, mg/l	SAN, mg/l
252	t=0	8,368	1740	4244	2210	716,0	104,0	101,4	5,9	11,1	0,0	880,0	402,0	1139,0	417	279
	t=25'15	7,700	2240	4490	2260	5,7	0,0	0,0	0,0	0,0	5,7	2,3	6,1	41	286	T=37°C pH 8,4 262 mgTAN/l
	%değişim		28,4			-99,2	-100,0	-100,0	-100,0	0,0	-99,4	-99,4	-99,5	-90,2		63 mgSAN/l
1000	t=0	8,446	1900	4144	2146	731,0	106,0	104,0	6,0	10,8	0,0	898,3	410,0	1163,0	417	996
	t=43'70	7,886	2325			4,1	1,0	2,3	7,6	19,3	0,0	23,0	19,0	63,1	96	1016
	%değişim		22,4			-99,4	-99,1	-97,8	27,2	77,7	0,0	-97,4	-95,4	-94,6	-77,0	244 mgSAN/l
1500	t=0	8,448	2040	3994	2100	744,0	107,1	105,0	5,7	10,5	0,0	912,4	416,0	1178,0	417	1484
	t=43'70	7,991	2383			484,2	66,8	39,9	17,5	33,9	1,5	598,3	278,4	794,3	348	1504
	%değişim		16,8			-34,9	-37,6	-62,0	208,9	223,7	0,0	-34,4	-33,1	-32,6	-16,5	T=37°C pH 8,4 1500 mgTAN/l 365 mgSAN/l
2000	t=0	8,481	2080	4210	2195	751,0	107,6	106,2	5,7	10,2	0,0	920,5	420,0	1188,0	427	1986
	t=43'70	8,105	2410			703,5	95,2	43,4	20,4	31,8	2,0	843,8	382,5	1079,5	407	2004
	%değişim		15,9			-6,3	-11,5	-59,2	260,2	211,5		-8,3	-8,9	-9,1	-4,7	T=37°C pH 8,4 2000mgTAN/l 487 mgSAN/l
2500	t=0	8,437	2250	4138	2208	742,0	109,8	107,3	5,8	10,5	0,0	914,3	418,0	1185,0	427	2496
	t=43'70	8,107	2497			694,0	108,8	41,9	24,6	34,4	2,3	849,2	388,3	1101,3	409	2503
	%değişim		11,0			-6,5	-0,9	-60,9	324,9	228,6		-7,1	-7,1	-7,1	-4,2	T=37°C pH 8,4 2500mgTAN/l 609 mgSAN/l
3000	t=0	8,470	2330	3856	2016	764,0	109,3	107,3	5,6	10,8	0,0	935,9	427,0	1208,0	432	2972
	t=43'70	8,100	2530			756,0	107,5	12,8	26,6	37,6	1,5	893,1	399,3	1121,0	420	3006
	%değişim		8,6			-1,0	-1,6	-88,1	378,4	248,8		-4,6	-6,5	-7,2	-2,8	T=37°C pH 8,4 3000mgTAN/l 731 mgSAN/l

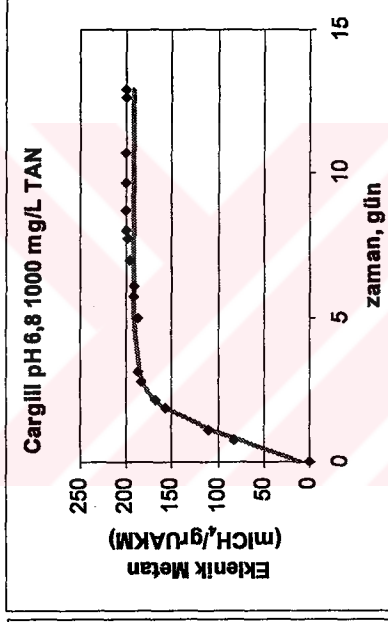
* Tablodaki her bir parametre değeri 3 adet manometreden alınan örneklerin ortalamasıdır.

**Uçucu yağ asitlerinin GC'de belirlenebilen en düşük konsantrasyonları: AA=3mg/l; PA=3,7mg/l; BA=IBA=4,4mg/l; VA=IVA=5,1mg/l

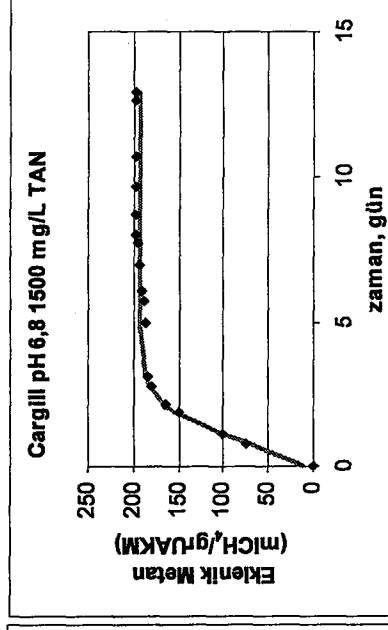
EK E – EKLENİK METAN ÜRETİM VERİLERİ VE GOMPERTZ MODELİNE UYUMU



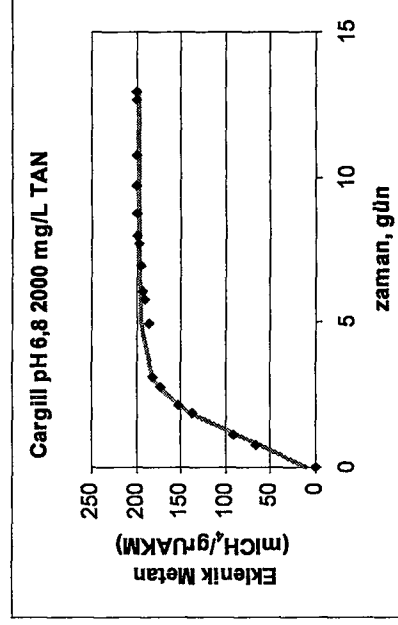
Şekil E.1 Granüller çamur pH 6,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



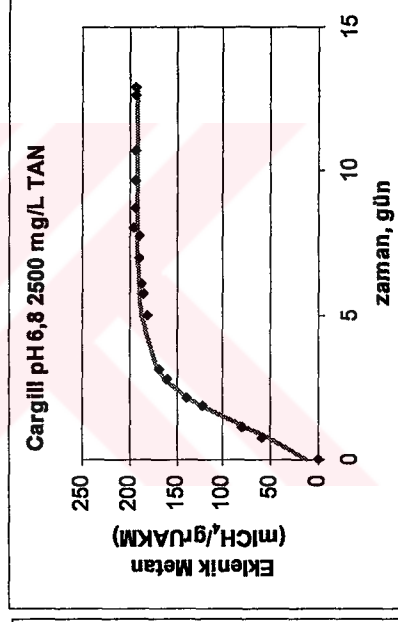
Şekil E.2 Granüller çamur pH 6,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



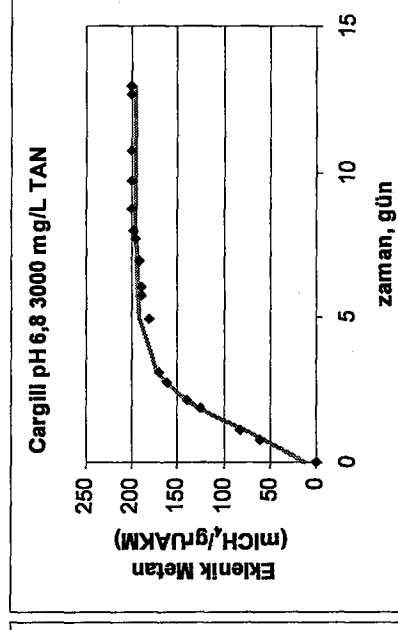
Şekil E.3 Granüller çamur pH 6,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



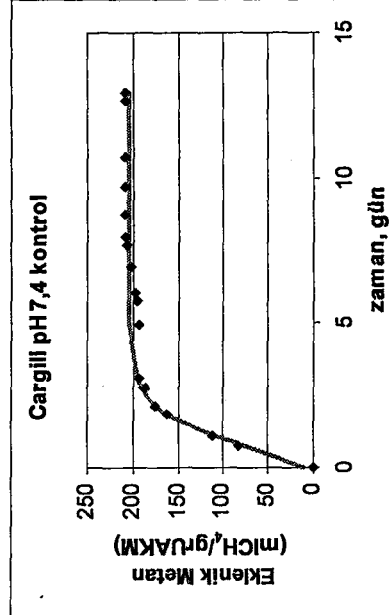
Şekil E.4 Granüller çamur pH 6,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



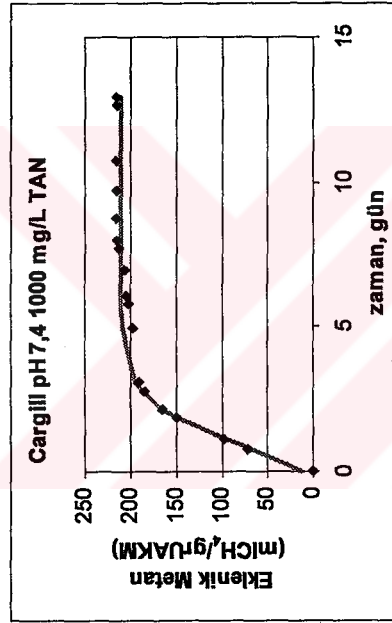
Şekil E.5 Granüller çamur pH 6,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



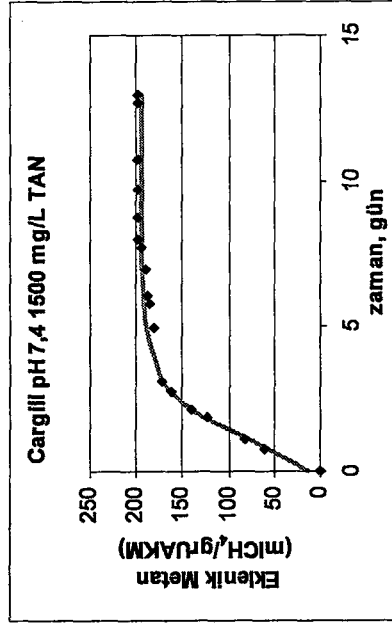
Şekil E.6 Granüller çamur pH 6,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



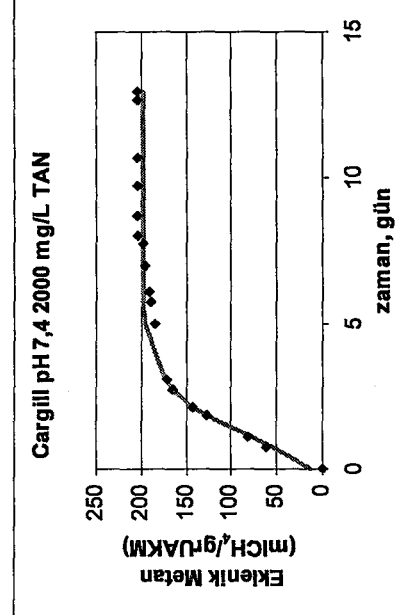
Şekil E.7 Granüller çamur pH 7,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



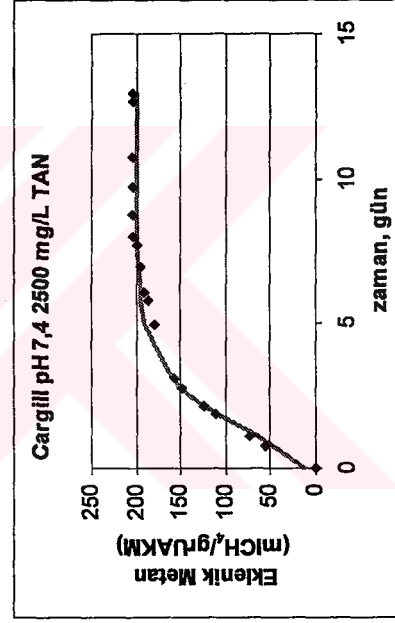
Şekil E.8 Granüller çamur pH 7,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



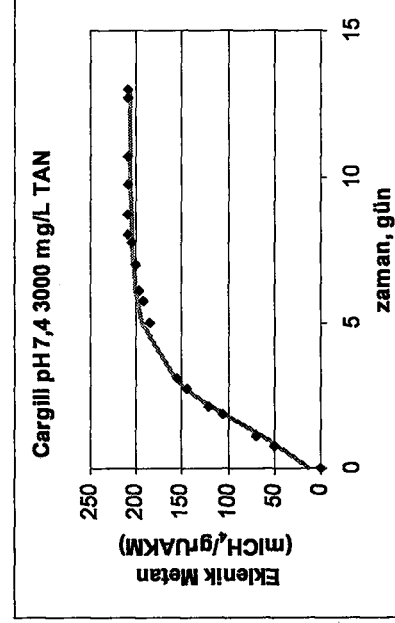
Şekil E.9 Granüller çamur pH 7,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



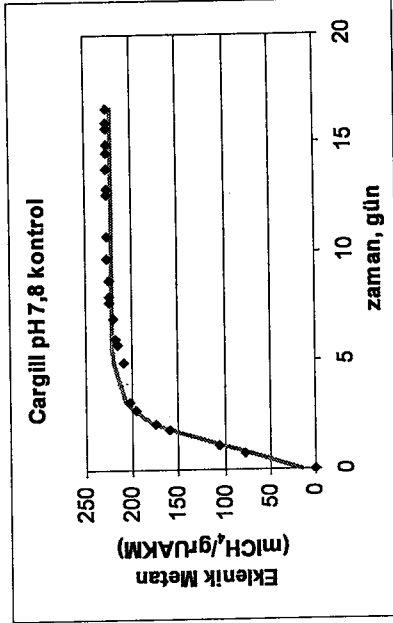
Şekil E.10 Granüller çamur pH 7,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



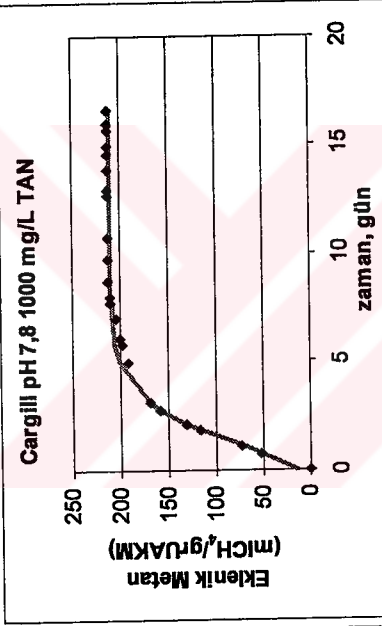
Şekil E.11 Granüller çamur pH 7,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



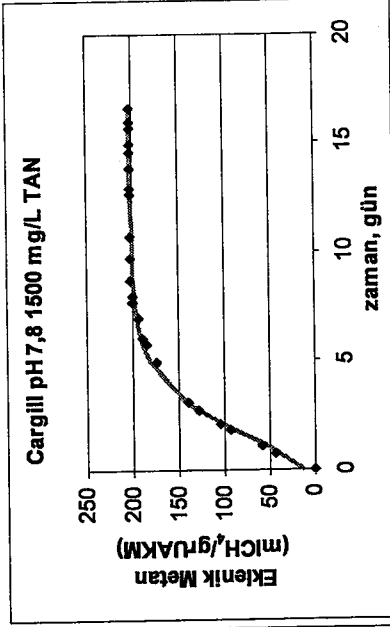
Şekil E.12 Granüller çamur pH 7,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



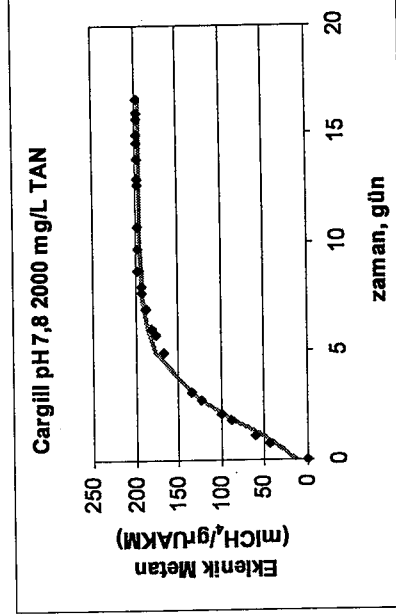
Şekil E.13 Granüller çamur pH 7,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



