

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NANOPARTİKÜLLERİN EVSEL ARITMA ÇAMURLARININ ANAEROBİK
PARÇALANABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Elçin KÖKDEMİR ÜNŞAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

2013

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NANOPARTİKÜLLERİN EVSEL ARITMA ÇAMURLARININ ANAEROBİK
PARÇALANABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Elçin KÖKDEMİR ÜNŞAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**(Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından 2012.02.0121.027 nolu proje ile desteklenmiştir.)**

2013

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOPARTİKÜLLERİN EVSEL ARITMA ÇAMURLARININ ANAEROBİK
PARÇALANABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Elçin KÖKDEMİR ÜNŞAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 15/07/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Altunay PERENDECI
Prof. Dr. Mehmet KİTİŞ
Yrd. Doç. Dr. Çiğdem MORAL



ÖZET

NANOPARTİKÜLLERİN EVSEL ARITMA ÇAMURLARININ ANAEROBİK PARÇALANABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Elçin KÖKDEMİR ÜNŞAR

Yüksek Lisans Tezi, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Altunay PERENDECİ

Temmuz 2013, 98 s

Bu tez kapsamında, nanopartiküllerin (NP) evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine etkilerinin belirlenmesi amacıyla evsel arıtma çamuruna Ag, Al₂O₃, Fe₂O₃, CuO ve CeO₂ nanopartikülleri 5, 50, 150, 250 ve 500 mg NP/g TKM konsantrasyonlarında eklenerek biyokimyasal metan potansiyeli (BMP) testi uygulanmış ve nanopartiküllerin evsel arıtma çamurunun metan potansiyeli üzerine uzun dönemli etkileri değerlendirilmiştir. Nanopartiküllerin evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliği üzerindeki akut etkilerini saptamak amacıyla ISO 13641-1 inhibisyon testi yapılmıştır. İnhibisyon testinde, aynı nanopartiküllerin BMP testinde kullanılan konsantrasyonlarına ek olarak 750 ve 1000 mg NP/g TKM konsantrasyonlarının etkileri de incelenmiştir. BMP ve akut inhibisyon testlerinde nanopartiküllerin anaerobik dönüşümü gerçekleştiren arkelere etkisini gözlemek amacıyla numuneler flüoresanlı yerinde hibritleme (FISH) tekniği ile incelenmiştir.

Ag nanopartikül 250 mgAg/gTKM konsantrasyonda kontrol grubuna göre katalizör etki ile BMP değerinde kümülatif olarak %7,9 artışa sebep olurken, 500 mgAg/gTKM konsantrasyonda BMP değerinde kümülatif olarak %12,1 azalma gözlenmiştir. Al₂O₃ NP için metan üretimi üzerinde inhibisyon etkisi gözlenmemiş, % 14,8 nispetinde pozitif katalizör etki saptanmıştır. Fe₂O₃ nanopartikülünün BMP testinde, doz arttıkça inhibisyona bağlı olarak gaz üretimine olan negatif etkisinin arttığı tespit edilmiş ve 500 mgNP/gTKM konsantrasyonunda %28,9 ile maksimum inhibisyon etkisi tespit edilmiştir. CuO NP BMP testinde anaerobik ortam için en toksik NP olarak belirlenmiştir. 150 mgCuO/gTKM dozunda metan üretiminde %23,4 inhibisyona sebep olurken, 250 ve 500 mgCuO/gTKM konsantrasyonları aşırı çamur numunesinde üretilen metan miktarından daha az metan üretilmesine sebep olmuştur. CeO₂ NP'de ise Al₂O₃ nanopartikülüne benzer olarak herhangi bir inhibisyon gözlenmemiş ve pozitif katalizör etki ile metan üretimi üzerinde %25,5 oranında bir artış tespit edilmiştir.

Akut inhibisyon (ISO 13641-1) testinden elde edilen sonuçlara göre Ag nanopartikülünün evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine anlamlı bir akut inhibisyon etkisi tespit edilmemiştir. Benzer şekilde Al₂O₃ nanopartikülünün de biyogaz üretimine inhibisyon etkisi saptanamamıştır. Fe₂O₃ nanopartikülünün BMP testi sonuçlarından farklı olarak biyogaz üretimine inhibisyon etkisi olmamış ve aksine gaz üretimi üzerinde %8,7 pozitif katalizör etkisi gözlenmiştir. CuO NP, BMP testinde olduğu gibi biyogaz üretimi üzerinde en toksik NP olarak saptanmıştır. 50

mgCuO/gTKM dozundan itibaren inhibisyon etkisi gözlenen CuO NP, biyogaz üretimini %84,2 inhibe etmiştir. CeO₂ NP'ün biyogaz üretimi üzerine akut inhibisyon etkisi saptanmamıştır.

BMP ve ISO testlerinin ardından anaerobik parçalanma prosesinde görev alan metanojenik mikroorganizmaların nanopartikül varlığından nasıl etkilendiğini tespit etmek amacı ile numunelere FISH analizi uygulanmıştır. FISH analizi sonunda yapılan görüntülemelerden elde edilen sonuçlara göre, incelenen arke, *Methanosaeta spp.*, *Methanococcus spp.* ve *Methanosarcinales*'in nanopartiküllerden farklı şekillerde etkilendikleri tespit edilmiştir. Buna göre arke ve *Methanosaeta spp.* popülasyonu Ag, Fe₂O₃ ve CuO NP varlığında azalma gösterirken, *Methanococcus spp.* popülasyonu ortamda Ag, Fe₂O₃ ve CuO NP bulunmasından etkilenmemekte ve kontrol grubu ile benzer özellikler taşımaya devam etmektedir. *Methanosarcinales* ise CuO NP varlığından oldukça sınırlı bir şekilde olumsuz etkilenmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Anaerobik parçalanma, İnhibisyon, Metan potansiyeli, Nanopartikül

JÜRİ: Doç. Dr. Altunay PERENDECİ (Danışman)
Prof. Dr. Mehmet KİTİŞ
Yrd. Doç. Dr. Çiğdem MORAL

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF NANOPARTICLES ON ANAEROBIC DIGESTION OF MUNICIPAL WASTE ACTIVATED SLUDGE

Elçin KÖKDEMİR ÜNŞAR

MSc Thesis in Environmental Engineering
Supervisor: Assoc. Prof. Altunay PERENDECI
July 2013, 98 p

In this thesis, 5, 50, 150, 250 and 500 mg NP/gTS concentrations of Ag, Al₂O₃, Fe₂O₃, CuO and CeO₂ nanoparticles (NP) were added to waste activated sludge to evaluate the long term effects of NP's on waste activated sludge anaerobic digestion by means of biochemical methane potential (BMP) test. In order to determine the acute affects of nanoparticles on waste activated sludge anaerobic digestion, ISO 13641-1 inhibition test was performed. During the inhibition test, 750 and 1000 mgNP/gTS concentrations were used in addition to the same NP concentrations which were used in the BMP test. The fluorescence in situ hybridization (FISH) technique was applied to observe the effects of nanoparticles on anaerobic archaea after BMP and inhibition tests.

According to the results of 48 days long BMP test, the cumulative increase of BMP values of 250 mgAg/gTS Ag NP concentration has been determined as 7.9% relatively to the control group, while 500 mgAg/gTS concentration display maximum 12.1% decrease. No inhibition effect has been observed for Al₂O₃ NP, on the contrary 14.8% of positive effect on biogas production was detected. As a result of the BMP test for Fe₂O₃ NP, increasing dosage has indicated a negative effect on methane production with a maximum inhibition of 28,9% for 500 mgNP/gTS concentration. Among all BMP tests, CuO NP was determined as the most toxic nano particle under anaerobic conditions. Hereunder 150 mgCuO/gTS concentration caused a 23.4% inhibition on gas production, while 250 and 500 mgCuO/gTS concentrations output a lower methane production than inoculum. Similar to Al₂O₃ NP, no inhibition has been observed for CeO₂ NP, and 25.5% increase was indicated.

Within the 72 hours long ISO 13641-1 inhibition analysis, inhibition has been determined through total gas pressure measurement unlike the methane production measurement in BMP tests. According to the results of ISO 13641-1 test, Ag NP did not cause a significant inhibition effect on the biogas production from municipal waste activated sludge anaerobic digestion. Similar results were observed for Al₂O₃ NP. Conversely to BMP test results, Fe₂O₃ nanoparticles displayed no inhibition effect on biogas production, yet it caused an increase of 8.7% on gas production. Parallel to the BMP test results, CuO NP was detected as the most toxic nanoparticle on biogas production. After only 50 mgCuO/gTS dosage, 84.2% of inhibition effect of biogas production has been observed compared to the control group. CeO₂ NP was determined as not effective on gas production during 72 hours long test.

According to the results of the FISH analysis imaging, archaea, *Methanosaeta spp.*, *Methanococcus spp.* and *Methanosarcinales* were all affected differently by the contact with nanoparticles. Archaea and *Methanosaeta spp.* populations were reduced due to the Ag, Fe₂O₃ and CuO NP existence in the test environment while *Methanococcus spp.* population was not affected and kept similar properties as the population of the control group. On the other hand *Methanosarcinales* was effected mildly negative in the existence of CuO NP.

KEYWORDS: Ananerobic digestion, Inhibition, Methane potential, Nanoparticles

COMMITTEE: Assoc. Prof. Altunay PERENDECI (Supervisor)
Prof. Mehmet KITIŞ
Assist. Prof. Çiğdem MORAL

ÖNSÖZ

Nanopartikül maddeler son yıllarda endüstriyel üretimde yoğun olarak kullanılmaya başlanmış maddelerdir. Nano boyutlarından ötürü pek çok benzersiz yapısal özelliğe sahip bu partiküller çeşitli mekanizmalarla endüstriyel ürünlerin bünyesinden ayrılarak çevreye salınmakta, hava, toprak ve su ortamlarına karışmaktadırlar. Özellikle tekstil, kozmetik ve temizlik alanlarındaki kullanımlarından ötürü atıksu ortamlarına ulaşarak atıksu ile birlikte atıksu arıtma tesislerinde birikmektedirler. Atıksudan ayrılarak arıtma çamurunda biriken diğer pek çok kirletici gibi nanopartiküllerin de nihai akümüasyonu arıtma çamurunda olmaktadır. Bu yolla başta anaerobik parçalanma prosesi olmak üzere arıtma çamurlarının dahil olduğu tüm uygulamalara nanopartiküller de dahil olmaktadır.

Anaerobik parçalanma prosesi arıtma çamurlarının stabilizasyonunda kullanılan en etkin yöntemdir. Parçalanma prosesinden geriye kalan çamur hacminin düşük olması, patojen miktarının azalması, katı madde içeriğinin artması gibi avantajlarının yanı sıra son ürün olarak enerji değeri olan biyogaz eldesi gibi önemli avantajlar anaerobik prosenin arıtma çamurlarının stabilizasyonunda kullanılmasını son derece cazip kılmaktadır. Endüstriyel kullanımları sebebiyle atıksu arıtma tesislerine ulaşmaları her geçen gün daha da artacak olan nanopartikül maddelerin, arıtma çamurlarının stabilizasyonunda ve arıtma çamurlarından enerji üretiminde kullanılan anaerobik parçalanma prosesine etkilerinin araştırılması, hem literatürde bulunan bilgi boşluğuna katkıda bulunulması açısından, hem de ileride atıksu arıtma tesislerinde karşılaşılması muhtemel problemleri önceden tespit edebilmek açısından önemlidir.

Bu tez çalışmasında; nanopartiküllerin atıksu arıtma tesislerine ulaştığı, arıtma çamurunda biriktiği bilgisinden yola çıkılmış ve farklı organizmalara toksik etkileri literatürde bildirilen nanopartiküllerin anaerobik mikroorganizmalar üzerine etkilerini tespit etmek amaçlanmıştır. Anaerobik mikroorganizmaların adaptasyon ihtimali göz önünde bulundurularak akut etkilerin araştırıldığı ISO 13641-1 testinin yanı sıra nanopartiküllerin evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanma prosesi üzerine uzun dönemli etkilerini tespit edebilmek amacıyla BMP testi de yapılmıştır. Yapılan her iki inhibisyon testinin ardından nanopartiküllerin anaerobik mikroorganizma popülasyonu üzerindeki etkilerini tespit etmek amacı ile inhibisyon testleri sırasında nanopartiküllere maruz bırakılmış numunelere FISH tekniği uygulanmış ve metanojenik mikroorganizma popülasyonunda ortaya çıkan değişiklikler tespit edilmiştir.

Bu tezin şekillenmesinde ve tamamlanmasında her türlü teorik desteği ve laboratuarda bütün imkanları sağlayan, çalışmanın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tez çalışmamın yürütülmesi ve yönlendirilmesinde bilgileri ile tezime ışık olan, çalışmaktan gurur duyduğum danışman hocam Doç.Dr.N.Altunay PERENDECİ'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Nanopartüküllerin sağlanması ve nanopartikül boyut analizi konusunda desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç.Dr. Ayça ERDEM'e teşekkür ederim.

ISO testi basınç ölçümleri ile numunelerin FISH analizi için hazırlanması ve görüntülenmesinde yardımcı olan, benimle çalışan ve desteklerini esirgemeyen Dr. Aslı Seyhan IĞGIN'a teşekkür ederim.

