



# Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal of Engineering Sciences



Geliş Tarihi : 08.06.2018  
Kabul Tarihi : 19.09.2018

Received Date : 08.06.2018  
Accepted Date : 19.09.2018

## Nitrat Gideriminde Kullanılan Biyo Reaktörlerde Heterotrofik, Ototrofik ve Miksotrofik Proseslerin Değerlendirilmesi

### Evaluation Of Heterotrophic, Autotrophic and Mixotrophic Processes in Bioreactors Used for Removal of Nitrate

Ziya AĞIL<sup>2</sup>, Vildan AKGUL<sup>1</sup>, Ahmet DUYAR<sup>3</sup>, Kevser CİRİK<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyomühendislik ve Bilimleri Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

<sup>2</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

<sup>3</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

\*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Kevser CİRİK, [kcirik@ksu.edu.tr](mailto:kcirik@ksu.edu.tr)

#### ÖZET

Bu çalışmada metanol bazlı heterotrofik, tiyosülfat bazlı ototrofik ve miksotrofik denitrifikasyon proseslerinin nitrat giderme verimleri karşılaştırılmıştır. Üç kesikli biyo reaktör evsel atıksu arıtma tesisinden alınan aktif çamur ile aşılanmıştır (Kayseri, TÜRKİYE). Başlangıçta, heterotrofik denitrifikasyonun performansı, artan nitrat konsantrasyonu (50 ila 400mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L) ile değerlendirilmiş ve reaksiyon süresi sonunda nitratın tamamen tüketildiği gözlemlenmiştir. Daha sonra, kükürt/azot (S/N) oranının denitrifikasyon üzerindeki etkilerini belirlemek için elektron verici olarak tiyosülfat kullanılarak Ototrofik denitrifikasyon gerçekleştirilmiştir. Ototrofik koşullar altında maksimum nitrat giderim verimi, 150mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L nitrat konsantrasyonunda S/N oranı 0.63 olduğunda elde edilmiştir. Son olarak, C/N oranlarının (15'ten 3,88'e) miksotrofik denitrifikasyon performansı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Metanol eklenerek nitrat giderim oranının arttığı ve nitratın tamamen tüketildiği gözlemlenmiştir. Optimum C/N oranı % 96 KOİ giderimi ve yaklaşık 3.0 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.min nitrat tüketim hızına karşılık gelen 3.88 bulunmuştur. Sonuç olarak heterotrofik denitrifikasyonun nitrat ve karbon giderim verimleri ototrofik ve miksotrofik denitrifikasyona göre daha yüksek olarak bulunmuştur.

#### ABSTRACT

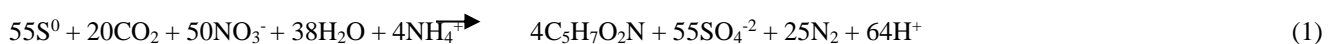
In this study, nitrate reduction efficiency of methanol-based heterotrophic, thiosulfate based autotrophic and mixotrophic denitrification processes were compared. The three batchbioreactors were inoculated with activated sludge from domestic wastewater treatment plant (Kayseri, TURKEY). Initially, the performance of heterotrophic denitrification was assessed with increasing nitrate concentration (50 to 400mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L) and the nitrate was completely consumed at the end of the reaction time. Then, autotrophic denitrification using thiosulfate as an electron donor was carried out to determine the effects of sulfur/nitrogen (S/N) ratio on the denitrification performance. Maximum nitrate removal efficiency under autotrophic conditions was obtained when the S/N ratio was 0.63 at nitrate concentration of 150mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L. Finally, the impact of C/N ratio (15 to 3.88) on mixotrophic denitrification performance was evaluated. It was observed that nitrate removal rate was increased with methanol addition. Optimum C/N ratio was found 3.88, corresponding to 96% COD removal, and about 3.0 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.min nitrate consumption rate. As a result, nitrate and carbon removal efficiency of heterotrophic denitrification were higher compared to autotrophic and mixotrophic denitrification.

**Anahtar Kelimeler:** Ototrofik Denitrifikasyon, Heterotrofik Denitrifikasyon, Miksotrofik denitrifikasyon Nitrat Tüketim Hızı, C/N Oranı

**Keywords:** Autotrophic Denitrification, Heterotrophic Denitrification, Mixotrophic Denitrification Nitrate Consumption Rate, C/N Ratio

## 1. GİRİŞ

Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) yeraltı sularında yaygın olarak bulunan bir kirleticidir. Nitratlı suların insan sağlığını olumsuz yönde etkilediği özellikle 10 mgN/L'den yüksek nitrat içerikli suların bebeklerde "Methemoglobinemia" hastalığına, erişkinlerde ise kansere yol açtığı bilinmektedir (Fonseca ve ark., 2000; Ward ve ark., 2005). Nitrat ve nitrit bileşiklerinin anaerobik koşullarda mikroorganizmalar tarafından redüksiyona uğratarak elementel azota dönüştürülmesi olayı denitrifikasyon (nitrat solunumu) olarak tanımlanmaktadır. Azotlu bileşenler tarafından kirlenen yeraltı suları tipik olarak neredeyse hiç organik madde içermez, böylece Denklem (1) de gösterildiği gibi kükürt esaslı ototrofik denitrifikasyon içme sularında nitratın giderilmesi için alternatif bir yöntem olarak düşünülmektedir (Sierra-Alvarez ve ark., 2007; Sahinkaya ve ark., 2011; Sahinkaya ve Kilic, 2014).