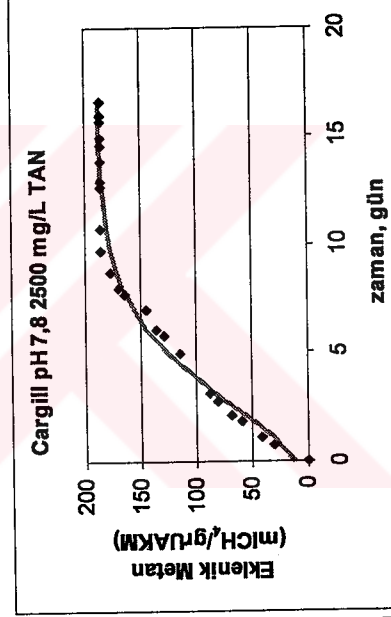
Şekil E.14 Granüller çamur pH 7,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



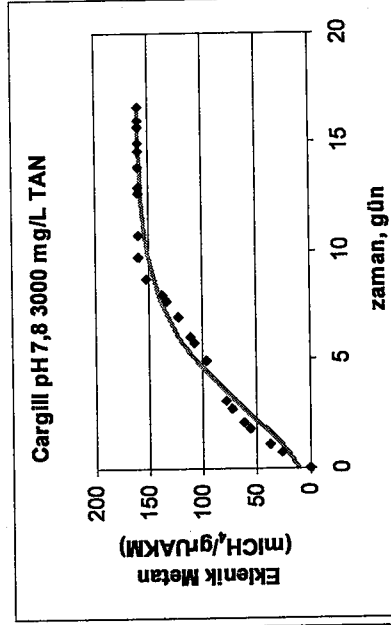
Şekil E.15 Granüller çamur pH 7,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



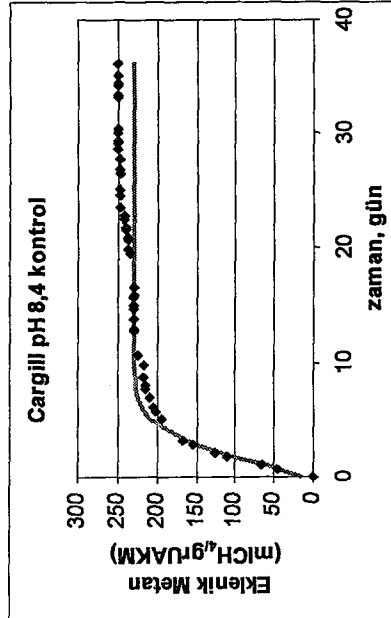
Şekil E.16 Granüller çamur pH 7,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



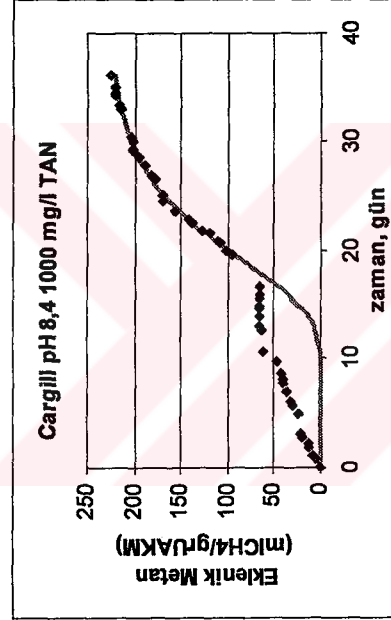
Şekil E.17 Granüller çamur pH 7,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



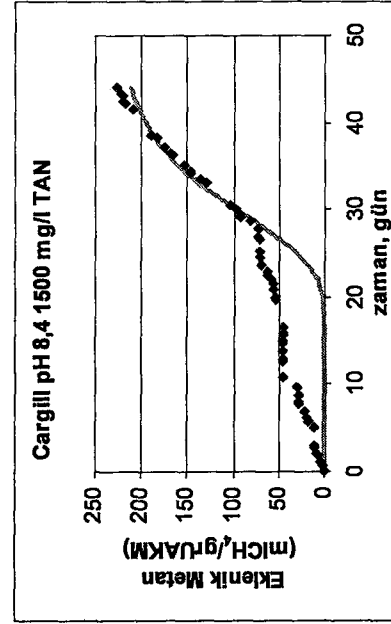
Şekil E.18 Granüller çamur pH 7,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



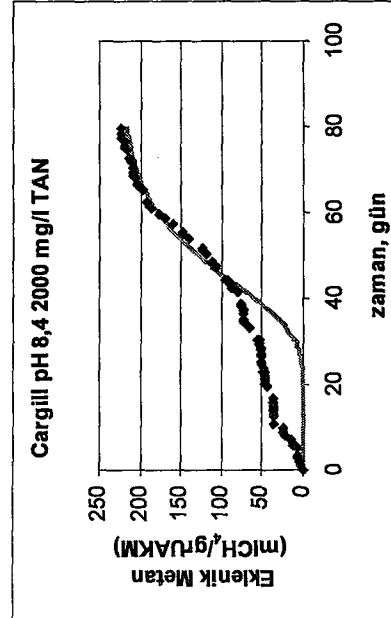
Şekil E.19 Granüller çamur pH 8,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



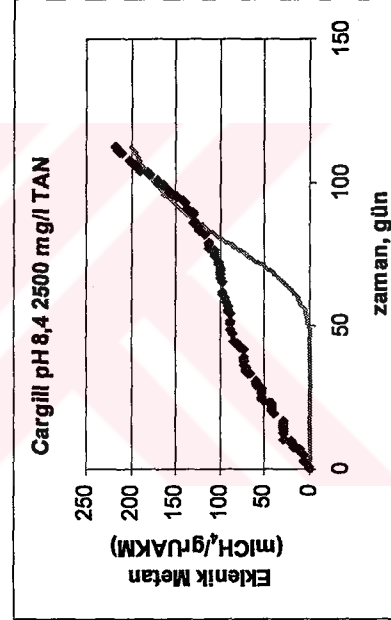
Şekil E.20 Granüller çamur pH 8,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



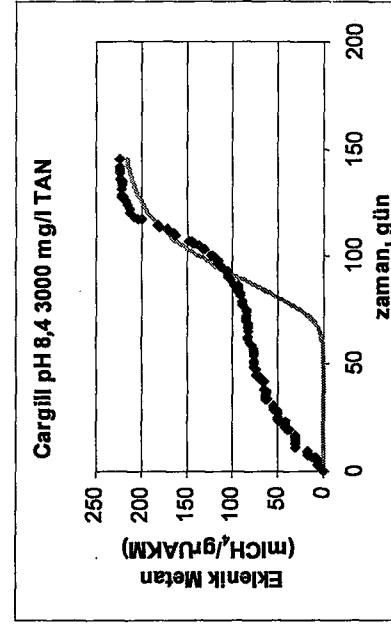
Şekil E.21 Granüller çamur pH 8,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



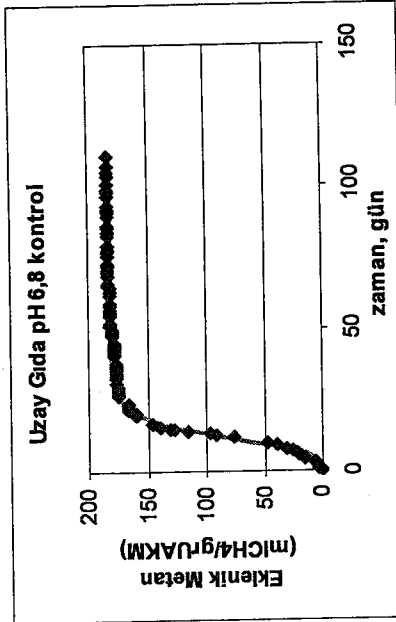
Şekil E.22 Granüller çamur pH 8,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



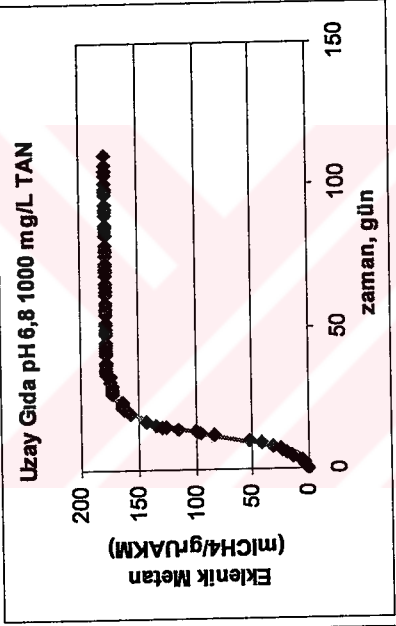
Şekil E.23 Granüller çamur pH 8,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



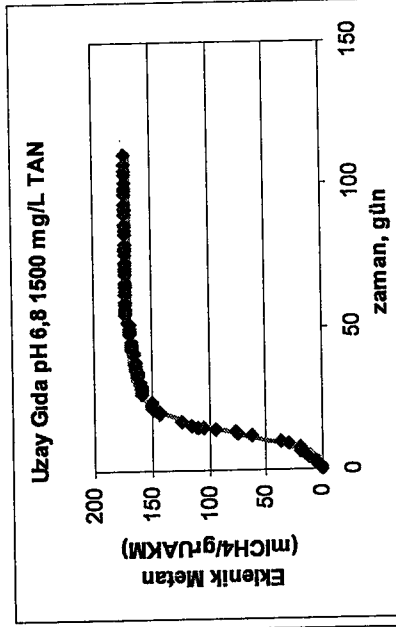
Şekil E.24 Granüller çamur pH 8,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



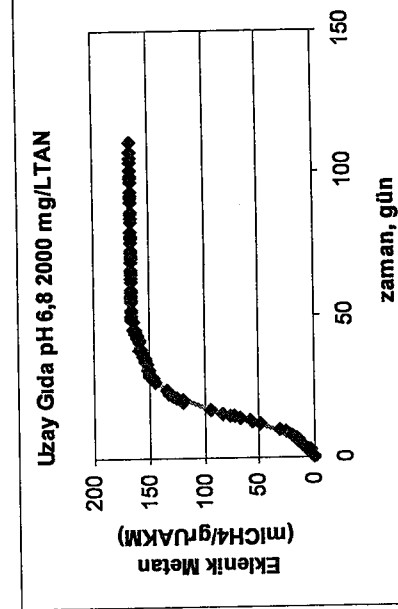
Şekil E.25 Floktüler çamur pH 6,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



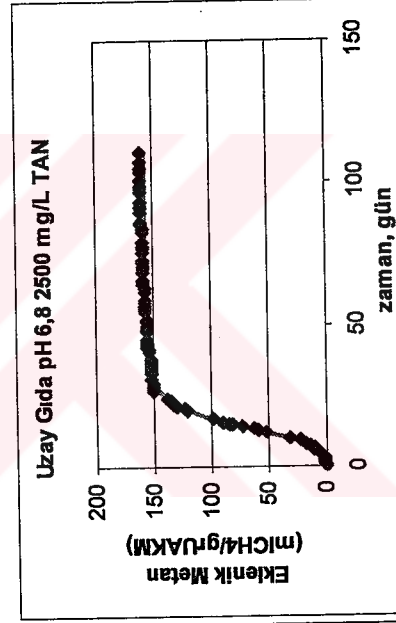
Şekil E.26 Floktüler çamur pH 6,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



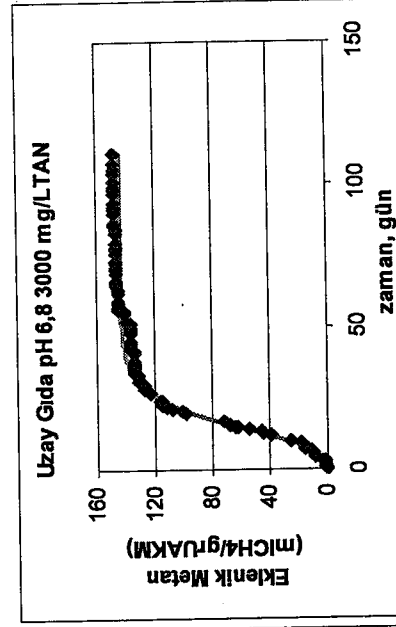
Şekil E.27 Floktüler çamur pH 6,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



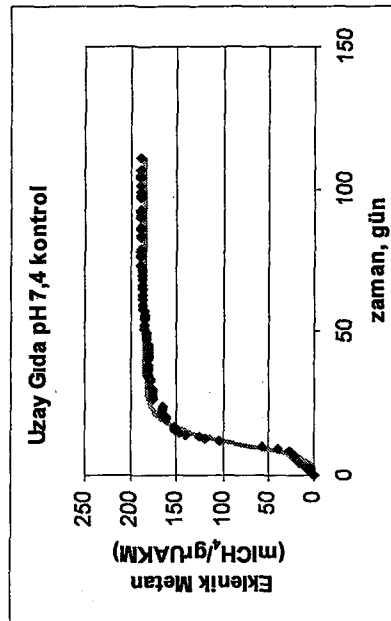
Şekil E.28 Floktüler çamur pH 6,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



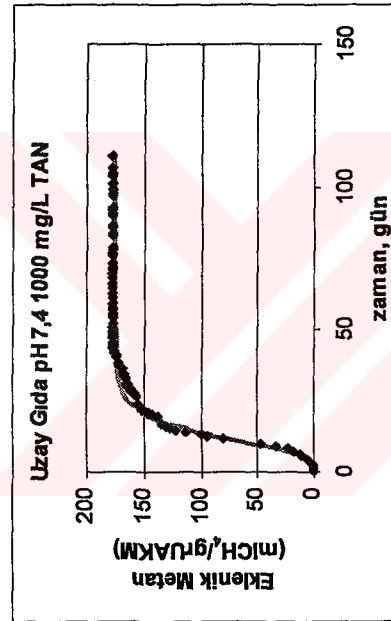
Şekil E.29 Floktüler çamur pH 6,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



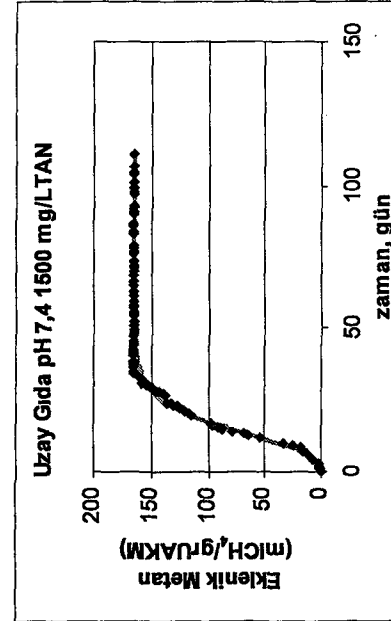
Şekil E.30 Floktüler çamur pH 6,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



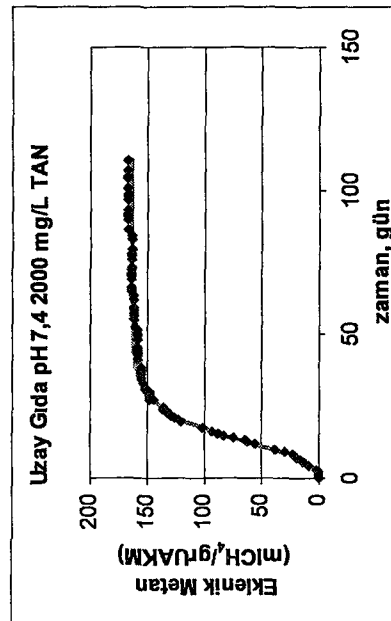
Şekil E.31 Floktüler çamur pH 7,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