Numunelerin FISH analizi için Flüoresan mikroskop kullanım imkanlarını bize sunan ve destek veren Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Sibel BERKER KARAÜZÜM ve Yrd. Doç. Dr. Sezin YAKUT'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen diğer tüm hocalarım ve çalışma arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Her durumda dayanağım olan sevgili hayat arkadaşım Serkan ÜNŞAR'a,

Tüm kararlarımda beni destekleyen ve bugüne ulaşmamı sağlayan çok kıymetli annem Semanur KÖKDEMİR ve babam Celal KÖKDEMİR'e sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	3
2.1. Anaerobik Parçalanma Tanımı ve Mekanizması	3
2.2. Neden Anaerobik?.....	5
2.3. Anaerobik Parçalanma Prosesinde Görev Alan Mikroorganizmalar	9
2.4. Anaerobik Parçalanma Prosesini Etkileyen Çevresel Faktörler.....	11
2.5. Anaerobik Parçalanma Prosesinde Toksisite	12
2.6. Nanopartikül Maddeler	16
2.6.1. Sınıflandırılmaları ve özellikleri	17
2.6.2. Nanopartiküllerin endüstriyel kullanımları	18
2.6.3. Nanopartiküllerin potansiyel toksik etkileri.....	20
2.6.4. Çevresel etkileri	22
2.6.5. Çevresel akıbetleri.....	23
2.7. Nanopartikül Maddelerin Anaerobik Parçalanma Prosesine Etkileri	27
3. MATERYAL VE METOD	31
3.1. Eysel Arıtma Çamuru ve Anaerobik Aşı Çamur Numunelerinin Alınması ve Saklanması.....	31
3.2. Arıtma Çamurlarının Karakterizasyon Analizleri.....	32

3.2.1. Toplam katı madde (TKM)	32
3.2.2. Uçucu katı madde (UKM).....	32
3.2.3. Toplam kimyasal oksijen ihtiyacı (tKOİ) ve çözülmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ).....	32
3.2.4. Toplam kjeldahl azotu (TKN).....	33
3.2.5. Protein analizi	33
3.2.6. Toplam şeker (tGlukoz) ve toplam indirgen şeker analizi (tİndŞeker)....	33
3.2.7. Ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) analizi	34
3.2.8. Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözümlü madde (SOLU) fraksiyon analizleri	34
3.2.9. Elementel analiz	34
3.3. Nanopartikül Süspansiyonlarının Hazırlanması ve Partikül Büyüklüğünün Tespit Edilmesi	35
3.4. Biyokimyasal Metan Potansiyeli (BMP)	36
3.4.1. BMP Testi	36
3.4.2. Makro ve mikro element ile NaHCO ₃ çözeltileri.....	38
3.4.3. Anaerobik aşı çamur	39
3.4.4. Biyogaz hacmi ve gaz kompozisyonunun belirlenmesi	40
3.4.5. Üretilen metan miktarının hesabı	41
3.4.6. Aşı çamur ve glukoz kontrol BMP değeri.....	42
3.5. Anaerobik İnhibisyon Testi (ISO 13641-1)	42
3.5.1. İnhibisyon miktarının tespit edilmesi.....	44
3.5.2. %50 Etkin konsantrasyonun (EC ₅₀) belirlenmesi	44
3.5.3. Gaz basıncının gaz hacmine çevrilmesi	44
3.6. Flüoresanlı Yerde Hibritleme	45
3.6.1. Flüoresanlı yerde hibritleme analizi.....	45
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	48

4.1. Arıtma Çamuru Karakterizasyon Analiz Sonuçları	48
4.2. Nanopartiküllerin Arıtma Çamurlarının Biyokimyasal Metan Potansiyeline (BMP) Etkileri	50
4.2.1. Gümüş nanopartikülü (Ag NP) BMP sonuçları	51
4.2.2. Alüminyum oksit nanopartikülü (Al ₂ O ₃ NP) BMP sonuçları	53
4.2.3. Demir (II) oksit nanopartikülü (Fe ₂ O ₃ NP) BMP sonuçları	55
4.2.4. Bakır (II) oksit nanopartikülü (CuO NP) BMP sonuçları	577
4.2.5. Seryum (IV) oksit nanopartikülü (CeO ₂ NP) BMP sonuçları	59
4.3. Arıtma Çamurlarının Anaerobik Parçalanma Prosesine Nanopartiküllerin İnhibisyon Etkilerinin Tespit Edilmesi	61
4.3.1. Gümüş nanopartikülün (Ag NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri	62
4.3.2. Alüminyum oksit nanopartikülün (Al ₂ O ₃ NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri	65
4.3.3. Demir (III) oksit nanopartikülün (Fe ₂ O ₃ NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri	67
4.3.4. Bakır (II) oksit nanopartikülün (CuO NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri	69
4.3.5. Seryum (IV) oksit nanopartikülün (CeO ₂ NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri	73
4.4. Flüoresanlı Yerde Hibritleme (FISH) Analizi Sonuçları	75
4.4.1. <i>Arke</i> probu (ARC915) FISH görüntüleme sonuçları	75
4.4.2. <i>Methanosaeta spp.</i> probu (MX825) FISH görüntüleme sonuçları	77
4.4.3. <i>Methanococcus spp.</i> probu (MC1109) FISH görüntüleme sonuçları	78
4.4.4. <i>Methanosarcinales</i> probu (MSMX860) FISH görüntüleme sonuçları	80
5. SONUÇ	82
6. KAYNAKLAR	85
7. EKLER	97
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat olarak sıcaklık derecesi
µm	Mikrometre
cm	Santimetre
Dk	Dakika
g	Gram
kcal	Kilokalori
kg	Kilogram
kJ	Kilo joule
kW	Kilowatt
L	Litre
m	Metre
M	Molar
m ²	Metrekare
m ³	Metreküp
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
Mtep	Milyon ton eşdeğeri petrol
N	Normalite
nm	Nanometre
Pa	Paskal
rpm	Karıştırma hızı, dakikada dönme sayısı
sa	Saat
w/v	Ağırlık/hacim
w/w	Ağırlık/ağırlık

Kısaltmalar

AR-GE	Araştırma-Geliştirme
AB	Avrupa Birliği
Bkz.	Bakınız
BMP	Biyokimyasal Metan Potansiyeli
BSA	Bovin Serum Albumin
çKOİ	Çözünmüş Kimyasal Oksijen İhtiyacı
FISH	Flüoresanlı Yerde Hibritleme
GC	Gaz Kromatografisi
AAT	Atıksu Arıtma Tesisi
HMF	Hidroksi Metil Furfural
ISO	International Standards Organisation
KOİ	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
MTA	Maden Tetkik ve Arama
NP	Nanopartikül
SSB	Standart Sıcaklık ve Basınç
TKM	Toplam Katı Madde
TP	Toplam Fosfor
TKN	Toplam Kjeldahl Azotu
TOK	Toplam Organik Karbon
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
HEMI	Hemiselüloz
CELL	Selüloz
LIGN	Lignin
SOLU	Çözünür Fraksiyon
UKM	Uçucu Katı Madde
OLR	Organik Yükleme Hızı
UASB	Yukarı Akışlı Anaerobik Çamur Yatağı
EGSB	Genişlemiş Granüler Çamur Yataklı Reaktör
UYA	Uçucu Yağ Asitleri
KM	Katı Madde
vb	Ve benzeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Anaerobik parçalanma prosesinin aşamaları ve üretilen ürünler.....	4
Şekil 2.2. AB ülkelerinde 2009 yılında ton eşdeğer petrol cinsinden kişi başına üretilen biyogaz miktarları	8
Şekil 2.3. Anaerobik parçalanmanın aşamaları ve görev alan mikroorganizma grupları .	9
Şekil 2.4. 2006 ve 2011 yıllarında kategorilerine göre NP içeren ürün sayıları.....	20
Şekil 2.5. Nanopartiküllerin bakteriler üzerindeki olası toksisite mekanizmaları	22
Şekil 2.6. Nanopartikül maddelerin çevre ve insanlara olası maruziyet yolları	25
Şekil 3.1. Antalya şehri atıksu arıtma tesisleri hizmet alanı	31
Şekil 3.2. BMP reaktörü.....	37
Şekil 3.3. Biyogaz miktarı ölçüm düzeneği	40
Şekil 3.4. Gaz kromatografi ile gaz kompozisyonu ölçümü	40
Şekil 3.5. Gaz kompozisyonun belirlenmesi.....	41
Şekil 3.6. Gaz basıncına karşılık gaz hacmi değerleri	45
Şekil 4.1. 0,09, 0,86, 2,61, 4,34 ve 8,68 mgSDBS/gTKM konsantrasyonlarında SDBS içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları	51
Şekil 4.2. Ag NP farklı konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg Ag/g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi.....	52
Şekil 4.3. Ag NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg Ag/g TKM konsantrasyonlarında Ag NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları.....	52
Şekil 4.4. Al ₂ O ₃ NP farklı konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg Al ₂ O ₃ /g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi.....	54
Şekil 4.5. Al ₂ O ₃ NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg Al ₂ O ₃ /g TKM konsantrasyonlarında Al ₂ O ₃ NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları.....	54
Şekil 4.6. Fe ₂ O ₃ NP farklı konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg Fe ₂ O ₃ /g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi.....	56
Şekil 4.7. Fe ₂ O ₃ NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg Fe ₂ O ₃ /g TKM konsantrasyonlarında Fe ₂ O ₃ NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları.....	57

Şekil 4.8. CuO NP konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg CuO/g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi	58
Şekil 4.9. CuO NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg CuO/g TKM konsantrasyonlarında CuO NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları.....	58
Şekil 4.10. CeO ₂ NP konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg CeO ₂ /g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi	60
Şekil 4.11. CeO ₂ NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg CeO ₂ /g TKM konsantrasyonlarında CeO ₂ NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları	60
Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlarda SDBS inhibisyonunun zamana karşı değişimi ...	62
Şekil 4.13. Ag NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları	63
Şekil 4.14. Ag NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri.....	63
Şekil 4.15. Farklı konsantrasyonlarda Ag NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi	64
Şekil 4.16. Al ₂ O ₃ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları	65
Şekil 4.17. Al ₂ O ₃ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri.....	66
Şekil 4.18. Farklı konsantrasyonlarda Al ₂ O ₃ NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi	66
Şekil 4.19. Fe ₂ O ₃ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları	67
Şekil 4.20. Fe ₂ O ₃ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri.....	68
Şekil 4.21. Farklı konsantrasyonlarda Fe ₂ O ₃ NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi	68
Şekil 4.22. CuO NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları	70

Şekil 4.23. CuO NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri.....	70
Şekil 4.24. Farklı konsantrasyonlarda CuO NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi.....	71
Şekil 4.25. CuO NP için konsantrasyona karşı % inhibisyon değerlerinin değişimi.....	72
Şekil 4.26. CeO ₂ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları	73
Şekil 4.27. CeO ₂ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri.....	74
Şekil 4.28. Farklı konsantrasyonlarda CeO ₂ NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi.....	74
Şekil 4.29. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve Arke (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) BMP kontrol numunesi, (b) 500 mgAg NP/gTKM BMP numunesi, (c) 500 mgFe ₂ O ₃ NP/gTKM BMP numunesi ve (d) 500 mgCuO NP/gTKM BMP numunesi	76
Şekil 4.30. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve Arke (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi, (b) 1000 mgAg NP/gTKM ISO numunesi, (c) 1000 mgFe ₂ O ₃ NP/gTKM ISO numunesi ve (d) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi	77
Şekil 4.31. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve <i>Methanosaeta spp.</i> (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi, (b) 1000 mgCeO ₂ NP/gTKM ISO numunesi, (c) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi	78
Şekil 4.32. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve <i>Methanococcus spp.</i> (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) BMP kontrol numunesi, (b) 500 mgAg NP/gTKM BMP numunesi, (c) 500 mgFe ₂ O ₃ NP/gTKM BMP numunesi ve (d) 500 mgCuO NP/gTKM BMP numunesi.....	79
Şekil 4.33. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve <i>Methanococcus spp.</i> (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi, (b) 1000 mgFe ₂ O ₃ NP/gTKM ISO numunesi, (c) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi	80
Şekil 4.34. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve <i>Methanosarcinales</i> (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi ve (b) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Nanopartiküllerden kaynaklanan toksikolojik etkiler ve bu etkileri örnekleyen çalışmalar	21
Çizelge 2.2. Nanopartiküllerin toksik etkileri	24
Çizelge 2.3. Nanopartikül içeren çeşitli ürünlerden kaynaklanan emisyon miktarları ...	26
Çizelge 2.4. Nanopartikül maddelerin anaerobik mikroorganizmalar üzerine etkileri hakkında literatürde mevcut çalışmalar	27
Çizelge 3.1. Nanopartiküllerin kuru ve stok süspansiyon halindeki partikül boyutları ..	35
Çizelge 3.2. BMP testi için gerekli makro elementler ve konsantrasyonları	38
Çizelge 3.3. BMP testi için gerekli mikro elementler ve konsantrasyonları.....	39
Çizelge 3.4. Nanopartiküllerin evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine etkilerinin tespiti için yapılan BMP testlerinde kullanılan anaerobik aşı çamura ait TKM ve UKM sonuçları	39
Çizelge 3.5. 100 mL çalışma hacmi için örnek reaktör içeriği oranları.....	43
Çizelge 3.6. Hibridizasyon tampon çözeltisi içeriği	46
Çizelge 3.7. Anaerobik aşı çamur içerisinde bulunan arkeleri testip etmek için kullanılan probalar ve özellikleri.....	46
Çizelge 3.8. Yıkama tampon çözeltisi.....	47
Çizelge 4.1. Arıtma çamuru karakterizasyon analiz sonuçları.....	48

1. GİRİŞ

Dünya nüfusu her geçen yıl daha hızlı artmakta ve çağımızın gerektirdiği yaşam şekline göre hızla artan bu nüfusun ihtiyaçları giderek daha zor karşılanmaktadır. Yiyecek ve giysi gibi temel ihtiyaçların üretiminden, teknoloji ve lüks tüketime kadar hayatın her alanında ve en önemlisi her sosyo-ekonomik koşulda insanların enerjiye bağımlılığı tartışılmaz bir gerçektir. Buna karşın günümüzdeki en temel enerji kaynağı olan fosil yakıtlar önlenemez bir hızla tükenmektedir. Bu durum, kendi coğrafyası içinde fosil kaynakları olmayan ya da bunu temin edebilecek ekonomik güce sahip olmayan ülkeleri daha da endişelendirmektedir. Bu endişeden doğan önlem alma gerekliliği, ülkeleri enerji konusunda yeni teknolojiler ve yeni yaklaşımlar üretmeye itmiştir. Son yıllarda gelişen en önemli yaklaşım sürdürülebilirliktir. Bu doğrultuda da yeni enerji teknolojileri arayışında yenilenebilir enerjiler odak noktası haline gelmiştir. Ülkemiz enerji bakımından dışa bağımlıdır. Bu durum hem ekonomik hem de çevresel olarak sürdürülebilir değildir ve dolayısıyla ülkemiz içindeki enerji kaynaklarını kullanabilmek için yapılan araştırma ve yatırımlar artırılmalı, bakış açıları değiştirilmelidir.