Fiziksel ve kimyasal arıtma yöntemlerinin işletme ve bakım maliyetleri, düşük seçicilik özellikleri ve tuzlu atık su üretimi gibi dezavantajları nedeniyle, son yıllarda içme sularından nitrat gidermek için biyolojik denitrifikasyon yöntemi sıkça kullanılan ve araştırılan bir yöntem olmuştur. Biyolojik denitrifikasyonun verimini artırmak için uygun karbon kaynağı seçiminin gereğine dikkat çeken çalışmalar, aynı zamanda azot içerikli suların C/N oranının da verim üzerinde etkili olduğunu belirtmişlerdir (DellaRocca ve ark., 2006; Oh ve ark., 2003; Zhang ve Lampe, 1999; Sahinkaya ve Dursun, 2012). Bu problemlerin çözümüne yönelik araştırmalar, kullanılan yöntem, mikroorganizma, karbon kaynağı ve C/N oranı bakımlarından büyük bir çeşitlilik ve belirsizlikler göstermektedir. Heterotrofik denitrifikasyonda, heterotrofik denitrifikasyon bakterileri metanol, etanol ve asetat gibi organik maddeleri okside ederken anoksik ortam koşulların da nitratın azot gazına dönüşümü gerçekleşir. Denitrifikasyon prosesi ototrofik kükürt bakterileri ile de gerçekleşebilmektedir ve nitratın indirgenmesinde organik karbon yerine indirgenmiş kükürt bileşiklerini ( $S^{2-}$ ,  $S^0$ ,  $S_2O_3^{2-}$ ,  $S_4O_6^{2-}$ ,  $SO_3^{2-}$ ) enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Sun ve Nemati, 2012; Zhang ve Zeng, 2006). Ototrofik denitrifikasyonun, heterotrofik denitrifikasyona kıyasla en önemli avantajı organik madde ilavesi gerektirmemesidir. Ayrıca düşük bakteri üretimi nedeniyle çıkış suyunun bakteriyolojik olarak kirlenme riski de azaltılmakta ve arıtım maliyeti düşmektedir. Tiyosülfat, ucuz olması ve kolay bulunabilmesi nedeniyle denitrifikasyon prosesi için uygun bir elektron kaynağıdır. Bu proseste, elementel kükürt elektron verici davranır ve nitrat azota indirgenirken kükürt sülfata oksitlenir. Birçok avantajlarına rağmen kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyonun en önemli dezavantajları sülfat ve asit üretmesidir. Daha yüksek nitrat konsantrasyonuna sahip yer altı sularının arıtımında ise heterotrofik ve ototrofik denitrifikasyon prosesinin eş zamanlı olarak kullanıldığı mikсотrofik proses kullanılarak üretilen sülfat ve alkalite kontrol altına alınabilir.

Bu çalışmanın amacı metanol bazlı heterotrofik, tiyosülfat bazlı ototrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon proseslerinin nitrat indirgenme proses performanslarının ardışık kesikli reaktörde araştırılmasıdır. Çalışmada öncelikle heterotrofik denitrifikasyon prosesinde farklı nitrat yükleme oranlarının sistem performansı üzerine etkisi incelenmiştir. Daha sonra tiyosülfat bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinin farklı giriş  $S_2O_3^{2-}/NO_3^-$  oranlarına sahip işletme koşullarında optimizasyonu sağlanmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise mikсотrofik koşulların sağlandığı optimum C/N oranı belirlenmiştir. Elde edilen veriler ile azot giderimi yapan biyolojik atık su arıtma tesislerinin iyileştirilmesi ve işletme maliyetlerinin azaltılması hedeflenmektedir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Kesikli Kontrol Reaktörler ve İşletimi

Çalışmada heterotrofik, ototrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon bakterilerinin zenginleştirilebilmesi için 3 adet kesikli kontrol reaktör kurulmuştur. Reaktörlere Kayseri Evsel Atık Su Arıtma Tesisinden temin edilen denitrifikasyon çamur aşılanmıştır. Aşılanan çamur sentetik atık su ile kararlı koşullar sağlanana kadar işletilmiş ve mikroorganizmaların mevcut işletim koşullarında zenginleştirilmesi sağlanmıştır. Kesikli kontrol reaktörlerin hacmi 2 L olup sıcaklık, oda koşullarında ve pH tamponu yardımıyla sabit tutulmuştur. Anoksik koşullarda azot gazı geçirilerek sisteme dışarıdan girebilecek muhtemel oksijen sızıntıları giderilmiştir. Reaktör içerisindeki tam karışım, deney boyunca 250 devir/dk'a ayarlanmış ve 12 saat döngü süresi ile çalışılmıştır. Reaksiyon süresinin 1 saati çökeltme, boşaltma ve doldurma olarak kullanılmış geriye kalan 11 saatte ise reaksiyon süresi olarak değerlendirilmiştir. Günlük deşarj edilen biyokütle miktarı ile çamur yaşının sabit kalması sağlanmış ve reaktörlerde MLSS konsantrasyonları 2000 mg/L civarında sabit tutulmuştur.

### 2.2. Simüle Atık Su İçeriği

Çalışmada kullanılan simüle atık su farklı türde mikroorganizmaların büyümesi için gerekli makro ve mikro nütrientlerin ilave edilmesiyle oluşturulmuştur. Bu çalışmada kullanılacak olan sentetik atık su kompozisyonu (mg/L):  $KH_2PO_4$  15,72; askorbik asit 11 ve maya özütü 50'dir. Sistemde farklı denitrifikasyon (heterotrofik, ototrofik ve mikсотrofik) bakterilerinin zenginleştirilebilmesi için gerekli nitrat ( $NaNO_3$ ), organik karbon ( $CH_3OH$ ), inorganik karbon ( $NaHCO_3$ ) ve tiyosülfat ( $Na_2S_2O_3$ ) konsantrasyonları hazırlanan derişik stok çözeltiler kullanılarak simüle atık su ile biyoreaktörlere ilave edilmiştir. Çalışmada kullanılacak olan simüle atık suyun pH'ı yükleme yapılmadan önce 7,0'a ayarlanmıştır.

### 2.3. Deneysel Plan

Kontrol reaktörlerinde zenginleştirilen heterotrofik, ototrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon mikroorganizmaları kullanılarak kesikli kinetik çalışmalar farklı nitrat konsantrasyonu için gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında kesikli kinetik testlerde yapılacak çalışmalarda Tablo 1'deki deneysel plan kullanılmış ve bu deneysel plan doğrultusunda yöntemler geliştirilmiştir.