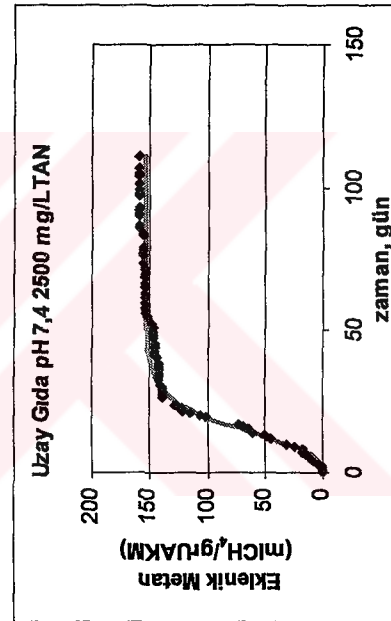
Şekil E.32 Floktüler çamur pH 7,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



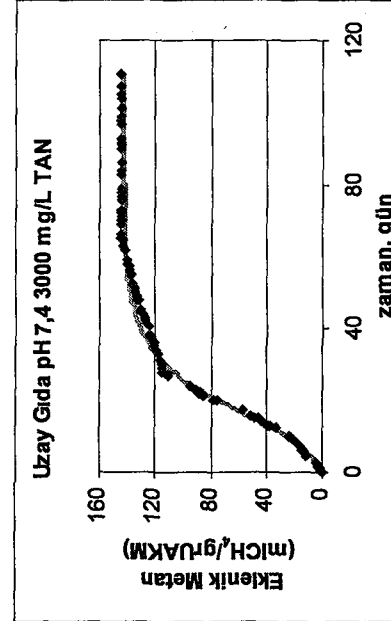
Şekil E.33 Floktüler çamur pH 7,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



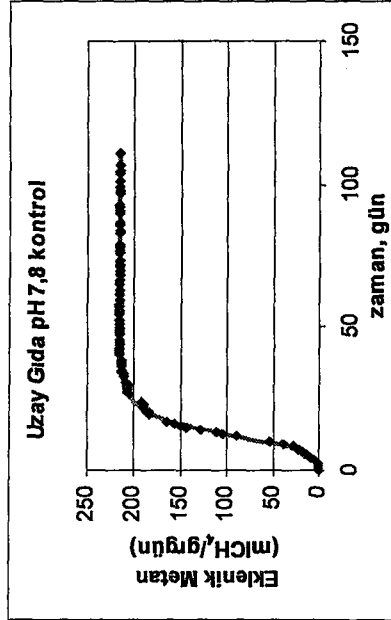
Şekil E.34 Floktüler çamur pH 7,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



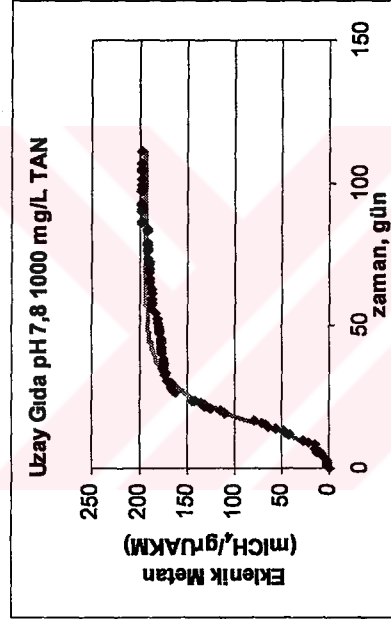
Şekil E.35 Floktüler çamur pH 7,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



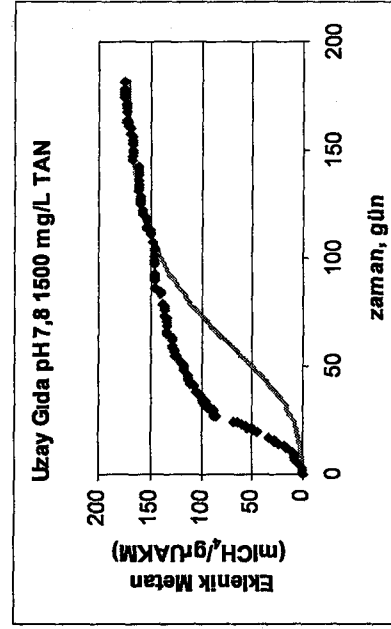
Şekil E.36 Floktüler çamur pH 7,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



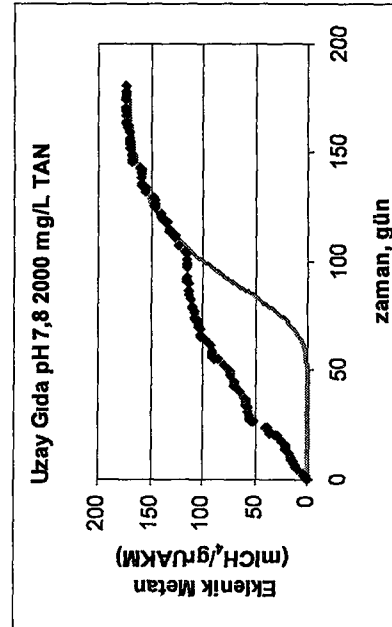
Şekil E.37 Floktüler çamur pH 7,8 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



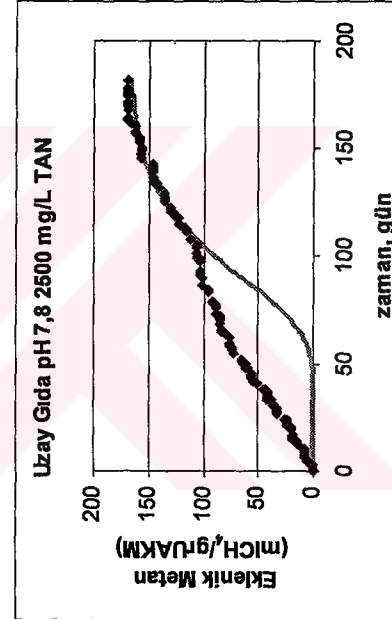
Şekil E.38 Floktüler çamur pH 7,8 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



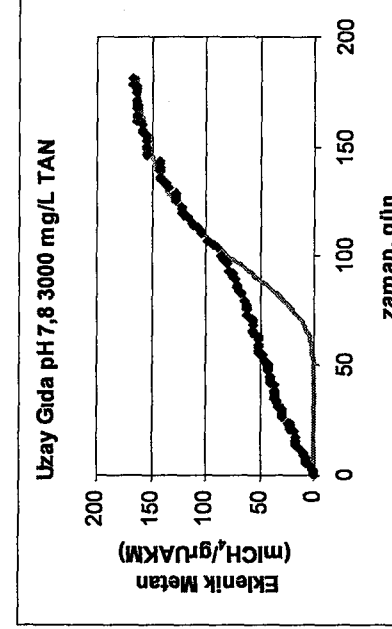
Şekil E.39 Floktüler çamur pH 7,8 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



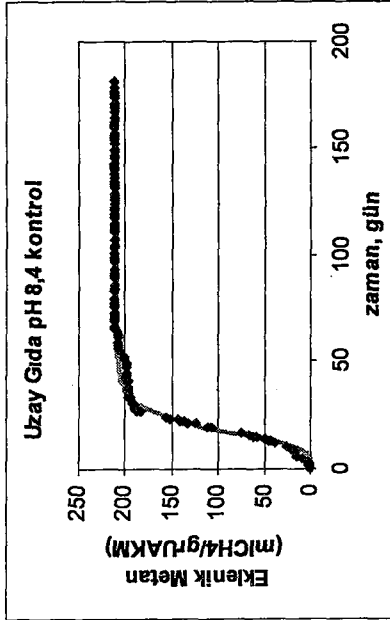
Şekil E.40 Floktüler çamur pH 7,8 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



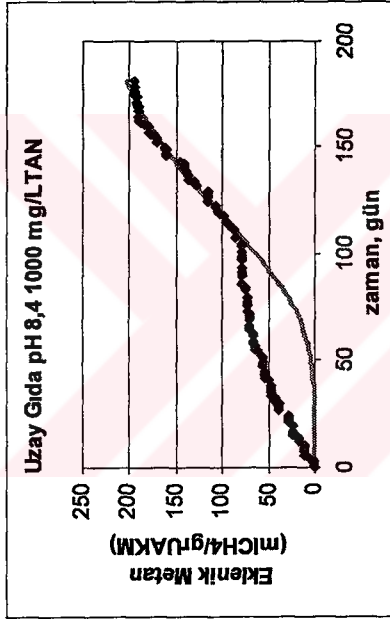
Şekil E.41 Floktüler çamur pH 7,8 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



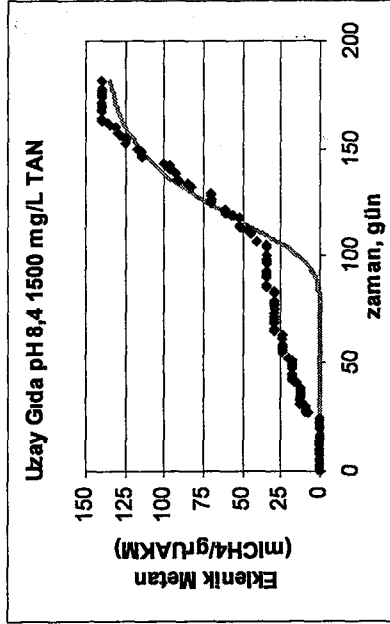
Şekil E.42 Floktüler çamur pH 7,8 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



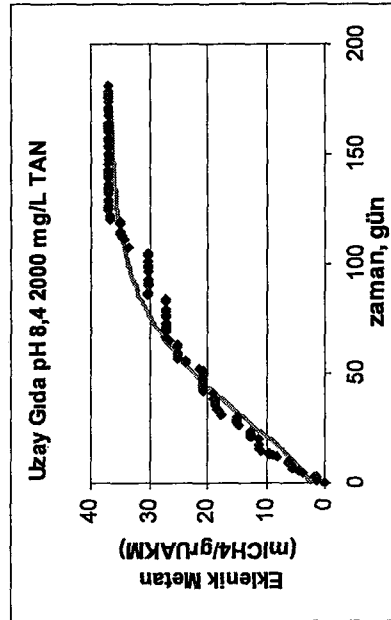
Şekil E.43 Floküler çamur pH 8,4 kontrol eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



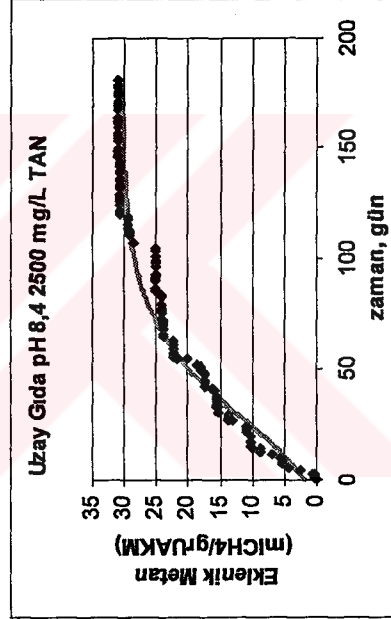
Şekil E.44 Floküler çamur pH 8,4 1000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



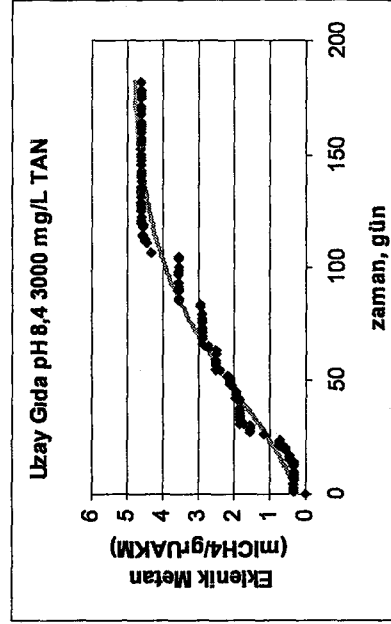
Şekil E.45 Floküler çamur pH 8,4 1500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



Şekil E.46 Floküler çamur pH 8,4 2000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli



Şekil E.47 Floküler çamur pH 8,4 2500 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli

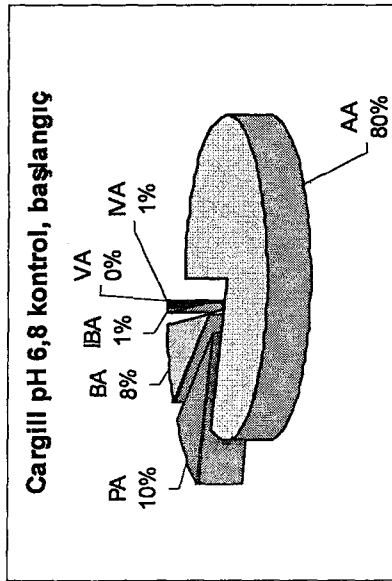


Şekil E.48 Floküler çamur pH 8,4 3000 mg/l TAN eklenik metan üretimi ve Gompertz modeli

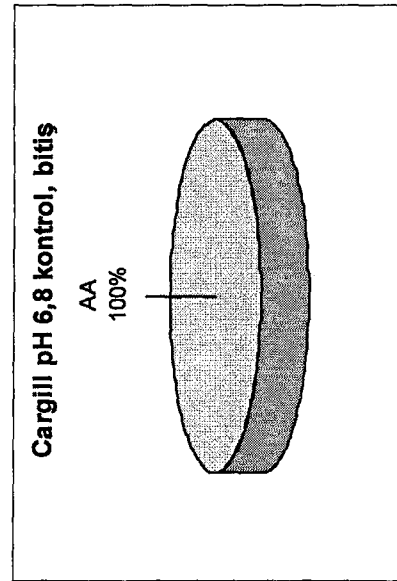
EK F – UÇUCU YAĞ ASİTLERİ BİLEŞİMİNİN DEĞİŞİMİ

Bu bölümde, Ek D’de verilen parametre tablolarında asetik asit cinsinden değişimi verilen uçucu yağ asitlerinin, reaksiyon ortamındaki yüzdelik değişim grafikleri sunulmuştur. Bu grafiklerde bazı dikkat edilmesi gereken durumlar söz konusudur: örneğin inhibisyon olmayan deney serilerinde, deney sonundaki asetik asidin %100’lük değeri yanıltıcı olmamalıdır (sözü edilen grafiklerde asetik asit konsantrasyonu 10 mg/l’nin altında olmasına rağmen ortamda başka herhangi bir uçucu yağ asidinin bulunmaması dolayısıyla asetik asit %100 olarak gözükmetedir). Sonuç olarak bu ekte verilen değişim yüzdesi grafikleri, Ek D’de verilen parametre değişiminin değişimi ile birlikte değerlendirilmelidir.