Yenilenebilir enerjilerin pek çok olumlu yanı olmakla birlikte Türkiye gibi enerji bakımından dışa bağımlı ülkeler için en önemli avantajı yerel olarak temin edilebilir olmasıdır. Özellikle biyokütleden elde edilen enerjilerin yalnızca ülke çapında değil şehir ve hatta kurum ölçeğinde dahi üretilebilir olması bu enerjilerin ulaşılabilirliğini ve kıymetini günümüzdeki enerji darboğazında son derece arttırmaktadır. AB'nin esas üye ülkeleri olan 27 adet ülke ve aday ülkeler hakkındaki verileri içeren, iki yılda bir hazırlanan enerji raporlarına göre AB'nin 2011 yılı yaklaşık nüfusu 503 milyondur (EU Energy in Figures, 2012). Toplam enerji tüketiminin %36,4'ünü petrolden ve % 23,9'unu doğal gazdan karşılamaktadır. Bilindiği gibi bu enerji kaynakları yenilenebilir değildir. AB'nin enerji bağımlılığını vurgulaması açısından önemli olan bilgi ise toplam enerji tüketiminin %53'ünü (952,3 Mtep) ithal ettiğidir. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı verilerine göre ülkemizde 2011 yılı itibari ile 114480,2 Tep enerji tüketimi bulunmaktadır. Bunun yalnızca 8706,4 Tep kadarı yenilenebilir enerji kaynaklıdır (Genel Enerji Dengesi, 2011). Türkiye'de, ithal edilen enerji miktarı ise toplam enerji tüketiminin %74,4'üne eşdeğerdir (EU Energy and Transport in Figures, 2010). Bu durum ülkemiz tükettiği enerjinin 4'te 3'ünü dış kaynaklardan temin ettiği anlamına gelmektedir. Hızla artan nüfusumuzdan dolayı enerji konusundaki dışa bağımlılığımız her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle yerel olarak elde edebileceğimiz, sürdürülebilir enerji kaynaklarına yönelmemiz artık kaçınılmaz bir zorunluluk haline gelmiştir.

Biyokütle yaşayan ya da yaşamını yeni tamamlamış olan biyolojik materyal olarak tanımlanmaktadır. Biyokütlenin en önemli özelliği sürekli elde edilebilir bir enerji kaynağı olmasıdır. Her yerde temin edilmesi mümkündür ve genellikle bertaraf edilmesi gereken organik atık formunda karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda, özellikle anaerobik prosesler kullanılarak, biyokütleden enerji üretimi giderek yaygınlaşmaktadır. Bu yaygınlaşma hem biyokütlenin sürekli olarak elde edilebilmesinden, hem de anaerobik proseslerin avantajlarından ileri gelmektedir. Atıkların anaerobik parçalanmasından elde edilen biyogaz enerjisinin Avrupa'nın gelecekteki enerji kaynaklarına önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Avrupa'daki yıllık biyogaz üretim potansiyelinin 200 milyar m³ olduğu tahmin edilmektedir (Appels vd 2008). AB

2010 yılı itibari ile brüt enerji tüketiminin yalnızca %9,8'ini yenilenebilir enerji kaynaklarından karşılamaktadır. Bununla birlikte, söz konusu yenilenebilir kaynakların %68,4'ünü biyokütle ve organik atıklar oluşturmaktadır (EU Energy in Figures, 2012).

Atıksu arıtma tesislerinde her gün tonlarca üretilen arıtma çamuru, yönetilmesi çevre mühendisliği açısından önemli problemler teşkil eden bir biyokütle kaynağıdır. Günümüzde kişi başına üretilen arıtma çamurunun ortalama 60-90 g TKM/gün olduğu ifade edilmektedir. Bu da yalnızca AB için yılda yaklaşık 10 milyon ton TKM içerikli arıtma çamuru üretildiği anlamına gelmektedir (Appels vd 2008). Aynı veri Amerika Birleşik Devletleri için 7 milyon ton TKM ve Çin için 2010 yılında 8 milyon ton olarak tespit edilmiştir (Ziemba ve Peccia 2011, Cao ve Pawlowski 2012). Bu sayıların nüfus ve şehirleşmedeki artış hızı göz önünde bulundurulduğunda çok kısa süre içerisinde büyük bir hızla artacağını öngörmek zor değildir. Arıtma çamuru için enerji kazanımı ve çevresel sürdürülebilirlik açısından en uygun yönetim yaklaşımı anaerobik çürütme olarak değerlendirilmektedir. Arıtma çamuru hacim ve hijyen bakımından stabilizasyon gerektiren, önemli miktarda metan üretim potansiyeli bulunduran bir kirlilik kaynağıdır. Anaerobik parçalanma prosesi doğası gereği arıtma çamurunun yönetilebilmesi için ihtiyaç duyulan stabilizasyonu sağlayan ve en önemlisi bunu sağlarken kıymetli bir enerji kaynağı olan metan gazı üreten bir prosestir. Arıtma çamurlarının anaerobik parçalanması modern atıksu arıtma tesislerinde giderek yaygınlaşmaktadır ve anaerobik parçalanma sistemleri özellikle büyük kapasiteli tesislerin önemli bir parçası haline gelmeye başlamıştır. Bununla birlikte, anaerobik parçalanma prosesi, arıtma çamuru ile proses reaktörüne taşınabilecek her türlü toksik maddeye açık durumdadır. Bilindiği üzere bir atıksu arıtma tesisine taşınan organik ve inorganik kirliliklerin büyük bir kısmı arıtma çamurunda birikmekte ve buradan da arıtma çamurunun içine alındığı anaerobik parçalanma reaktörüne taşınmaktadır. Anaerobik parçalanma prosesi kompleks bir biyolojik reaksiyondur ve her biyolojik reaksiyonda olduğu gibi toksik etkiler nedeniyle inhibe olma riski taşımaktadır.

Bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı; çevresel ve ekonomik faydaları ispatlanmış olan arıtma çamurlarının anaerobik parçalanma prosesine nanopartikül maddelerin etkilerini araştırmaktır. Nanopartikül maddeler endüstride kullanımları son derece artmış olan, atıksu arıtma tesislerine taşındıkları tespit edilmiş potansiyel toksik maddelerdir. Yapılan literatür taraması sonucunda; nanopartikül maddelerin aerobik organizmalar üzerine etkilerinin araştırıldığı fakat anaerobik mikroorganizmalar ile ilgili çok kısıtlı bilginin bulunduğu tespit edilmiştir. Tez çalışması sonucunda literatürdeki bilgi eksikliğinin doldurulmasına ve gelecekteki potansiyel uygulamalara katkı yapmak hedeflenmiştir. Bu kapsamda nanopartikül maddelerin anaerobik mikroorganizmalar üzerine akut ve uzun dönemli etkileri sırası ile ISO 13641-1 ve Biyokimyasal Metan Potansiyeli (BMP) Testi ile tespit edilmeye çalışılmış, mikroorganizma kültüründeki değişiklikler Flüoresanlı Yerde Hibritleme (FISH) analizi ile gözlenmiştir.

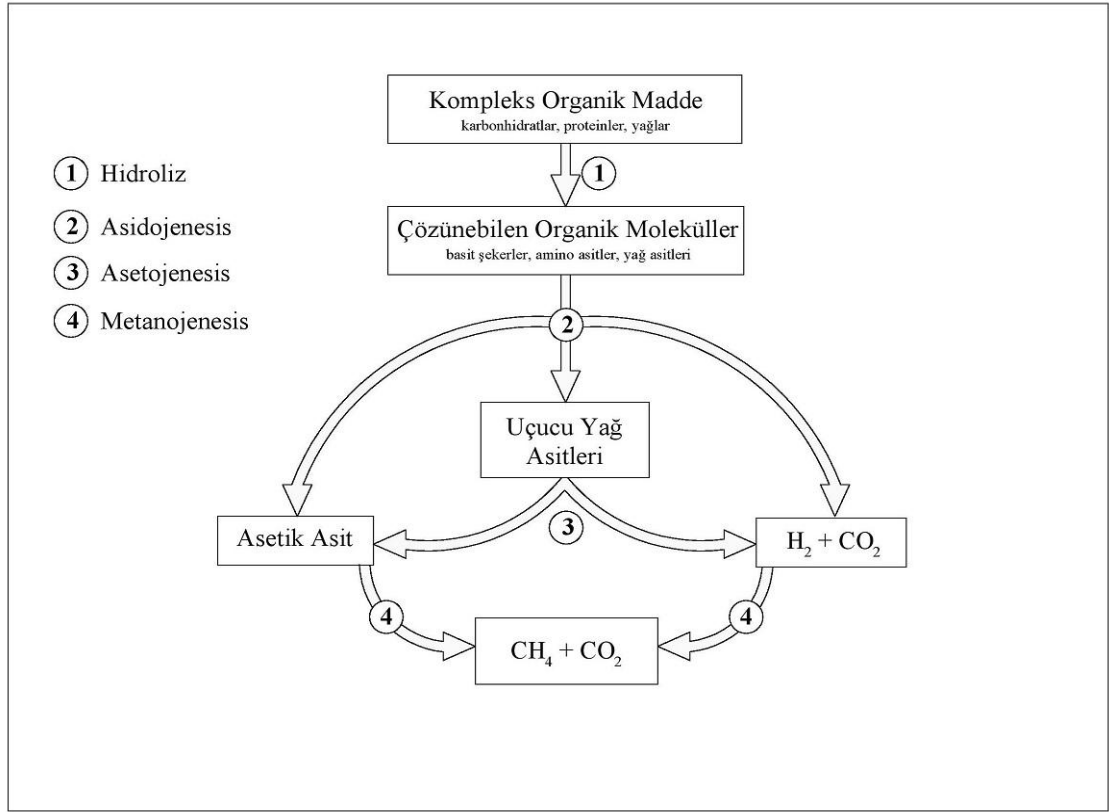
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

2.1. Anaerobik Parçalanma Tanımı ve Mekanizması

Anaerobik proses; yüksek konsantrasyonlarda biyolojik olarak parçalanabilen substratların anaerobik koşullarda parçalanarak ortamdan giderildiği, düşük hacimli çamur üretimi ve üretilen biyogaz içerisindeki metanın kullanımı ile enerji kazanımı avantajlarına sahip biyokimyasal bir süreçtir (Mailleret vd 2003). Organik atıkların oksijensiz ortamda biyolojik süreçlerle parçalanmak suretiyle, CH₄, CO₂, NH₃ ve H₂S gibi son ürünlere dönüştürülmesi olarak da tanımlanmaktadır (Öztürk 2007). Anaerobik parçalanma prosesi yalnızca oksijensiz ortamda çalışabilen, pek çok farklı mikroorganizmanın görev aldığı zincirleme dört aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar sırası ile hidroliz, asidojenesis, asetojenesis ve metanojenesistir.

İlk aşama olan hidroliz aşamasında kompleks moleküller olan protein, karbonhidrat ve yağlar sırası ile basit yapı taşları olan amino asit, monosakkarit ve yağ asitlerine dönüşmektedir. Böylece organik maddeler hücre içine girebilecek forma ulaşmakta ve anaerobik parçalanmanın sonraki aşamalarında kullanılabilmeye hazır hale gelmektedir. Basit yapı taşlarına ayrılma hidroliz aşamasında görev alan fermentatif mikroorganizmaların salgıladığı amilaz, proteaz, lipaz gibi hücre dışı enzimlerce gerçekleştirilen oldukça yavaş bir süreçtir ve anaerobik parçalanmanın tamamlanabilmesi için sağlıklı bir şekilde işlemesi gerekmektedir (Kim vd 2012). Bu nedenle hidroliz hızı tüm prosesin hızı için sınırlayıcı bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Parkin ve Owen 1986). Günümüzde hidroliz aşamasını hızlandırabilmek ve anaerobik parçalanma prosesinin metan verimini arttırabilmek için organik atıklara çeşitli ön arıtım işlemleri uygulanmaktadır.

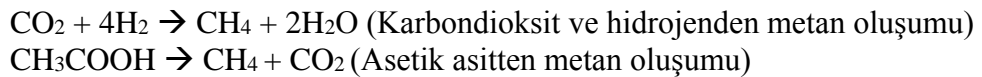
Hidroliz aşamasının son ürünü olan organik bileşiklerin basit yapı taşları, ikinci aşama olan asidojenesiste girdi olmakta ve asidojenik bakteriler tarafından uçucu yağ asitleri, ketonlar, alkoller, hidrojen ve karbondioksit ürünlerine dönüştürülmektedirler. Üretilen bu uçucu yağ asitleri ve alkollerden başlıcaları propiyonik asit, bütirik asit, asetik asit, formik asit, laktik asit, etanol ve metanoldür (Serna 2009). Anaerobik parçalanma prosesinin bu aşamasında üretilen hidrojen, karbondioksit ve asetik asit Şekil 2.1'den görülebileceği üzere 3. aşama olan asetojenesisi atlayarak arkeler tarafından metan üretiminde direkt kullanılmaktadırlar.



Şekil 2.1. Anaerobik parçalanma prosesinin aşamaları ve üretilen ürünler (Long 2010)

Metan üretiminden bir önceki adım olan asetojeneziste, asidojenezis aşamasında üretilen ve arke grubu tarafında direkt kullanılması mümkün olmayan ürünler, asetojenik bakteriler tarafından arkelerin temel substratları olan asetik asit, hidrojen ve karbondioksit çevrilmiştir (Öztürk 2007). Bu aşamada hidrojeni kullanan arkeler tarafından hidrojenin tüketilerek, kısmi basıncının 10^{-3} atm'in altına inmesi sağlanmadıkça asetojenezis basamağının ilerlemesinin termodinamik açıdan mümkün olmayacağı kabul edilmektedir. Ayrıca yüksek hidrojen kısmi basınçlarında propiyonik asit parçalanmasının kısmen inhibe olduğu belirlenmiştir (Khanal 2008).