**Tablo 1.** Deneysel Plan

İş Paketleri	Karbon Kaynağı	Karbon Kons. (mg/L)	e <sup>-</sup> Verici Kaynağı	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> Kons. (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> Kons. (mg/L)	S/N Oranı	C/N Oranı
<b>1. İş Paketi</b> Farklı nitrat konsantrasyonlarının heterotrofik denitrifikasyon prosesi üzerine etkisi	Metanol	600	Metanol	-	50	-	-
					100	-	-
					150	-	-
					200	-	-
					400	-	-
<b>2. İş Paketi</b> Farklı S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> oranlarının Ototrofik denitrifikasyon prosesi üzerine etkisi	NaHCO <sub>3</sub>	300	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	75	50	1,90	-
					100	0,95	-
					150	0,63	-
					200	0,47	-
<b>3. İş Paketi</b> Farklı C/N oranlarının mikсотrofik denitrifikasyon prosesi üzerine etkisi	Metanol	50	Metanol Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	600	50	-	15
					100	-	7,77
					150	-	5,18
					200	-	3,88

Çalışmanın ilk iş paketinde karbon kaynağı ve elektron verici (metanol) konsantrasyonları sabit tutularak artan nitrat konsantrasyonlarının heterotrofik denitrifikasyon kinetiği çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Daha sonra karbon kaynağı (sodyum bikarbonat) ve elektron verici kaynağı (sodyum tiyosülfat) konsantrasyonları sabit tutularak artan nitrat konsantrasyonlarının ototrofik denitrifikasyon prosesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise elektron verici (sodyum tiyosülfat ve metanol) konsantrasyonları sabit tutularak artan nitrat konsantrasyonlarının mikсотrofik denitrifikasyon üzerine etkisi incelenecektir. Sistem performansı toplam nitrat, organik ve inorganik madde giderim verimleri, nitrit ve sülfat oluşumları değerlendirilmiştir.

#### 2.4. Analitik Yöntemler

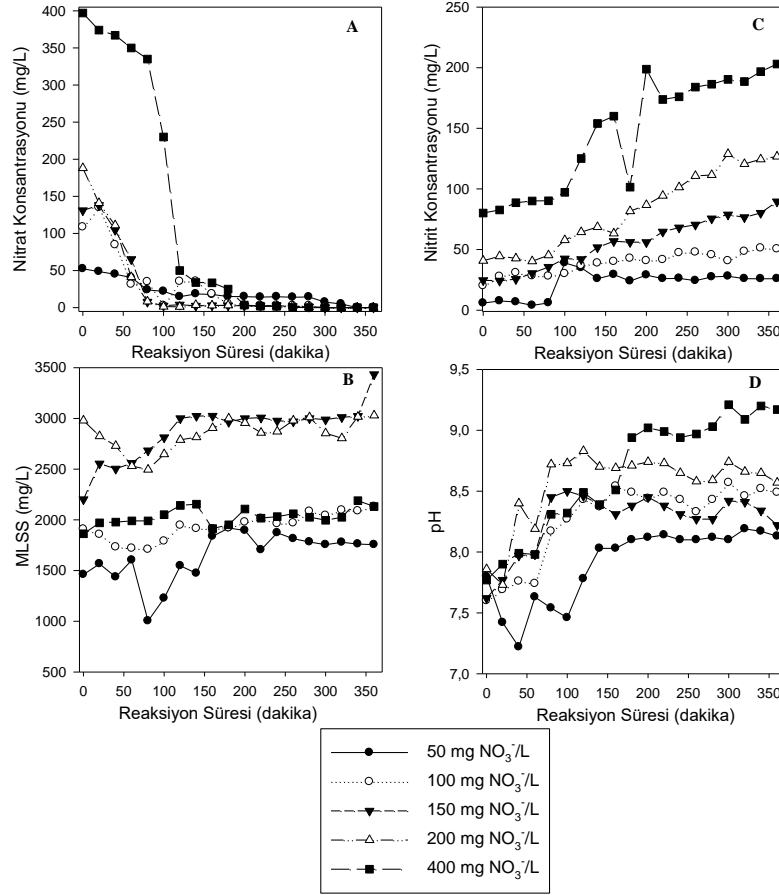
Heterotrofik, ototrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon proseslerinin kesikli kinetik testleri boyunca artan nitrat konsantrasyonlarının nitrat giderim performansına etkisini belirleyebilmek amacıyla sülfat tayini, nitrat ve nitrit tayini, organik, inorganik karbon analizleri yapılmıştır. Reaktör girişi ve belirlenecek olan numune alma sıklıklarında alınan numuneler sülfat, nitrat ve nitrit çözülmüş organik karbon tayini için 0.45 µm şırınga filtrelerden geçirilerek analize hazırlanmıştır. Sülfat, nitrat ve nitrit iyonlarının analizi DIONEX 5000 (Hach-Lange, Dusseldorf, Almanya) iyon kromatografi cihazı ile yapılmıştır. Sonuçlarda nitrat ve nitrit, N cinsinden verilmiştir. Organik ve inorganik karbon tayini toplam organik karbon ölçüm cihazı (Shimadzu TOC-V<sub>CPN</sub>, Kyoto, Japonya) kullanılarak yapılmıştır (Cord-Ruwisch 1985). Cihazların kalibrasyonu, analizi yapılacak numunelerin yaklaşık değeri baz alınarak standart çözeltiler hazırlanarak yapılmış ve ölçümlerin doğruluğu teyit edilmiştir.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

Farklı çalışma koşullarında ototrofik, heterotrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon işlemlerinin optimizasyon çalışmaları SBR kullanılarak anoksik şartlarda gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler bu bölümde sunulmuş ve tartışılmıştır.