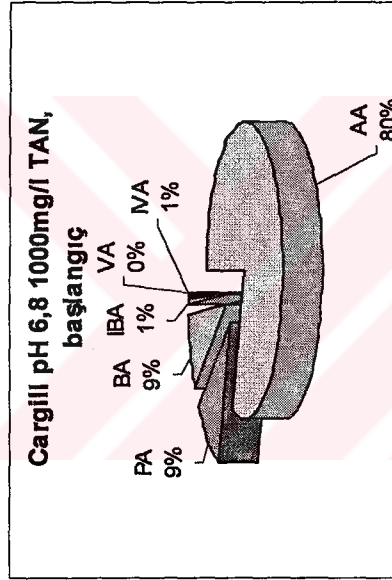




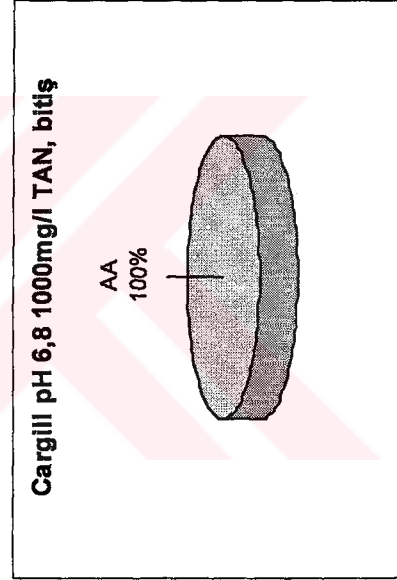
Şekil F. 1. Granüller çamur pH 6,8 kontrol başlangıç UYA değişimi



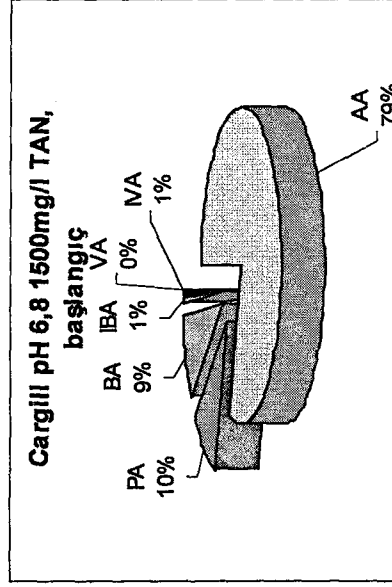
Şekil F. 2. Granüller çamur pH 6,8 kontrol bitiş UYA değişimi



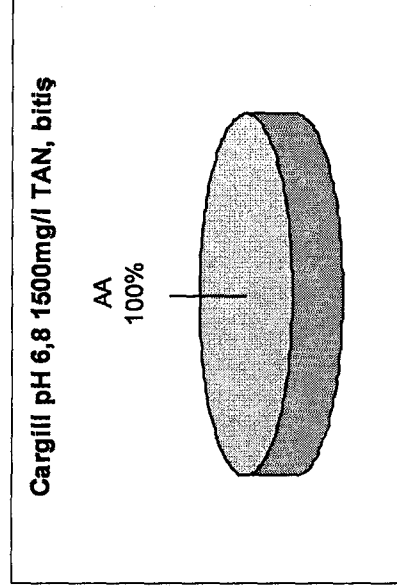
Şekil F. 3. Granüller çamur pH 6,8 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



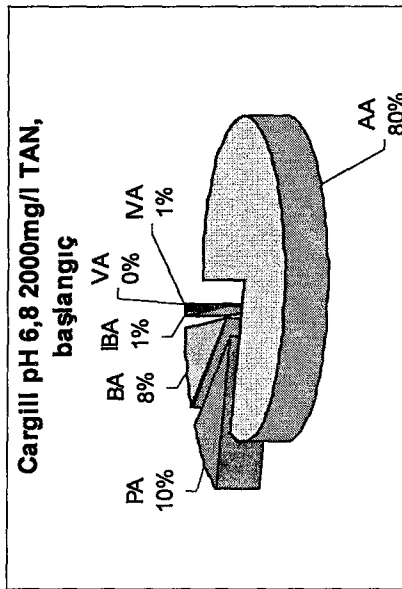
Şekil F. 4. Granüller çamur pH 6,8 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



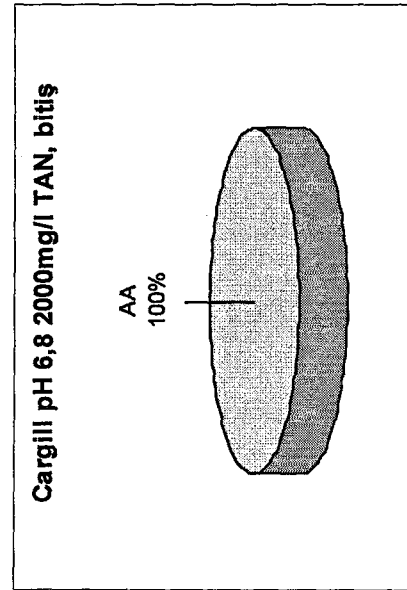
Şekil F. 5. Granüller çamur pH 6,8 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



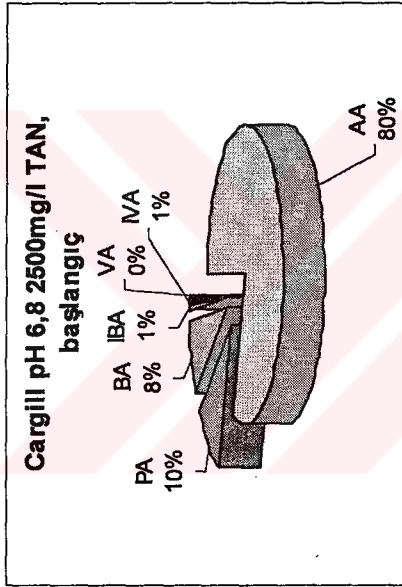
Şekil F. 6. Granüller çamur pH 6,8 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



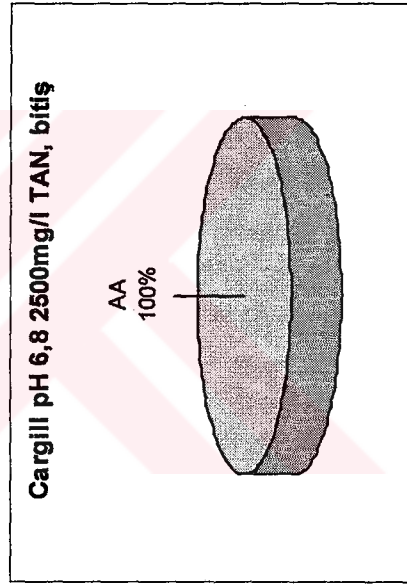
Şekil F.7. Grantler çamur pH 6,8 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



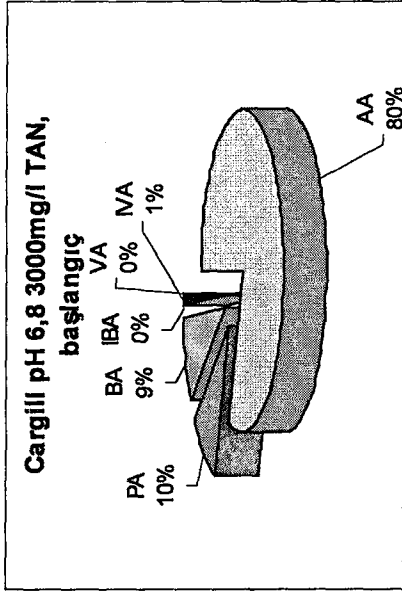
Şekil F. 8. Grantler çamur pH 6,8 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



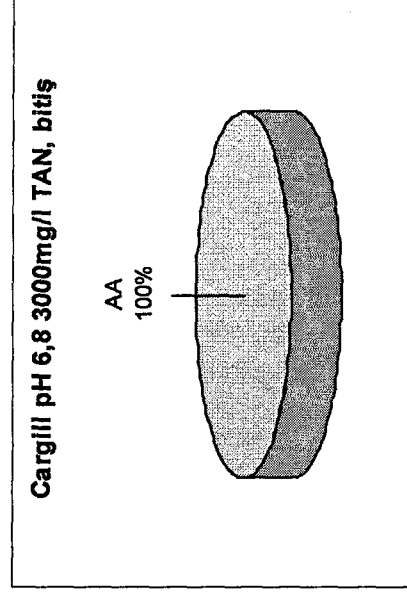
Şekil F. 9. Grantler çamur pH 6,8 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



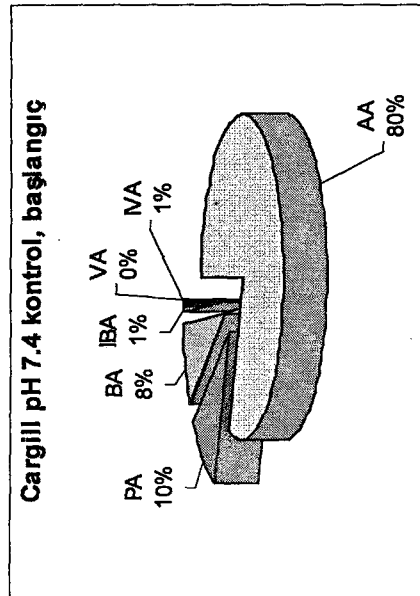
Şekil F. 10. Grantler çamur pH 6,8 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



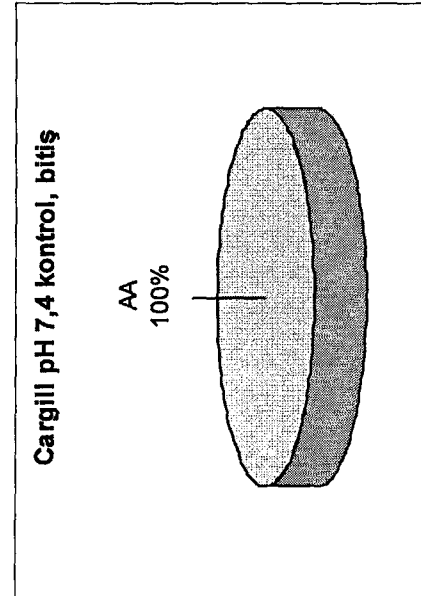
Şekil F. 11. Grantler çamur pH 6,8 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



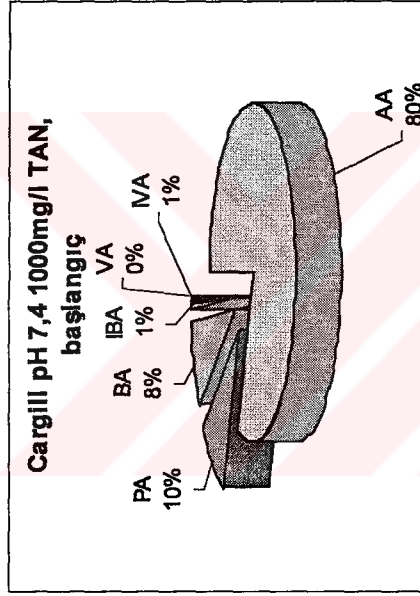
Şekil F. 12. Grantler çamur pH 6,8 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



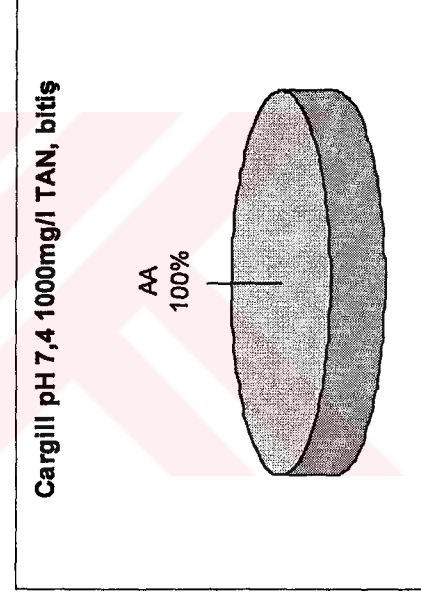
Şekil F. 13. Grantler çamur pH 7,4 kontrol başlangıç UYA değişimi



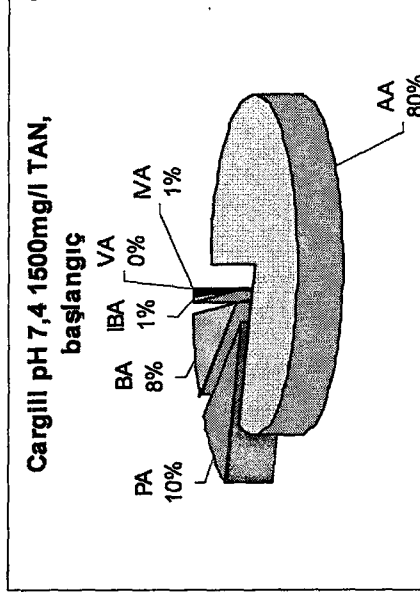
Şekil F. 14. Grantler çamur pH 7,4 kontrol bitiş UYA değişimi



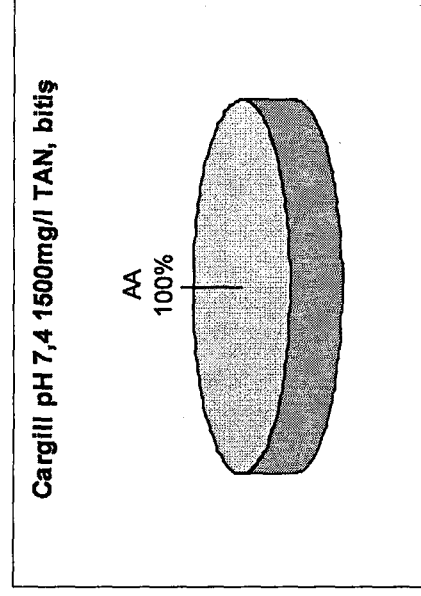
Şekil F. 15. Grantler çamur pH 7,4 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



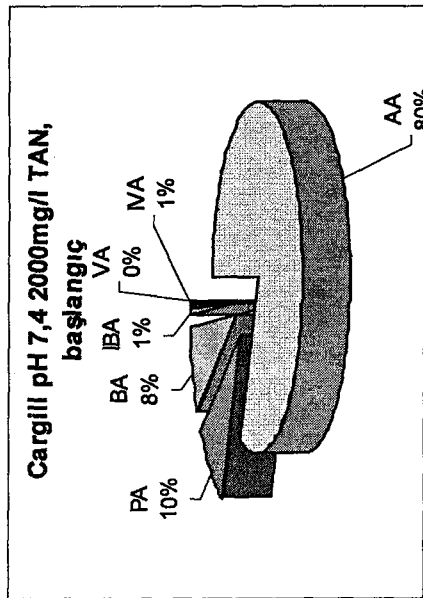
Şekil F. 16. Grantler çamur pH 7,4 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



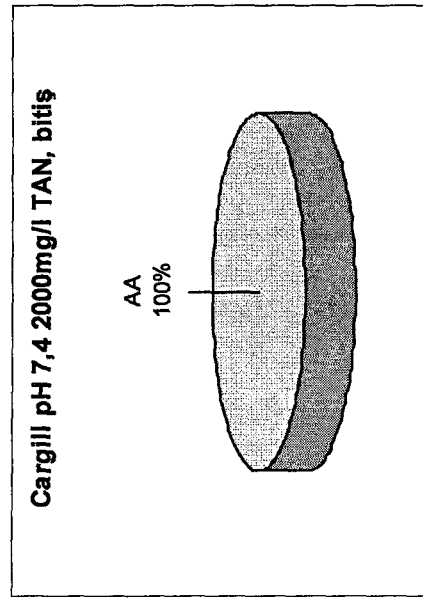
Şekil F. 17. Grantler çamur pH 7,4 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



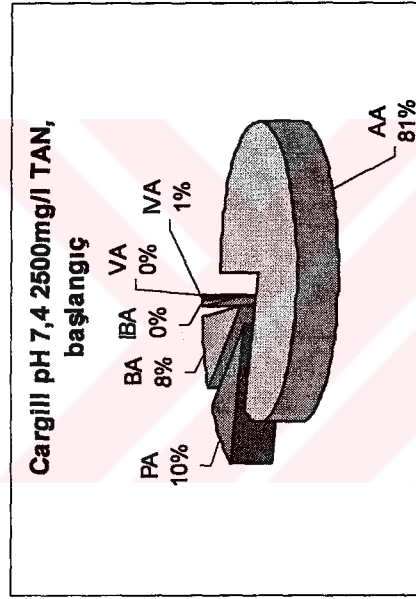
Şekil F. 18. Grantler çamur pH 7,4 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



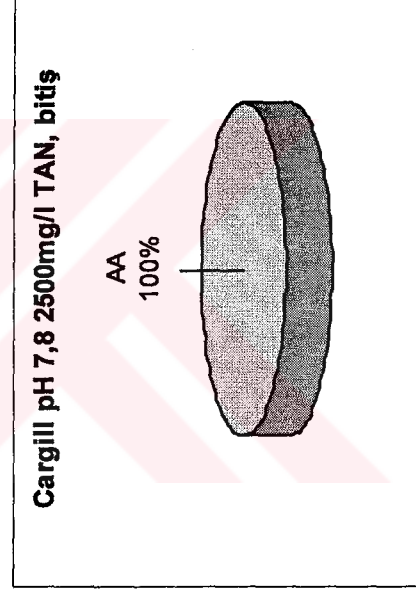
Şekil F. 19. Granüller çamur pH 7,4 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