Son aşama olan metanojeneziste asetik asit, hidrojen ve karbondioksit enerji değerine sahip metan gazını içeren biyogaza dönüşmektedir. Bu dönüşümün son ürünü olan ve suda çözünmeyen biyogazın atıktan ayrılması sayesinde atık stabilizasyonu sağlanmakta ve atık hacmi de azalmaktadır. Metanojenezis safhasında arkelerin karbondioksit (CO₂), hidrojen (H₂) ve asetik asitten (CH₃COOH) metan (CH₄) üretimi aşağıda verilen kimyasal reaksiyonlara göre gerçekleşmektedir (Serna 2009).



Anaerobik parçalanmanın son aşaması olan metanojenezis aşamasında üretilen biyogaz genellikle %48-65 metan, %36-41 CO₂, %17 azot, ve %1 civarında da hidrojen sülfür benzeri diğer gazlardan oluşmaktadır (Ward vd 2008). Üretilen metan gazının %70'i asetik asitin dekarboksilasyonu ve %30'u CO₂ ve H₂'nin indirgenmesi sonucu

oluşmaktadır. Anaerobik parçalanma prosesinin asetojenesis ve metanojenesis aşamalarında görev alan mikroorganizmalar arasında simbiyotik bir ilişki bulunmaktadır. CO₂ ve H₂'den metan üreten arkeler, asetik asit kullanan arkelere göre çok daha hızlı çoğalmakta ve bu sayede asit üretimi aşamasında ortaya çıkan hidrojeni tüketerek asetojenesis aşamasının gerçekleşmesi için gereken kısmi hidrojen basıncını sabit tutmaktadırlar (Öztürk 2007). Bu ilişki anaerobik prosesi dengede tutmaktadır. Ayrıca asetik asitten metan üreten arkelerin çoğalma hızlarının yavaş olması bu işlemin metanojenesis aşamasının gerçekleşmesi sırasında hız sınırlayıcı olmasına sebep olmaktadır (Mrafkova vd 2003). Asetik asiti tüketen arkelerin yavaş çoğalmasının yanı sıra, aşırı organik yükleme ya da çeşitli faktörlerin etkisi nedeniyle metan arkelerinin inhibe olması da uçucu yağ asitlerinin ortamda birikmesine ve anaerobik prosesin dengesinin bozulmasına neden olmaktadır (Madsen vd 2011).

2.2. Neden Anaerobik?

Petrol kaynaklı enerjinin tükeneceği ve bu nedenle alternatif enerji kaynakları aranması gerekliliği 30 yıldır bilinen bir gerçektir. Bunun yanı sıra son 10 yıldır küresel ısınma ve biyolojik çeşitliliğin azalması gibi önü alnamaz çevre problemleri, doğal kaynak kullanımında kontrolsüzlük ve modern insanın enerjiye bağımlı ihtiyaçları bu gerçeği kritik bir durum haline getirmiştir. Ortaya çıkan bu kritik durum geleneksel ekonomik ve çevresel yaklaşımların değişmesine sebep olmuş, sürdürülebilirlik anlayışı problemlerin çözümünde kullanılan temel anlayış haline gelmiştir. Amerikan Çevre Koruma Ajansı'nın tanımına göre sürdürülebilirlik; doğa ve insanın üretken bir uyum içinde var olarak mevcut ve gelecek kuşakların sosyal, ekonomik ve diğer ihtiyaçlarının karşılanmasıdır. Bu çerçevede, anaerobik parçalanma prosesi atık maddelerden enerji eldesiyle, neredeyse her türlü organik atığa yerinde uygulanabilirliğiyle ve uygulandığı atığın hacmini azaltarak nihai bertarafını kolaylaştırması ile sürdürülebilir bir enerji sağlayıcısı ve kirlilik yönetim teknolojisidir.

Metan üretimi sayesinde organik atıklardaki enerji potansiyelinden yararlanmayı sağlaması, patojen mikroorganizmaları büyük oranda yok etmesi, çok yüksek organik konsantrasyonlarda çalışabilen bir proses olması, tesis kurulumu için az alana ihtiyaç duyması, ortaya çıkan çamurun hacimce daha az olması ve dolayısıyla daha az çevresel ve ekonomik problem yaratması anaerobik parçalanma prosesinin en önemli özelliklerindedir (Demirel vd 2005). Ayrıca anaerobik mikroorganizmalar uzun süre karbon kaynağı beslemesi olmadan aktivitelerini koruyabilmektedirler. Anaerobik proses teknolojisinin yaygın kullanımı, artan enerji güvenliği sorununu, toksik hava kirleticileri yayılımını ve artan sera gazı yayılımını azaltmaktadır (Khanal 2008). Tüm bu sebepler anaerobik parçalanma prosesini günümüzün en temel biyolojik bertaraf metotlarından biri haline getirmektedir. Bu durumun doğal bir sonucu olarak dünya çapında her yıl 100-150 adet yeni anaerobik reaktör kurulmaktadır (Totzke 2012).

Anaerobik parçalanma teknolojisi; organik kirliliği yüksek endüstriyel atıksulara, dayanıklı kimyasal bileşenler içeren kompleks atıksulara, arıtma çamurlarına ve termofilik sıcaklıklardaki atıksulara uygulanması mümkün olan biyolojik bir araçtır (Tabatabaei vd 2010). Bu atıkların yanı sıra, yakın zamana kadar hemen hemen sadece arıtma çamurlarının çürütülmesinde uygulanan anaerobik arıtma prosesi, son yıllarda endüstriyel ve evsel atıksuların arıtılması ile kentsel ve endüstriyel organik katı atıkların

kompostlaştırılmasında da yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Öztürk 2007). Zira anaerobik parçalanma prosesi %40'tan daha az kuru madde içeren yaş atıkların stabilize edilmesinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Mata-Alvarez 2002). Bu durum kentsel ve endüstriyel katı atıkların organik fraksiyonunu anaerobik parçalanma için ideal organik atıklar haline getirmektedir. Kentsel ve endüstriyel katı atıkların organik bileşenlerinin anaerobik prosesler ile kompostlaştırılması AB aday ülkesi olan Türkiye'de son yıllarda popülaritesini arttırmaktadır. Katı atıkların organik fraksiyonlarının depolanarak bertarafının sürdürülebilir olmaması ve ülkemizin AB uyum süreci içinde olması bu konuda yeni yatırımların gerçekleşmesine yol açmaktadır. 2007-2023 döneminde atık yönetimi kapsamında yapılması öngörülen 10 milyar Euro'luk yatırımın %80'inin ikili depolama sistemleri geliştirilmesi ve vahşi depolama alanlarının kapatılmasının yanı sıra düzenli depolama ve kompost tesisleri gibi anaerobik proseslerin işletilebileceği tesislere yapılması planlanmaktadır (Topkaya 2013). Bu atıkların anaerobik stabilizasyonu sonucu ortaya çıkan çamur, bitkilerin kullanımına elverişli oluşu, toprağa uygulanmaya müsait yapısı ve büyük oranda patojen içermemesi nedeniyle toprak iyileştirici madde özelliği taşımaktadır (Ward vd 2008). Anaerobik parçalanma prosesi sonucu elde edilen çamurun toprak iyileştirici madde olarak kullanılabilir olması, AB Deponi Direktifinde belirtilen hedefler açısından büyük önem taşımaktadır. Bu hedeflere göre AB ve Türkiye, deponi alanlarında bertaraf edilen biyolojik olarak parçalanabilir evsel katı atık miktarını 1995 yılına göre, 2013 yılında %50 ve 2020 yılında da %65 azaltmak durumundadır.

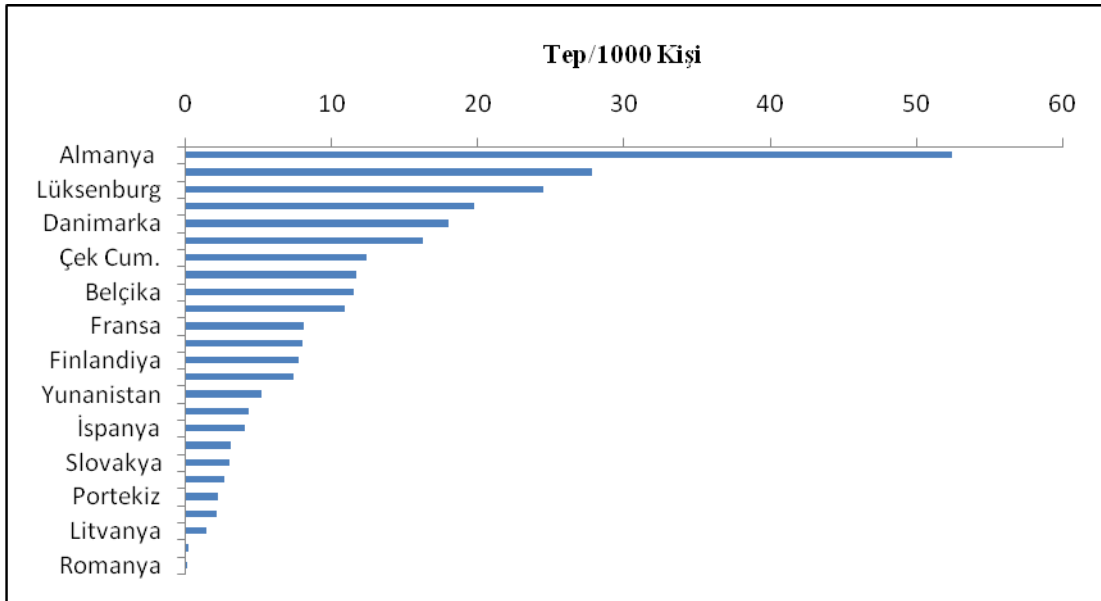
Organik kirliliği yüksek atıksuların doğrudan aerobik arıtılması, yüksek havalandırma maliyeti, oksijen aktarım problemleri, aşırı çamur üretimi ve çamurun çökme problemi gibi sorunlardan ötürü verimli olmamaktadır (Türker 2008). Endüstriyel atıksular, üretim sırasında kullanılan ham maddeler ve üretim prosesleri sebebiyle genellikle yüksek KOİ'ye sahip atıksulardır. Ortalama 5000 - 10000 mgKOİ/L gibi yüksek organik içeriğe sahip olmaları sebebiyle arıtılmalarında anaerobik parçalanma prosesinin kullanılması son derece uygun olan endüstriyel atıksuların başında gıda endüstrisi atıksuları gelmektedir. Atıksularının arıtılmasında anaerobik parçalanma prosesi kullanılan başlıca gıda endüstrileri mısır, patates ve haşhaş işleme, ekmek mayası ve şekerleme üretimi endüstrileridir (Erşahin vd 2011). Türkiye'de ve dünyada gıda endüstrisi dışında, atıksularının arıtılmasında anaerobik parçalamadan en çok faydalanılan endüstriler ise kağıt, bira, petro-kimya, tekstil endüstrileri ve çöp sızıntı suyudur (Türker 2008). Endüstriyel atıksuların arıtılmasında anaerobik proseslerin kullanılması biyolojik kirliliğin etkin şekilde giderilmesinin yanında aerobik proseslere göre yatırım maliyeti açısından da daha avantajlı olmaktadır. Örneğin aktif çamur sisteminin teknik ekipman maliyeti, yukarı akışlı anaerobik çamur yatağına göre 10 kat daha fazladır. Üstelik aerobik sistemlerin arazi gereksinimi anaerobik reaktörlere göre daha fazla olacağından aerobik sistemlerin anaerobik sistemlere göre ilk yatırım maliyeti daha yüksek olmaktadır (Türker 2008).

Arıtma çamurları atıksu arıtma tesislerinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtma işlemlerinin bir yan ürünü olarak ortaya çıkmakta ve bertaraf edilmesi tesislerin işletme maliyetlerinin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır (Appels vd 2008). Üretilen arıtma çamurları yarattığı ekonomik sorunların yanı sıra eğer doğru yaklaşımlarla yönetilmezse çevresel anlamda da son derece yıkıcı etkilere sahip bir kirlilik kaynağıdır. Atıksu ortamına girerek arıtma tesislerine ulaşan kirletici maddeler genellikle askıda katılara

tutunmakta, birincil ve ikincil çökeltim aşamalarında çökeltmekle birlikte arıtma çamurunda birikmektedirler (Stasinakis 2012). AB ülkelerinde arıtma çamurlarının %53'ü, ABD ve Kanada'da ise %40'ı direkt ya da kompostlandıktan sonra toprağa uygulanmaktadır (Kelessidis ve Stasinakis 2012, Citulski ve Farahbakhsh 2010). Arıtma çamurunda biriken kirleticilerin toprağa uygulanmaları yolu ile ekosisteme dahil olmalarını engellemek için bu çamurlara stabilizasyon işlemi uygulanması gerekmektedir. Arıtma çamurlarının stabilize edilmesinde en yaygın kullanılan metot anaerobik parçalanmadır (Cao ve Pawlowski 2012). Bu parçalanma sırasında çamurda biriken yüzey aktif maddeler ve ilaç kalıntıları gibi çeşitli biyokimyasal kirleticiler biyolojik olarak önemli ölçüde bozunmakta ve böylelikle arıtma çamurlarının daha sonraki uygulamaları için tehlike olmaktan çıkmaktadır (Stasinakis 2012). Bu biyolojik bozunmanın yanı sıra, arıtma çamurlarının anaerobik olarak parçalanması, üretilen gazın çamuru terk etmesi ve katı madde içeriğinin artması ile arıtma çamuru hacimlerinin büyük oranda azalmasını sağlamaktadır (Shao vd 2013). Aralıksız çalıştığı için sürekli olarak atık arıtma çamuru üreten atıksu arıtma tesislerinde anaerobik parçalanmadan doğan bu sonuç çamur bertarafının kolaylaşması sebebiyle son derece önemlidir. Bir atıksu arıtma tesisinde toplam işletme maliyetinin %25-40 kadarı elektrik tüketim maliyetinden kaynaklanmaktadır (Municipal Wastewater Treatment Plant Energy Baseline Study 2003). Arıtma çamurlarının anaerobik parçalanması sonucu açığa çıkan ve enerji değeri olan biyogaz, jeneratörler vasıtası ile elektrik enerjisine çevrilmektedir. Bu enerji kaynağı bir atıksu arıtma tesisindeki temel enerji kaynağıdır ve tesisdeki elektrik ihtiyacını %50 oranında karşılayabilmektedir (Tyagi ve Lo 2013). Amerikan Ulusal Temiz Su Ajansları Birliği'nin (National Association of Clean Water Agencies, NACWA 2010) çalışmasına göre ABD'de günlük atıksu debisi 5 milyon galonu aşan ve anaerobik çamur çürütme reaktörleri bulunan 544 adet atıksu arıtma tesisine kojenerasyon ünitesi kurulması halinde, bu tesislerden elde edilecek enerji yaklaşık 340000 kW-sa olmaktadır. Elde edilen bu enerji ortalama 261000 evin enerji ihtiyacını karşılamaya yetmektedir.