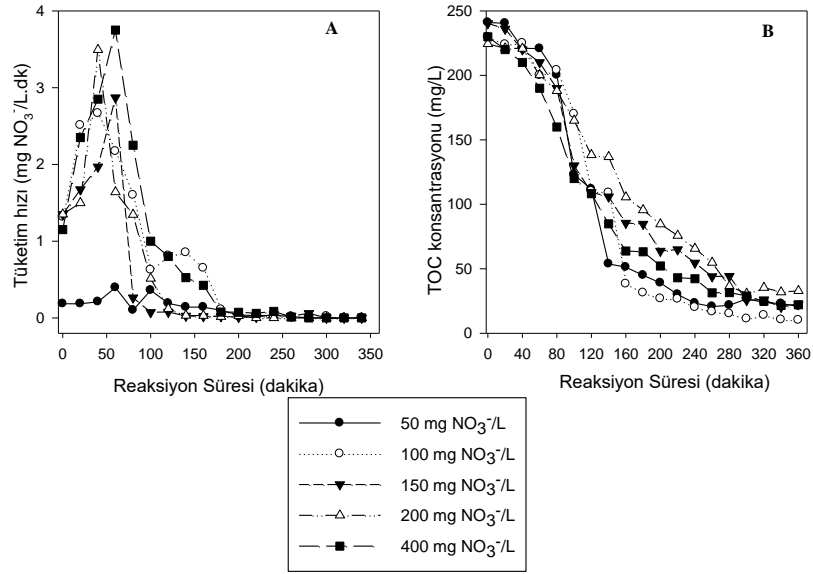
#### 3.1. Farklı Giriş Nitrat Konsantrasyonlarının Heterotrofik Denitrifikasyon Prosesi Üzerine Etkisi

Denitrifikasyon prosesi heterotrofik mikroorganizmalar ile nitrat formundaki azotun moleküler azot formuna (N<sub>2</sub>) mikrobiyal redüksiyonudur. Proseste elektron verici kaynağı organik (metanol) karbondur. Stokiyometrik olarak 1 gr nitratın indirgenmesi için gerekli metanol miktarı 0,43 gr'dır (0,16 grCH<sub>3</sub>OH-C/grNO<sub>3</sub><sup>-</sup> veya 1,9 grCH<sub>3</sub>OH/grNO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N). Çalışmada giriş metanol konsantrasyonu 600 mg/L olup TOC eşdeğeri 225 mg-C/L. Çalışmada kullanılan nitrat konsantrasyonları 50, 100, 150, 200 ve 400 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L nitratın indirgenmesi için gereken metanol miktarları stokiyometrik olarak sırasıyla 21,5, 43, 64,5, 86 ve 172 mgCH<sub>3</sub>OH/L'dir. Bu durumda stokiyometrik olarak en yüksek nitrat konsantrasyonunun kullanıldığı işletme koşullarında dahi metanol kaynağının nitrat indirgenmesi için yeterli olduğu ve sınırlayıcı faktör olmadığı söylenebilir. Buna ek olarak elektron verici kaynağındaki elektronların bir kısmı elektron alıcısı tarafından kullanılırken bir kısmı ise hücre sentezi için kullanılacağından çalışmada stokiyometrik olarak ihtiyaç duyulan karbon kaynağından daha yüksek konsantrasyonda (600 mgCH<sub>3</sub>OH/L) çalışılmıştır.



**Şekil 1.** Farklı Giriş Nitrat Konsantrasyonlarının Heterotrofik Denitrifikasyon Verimine ve Nitrat Giderime Etkisi  
A: Nitrat Konsantrasyonu (mg/L), B: Nitrit Konsantrasyonu (mg/L), C: MLSS, D: pH profili

Bu çalışmada artan nitrat konsantrasyonu ile mikroorganizmalar tarafından kullanılan elektron alıcı miktarındaki artış mevcut elektron verici kaynağının tüketimini hızlandırmıştır (Şekil 1) ve bu nedenle bakterilerin enzim aktivitelerindeki artışa bağlı sistemde maksimum spesifik denitrifikasyon hızının arttığı düşünülmektedir. Nitrat konsantrasyonlarının 50, 100, 150 ve 200 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L olduğu periyotlarda 80. dakikada, 400 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L giriş nitrat konsantrasyonu için ise 120 dakikalık reaksiyon süresinin sonunda giriş nitrat konsantrasyonunun tamamı mikroorganizmalar tarafından elektron alıcısı ve azot kaynağı olarak kullanılmıştır (Şekil 1A). Kimberley ve ark. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada artan asetat ve nitrat konsantrasyonlarının heterotrofik denitrifikasyon performansı üzerine etkisini denemişlerdir. En yüksek 152,5 mM h<sup>-1</sup> nitrat yükleme oranında, reaksiyon sonunda 6,6 mM h<sup>-1</sup> nitrat gözlemlenmiş ve nitrat yüklemesi arttıkça giderim verimi %83'lerden %97-100'lere yükselmiştir. Denitrifikasyon prosesinde genel olarak nitrat (N<sup>+5</sup>) anoksik koşullarda indirgenerek nitrite (N<sup>+3</sup>), nitrit ise azot gazına (N<sup>0</sup>) dönüşmektedir. Reaktöre verilen nitratin büyük bir kısmı anoksik reaksiyon süresinin ilk saatinde nitrite indirgenmektedir ve nitrit birikimi gözlemlenmektedir (Şekil 1B). Şekilde görüldüğü gibi, artan giriş nitrat konsantrasyonuna maruz kalan mikroorganizmaların nitrat indirgenmesi sonucu oluşan nitrit konsantrasyonu maksimum 400 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L nitrat konsantrasyonunda ve 6 saatlik reaksiyon süresi sonunda 200 mgNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L seviyelerine ulaşmıştır. Ayrıca denitrifikasyon hızındaki artış stres koşullarında yaşanan savunma mekanizması olarak da değerlendirilebilir. Artan nitrat konsantrasyonu ile bakteriler şok yüklemelere maruz kalmıştır ve mikrobiyal savunma mekanizmasından dolayı sentezledikleri nitrat/nitrit redüktaz enzim aktivitesi artmış olabilir. Kesik testlerin yapıldığı her reaktörde reaksiyon süresi boyunca MLSS konsantrasyonları 1500-3000 mg/L değerleri arasında sabit tutulmuştur (Şekil 1C). Şekil 1D'de reaksiyon süresi boyunca pH değerlerinde bir artış gözlemlenmektedir. Bu artışın en önemli sebebi heterotrofik denitrifikasyon prosesi sonucu H<sup>+</sup> iyonlarının tüketimidir.