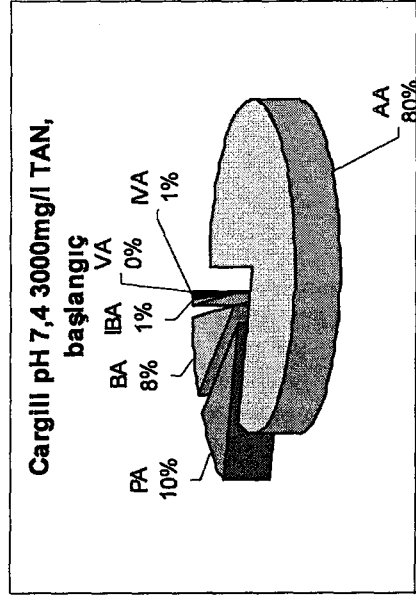
Şekil F. 20. Granüller çamur pH 7,4 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



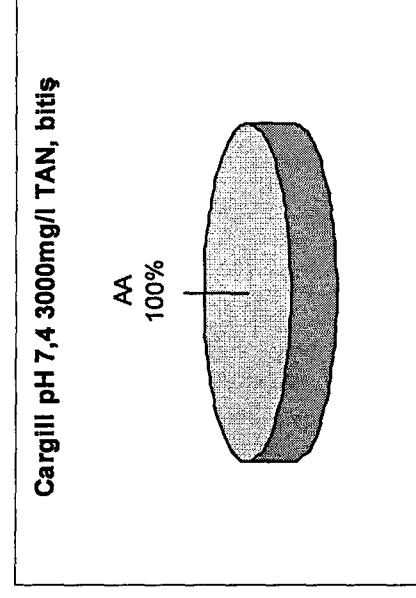
Şekil F. 21. Granüller çamur pH 7,4 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



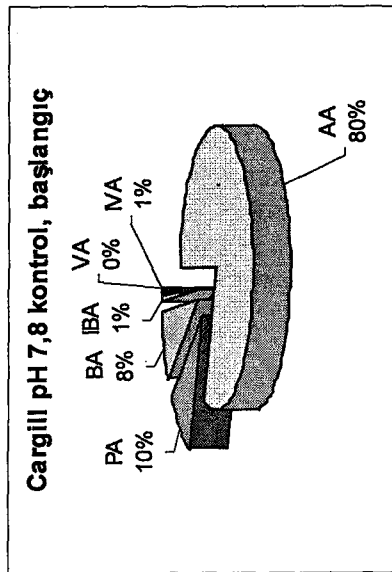
Şekil F. 22. Granüller çamur pH 7,4 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



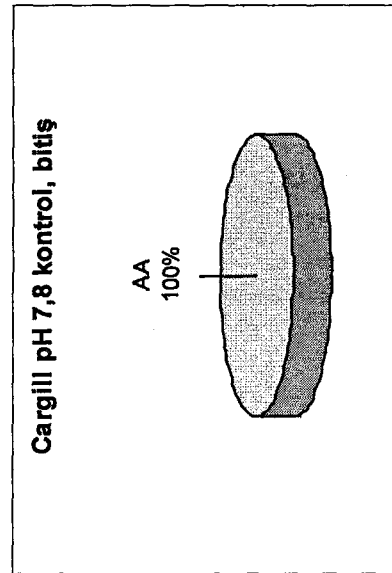
Şekil F. 23. Granüller çamur pH 7,4 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



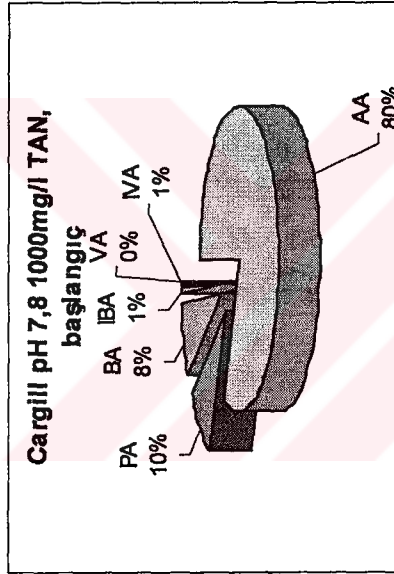
Şekil F. 24. Granüller çamur pH 7,4 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



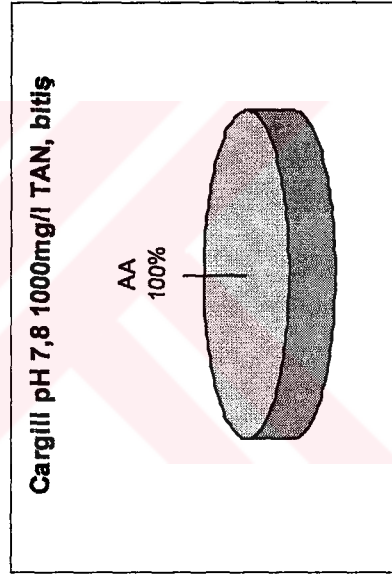
Şekil F. 25. Granüller çamur pH 7,8 kontrol başlangıç UYA değişimi



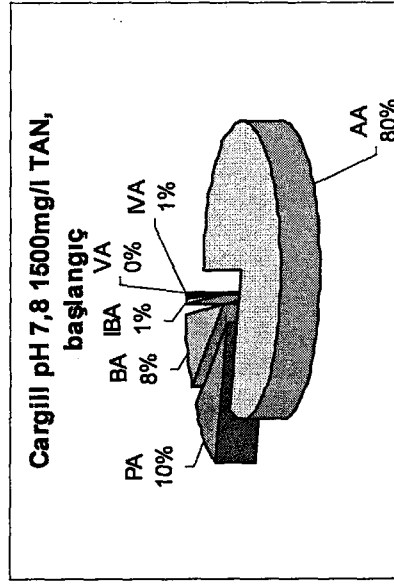
Şekil F. 26. Granüller çamur pH 7,8 kontrol bitiş UYA değişimi



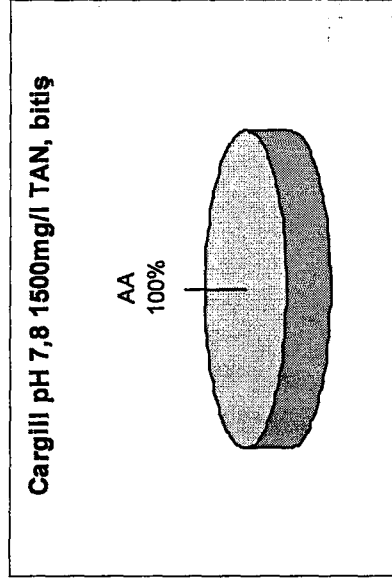
Şekil F. 27. Granüller çamur pH 7,8 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



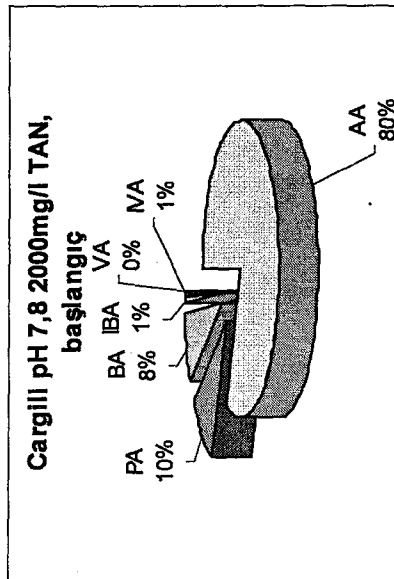
Şekil F. 28. Granüller çamur pH 7,8 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



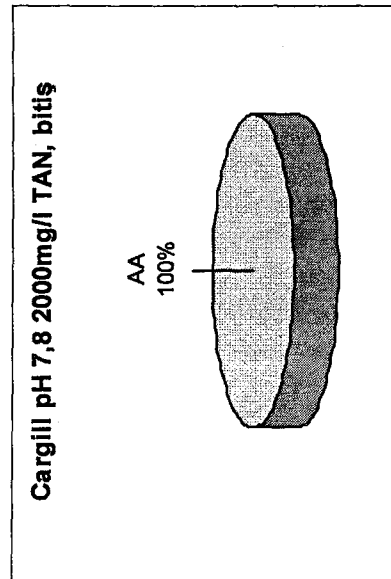
Şekil F. 29. Granüller çamur pH 7,8 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



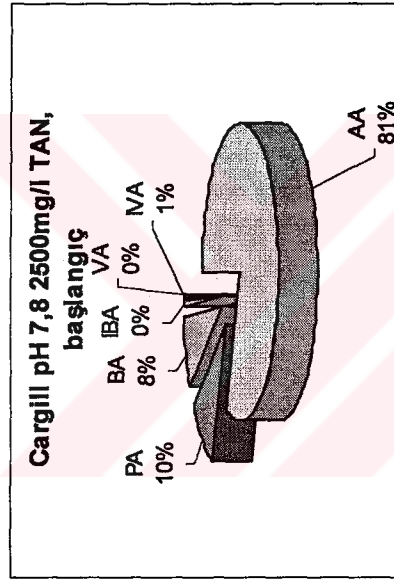
Şekil F. 30. Granüller çamur pH 7,8 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



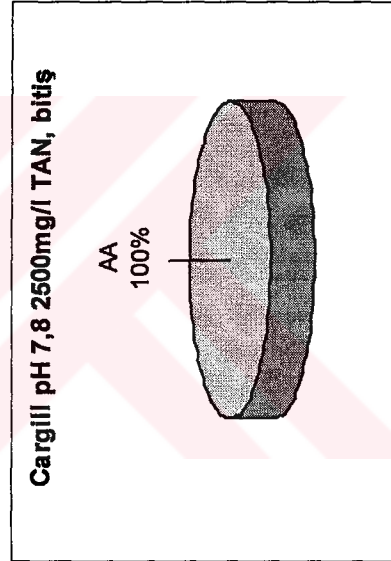
Şekil F. 31. Granüller çamur pH 7,8 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



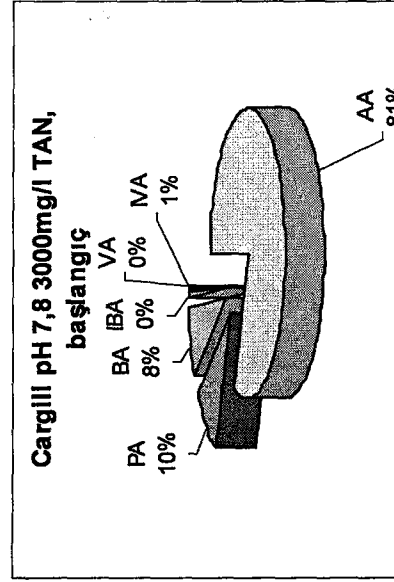
Şekil F. 32. Granüller çamur pH 7,8 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



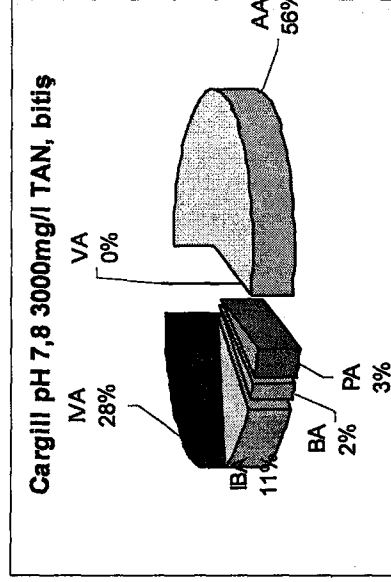
Şekil F. 33. Granüller çamur pH 7,8 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



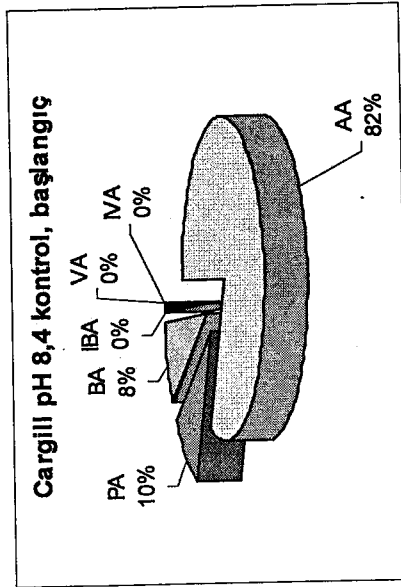
Şekil F. 34. Granüller çamur pH 7,8 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



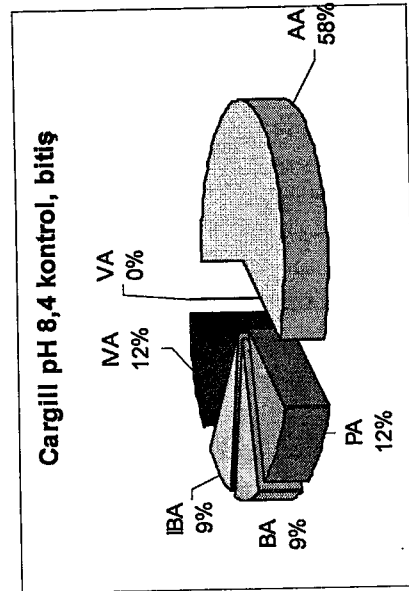
Şekil F. 35. Granüller çamur pH 7,8 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



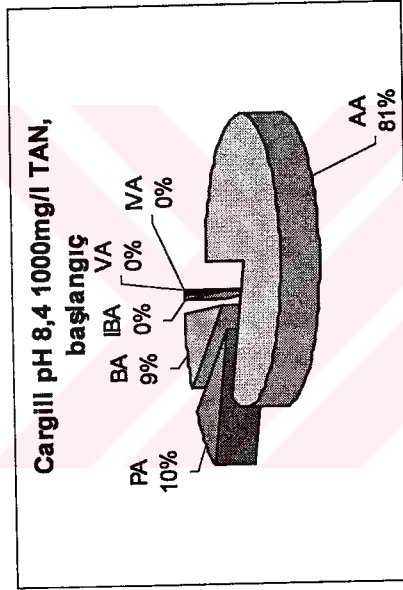
Şekil F. 36. Granüller çamur pH 7,8 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



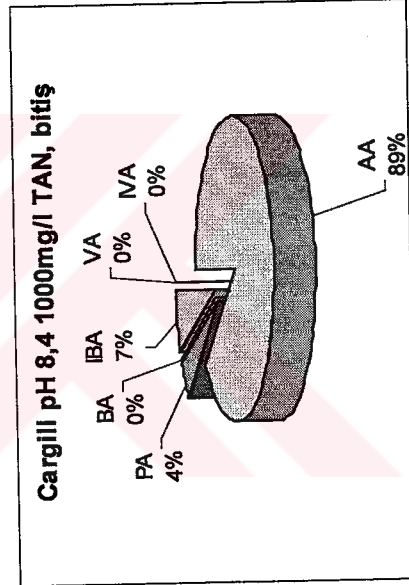
Şekil F. 37. Grantler çamur pH 8,4 kontrol başlangıç UYA değişimi



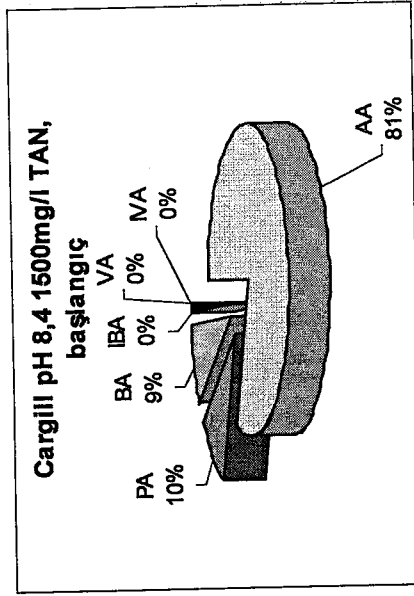
Şekil F.38. Grantler çamur pH 8,4 kontrol bitiş UYA değişimi