Türkiye'de toplam 85 adet biyogaz tesisi bulunmaktadır. Ancak, Türkiye sadece hayvan atıkları ile çalışabilecek 2000 adet biyogaz tesisi kapasitesine sahiptir (Tufaner vd 2013). Ülkemizdeki mevcut enerji açığı, tarımsal uygulamalar ve üretilen organik atık miktarı Türkiye'yi anaerobik parçalanma proseslerinin uygulanması gereken bir ülke haline getirmektedir. Ancak Tufaner vd tarafından yapılan çalışmada belirtildiği gibi Türkiye'de anaerobik parçalanmadan elde edilebilecek enerji kapasitesi değerlendirilmemektedir. Enerji Piyasası Düzenleme Kurumu'nun 2010 yılı Elektrik Piyasası Raporu'na göre Türkiye'nin kişi başına düşen enerji arzı Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Organizasyonu ülkeleri ortalamasının üçte biri kadardır. Raporla bu durum Türkiye'nin enerji üretim potansiyeline sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır (EPDK 2010). AB, her türlü organik atığın anaerobik olarak parçalanarak enerji potansiyelinden yararlanılmasına özel olarak önem vermekte ve bu konu hakkında pek çok direktif yayınlamaktadır. Bu direktiflerin ortak amacı Avrupa çapında uyumlu bir organik atık yönetimi oluşturabilmek, organik atıklardan doğacak olumsuz çevresel etkilerin önüne geçmek ve en önemlisi organik atıkların geri dönüşümünden sağlanabilecek tarımsal uygulama ve enerji eldesi avantajları ile ekonomik olarak gelişme sağlamaktır (Holm-Nielsen vd 2009). Avrupa ülkeleri arasında, anaerobik parçalanma prosesini, özellikle çiftlik ölçeğinde uzun yıllardır en başarılı uygulayan ülke Almanya'dır. Şekil 2.2'den de

görülebileceği üzere Almanya, AB ülkeleri içinde kişi başına üretilen biyogaz miktarı en çok olan ülkedir.



Şekil 2.2. AB ülkelerinde 2009 yılında ton eşdeğer petrol cinsinden kişi başına üretilen biyogaz miktarları (EurObserv'ER 2010)

Yakın gelecekte biyoenerji kaynaklarının en az %25'inin yaş organik atıklardan üretilen biyogazdan karşılanabileceği ön görülmektedir (Holm-Nielsen vd 2009). Anaerobik parçalanma sonucu üretilen biyogazın ortalama olarak %50-70'i metan gazından oluşmaktadır. 1 m³ metan gazı, 8570 kcal enerji değerine sahiptir. Bu değer 1,15 litre benzin, 1,3 kg kömür, 9,7 kW-sa elektrik ve 0,94 m³ doğalgazdan elde edilen enerji değerlerine tekabül etmektedir (Olsson vd 2005). Gökçöl vd (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, sabit günlük enerji tüketimi varsayımı altında, Türkiye'de ortalama özelliklerde bir evin yıllık enerji ihtiyacının 2332,4 kW-sa olduğu tespit edilmiştir. Anaerobik parçalanma prosesi sonucunda ise 1000 kg KOİ giderimine karşılık 2700 kW-sa eşdeğeri net enerji üretilebilmektedir (Öztürk 2007). Bu bilgiler doğrultusunda anaerobik proses ile elde edilebilecek enerji miktarının günlük kullanımımızdaki karşılığı daha net anlaşılabilir.

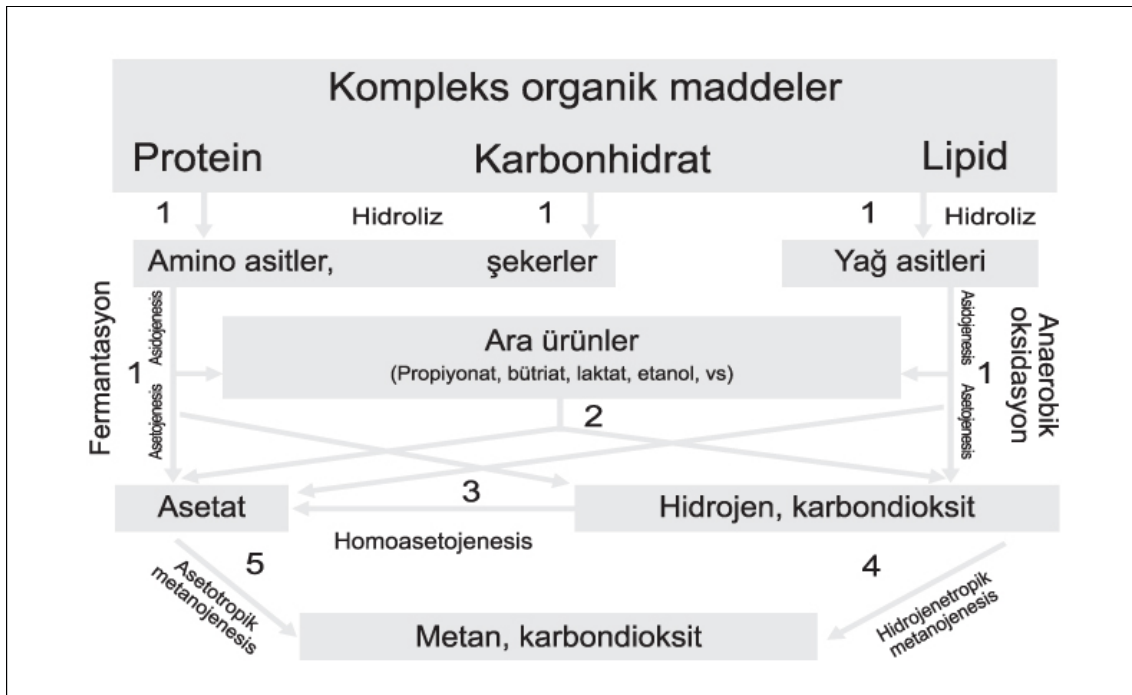
Organik atıkların anaerobik parçalanması pek çok ekonomik ve çevresel avantajının yanı sıra küresel ısınmayla mücadelede de önemli bir katkıda bulunmaktadır. TÜİK verilerine göre ülkemizin 1999-2009 yılları arasındaki toplam sera gazı emisyonunun %75,3'ü enerji üretim sektöründen kaynaklanmıştır (Yaldız 2013). Anaerobik parçalanma prosesi küresel ısınma açısından çevreye iki şekilde faydalı olmaktadır: kapalı bir ortamda gerçekleşmesinden ötürü sera gazları olan metan ve karbondioksit gazlarının atmosfere kontrolsüz salınımı engellenmiş olmakta ve elde edilen biyogazın enerji elde etmek amacıyla yakılması sonucu karbon döngüsünün dengesi bozulmamaktadır. Ayrıca anaerobik parçalanmadan elde edilen enerji ile petrol kökenli yakıtların ikamesi sağlanmakta ve bu yakıtların kullanımından doğan karbon salınımının önüne geçilmektedir (Ward vd 2008). Tüm bu nedenlerden ötürü organik

atıklara anaerobik parçalanma uygulanması karbon kredisi elde edebilmek için uygun sayılmalıdır (Tyagi ve Lo 2013).

2.3. Anaerobik Parçalanma Prosesinde Görev Alan Mikroorganizmalar

Anaerobik parçalanma, farklı mikroorganizma gruplarının birlikte rol aldığı ve bu mikroorganizma grupları tarafından önceki aşamada üretilen son ürünün bir sonraki aşamada ilk ürün olarak kullanıldığı kompleks bir biyokimyasal süreçtir. Bu nedenle anaerobik parçalanma prosesinin performansı ortamda bulunan mikroorganizma kültürü ile yakından ilgilidir (Braguglia vd 2012). Bununla birlikte genelde başlıca iki grup mikroorganizmanın, asit bakterileri ve metan arkelerinin, esas görevi üstlendiği bilinmektedir (Öztürk 2007). Son yıllarda anaerobik parçalanma prosesinde görev alan mikroorganizmaları tespit etmek için yapılan ve moleküler inceleme tekniklerinin kullanıldığı çalışmalar esas görevi üstlenen bu mikroorganizmaların anaerobik ortam içinde çok fazla sayıda değişik tür ile temsil edildiğini göstermiştir (Ariesyady vd 2007, Narihiro ve Sekiguchi 2007, Tabatabaei vd 2010, Braguglia vd 2012, Qiao vd 2013, Perendeci vd 2013).

Aşağıda verilen Şekil 2.2 kompleks organik atıkların anaerobik parçalanma aşamalarını ve bu aşamalarda görev alan mikroorganizma gruplarını numaralandırılmış olarak göstermektedir. Proseste görev alan mikroorganizmalar arasında düzenli bir etkileşim söz konusudur. Bu sebepten ötürü gruplardan herhangi birinde inhibisyon olması prosesi başarısızlığa uğratmaktadır (Khanal 2008).



Şekil 2.3. Anaerobik parçalanmanın aşamaları ve görev alan mikroorganizma grupları 1: Fermentatif bakterileri, 2: Asetojenik bakterileri, 3: Homoasetojenler, 4 – 5: Arkeler (Khanal 2008)

Şekil 2.3'te (1) numara ile gösterilen mikroorganizma grubu Fermentatif Bakteriler'dir. Bu grup bakteriler anaerobik parçalanmanın hidroliz ve asidojenesis aşamalarından sorumludurlar. Salgıladıkları enzimlerle ortamda bulunan kompleks organik maddeler küçük moleküllere hidroliz edilmektedirler (Perendeci 1997). Hidroliz aşamasında protein ve yağların monomerlerine ayrılmasında fermentatif bakterilerin yanı sıra mayalar ve küfler de görev alabilmektedir. Ariesyady vd (2007) tarafından arıtma çamurlarının anaerobik parçalanmasında kullanılan tam ölçekli bir anaerobik reaktörün mikroorganizma yapısının FISH tekniği ile gözlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada kompleks organik maddeleri parçalayan *Actinobacteria* grubunun reaktörde baskın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Bu grubun yanı sıra *Firmicutes* ve *Chloroflexi* de anaerobik parçalanma prosesinde baskın olarak görev alan mikroorganizmalardandır (Ariesyady vd 2007, Qiao vd 2013). Nişasta gibi karbondioksitli maddelerin parçalanmasında *Clastridia*, *Bacillus*, küfler ve mayalar görev alırken, selülozik maddelerin hidrolizinde ise *Clostridia* ve *Trichoderme* türü mikroorganizmalar görev almaktadır (Kestioğlu 2001).

Asetojenik bakteriler (2) propiyonat, bütirat gibi yüksek organik asitleri, etanolü ve belirli aromatik bileşikleri asetat, CO₂ ve H₂'e katabolize etmektedirler. Bu bakterilerden başlıcaları *Syntrophomonas*, *Smithella propionica* gibi mikroorganizmalardır (Ariesyady vd 2007). Yüksek organik asitlerin ve aromatik bileşiklerin anaerobik oksidasyonu bu bakterilerin saf kültür olarak bulunması halinde termodinamik olarak elverişli değildir. Fakat hidrojen üreten asetojenik bakteriler ve hidrojen tüketen metanojenik bakterilerden oluşan karma bir kültürde simbiyotik ilişki söz konusudur ve tüketici bakteriler hidrojeni sürekli ortamdan alarak kısmi basıncını oldukça düşük tutmayı başarmaktadırlar. Bu da yukarıda sayılan bileşiklerin asetat, CO₂ ve H₂'e dönüşmesi için uygun koşulları yaratmaktadır. Bu hadise genellikle *türlerarası hidrojen transferi* olarak bilinmektedir. Propiyonik asit oksidasyonu yalnızca 10⁻⁴ atm hidrojen kısmi basıncında, bütirat ve etanol oksidasyonları ise sırasıyla 10⁻³ ve 1 atm hidrojen kısmi basıncında mümkün olmaktadır. Arıtma çamuru gibi kompleks organik atıkların anaerobik parçalanması sırasında elektronların neredeyse %30'unun propiyonat oksidasyonu ile ilişkili olduğunu vurgulamak önemlidir. Bu nedenle propiyonat oksidasyonu diğer organik asitlerin oksidasyonundan daha kritiktir (Khanal 2008).

Homoasetojenler (3) Şekil 2.3'ten de görülebileceği gibi CO₂ ve H₂'i asetata çeviren bakterilerdir. Nihai ürünlerinin asetat olmasından dolayı anaerobik parçalanma için önemlidirler. Çünkü asetat varlığı metan üretimi için gösterge bileşik olarak kabul edilmektedir. Homoasetojenler ototrof ya da heterotrof olabilmektedirler. Ototrofik homoasetojenler, karbondioksitin karbon kaynağı olarak kullanıldığı CO₂ ve H₂ karışımından hücre sentezi için faydalanmaktadırlar. *Clostridium thermoaceticum* bu gruba dahil başlıca homoasetojen olarak tespit edilmiştir (Diekert ve Wohlfarth 1994). Bazı homoasetojenler karbonmonoksiti karbon kaynağı olarak kullanabilmektedirler. Diğer yandan ise heterotrofik homoasetojenler son ürün olarak asetat üretirken karbon kaynağı olarak format (HCOOH) ve metanol gibi organik substratları kullanmaktadırlar (Khanal 2008).