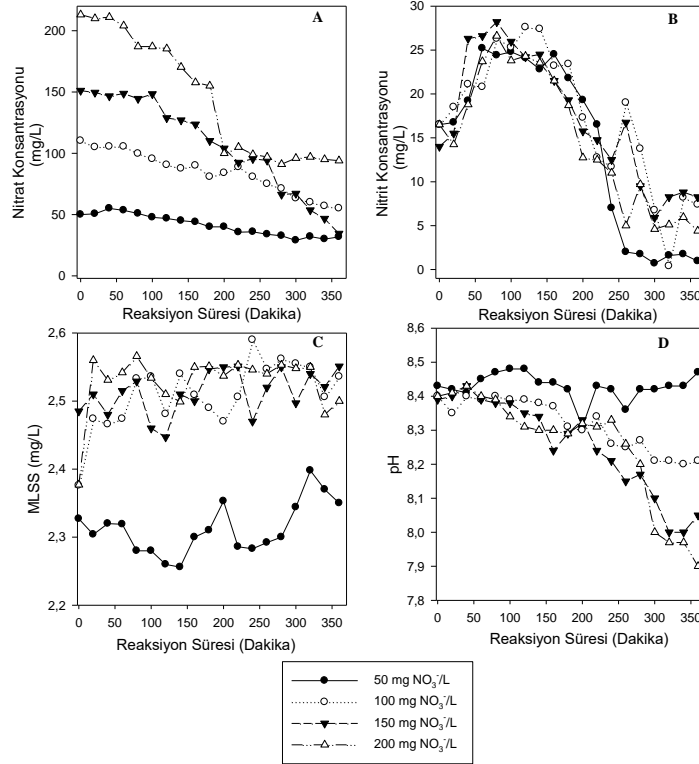
Şekil 2. Nitrat Tüketim Hızının ve TOC Gideriminin Reaksiyon Süresince Değişimi, A:Tüketim Hızı mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Ldk B: TOC Konsantrasyonu (mg/L)

Nitrat tüketim hızı ile nitrat konsantrasyonu arasındaki ilişki ve farklı nitrat konsantrasyonlarında TOC giderimi Şekil 2A'da verilmiştir. Artan nitrat konsantrasyonu ile substrat tüketim hızı kademeli olarak artış göstermiştir. Çalışmada değişen nitrat konsantrasyonlarında elde edilen nitrat azotu tüketim hızları 50, 100, 150, 200 ve 400 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L nitrat içeren işletme koşullarında sırasıyla 3,80; 3,55; 2,94; 2,60 ve 0,33 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.dk olarak belirlenmiştir (Şekil 2A). Bu periyotlarda mikroorganizmalar tarafından kullanılan organik madde miktarı artan nitrat konsantrasyonu ile değişim göstermemiş ve her periyot için %97 TOC giderimi gözlemlenmiştir (Şekil 2B). Reaksiyon süresi boyunca organik karbon bir kısmı nitrat giderimi için kullanılırken bir kısmı ise hücre sentezi ve devamlılık enerjisi için kullanıldığından tüketilen karbon miktarı stokiyometrik miktarlardan daha yüksektir. 6 saatlik reaksiyon süresinin sonunda mevcut karbonun %97 mikroorganizmalar tarafından büyüme ve enerji kaynağı olarak kullanılmıştır ve kullanılan organik karbon miktarı 220 mg-C/L'dir.

### 3.2. Farklı S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> Oranlarının Ototrofik Denitrifikasyon Prosesi Üzerine Etkisi

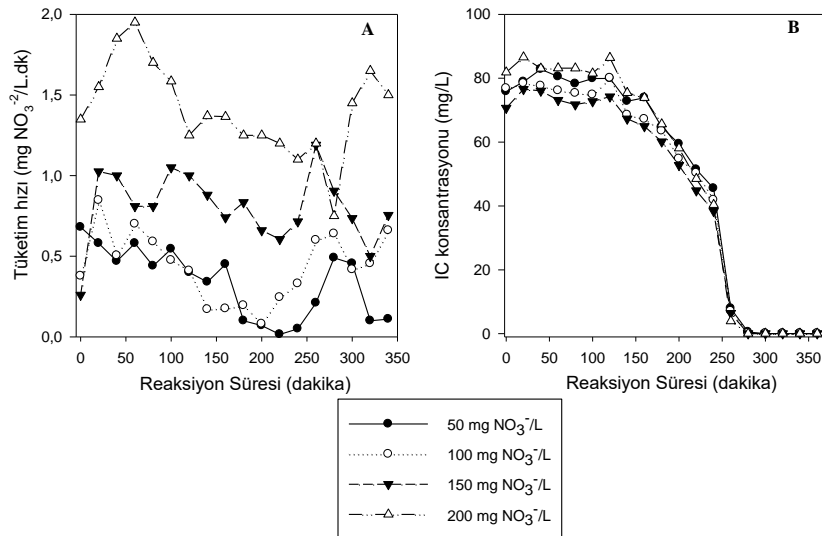
Düşük C/N oranlarına sahip atık suların (karbonun atık suda yetersiz olması) arıtımında konvansiyonel biyolojik arıtma prosesleri kullanıldığında atık suyun düşük organik karbon içeriği nedeniyle düşük azot giderim verimleri elde edilmektedir ve verimi arttırmak için eklenen harici karbon kaynakları tam ölçekli uygulamalarda işletme maliyetini arttırmaktadır (Peng ve ark., 2007; Sun ve ark., 2013). Bu nedenle çalışmanın bu aşamasında kullanılan organik madde kesilerek elektron alıcısının nitrat/nitrit, elektron vericisi tiyosülfat, karbon kaynağı ise bikarbonat olduğu ototrofik denitrifikasyon prosesinin nitrat giderimi üzerine etkisi incelenmiştir. Biyolojik nitrat giderimi indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarıyla gerçekleşmektedir. Bu sistemlerde elektron verici kaynağın yükseltgenmesi ile açığa çıkan elektronlar, sistemdeki elektron alıcısı olarak görev yapan nitrat ile buluşarak mikroorganizmalar tarafından azot giderimi gerçekleşmektedir. Çalışmada giriş tiyosülfat konsantrasyonu 75 mg/L'de sabit tutulmuş ve nitrat konsantrasyonu 50, 100, 150 ve 200 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L arttırılarak ototrofik denitrifikasyon performansı değerlendirilmiştir. Şekil 3'de denitrifikasyon performansını değerlendirebilmek amacıyla nitrat, nitrit, MLSS ve pH profillerini gösterilmektedir.