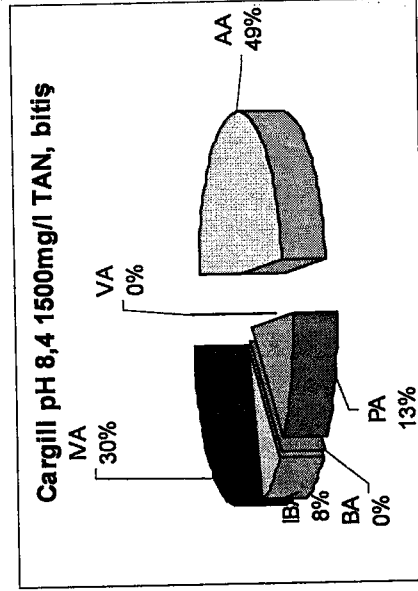
Şekil F. 39. Grantler çamur pH 8,4 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



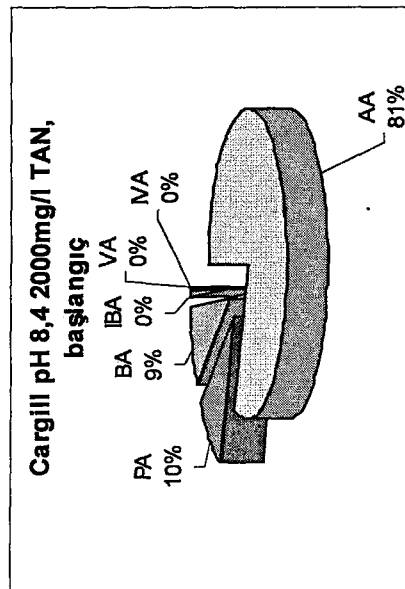
Şekil F. 40. Grantler çamur pH 8,4 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



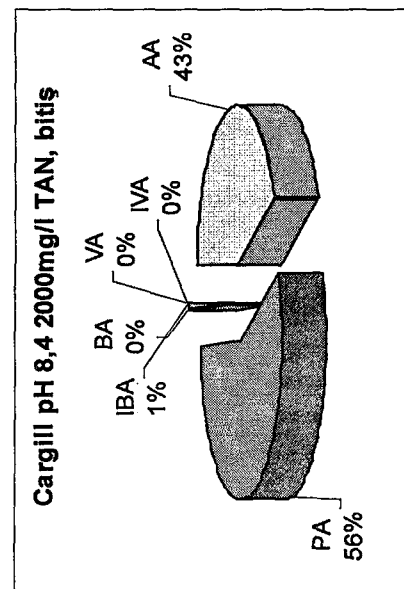
Şekil F. 41. Grantler çamur pH 8,4 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



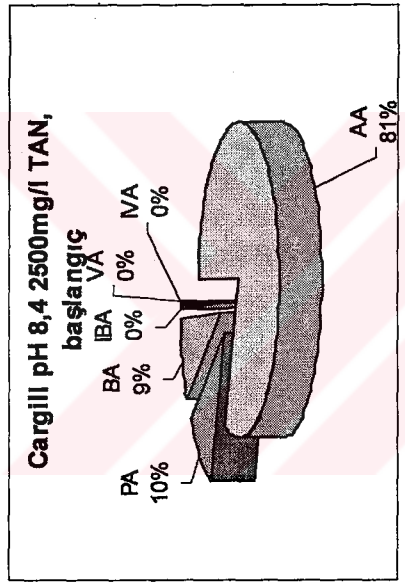
Şekil F. 42. Grantler çamur pH 8,4 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



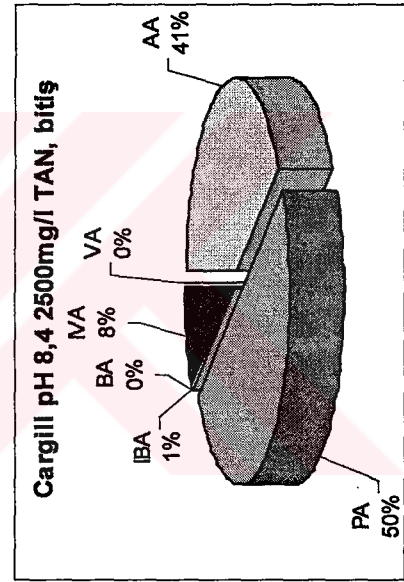
Şekil F. 43. Grantler çamur pH 8,4 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



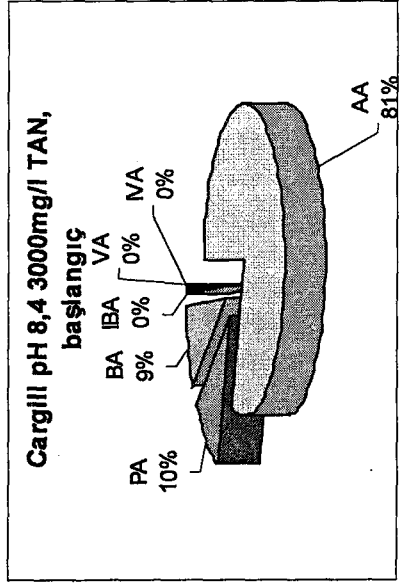
Şekil F. 44. Grantler çamur pH 8,4 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



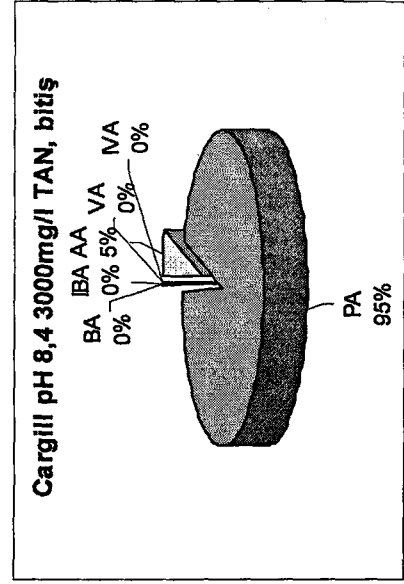
Şekil F. 45. Grantler çamur pH 8,4 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



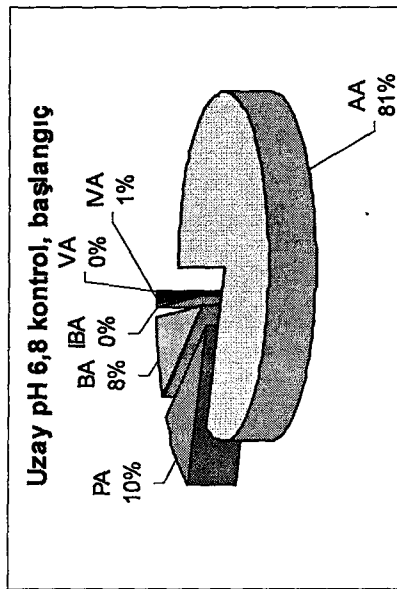
Şekil F. 46. Grantler çamur pH 8,4 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



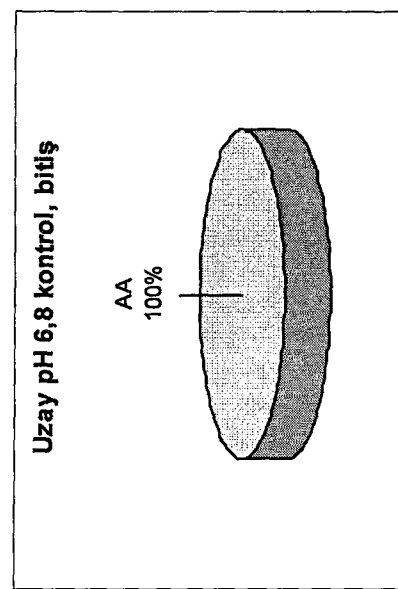
Şekil F. 47. Grantler çamur pH 8,4 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



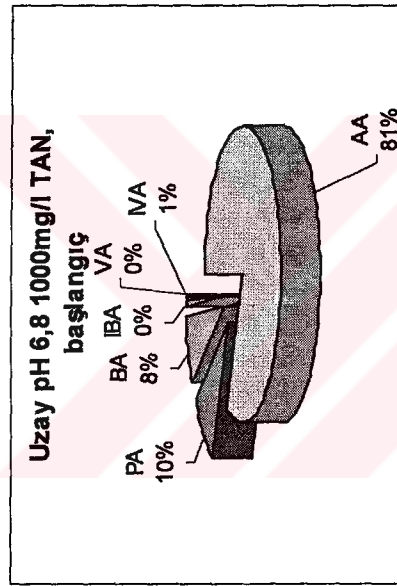
Şekil F. 48. Grantler çamur pH 8,4 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



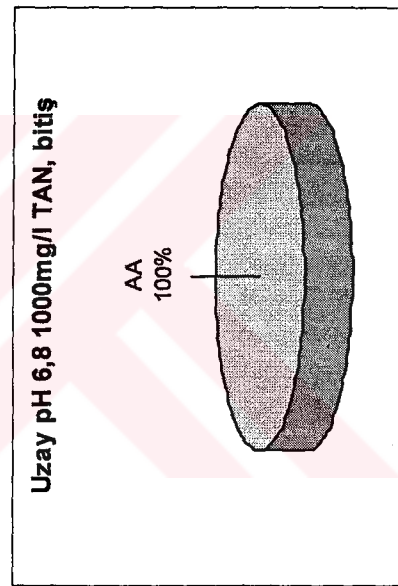
Şekil F. 49. Floktüler çamur pH 6,8 kontrol başlangıç UYA değişimi



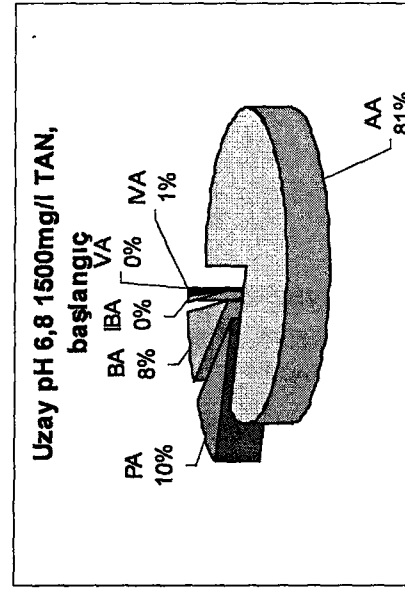
Şekil F. 50. Floktüler çamur pH 6,8 kontrol bitiş UYA değişimi



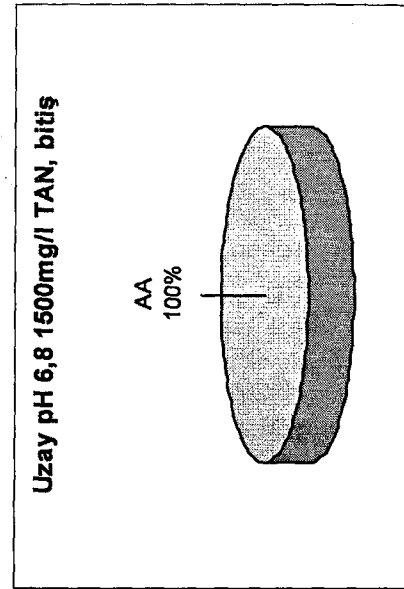
Şekil F. 51. Floktüler çamur 6,8 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



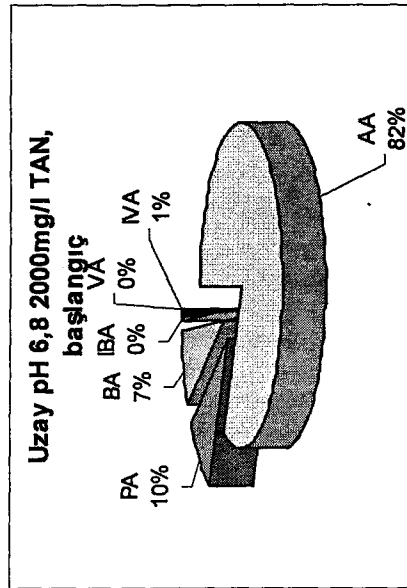
Şekil F. 52. Floktüler çamur pH 6,8 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



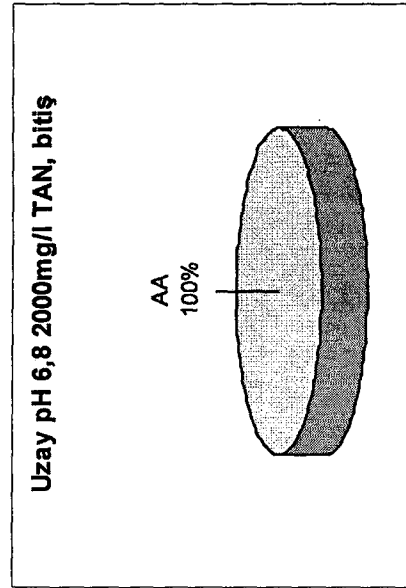
Şekil F. 53. Floktüler çamur pH 6,8 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



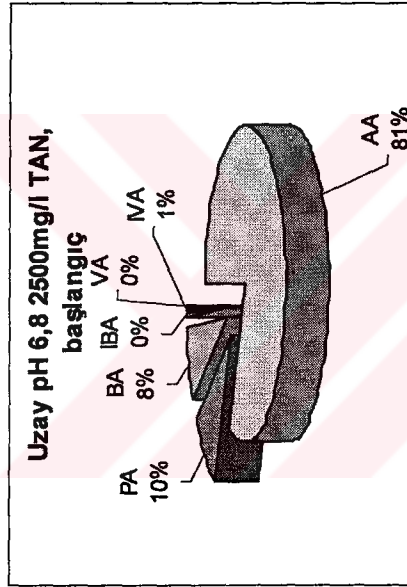
Şekil F. 54. Floktüler çamur pH 6,8 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



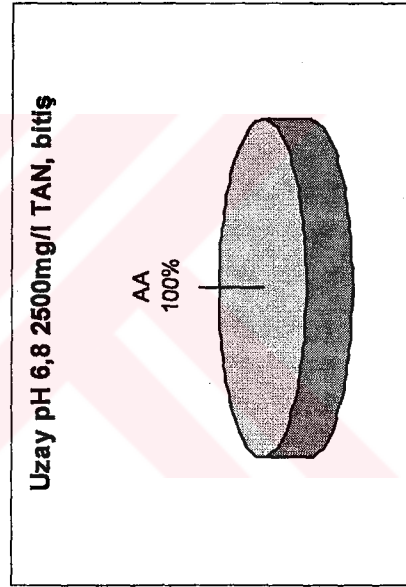
Şekil F. 55. Floktüler çamur pH 6,8 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



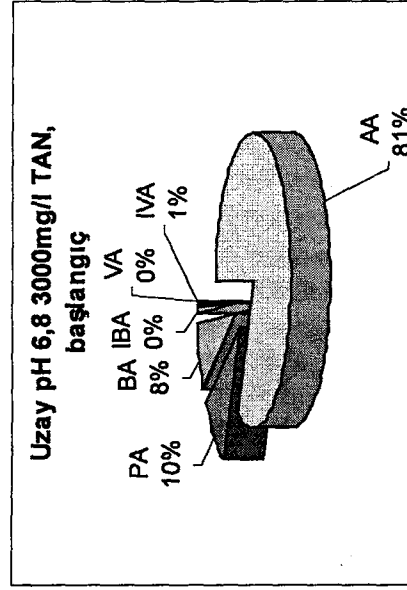
Şekil F. 56. Floktüler çamur pH 6,8 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



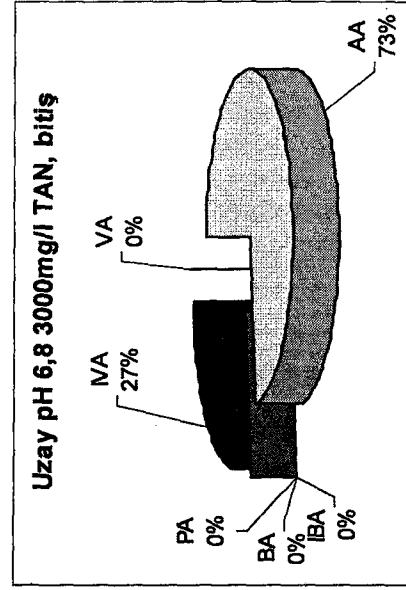
Şekil F. 57. Floktüler çamur pH 6,8 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