Şekil 2.3'te (4) ve (5) numaralar ile belirtilen Metanojenik mikroorganizmalar ise moleküler tanımlama teknikleri gelişmeden önce bakteri olarak sınıflandırılan fakat

günümüzde ayrı bir filogenetik dal olduğu bilinen arkelerdir. Arkeler, bakteriler gibi çekirdeği olmayan tek hücreli canlılardır fakat bakterilerden membran lipitlerin varlığı, protein parçalama mekanizması ve ayırıcı ribozomal RNA ile ayırt edilebilmektedirler (Calo ve Eichler 2011). Metanojen arkeler obligat anaeroblardır ve anaerobik proses içinde çevresel koşullara en duyarlı olan mikroorganizma grubudur (Codina vd 1998). Bu nedenle anaerobik arıtım prosesi için kısıtlayıcı tür olarak nitelendirilmektedirler. Organik madde bakımından zengin bataklık, göl, deniz dibi çökeltileri, büyükbaş işkembesi gibi anaerobik ortamlarda bolca bulunmaktadır (Khanal, 2008). Anaerobik parçalanmanın son aşamasında görev alan bu mikroorganizmalar görevleri bakımından ikiye ayrılmaktadırlar. İlk grup asetatı CH_4 ve CO_2 'e ayırırken, ikinci grup metan üretmek için H_2 'i elektron vericisi ve CO_2 'i de alıcısı olarak kullanmaktadır (Appels vd 2008). Evsel arıtma çamurlarının parçalandığı bir anaerobik reaktördeki anaerobik mikroorganizma kültürünün incelendiği bir çalışmada kültürün yaklaşık %25'inin arkelerden oluştuğu tespit edilmiştir (Ariesyady vd 2007). Asidojenesis ve asetojenesis aşamalarında görev alan bakteriler arkelerden çok daha hızlı üreyebilmektedirler (Tabatabaei vd 2010). Bu durum, hidrolizi yavaş gerçekleşen maddelerin ortamda bulunmadığı anaerobik parçalanma proseslerinde, metanojenesis aşaması sırasında proses hızını sınırlayıcı etki yaratabilmektedir. Anaerobik popülasyonu tanımlamak için yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda anaerobik parçalanma prosesinde en çok bulunan metanojenlerin; CH_4 üretmek için asetat kullanan *Methanosaetaceae* ve *Methanosarcinaceae*, ile CH_4 üretmek için H_2 ve CO_2 kullanan *Methanobacteriaceae* ve *Methanomicrobiales* olduğu tespit edilmiştir (Ariesyady vd 2007, Braguglia vd 2012, Qiao vd 2013).

2.4. Anaerobik Parçalanma Prosesini Etkileyen Çevresel Faktörler

Anaerobik parçalanma prosesi oldukça kompleks bir mikroorganizma kültürü tarafından gerçekleştirilmektedir. Önceki bölümlerde açıklandığı gibi hidroliz, asidojenesis - asetojenesis ve metanojenesis aşamalarından oluşan prosesin her bir aşamasında farklı bir mikroorganizma grubu görev almaktadır ve her mikroorganizma grubunun ihtiyaç duyduğu özel ortam koşulları bulunmaktadır. Bu özel ihtiyaçlar anaerobik parçalanma prosesini çevresel koşullara karşı duyarlı hale getirmektedir. Ayrıca anaerobik prosesin işletilmesi sırasında çevresel koşulların kararlı bir şekilde optimum şartlarda tutulması proses verimliliğini yükseltmekte ve dolayısıyla prosten elde edilen enerji miktarını arttırmaktadır. Anaerobik parçalanma prosesi için en önemli çevresel faktörler sıcaklık, pH - alkalinite, kullanılan substratlar, organik yükleme hızı ve hidrolik alıkonma süresi olarak sıralanabilir (Öztürk 2007).

Sıcaklık anaerobik parçalanma prosesinde görev alan mikroorganizmaların büyüme hızı ve metabolizmaları üzerinde etkilidir. Proses, 3 farklı sıcaklık aralığında gerçekleşebilir: Psikrofilik ($5-15^{\circ}C$), mezofilik ($35-40^{\circ}C$) ve termofilik sıcaklık ($55^{\circ}C$) aralıkları (Khanal 2008). Farklı sıcaklık aralıklarında işletilen anaerobik reaktörlerin mikroorganizma popülasyonları da birbirinden oldukça farklı olmaktadır (Ward vd 2008). Her sıcaklık koşulunun proses işleyişi ve maliyeti açısından avantaj ve dezavantajları olmakla birlikte anaerobik parçalanma prosesinde sıcaklıkla ilgili dikkat edilmesi gereken en önemli nokta sıcaklığın sabit tutulmasıdır. Reaktör sıcaklığındaki değişimler özellikle metanojenler başta olmak üzere tüm anaerobik mikroorganizmaları olumsuz etkilemektedirler (Appels vd 2008). Chae vd (2008) tarafından yapılan bir

çalışmada 35°C'tan 30°C'a düşme ve 30°C'tan 32°C'a yükselme gibi küçük sıcaklık değişimlerinin dahi biyogaz üretim hızını olumsuz etkilediği tespit edilmiştir.

Anaerobik bir reaktörde maksimum biyogaz verimini elde etmek için optimum ortam pH'sının 6,5 – 7,5 arasında olması gerekmektedir fakat bu aralık kullanılan substrata ve parçalanma tekniğine bağlı olarak reaktör ölçeğinde genişleyebilir (Liu vd 2008). Anaerobik parçalanmanın çalışmasını devam ettirebilmesi için uygun olan geniş pH aralığı 6 – 8,5 olmaktadır (Türker 2008). Anaerobik reaktörde herhangi bir nedenden ötürü mikroorganizmalar arası dinamiğin bozulması ortamda uçucu yağ asitlerinin birikmesine ve dolayısı ile pH'nın düşmesine neden olabilir. Bu nedenle anaerobik ortamda pH'yı 6,2 civarında tutabilecek miktarda alkalinite bulunmalıdır. Zira bu pH değerinin altındaki değerlerde arkeler faaliyet gösteremezler (Kestioğlu 2001). Metan arkeleri anaerobik proste görev alan diğer mikroorganizmalara göre pH değişikliklerine daha duyarlıdır. Anaerobik parçalanma ortamında bulunan organik asitler ve CO₂ ortamda pH düşürücü etki yaratırken amonyak ve sülfid üretimi pH'yı yükseltmektedir. Bu noktada anaerobik parçalanma prosesinde substrat olarak kullanılan maddeler ortam pH'sı bakımından önem arz etmektedir.

Anaerobik parçalanma prosesindeki mikroorganizmaların besin gereksinimi geleneksel aktif çamur yöntemine göre çok daha düşüktür (Türker 2008). C:N oranının 16:1 - 25:1 şeklinde tutulması uygundur (Abbasi vd 2012). Organik yükleme hızı besin maddelerinin metan oluşum yoluyla giderimi ve reaktörde tutulan metanojenlerin miktarı ile ilişkilidir. Başka bir ifadeyle, yüksek metanojenik aktiviteye sahip biyokütlenin reaktörde tutulması organik maddenin verimli bir şekilde giderimini ve yüksek organik yükleme hızlarına ulaşılmasını sağlamaktadır (Alkaya 2008). Diğer yandan yüksek organik yükleme hızı nedeniyle anaerobik parçalanma içindeki hidroliz ve asidojenesis aşamalarının hızlarının artması fakat metanojenesis aşamasının yavaş bir reaksiyon hızı ile gerçekleşmesi, ortamda uçucu yağ asitleri birikmesinden ötürü prosesin geri döndürülemez bir şekilde asitleşmesi tehlikesini ortaya çıkartabilir (Nagao vd 2012). Optimum organik yükleme hızı substrat, reaktör tipi, hidrolik alıkonma süresi, eser besin elementleri ve alkalinite gibi işletme parametrelerine bağlıdır. Optimum parçalanma verimine ulaşmak için önemli bir diğer parametre de hidrolik alıkonma süresidir. Anaerobik mikroorganizmanın substratı parçalayarak enerji üretmesi, substrat ile mikroorganizma arasında geçmesi gereken temas süresi olan hidrolik alıkonma süresinin doğru seçilmesi ile sağlanmaktadır. Reaktöre beslenen substratın kolay parçalanabilir olması ve reaktör içindeki mikrobiyal metabolizma hızının yüksek olması hidrolik alıkonma süresinin kısa tutulmasını sağlamaktadır. Hidrolik alıkonma süresinin uzun olması ise daha büyük hacimde reaktör gerektirmektedir ve bu gereklilik ilk yatırım maliyetini arttırmaktadır (Yadvika vd 2004).

2.5. Anaerobik Parçalanma Prosesinde Toksikite

Anaerobik arıtma prosesine toksik etki eden birçok madde vardır. Bu maddeler sisteme atık akımı ile girebileceği gibi sistemdeki metabolik faaliyetler sonucu da üretilebilir (Öztürk 2007). Atık akımında bulunabilecek ve toksik etkiye sahip olabilecek maddeler amonyak, halojen bileşikleri ve siyanür iken anaerobik proste oluşabilecek ve toksik etkiye neden olabilecek nitelikteki maddeler uçucu yağ asitleri, sülfid ve amonyak gibi yan ürünlerdir. Fiziksel koşullardan ise sıcaklık ve pH anaerobik

prosesin stabilitesi için son derece önemli olup, proseste inhibisyon etkisi yaratabilecek ortam koşullarındandır (Chen vd 2008).

Anaerobik parçalanma prosesinde toksisite, mikrobiyal aktivitenin zarar görmesine ve bunun sonucu olarak parçalanmanın tamamlanamamasına sebep olmaktadır. Anaerobik proseslerde toksititeye sebebiyet veren fenoller, halojenler, alkanlar, alkoller, yüzey aktif maddeler ve deterjanlar toksititeye sebep olan organik kimyasallardan bazılarıdır (Chen vd 2008). Bu organik kimyasalların suda çözünürlüğü düşük olup, çamur partiküllerine adsorbe olarak anaerobik proseste yüksek konsantrasyonlarda birikim göstermektedirler. Anaerobik arıtma sistemlerinde toksititeye sebebiyet veren diğer bir önemli kimyasal grubu ise Cr, Cu, Ko, Fe, Zn, Kd ve Ni gibi ağır metallerdir (Jin vd 1998). Ağır metallerin, biyolojik olarak parçalanamaz yapıda olmaları ve ortamda birikim göstermeleri anaerobik proses inhibisyonu açısından en önemli özellikleridir.

Toksik etki yaratan madde ve koşulların proses içerisinde inhibisyon yaratan sınırlara ulaşması farklı değerlerde gerçekleşir. Anaerobik bir prosesin çalışabilmesi için gerekli sıcaklık ve pH aralıkları belirli olmakla birlikte ağır metaller, organik bileşikler, amonyak ve sülfid gibi maddelerin toksik etki yaratma konsantrasyonları farklı anaerobik kültürlerde ve farklı adaptasyon sürelerinde çeşitlilik gösterecektir. Bu çeşitlilikleri tespit edebilmek için bir maddenin anaerobik bir sisteme inhibisyon etkisi değerlendirilirken genellikle iki farklı deneysel yaklaşım uygulanmaktadır: Mikrobiyolojik kültürün daha önce potansiyel inhibitör maddeye maruz kalmadığı, akut testler ve mikrobiyolojik kültürün potansiyel inhibitör maddeye karşı olası adaptasyon ya da direncini gözlemek için kullanılan kronik testler (Çetecioglu vd 2013). Akut testler ile yüksek konsantrasyonlarda gerçekleşmesi muhtemel ani deşarjların etkilerini tespit ederken kronik testler ile daha düşük dozlarda fakat sürekli etki eden potansiyel inhibitör maddelerin etkilerini incelemek mümkün olmaktadır (Çetecioglu vd 2012). İnhibitör içeren anaerobik bir ortamda üretilen gaz miktarında ve üretim hızındaki azalma inhibisyonun göstergesi olarak kabul edilmektedir (Öztürk 2007). Mikrobiyal popülasyonun, reaksiyon içinde ölçülen tepkisinin %50 azalmasına sebep olan test materyali konsantrasyonu EC₅₀ değeri olarak adlandırılmaktadır ve inhibisyon etkisini ifade etmek için yaygın olarak kullanılan bir parametredir (Ruiz vd 2009).