**Şekil 3.** Farklı Nitrat Konsantrasyonlarının Ototrofik Denitrifikasyon Prosesine Etkisi A: Nitrat Konsantrasyonu (mg/L), B: Nitrit Konsantrasyonu (mg/L), C: MLSS, D: pH profili)

Şekil 3A'da artan nitrat konsantrasyonlarında mikroorganizmaların nitrat giderme kapasitelerinin olumsuz etkilendiği gözlemlenirken sistemde inorganik karbon kaynağının yetersiz kalmasından dolayı 6 saatlik reaksiyon süresinin sonunda çıkış numunelerinde nitrat gözlemlenmiştir. Anoksik koşullarda nitrat redüksiyonu sonucu oluşan nitrit profili ise Şekil 3B'de gösterilmiştir ve azalan  $S_2O_3^{2-}/NO_3^-$  oranlarında elektron verici kaynağının (tiyosülfat) stokiometrik oranın üstünde olduğundan dolayı 110.dk'dan sonra oluşan nitrit de mikroorganizmalar tarafından tüketilmeye başlanmış ve sistemde nitrit birikimi gözlemlenmemiştir. Maksimum azot giderim verimi nitrat konsantrasyonunun 150 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L olduğu işletme koşullarında %66,6 olarak belirlenmiştir. Campos ve ark. (2008) tarafından gerçekleştirilen çalışmada spesifik tiyosülfat bazlı ototrofik denitrifikasyon aktivitesi üzerine farklı S/N oranlarının etkisini incelemiştirler. Düşük nitrat konsantrasyonlarında (S/N oranı 6,67-3,70 g/g) çalışma sonunda mevcut nitratın üzerinden nitrit üzerinden tamamının azot dönüşüğünü ve nitrit birikiminin gözlemlenmediği belirtilmiştir. Tiyosülfat bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinde stokiometrik olarak ortaya çıkan H<sup>+</sup> iyonları ortamda hızlı bir biçimde pH'ın düşmesine neden olmaktadır. Artan nitrat konsantrasyonuna bağlı olarak pH' da gözlemlenen düşüşte artmaktadır (Şekil 3D).

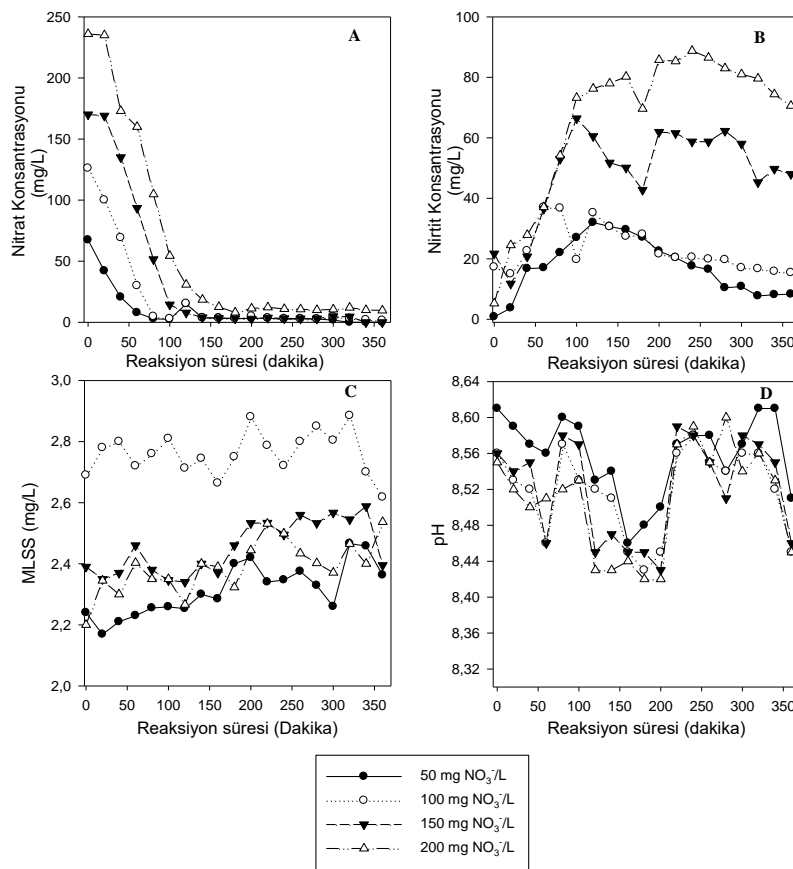


**Şekil 4.** IC Giderimi ve Nitrat Tüketim Hızının Reaksiyon Süresince Değişimi A: Tüketim Hızı mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Ldk B: IC Konsantrasyonu (mg/L)

Nitrat tüketim hızı birim zamanda mikroorganizmanın giderdiği toplam nitrat konsantrasyonu olarak hesaplanmıştır ( $\text{mgNO}_3/\text{L.dk}$ ) ve Şekil 4A'da artan nitrat konsantrasyonuna maruz kalan mikroorganizmaların nitrat tüketim hızlarındaki değişim gösterilmektedir. Maksimum nitrat tüketim hızı giriş nitrat konsantrasyonunun artmasıyla orantılı olarak artış göstermiştir. Reaksiyon boyunca gözlemlenen nitrat tüketim hızları 50, 100, 150 ve 200  $\text{mgNO}_3/\text{L}$  giriş nitrat konsantrasyonlarında ortalama olarak sırasıyla 0,45; 0,61; 1,2 ve 1,50  $\text{mgNO}_3/\text{L.dk}$  olarak elde edilmiştir. Sisteme karbon kaynağı olarak 300  $\text{mg-C/L}$   $\text{NaHCO}_3$  ilave edilmiştir. MLSS kontrolü ile sağlanan sabit giriş mikroorganizma konsantrasyonunun da mevcut inorganik karbon kaynağı sadece hücre sentezi için kullanıldığından reaksiyon boyunca IC profilinde azalma gözlemlenmiştir ve 250. dk'dan sonra tamamen tükenmiştir (Şekil 4B).