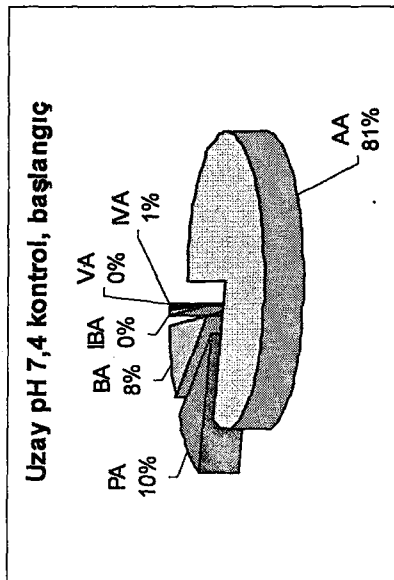
Şekil F. 58. Floktüler çamur pH 6,8 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



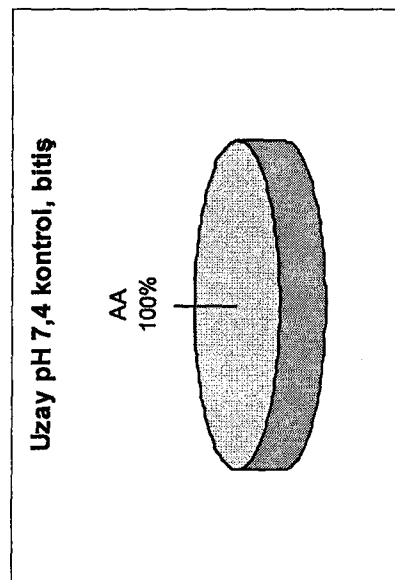
Şekil F. 59. Floktüler çamur pH 6,8 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



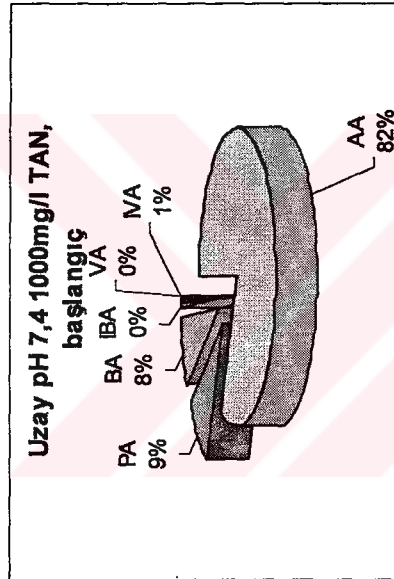
Şekil F. 60. Floktüler çamur pH 6,8 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



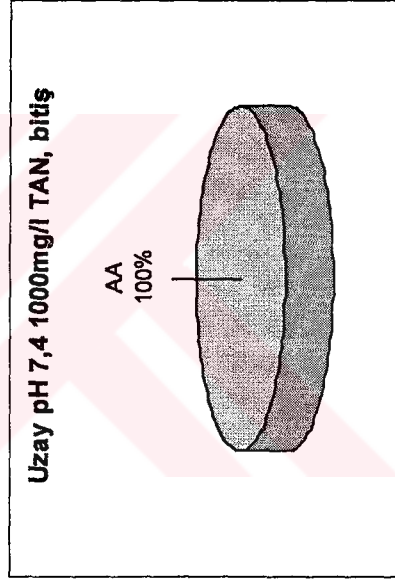
Şekil F. 61. Floktüler çamur pH 7,4 kontrol başlangıç UYA değişimi



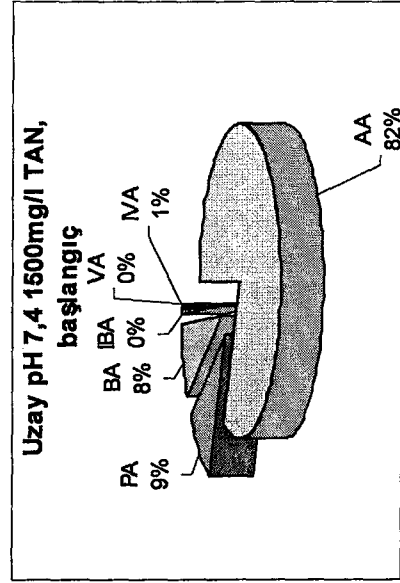
Şekil F. 62. Floktüler çamur pH 7,4 kontrol bitiş UYA değişimi



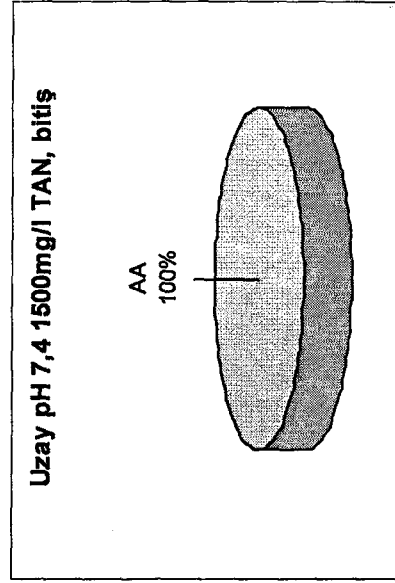
Şekil F. 63. Floktüler çamur 7,4 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



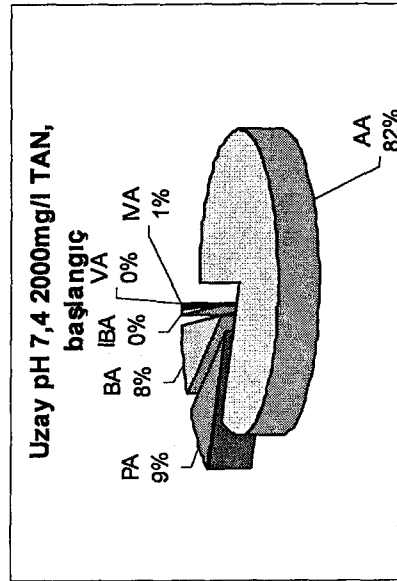
Şekil F. 64. Floktüler çamur pH 7,4 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



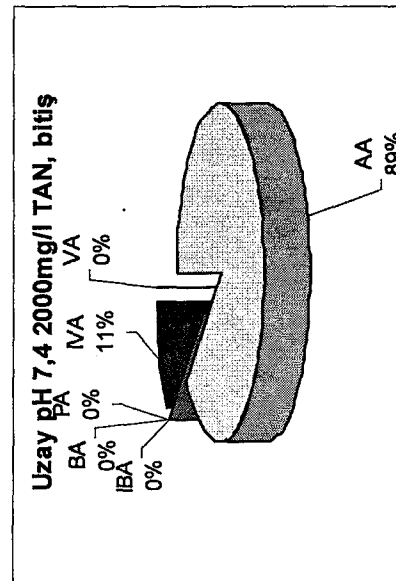
Şekil F. 65. Floktüler çamur pH 7,4 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



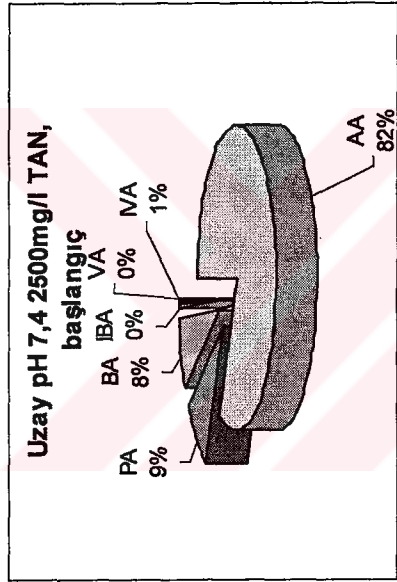
Şekil F. 66. Floktüler çamur pH 7,4 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



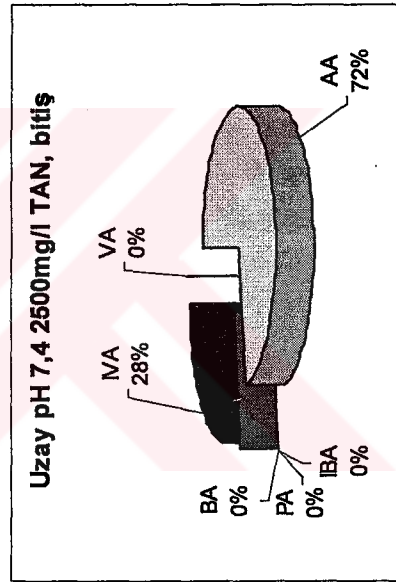
Şekil F. 67. Floküler çamur pH 7,4 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



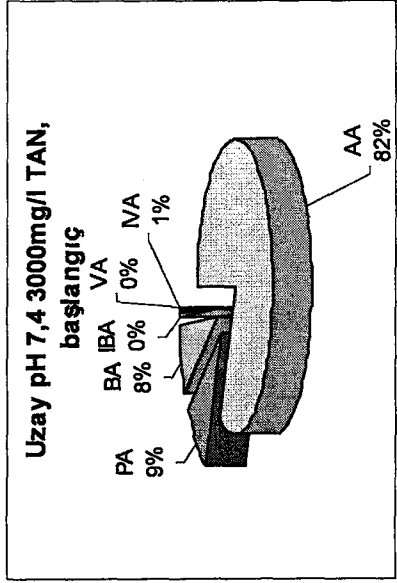
Şekil F. 68. Floküler çamur pH 7,4 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



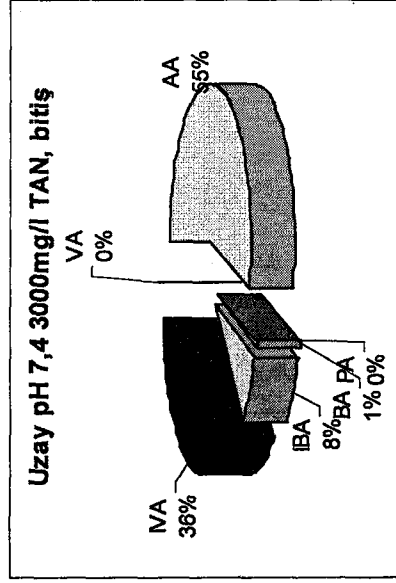
Şekil F. 69. Floküler çamur pH 7,4 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



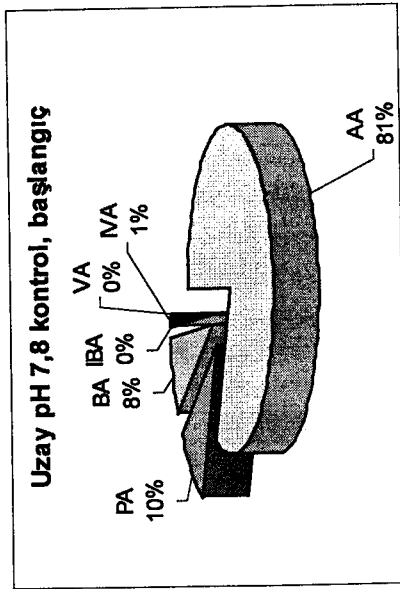
Şekil F. 70. Floküler çamur pH 7,4 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



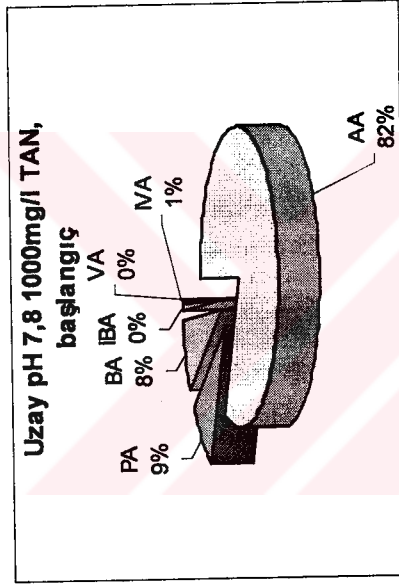
Şekil F. 71. Floküler çamur pH 7,4 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



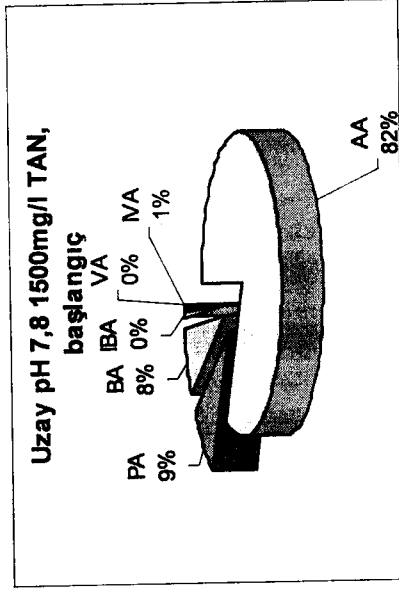
Şekil F. 72. Floküler çamur pH 7,4 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



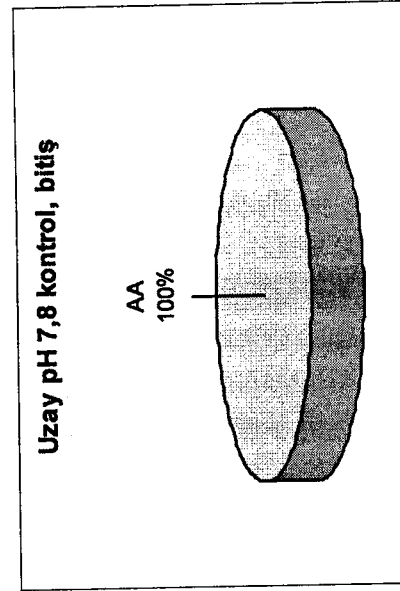
Şekil F.73. Floktüler çamur pH 7,8 kontrol başlangıç UYA değişimi



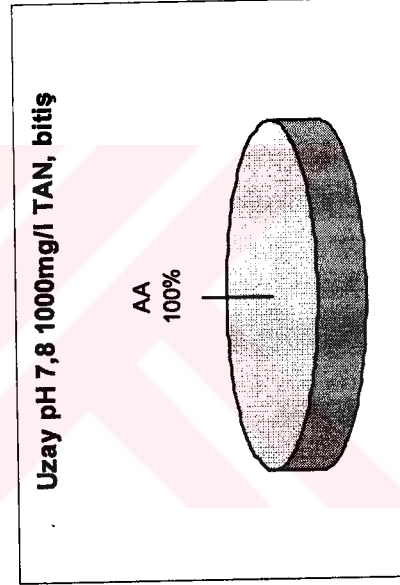
Şekil F.75. Floktüler çamur 7,8 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



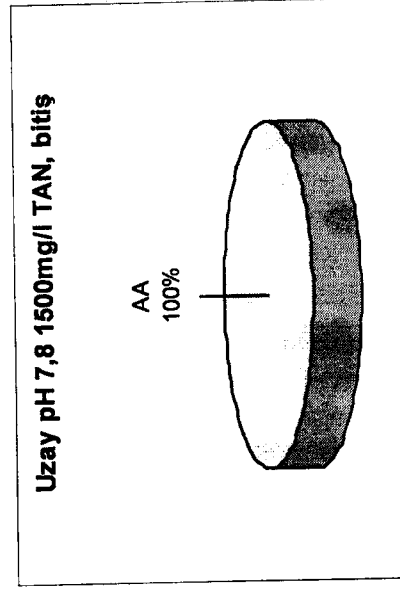
Şekil F.77. Floktüler çamur pH 7,8 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