Çetecioglu vd (2012) tarafından yapılan bir çalışmada sülfametaksazol, eritromisin ve tetrasiklin antibiyotiklerinin asetat ile beslenen bir anaerobik mikrobiyal popülasyon üzerine akut etkileri gaz üretim miktarı ve çözünür KOİ ve asetat giderim miktarları üzerinden tespit edilmiştir. Çalışmada her üç antibiyotik 1, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonlarında deney ortamına eklenmiş ve test mezofilik koşullarda 6 gün sürdürülmüştür. Biyogaz miktarı her gün el tipi manometre ile ölçülmüş ve antibiyotik içermeyen kontrol şişelerinde üretilen biyogaz miktarı ile kıyaslanarak antibiyotiklerden kaynaklanan % inhibisyon ve buna bağlı EC₅₀ konsantrasyonları hesaplanmıştır. 6 gün sürdürülen testin sonunda elde edilen biyogaz ölçümlerine göre her üç antibiyotik biyogaz üretimi üzerinde benzer etkilere sebep olmuştur. 100 mg/L konsantrasyonundan itibaren biyogaz üretiminde fark edilir azalma gözlenmiş ve 500 mg/L konsantrasyonundan itibaren de sistemin tamamen inhibe olduğu tespit edilmiştir. Bu etkilere paralel olarak antibiyotikler için hesaplanan EC₅₀ değerleri de benzer olmuştur. Sulfamethoxazole için 198,5 mg/L, erythromycin için

155,4 mg/L ve tetracycline için de 204,4 mg/L akut EC₅₀ konsantrasyonları olarak hesaplanmıştır. Çalışmanın sonunda ölçülen çözünür KOİ ve asetat miktarları deney süresince bu organiklerin giderildiğini göstermektedir. Deney ortamında bulunan organik maddelerin, mikroorganizmalar tarafından giderildiği halde ortamdaki biyogaz üretiminin inhibe olmasının, antibiyotiklerin sahip olduğu inhibisyon mekanizmasından kaynaklandığı yorumu yapılmıştır. Buna göre; inhibitör madde substratın parçalanmasında görev alan enzimi değil enzim-substrat kompleksini bağlamakta ve bundan dolayı asetat inhibitör madde olan antibiyotiklerle birlikte biyokütlenin içinde kalarak mikroorganizmalar tarafından besin olarak değerlendirilememektedir. Bu mekanizmanın bir sonucu olarak yapılan test sonunda çözünür substratın giderildiği fakat biyogaz üretiminin inhibe olduğu görülmüştür (Çetecioğlu vd 2012).

Anaerobik koşullar altında organik substrat giderimine kronik etkilerin incelendiği bir çalışmada, Çetecioğlu vd (2013) tetracycline (TET) antibiyotiğinin etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, mezofilik koşullarda 1 L hacminde ardışık kesikli reaktör kullanılmış ve deney 5 aşamada yürütülmüştür. İlk aşamada (77 gün boyunca) reaktör yalnızca seçilen sentetik substrat ile beslenmiş ve TET dozlaması yapılmamıştır. Ardından gelen 3 aşamada ise reaktör, substrat ve giderek artan konsantrasyonlarda TET içeren karışımlar ile beslenmiştir. 78 – 90. günler arasında günlük TET dozu 1,65 mg/L, 91 - 114. günler arasında 5,7 mg/L ve 115 – 143. günler arasında ise 8,5 mg/L olarak tutulmuştur. 144 – 154. günler arasında ise reaktöre TET beslemesi yapılmamış ve buna bağlı olarak reaktör performansında oluşan değişiklikler gözlenmiştir. Antibiyotik beslemesi dışında bire bir aynı koşullarda işletilen ikinci bir reaktör ise kontrol görevi görmüştür. Çalışmada, reaktör performansı günlük çözünür KOİ ve uçucu yağ asitleri ölçümü üzerinden değerlendirilmiştir. Her aşamanın ardından reaktörden aşı çamur numunesi alınmış ve reaktörün biyogaz üretimi üzerindeki değişikliklerini gözlemek için bu aşı çamurları ile 60 mL çalışma hacmi olan, 120 mL'lik serum şişeleri hazırlanmıştır. Şişelerde substrat olarak asetat, propiyonat ve bütirat kullanılmış, anaerobik, mezofilik koşullar altında oluşan toplam gaz basıncı 6 gün süresince, günde bir defa, el tipi manometreler kullanılarak ölçülmüştür. İlk aşamanın sonunda reaktörden alınarak 6 gün süresince biyogaz üretimi ölçülen çamur numunesinin gaz üretim miktarı kontrole kıyasla herhangi bir fark ortaya çıkarmamıştır. İkinci aşamanın sonunda, 12 gün boyunca günlük 1,65 mg/L TET ile beslenen reaktörden alınan aşı çamur numunesinin biyogaz üretiminde ise kontrol numunesine kıyasla %10'luk bir azalma gözlenmiştir. Üçüncü aşamaya ait çamur numunesi ile yapılan biyogaz ölçümleri kontrol grubuna oranla biyogaz üretim miktarında yaklaşık %18 kadar bir azalmaya sebep olmuştur. Reaktöre TET girdisinin en yüksek oranda yapıldığı ve aynı zamanda TET girdisi içeren son aşama olan dördüncü aşamada ise biyogaz üretimi yaklaşık %92 oranında inhibe olmuştur. Her biyogaz ölçüm testinin sonunda yapılan KOİ giderim ölçümleri sistemin neredeyse tamamen inhibe olduğu son aşama dışında biyogaz üretimi azalsa bile KOİ gideriminin engellenmediğini göstermiştir. Bu noktada, elde edilen sonuçları TET antibiyotiğinin anaerobik parçalanma üzerine akut etkilerinin ölçüldüğü bir önceki çalışmaları ile kıyaslayan Çetecioğlu vd, kronik inhibisyona sebep olan TET dozlarının, akut inhibisyona sebep olan TET dozlarından çok daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte KOİ giderimi ile ilgili yapılan tespit, her iki çalışmadaki inhibisyon mekanizmasının benzer olduğunu ve inhibitör maddelerin ekosistemler üzerine etkilerinin tam olarak

anlaşılabilmesi için akut ve kronik testlerin birlikte yürütülmesi gerektiğini göstermektedir (Çetecioğlu vd 2013).

Evsel arıtma çamurları pek çok kirletici için olduğu gibi antibiyotikler için de nihai birikme ortamıdır. Bu çerçevede Gartiser vd (2007) 16 adet antibiyotiğin atık evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine etkilerini ISO 13641 – 2 test metodunu kullanarak araştırmışlardır. Testte kullanılan aşı çamur evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalandığı bir reaktörden alınmış, substrat olarak maya özütü kullanılmış ve test mezofilik koşullarda 7 gün sürdürülmüştür. Test için antibiyotiklerin 6, 12, 25, 50 ve 100 mg/L konsantrasyonlarında bulunduğu deney şişeleri üç tekrarlı olarak hazırlanmıştır. Antibiyotiklerin anaerobik parçalanma prosesi üzerine etkileri standartta belirtildiği gibi deney şişelerinde oluşan toplam gaz basıncı ölçülerek izlenmiş ve bu ölçümler kullanılarak her antibiyotiğin kontrol grubuna kıyasla sebep olduğu kümülatif % inhibisyon hesaplanmıştır. Bu inhibisyon değerlerinden yararlanılarak antibiyotiklerin EC₅₀ konsantrasyonları tespit edilmiştir. Ölçümler sonunda ceftriaxone disodyum tuzu, clindamycin, chlorotetracyclin hydrochloride, gentamycin sülfat, imipenem, ofloxacin ve tetracycline antibiyotiklerinin inhibisyon etkilerinin dozları ile doğru orantılı olduğu ve EC₅₀ konsantrasyonlarının 24 – 307 mg/L aralığında değiştiği hesaplanmıştır. Amoxicillin, benzylpenicillin sodyum tuzu ve cefuroxime sodyum tuzu için hesaplanan EC₅₀ değerlerinin ise test edilen en yüksek konsantrasyon olan 100 mg/L'yi önemli ölçüde aştığı ve 1000 mg/L'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Erytromycin, sulfamethoxazole, nystatin ve trimethoprim antibiyotikleri için inhibisyon etkisi tespit edilemezken metronidazole ve monensin soydum tuzu antibiyotiklerinin tüm konsantrasyonlarda anaerobik proses için inhibe edici olduğu gözlenmiştir. Metronidazole antibiyotiği için hesaplanan EC₅₀ konsantrasyonu 0,7 mg/L olmuştur ve tüm antibiyotikler içinde sistem için en toksik etkiye sahip antibiyotiktir (Gartiser vd 2007).

Smith ve Carliell-Marquet (2009) tarafından yapılan bir çalışmada fosfor (P) giderimi amacı ile demir (Fe) eklenmiş arıtma çamurlarının biyogaz potansiyellerinin nasıl değiştiği araştırılmıştır. P gideriminin atıksular için yasal bir zorunluluk haline getirilmesi ve P giderimi için kullanılan Fe elementinin yüksek dozlarda (600 – 800 mg/L) anaerobik prostesten biyogaz üretimini çeşitli oranlarda inhibe ettiğinin literatürde belirtilmesi nedeni ile yürütülen çalışmada arıtma çamurlarına Fe dozlanmasının arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliği üzerinde olumsuz bir etkisi olup olmadığının hızlı bir şekilde tespit edilebilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, çalışmada kullanılan arıtma çamurundaki Fe ve P dozları, P giderimi için Fe dozlaması yapılan çamurlardaki Fe:P oranını örnekleyecek şekilde 2:1 oranında ve sırası ile 71mg/gTKM ve 35 mg/gTKM konsantrasyonlarında olacak şekilde hazırlanmıştır. Fe dozlaması yapılan çamurun anaerobik parçalanabilirliğini tespit edebilmek için 13 gün süresince, yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda üç tekrarlı olarak hazırlanan arıtma çamurundan mezofilik koşullarda biyogaz üretimi üretilen gazın basıncı ölçülerek izlenmiştir. Yapılan ölçüm sonucunda Fe içeren arıtma çamurundan üretilen biyogaz miktarı kontrol grubuna göre ortalama %12 daha az olmuştur. Bu ilk ölçümün ardından üç farklı atıksu arıtma tesisinden daha Fe içermeyen arıtma çamuru numunesi alınmış ve P içerikleri belirlendikten sonra aynı dozlama metodu ile Fe eklenerek 16 gün süresince biyogaz üretimleri ölçülmüştür. Bu üç arıtma çamuru için ölçülen biyogaz miktarları kontrol grubuna göre %12, %18 ve %20 daha az olmuştur. Elde edilen bu sonuçlara göre Fe

varlığı artırma çamurlarından biyogaz üretimini inhibe etmektedir fakat inhibisyon derecesi kullanılan çamura özel olmaktadır (Smith ve Carliell-Marquet 2009).

2.6. Nanopartikül Maddeler

Nanoteknoloji kelimesi 1974 yılında, Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Profesör Norio Taniguchi tarafından ilk kez kullanılmış ve 1974 yılında nanoteknoloji terimi ilk kez kullanıldığından beri nanopartikül maddeler malzeme ve ürün üretim prosesleri için ilgi çekici hale gelmiştir. 1990 yılından itibaren yapılarının manipüle edilebilmeye başlamasıyla birlikte endüstriyel anlamda yaygın kullanımları artmıştır. Sergiledikleri eşsiz özelliklerden ve amaca göre değiştirilebilen atom dizilimlerinden ötürü hem endüstriyel hem de bilimsel açıdan kullanılmaya son derece elverişli olan nanopartikül maddeler günümüz üretim teknolojilerinin doğal bir parçası olmuş ve dolayısıyla da derinlemesine araştırılması gereken bir bilimsel inceleme konusu haline gelmiştir. Yunanca cüce, bodur anlamlarına gelen nano kelimesi, aynı zamanda metrenin milyonda birine eşit ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) bir ölçü birimidir.

Partiküllerin, nano boyutta sergiledikleri fiziksel ve kimyasal özellikler büyük boyutlardaki özelliklerinden daha farklıdır. Bu durum, nano boyuttaki partiküllerin makro boyutlu partiküllerle aynı atomlardan oluşmalarına rağmen, farklı bir oluşum geometrisine sahip olmalarından ileri gelmektedir (Erkoç 2011). Nanopartikül maddelerin endüstride ve bilimsel araştırmalarda kendilerine geniş yer bulmasının en temel nedeni boyutun küçülmesi ile değişen bu özellikleridir. Nano boyutlarda farklılık gösteren özellikler aşağıda özetlenmiştir;

- ✓ Katalitik özellikler: Materyalin kimyasal reaksiyon verme özelliği artmaktadır.
- ✓ Elektrokimyasal özellikler: Materyalin diğer kimyasal bileşenlere elektron transfer etme özelliği değişmektedir.
- ✓ Erime özellikleri: Materyalin katıdan sıvıya geçiş özelliği farklılaşmaktadır.
- ✓ Manyetik özellikler: Elektronların manyetik kutuplar yaratmak için etkileşime girmesi değişiklik göstermektedir.
- ✓ Optik özellikler: Materyalin ışık ile etkileşimi (örneğin; rengi) değişmektedir (Discover Nano 2005).

Nanopartikül maddelerin özelliklerinin değişmeye başladığı ölçekler her bir materyal için farklı olmaktadır. Örneğin; nano ölçekteki altının rengi geniş bir aralıkta önemli çeşitlilikler gösterirken, katalitik özellikleri 5 nm 'nin altına düşünceye kadar kayda değer bir değişiklik göstermemektedir (Discover Nano 2005). Nanopartiküllerin, büyüklüklerinin yanı sıra şekil, yüzey yükü, ortamda başka materyallerin bulunması durumu gibi özellikleri de davranışlarını etkileyen etmenler arasındadır. Mikropartiküllere kıyasla nanopartiküllerin çok geniş yüzey alanları ve birim kütle başına düşen yüksek sayıda birim partikülleri vardır. Nanopartiküllerin bu özelliklerinden faydalanılarak atom dizimlerini manipüle etmek ve dolayısı ile çeşitli yeni malzemeler üretmek, birbirinden çok farklı endüstriyel alanlarda bu partiküllerden faydalanmak mümkündür. Örneğin, titanyum dioksit (TiO_2) nanopartikülü ışığı absorbe ettiği zaman organik maddeleri parçalama özelliğine sahiptir. Diğer bir deyişle TiO_2 nanopartikülleri ışığı absorbe ettiğinde yüzeylerinde bulunan patojenler ölmektedir.

Çinko oksit de (ZnO) benzeri bir kimyasal özellik taşımakta, hatta daha düşük konsantrasyonlarda benzeri sonuçlar elde edebilme başarısı göstermektedir. Gümüş (Ag) nanopartikülleri de antibakteriyel özellik gösteren nanopartiküller arasında bulunmaktadır. Verilen bu örnekler endüstriyel ölçekte en çok üretilip kullanılan nanopartiküllerdir. Verilebilecek bir diğer örnek ise karbon nanotüpleridir. 1991 yılında karbon atomlarının manipüle edilerek tüp formunda yeniden düzenlenmesi ile ilk nanotüp üretilmiş ve çelikten 6 kat daha hafif ve 100 kat daha güçlü bir malzeme elde edilmiştir (Brar vd 2010).