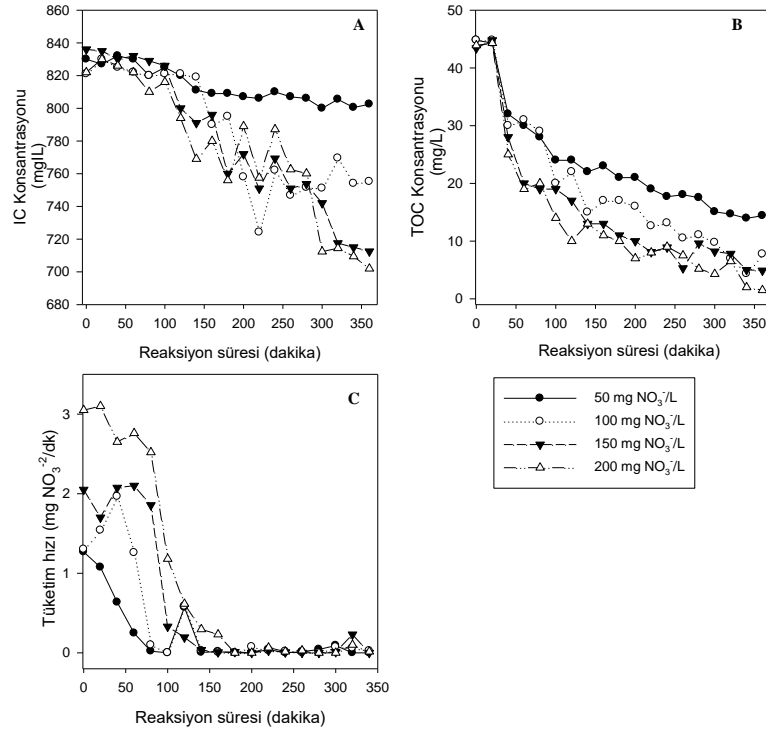
### 3.3. Farklı C/N Oranlarının Miksotrofik Denitrifikasyon Prosesi Üzerine Etkisi

Çalışmanın bu aşamasında ardışık kesikli reaktöre metanol ilavesi ve artan giriş nitrat konsantrasyonları ile değişen C/N oranlarının 15; 7,77; 5,18; 3,88 miksotrofik denitrifikasyon performansına etkisi belirlenmiştir. Çalışmada metanol konsantrasyonu 50  $\text{mg/L}$ 'de ve elektron verici kaynağı olarak kullanılan tiyosülfat konsantrasyonu ise 600  $\text{mg/L}$ 'de sabit tutulmuştur. Reaktör 6 saatlik döngü süresi ile işletilmiş ve giriş nitrat konsantrasyonları sırasıyla 50, 100, 150 ve 200  $\text{mgNO}_3/\text{L}$  olarak belirlenmiştir.



Şekil 5. Farklı C/N Oranlarının Miksotrofik Denitrifikasyon Performansına Etkisi A: Nitrat Konsantrasyonu ( $\text{mg/L}$ ), B: Nitrit Konsantrasyonu ( $\text{mg/L}$ ), C: MLSS, D: pH profili)

Şekil 5A'da farklı nitrat konsantrasyonlarının her birinde 150 dakikalık reaksiyon süresi sonunda miksotrofik mikroorganizmalar tarafından nitratın tamamının tüketildiği gözlenmektedir. Anoksik ortam koşullarında heterotrofik ve ototrofik mikroorganizmaların aktivitesi sonucu nitrat indirgenmesi ile oluşan nitrit profili gösterilmektedir (Şekil 5B). Reaksiyon başladıktan sonra ilk 130 dakika organik madde hızlı bir şekilde tüketilmekte ve bağlantılı olarak nitratın tamamı tüketilmekte ve nitrit oluşumu yine ilk 130 dakika hızlı bir şekilde artmaktadır. İlave edilen metanol konsantrasyonu (50  $\text{mgKOI/L}$ ) nitritin azot gazına indirgenmesi için yetersiz kalmıştır ve 50, 100, 150, ve 200  $\text{mgNO}_3/\text{L}$  giriş nitrat konsantrasyonlarında ortalama olarak sırasıyla 17; 19,4; 57,2 ve 82  $\text{mgNO}_2/\text{L}$  olarak elde edilmiştir. Reaktör işletim süresi boyunca MLSS konsantrasyonları sabit tutulmaya çalışılmıştır (Şekil 5C). Şekil 5D'de atık su karakterizasyonuna bağlı olarak giriş atık suyu pH'ı yaklaşık olarak 7,2'dir. İlk 170 dk'da pH düşüşünün en büyük kaynağı metanol oksidasyonu sonucu oluşan karbondioksittir. Karbondioksit gazı suda çözündüğünde zayıf bir asit olan karbonik asit oluşmakta ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) ve pH'yı düşürmektedir. Organik karbonun azalmasıyla karbonik asit oluşumu azaldığından pH' da tekrar bir artış gözlemlenmiştir.



**Şekil 6.** TOC, IC ve Nitrat Tüketim Hızının Gideriminin Reaksiyon Süresince Değişimi A: IC Konsantrasyonu (mg/L) Tüketim Hızı mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Ldk B: TOC Konsantrasyonu (mg/L) C: A: Tüketim Hızı mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Ldk

Şekil 6A-B'de mikroorganizmalar tarafından kullanılan inorganik ve organik karbon profili gösterilmektedir. Miksotrofik denitrifikasyon sürecinde inorganik karbon sadece ototrofik mikroorganizmalar tarafından karbon kaynağı olarak kullanılmaktadır. Sistemde organik maddenin ilk 150 dakika hetetrofik mikroorganizma türleri baskındır ve bu sürede inorganik karbon tüketimi % ancak organik karbon kaynağı olarak kullanılan metanol miktarının azalmasıyla inorganik karbon tüketim hızının arttığı gözlenmektedir. Çalışmanın ilk dakikalarında organik maddenin varlığı ile mikroorganizmalar tarafından kullanılan elektron alıcı miktarındaki artış mevcut elektron verici kaynağının tüketimini hızlandırmıştır (Şekil 6C) ve bu nedenle bakterilerin enzim aktivitelerindeki artışa bağlı sistemde nitrat tüketim hızının arttığı düşünülmektedir. Artan nitrat konsantrasyonu ile bakteriler şok yüklemelere maruz kalmıştır ve mikrobiyal savunma mekanizmasından dolayı sentezledikleri nitrat redüktaz enzim aktivitesi artmış olabilir.