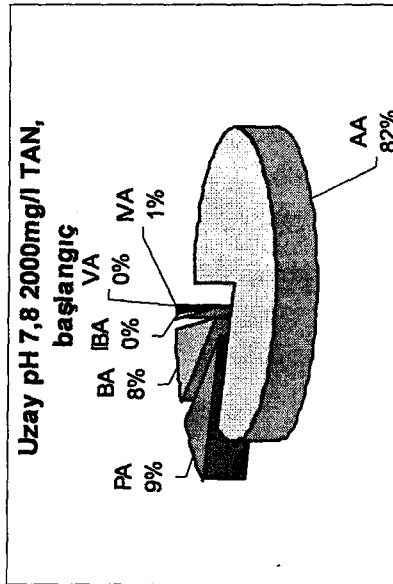
Şekil F.74. Floktüler çamur pH 7,8 kontrol bitiş UYA değişimi



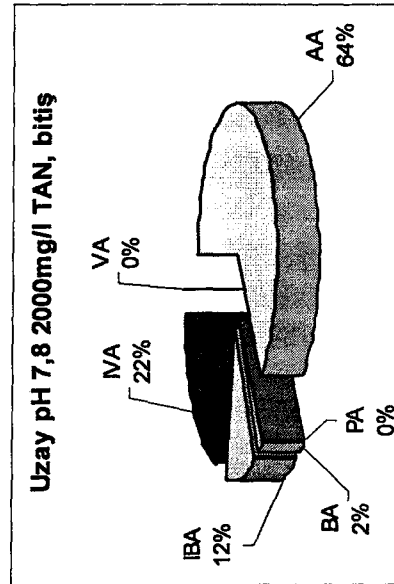
Şekil F.76. Floktüler çamur pH 7,8 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



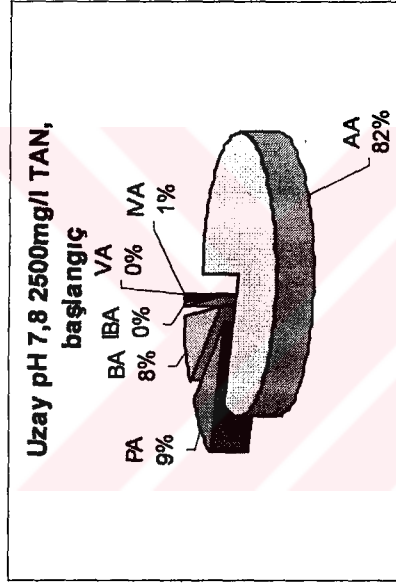
Şekil F.78. Floktüler çamur pH 7,8 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



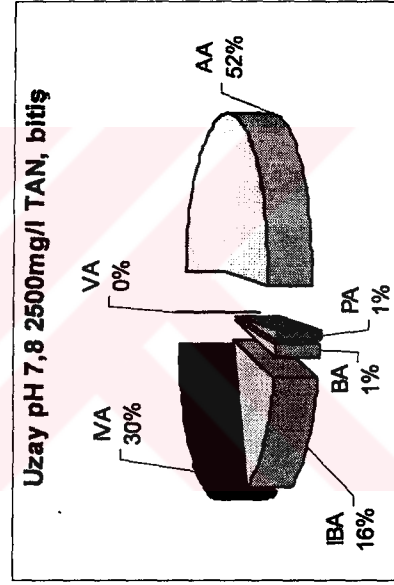
Şekil F.79. Floktüler çamur pH 7,8 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



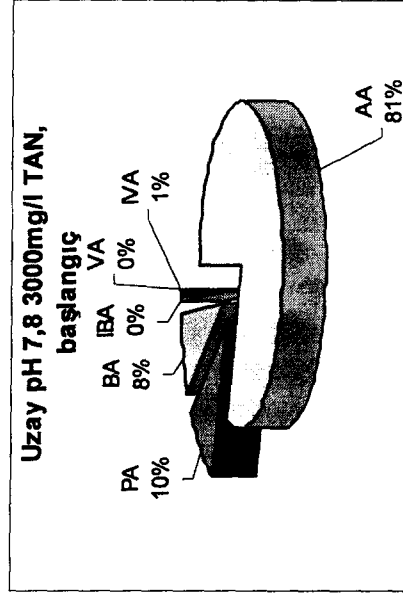
Şekil F. 80. Floktüler çamur pH 7,8 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



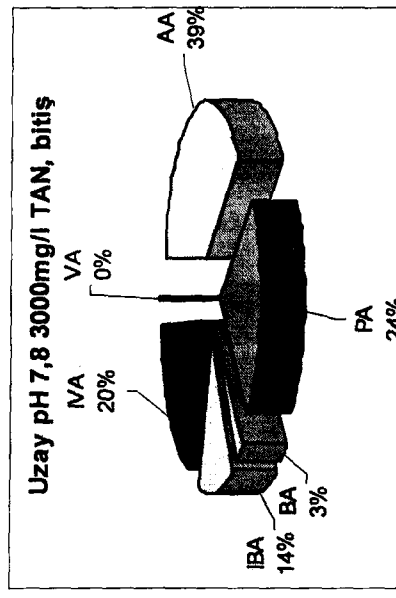
Şekil F. 81. Floktüler çamur pH 7,8 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



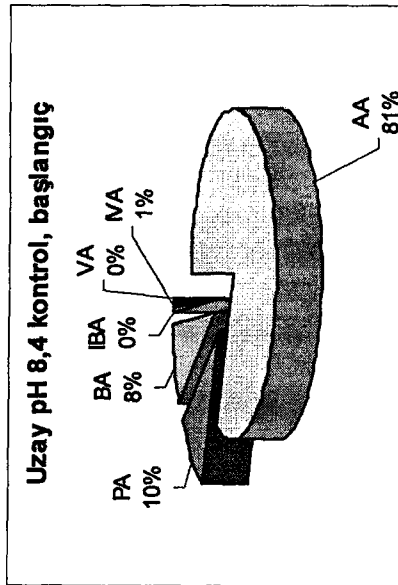
Şekil F. 82. Floktüler çamur pH 7,8 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



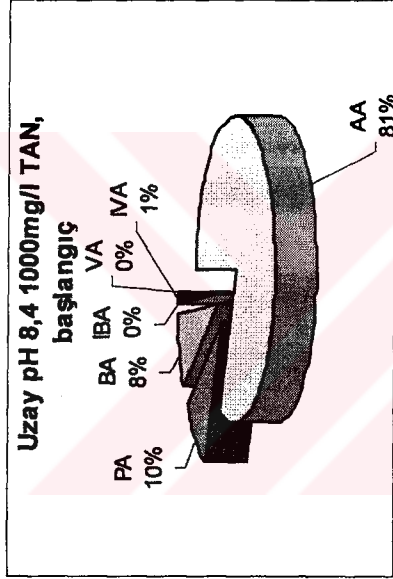
Şekil F. 83. Floktüler çamur pH 7,8 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



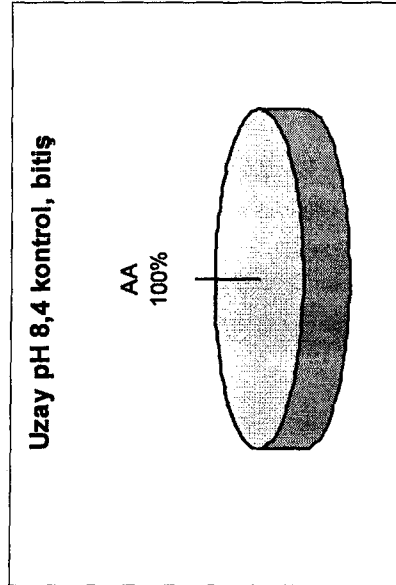
Şekil F. 84. Floktüler çamur pH 7,8 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



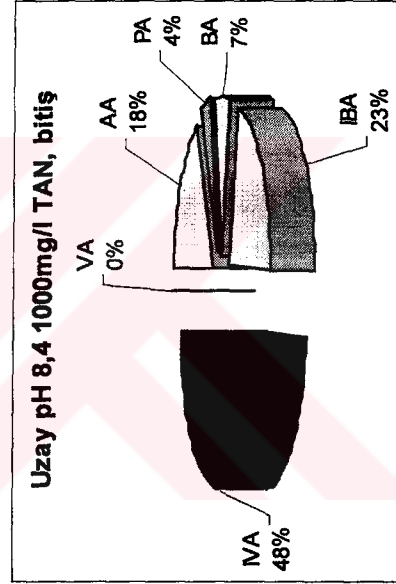
Şekil F. 85. Floktüler çamur pH 8,4 kontrol başlangıç UYA değişimi



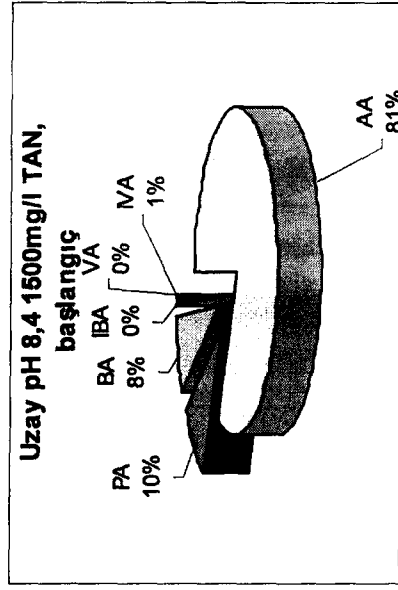
Şekil F. 87. Floktüler çamur pH 8,4 1000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



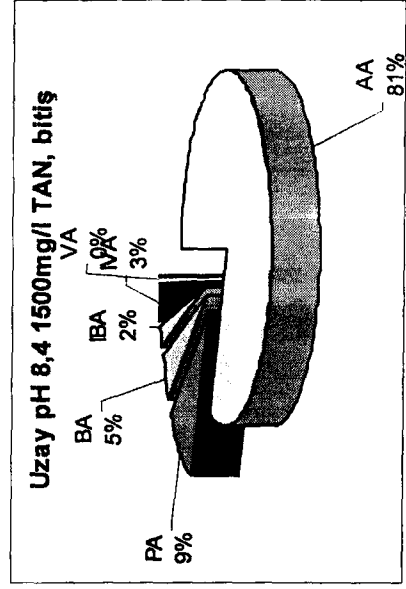
Şekil F. 86. Floktüler çamur pH 8,4 kontrol bitiş UYA değişimi



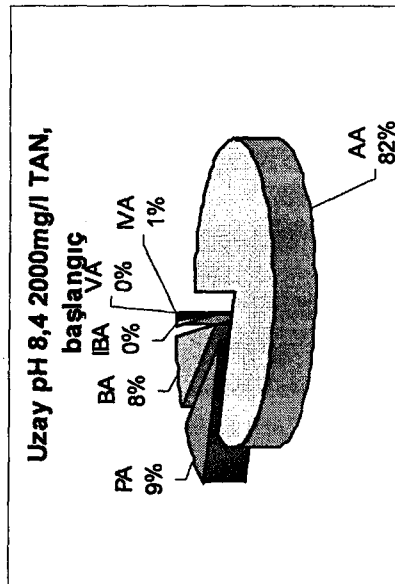
Şekil F. 88. Floktüler çamur pH 8,4 1000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



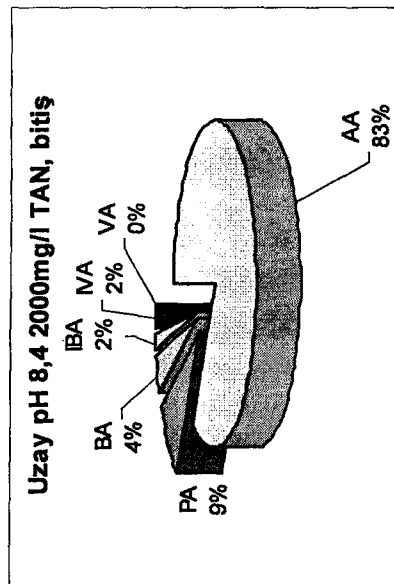
Şekil F. 89. Floktüler çamur pH 8,4 1500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



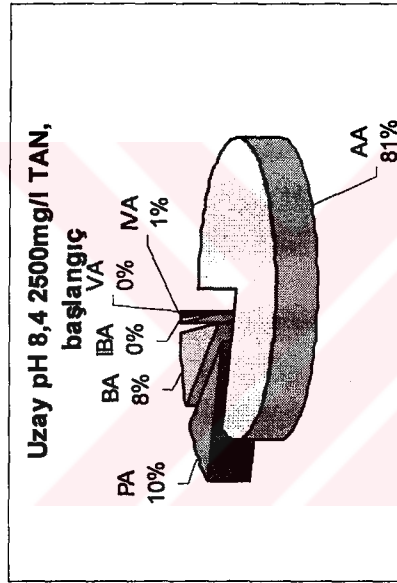
Şekil F. 90. Floktüler çamur pH 8,4 1500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



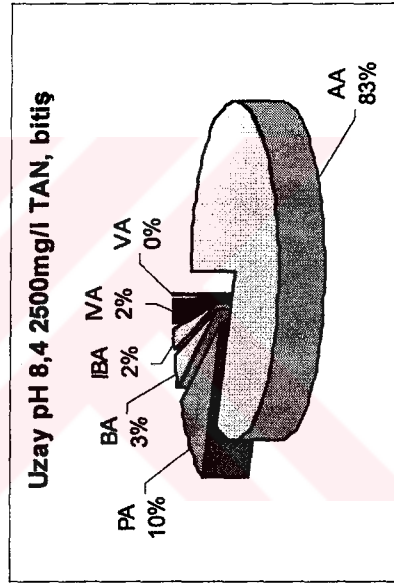
Şekil F. 91. Floktüler çamur pH 8,4 2000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



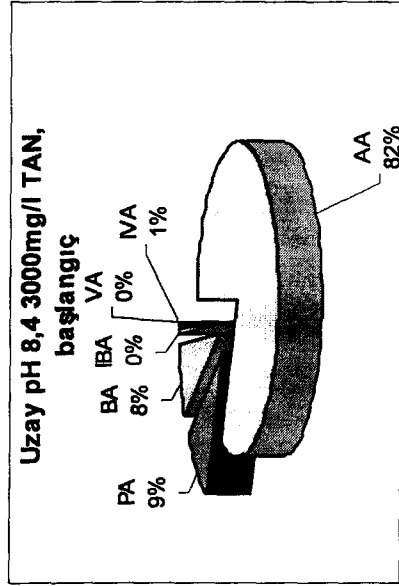
Şekil F. 92. Floktüler çamur pH 8,4 2000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



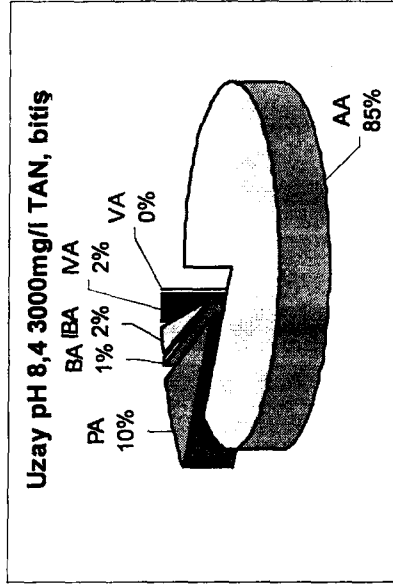
Şekil F. 93. Floktüler çamur pH 8,4 2500 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



Şekil F. 94. Floktüler çamur pH 8,4 2500 mg/l TAN bitiş UYA değişimi



Şekil F. 95. Floktüler çamur pH 8,4 3000 mg/l TAN başlangıç UYA değişimi



Şekil F. 96. Floktüler çamur pH 8,4 3000 mg/l TAN bitiş UYA değişimi

ÖZGEÇMİŞ

1955 yılında İstanbul'da doğdu. Ortaokul ve lise öğrenimini İstanbul Kız Lisesi'nde, Lisans ve Yüksek Lisans öğrenimini İ.T.Ü. Kimya Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü'nde tamamladı. İ.T.Ü. İnşaat Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Çevre Mühendisliği Laboratuvarında Yüksek Kimya Mühendisi olarak görev yapmaktadır. Evli ve iki kız çocuğu annesidir.