#### 4. SONUÇLAR

Çalışma boyunca elde edilen veriler önemli bilgiler içermektedir ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Bu çalışmada ilk olarak ardışık kesikli reaktörde artan nitrat konsantrasyonlarının hetetrofik denitrifikasyon süreci üzerine etkisi incelenmiştir. Artan nitrat konsantrasyonlarının hetetrofik denitrifikasyon süreci performansına belirgin bir etkisinin olmadığı gözlemlenirken tüm işletim koşullarında başarılı bir denitrifikasyon süreci gerçekleştirilmiştir.
- Çalışmanın sonraki aşamasında S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> oranının ototrofik denitrifikasyon sürecine etkisi araştırılmış ve azalan S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> oranlarında elektron verici kaynağının (tiyosülfat) stokiometrik oranın üstünde olduğundan dolayı 110 dk'dan sonra oluşan nitrit de mikroorganizmalar tarafından tüketilmeye başlanmış ve sistemde nitrit giderimide gözlemlenmemiştir. Maksimum azot giderim verimi nitrat konsantrasyonunun 150 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L olduğu işletme koşullarında %66,6 olarak belirlenmiştir.
- Çalışmanın son aşamasında artan organik karbon konsantrasyonu ile değişen C/N oranının miksotrofik denitrifikasyon süreci performansına etkisi araştırılmıştır. Ototrofik koşullara metanol ilavesiyle oluşan miksotrofik süreçte nitrat tüketim hızı artırılmış ve 200 mg/L nitrat konsantrasyonu ile oluşturulan 3,88 C/N oranı başarılı bir denitrifikasyon süreci için limit değeri olarak belirlenmiştir.

#### 5. TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinasyon Birimi tarafından 2016/6-42 YLS nolu proje kapsamında desteklenmiştir.



## 6. KAYNAKLAR

- Campos, J. L., Carvalho, S., Portela, R., Mosquera-Corral, A., Méndez, R. (2008). Kinetics of Denitrification Using Sulphur Compounds: Effects of S/N Ratio, Endogenous and Exogenous Compounds, *Bioresource Technology*, 99(5), 1293-1299.
- Cord-Ruwisch, R., (1985). A Quick Method for the Determination of Dissolved and Precipitated Sulfides in Cultures of Sulfate Reducing Bacteria, *Journal of Microbiological Methods*, 4, 33–36.
- Della Rocca, C., Belgiorno, V., Meriç, S., (2006). An Heterotrophic/Autotrophic Denitrification (HAD) Approach for Nitrate Removal from Drinking Water, *Process Biochem*, 41,1022–1028.
- Fonseca, J. F. B. D., Bosi, V., Vilanova, S.P., Meghraoui, M. (2000). Investigations Unveil Holocene Thrusting for Onshore Portugal, *Eos, Transactions American Geophysical Union* 81(36), 412-413, doi: 10.1029/00EO00310, issn: 0096-3941.
- Oh, S., Bum, M., Yoo, Y., Zubair, A., Kim, I., (2003). Nitrate Removal by Simultaneous Sulfur Utilizing Autotrophic and Heterotrophic Denitrification under Different Organics and Alkalinity Conditions: Batch Experiments, *Water Sci. Technol.*, 47, 237–244.
- Peng, Y., Yong, M.A., Wang, S. (2007). Denitrification Potential Enhancement by Addition of External Carbon Sources in a pre-Denitrification Process, *Journal of Environmental Sciences*, 19, 284-289.
- Sahinkaya, E. and Kilic, A. (2014). Heterotrophic and Elemental Sulfur Based Autotrophic Denitrification Processes for Simultaneous Nitrate and Cr (VI) Reduction, *Water Research*, 50, 278-286.
- Sahinkaya, E., Dursun, N. (2012). Sulfur-Oxidizing Autotrophic and Mixotrophic Denitrification Processes for Drinking Water Treatment: Elimination of Excess Sulfate Production and Alkalinity Requirement, *Chemosphere*, 89(2), 144-149.
- Sahinkaya, E., Dursun, N., Kilic, A., Demirel, S., Uyanik, S., Cinar, O. (2011). Simultaneous Heterotrophic and Sulfur-Oxidizing Autotrophic Denitrification Process for Drinking Water Treatment: Control of sulfate production, *Water Res.*, 45(20), 6661-6667.
- Sierra-Alvarez, R., Beristan-Cardoso, R., Salazar, M., Gomez, J., Razo-Flores, E., Field, J.A. (2007). Chemolithotrophic Denitrification with Elemental Sulfur for Ground Water Treatment, *Water Res*, 41, 1253-1262.
- Sun, F., Dong, W., Shao, M., Lv, X., Li, J., Peng, L., Wang, H. (2013). Aerobic Methane Oxidation Coupled to Denitrification in a Membrane Biofilm Reactor: Treatment Performance and the Effect of Oxygen Ventilation, *Bioresource Technology*, 145, 2-9.
- Sun, Y.M., Nemati, M., (2012). Evaluation of Sulfur-Based Autotrophic Denitrification and Denitritation for Biological Removal of Nitrate and Nitrite from Contaminated Waters, *Bioresour. Technol.*, 114, 207-216.
- Tang, Kimberley, Shijie An, Mehdi Nemati (2010). Evaluation of Autotrophic and Heterotrophic Processes in Biofilm Reactors used for Removal of Sulphide, Nitrate and COD, *Bioresource Technology*, 101(21), 8109-8118.
- Ward M. H., Dekok T. M., Levallois P., Brenden J., Gulis G., Nolan B. T., Vanderslice J. (2005). Workgroup Report: Drinking-Water Nitrate and Health-Recent Findings and Research Needs, *Environmental Health Perspective*, 113, 1607-1614
- Zhang, T. C., Lampe, D. G., (1999). Sulfur: Limestone Autotrophic Denitrification Processes for Treatment of Nitrate-Contaminated Water: Batch Experiments, *Water Res.*, 33, 599–608.
- Zhang, T.C., Zeng, H., (2006). Development of a Response Surface for Prediction of Nitrate Removal in Sulfur-Limestone Autotrophic Denitrification Fixed-Bedreactors, *J. Environ. Eng.*, 132 (9), 1068-1072.