2.6.1. Sınıflandırılmaları ve özellikleri

Nanopartikül maddeler çok çeşitli atom dizilimleri ile oluşabildiğinden çok farklı özelliklerde materyaller meydana getirmektedirler. Dolayısı ile nanopartikül maddeleri ticari kullanımları ya da çevresel yayılımları açısından farklı şekillerde sınıflandırmak mümkün olabilmektedir. Fakat bu sınıflandırma yaklaşımları özel amaçlara yönelik olduğundan tüm nanopartiküller için kapsayıcı özellik göstermemektedir. Aşağıda verilen sınıflandırma, nanopartiküllerin oluşumları dikkate alınarak yapılan tam kapsamlı bir sınıflandırmadır.

Nanopartiküller üç alt grupta sınıflandırılabilirler;

- ✓ Doğal
- ✓ Antropojenik (Sonradan ortaya çıkan)
- ✓ Tasarımlanmış (Hester ve Harrison 2007).

Doğal nanopartiküller insan yapımı olmayan, kendiliğinden oluşan nanopartikülleri kapsamaktadır ve geniş bir materyal çeşitliliğine sahiptirler. Atmosferde bulunabilecek ve deniz suyunun buharlaşmasından kaynaklanan deniz tuzu, toprak tozu, volkanik toz, biyojenik gazlardan kaynaklanan sülfatlar, organikler ve NO_x'lerden kaynaklanan nitratlar ya da toprakta bulunan nano boyutlu kil, organik madde ya da mineraller bu çeşitliliğe örnek olarak verilebilmektedir (Klaine vd 2008). Doğada var olan nanopartiküllerin içerikleri, buldukları coğrafyaya bağlı olarak şekillenmektedir.

Antropojenik nanopartiküller, insan aktiviteleri sonucu ortaya çıkan nanopartiküllerdir ve bunlara en tipik örnek olarak sigara ve fosil yakıt tüketimi sonucu ortaya çıkan nano boyutta kurum verilmektedir. Kaynak dumanından ve düşük bir amonyak (NH₃) konsantrasyonu varlığında sülfür dioksitin (SO₂) oksidasyonundan oluşan sülfirik asitin su ile birleşmesinden ortaya çıkan nanopartiküller de bu tür için birer örnektir (Hester ve Harrison 2007). Antropojenik nanopartiküllerin yoğun olarak ortaya çıktığı bir diğer insan aktivitesi de bina yıkımlarıdır (Buzea vd 2007).

Tasarımlanmış nanopartiküller ise insanoğlu tarafından, belirlenmiş amaçlara hizmet etmesi için özel olarak tasarlanmış ve üretilmiş nanopartiküllerdir. Kimyasal sentez ile ve/veya uygun büyüklüğü elde etmeye yarayan öğütme ya da ezme gibi fiziksel metotlarla üretilmektedirler. Bu sınıfa dahil olan nanopartiküller günümüzdeki çevre ve sağlık endişelerini yaratan esas nanopartiküllerdir. Endüstriyel kullanımlarındaki dramatik artıştan dolayı çevreye salınımları kontrolsüz şekilde artmış

ve insanoğunu hakkında çok az bilgi sahibi olduğu bir alanda problemlerle karşı karşıya getirmiştir.

Nanopartiküller şekillerine göre, yassı, silindirik ve küresel olarak ayrılabilirler. Bunun yanı sıra, organik ve inorganik olarak da gruplandırılabilirler. Organikler, karbon içeren yapılardır. Fullerenler ve karbon nanotüpler olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. İnorganikler ise metalleri, metal oksitleri, kili ve kuantum noktaları olarak bilinen özel bir alt grubu içermektedir (Hester ve Harrison 2007). Fullerenler karbon yapılı organik nanopartiküllerdir. C₆₀ denilen bu partiküller 60 adet karbon atomu içeren kafes şeklinde küresel moleküllerdir. Fullerenler geliştirilmekte olan çeşitli güneş pillerinde, kozmetik ve kişisel temizlik ürünlerinde ve tıp sektöründe manyetik rezonans görüntüleme (magnetic resonance imaging, MRI) ajanı olarak kullanılmaktadırlar (Katz 2006). Karbon nanotüpler ise özellikle elektronik ve malzeme alanlarında çığır açacağına inanılan ve karbon atomlarının silindirik şekilde dizilmesi ile elde edilen nanopartiküllerdir (Luther 2004). İnorganik nanopartiküllerin büyük çoğunluğunu metal oksitler oluşturmaktadır. Mevcut üretim sistemleriyle büyük miktarlarda en kolay üretimin sağlandığı nanopartikül tipi metal oksitlerdir. Çünkü bu nanopartikülleri fiziksel üretim metotları kullanarak elde etmek mümkündür. Bunun yanı sıra endüstriyel olarak en yoğun kullanılan inorganik nanopartiküller de metal oksit ve metal nanopartiküllerdir. Bu partiküller makro boyutlu eşleri ile aynı atomlardan oluşmakla birlikte, farklı dizilim geometrilerine sahiptirler. Nano boyutlu kil partikülleri özel amaçlara yönelik yüzeyler üretmekte kullanılabilirle birlikte pek yaygın değildir. Kuantum noktaları ise medikal görüntüleme, işaretleme gibi optik konularda kullanılabilirle özelliğine sahip, kristal yapılı inorganik nanopartiküllerdir (Wiesner ve Bottero 2007).

2.6.2. Nanopartiküllerin endüstriyel kullanımları

“Nanoteknoloji” terimi ile nano boyutlu partiküllerden elde edilebilecek teknolojik ve dolayısı ile endüstriyel ilerlemeler kastedilmektedir. Terimin ilk kez kullanıldığı günden bugüne endüstriyel uygulamalarda nanopartikül kullanımı ivme kazanarak artmış ve günümüzde büyük bir ekonomi haline gelmiştir. Mart 2006 – Ağustos 2009 arasında 212 adet (%379 artışla) yeni nanoteknoloji bazlı ürün tüketici ürünleri listesine girmiştir. Bu ürünlerle birlikte 24 ülkede, 485 firma tarafından nanoteknoloji bazlı ürünler üretilir hale gelmiştir. “*Yeni Gelişen Nanoteknolojiler Projesi*” (Project on emerging nanotechnologies, PEN) verilerine göre Mart 2011 itibari ile dünya çapında toplam 1317 adet nanoteknoloji bazlı ürün pazara sunulmuştur. Nanopartikül içeren nanoteknolojik ticari ürünlerin sayısındaki artışa paralel olarak, bu ürünlerden elde edilen gelir de artmaktadır. 2009 yılında nanoteknolojik ürünlerden elde edilen gelir yaklaşık 1545 milyon ABD-\$ olmuştur ve 2015 yılında bu gelirin 5335 milyon ABD-\$’a yükselmesi beklenmektedir (Peralta-Videa vd 2011).

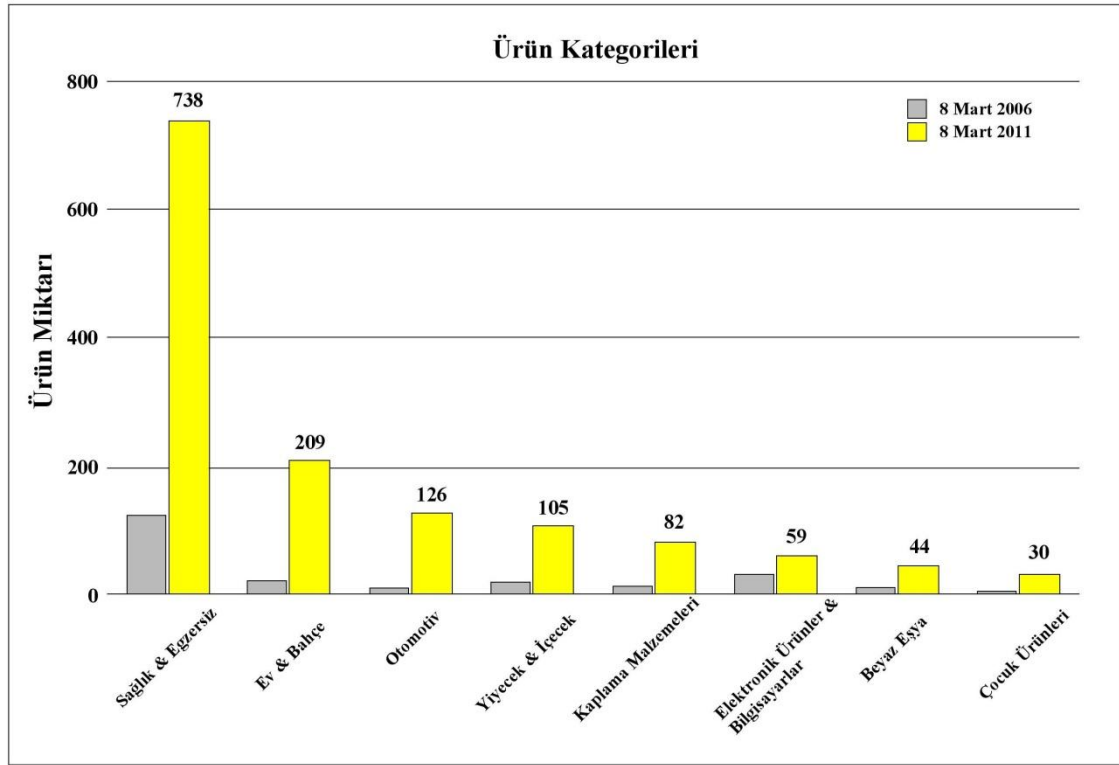
Nanopartiküller, endüstriyel üretimde son derece önemli özellikler olan dayanıklılık, düşük maliyet, düşük enerji ihtiyacı ve minimum atık üretimi gibi özelliklere sahiptir (Erkoç 2011). Günümüzde nanopartiküller hem bu özellikleri, hem de teknolojik benzersizlikleri ile endüstriyel ürünlerin temel ham maddelerinden birisidir. Nanopartiküller ile üretilmiş ürünlerin geleceğimizde önemli bir rol oynayacağına ve yaşam kalitemizi yükselteceğine inanıldığı için bu malzemelerin

kullanıldığı alanların çeşitleri ve önem dereceleri giderek artmaktadır. Elektronik, biyomedikal, görüntüleme sistemleri ve iletişim ağları gibi sektörler nanopartikülleri kullanmaktadır. Elektronik alanında nano boyutlu transistörler, yüksek çözünürlük ve düşük maliyet özellikli monitörler, kapasitesi arttırılmış taşınabilir bellekler, ömrü arttırılmış piller, yüksek hassasiyette sensörler nanopartiküllerin üstün özellikleri sayesinde günümüzde üretilen ya da kısa zaman içinde üretimine başlanacak olan ürünlerdir. Bu alanda bakır II oksit (CuO), kuantum noktaları, altın (Au) gibi elektriksel özellikleri öne çıkan nanopartiküller kullanılmaktadır (Rousk vd 2012, Reimann ve Manninen, 2002, Kurniawan, 2008). Diş tedavileri, ilaç iletim gelişmeleri, ameliyat malzemeleri gibi biyomedikal alanına dahil konularda nanopartikül maddeler sahip oldukları pek çok farklı özellikleri ile kendilerine yer bulmaktadır. Bu nanopartiküllerden başlıcaları seryum oksit (CeO₂), Ag ve demir (III) oksit (Fe₂O₃) gibi hücre koruyucu ya da anti-bakteriyel özellikteki nanopartiküllerdir (Pelletier vd 2010, Wong, 2013, Chirita ve Grozescu, 2009). Nanoboyutlu tarayıcı uçların geliştirilmesi ile mikroskopik görüntüleme çığır açılmıştır. Elektron mikroskopisi bu sayede nano ölçekte tarama ve tespit yapabilmektedir. İletkenlik ve optik özellikleri sayesinde, numunelere enjekte edilerek çeşitli özelliklerdeki mikroskoplarda görüntü alınmasını kolaylaştıran nanopartikül maddeler de bulunmaktadır (The Project on Emerging Nanotechnologies, 2013). Üstün elektronik özellikleri sayesinde nanopartiküller, telefon, bilgisayar gibi iletişim araçlarını çok daha kolay taşınabilir, kompakt ve uzun sarj ömürlü hale getireceklerdir (Bonazzi 2010).

Yukarıda sayılan ileri teknoloji endüstriyel ürünler dışında günlük temizlik malzemeleri, kozmetik ürünler, mürekkepler, gıda ambalajları, diyet ürünler, ilaç kaplamaları, antibakteriyel kaplamalı kıyafetler, izolasyon malzemeleri, çeşitli özelliklerde iç ve dış cephe boya, antibakteriyel ya da hidrofobik kaplamalar şeklindeki özel yüzey kaplamaları gibi teknolojisi daha düşük fakat üretim ve tüketim miktarı çok daha yüksek ürünlerde de nanopartiküller çok fazla kullanılmaktadır (Kim vd 2010). Otomobil sektöründe mekanik dayanıklılığı arttırılmış lastikler ve araç tamponları nanomateryaller yardımı ile üretilmiş ve kullanıma sunulmuştur. Endüstriyel tüketici ürünlerinin içeriğinde kullanılan başlıca nanopartiküller; TiO₂, alüminyum oksit (Al₂O₃), ZnO, Fe₂O₃ gibi üretimi son derece kolay olan metal oksit nanopartiküllerdir. Özellikle boyutları nedeniyle saydam özellik taşımaları ve UV ışınlarını absorbe etmelerinden dolayı TiO₂ ve ZnO nanopartiküller güneş koruyucu olarak neredeyse tüm kozmetik ürünler içinde ve iç-dış cephe boyalarında bir bileşen olarak bulunmaktadır. Diyet ürünlerde ve ilaç kaplamalarında sıklıkla organik nanopartiküllerden oluşan film kaplamalar kullanılmaktadır (Luther vd 2004). Tekstil ürünlerinde ise spor kıyafetler gibi amaca yönelik ürünleri hafif ve dayanıklı tutabilmek için karbon nanotüplerden (carbon nanotube, CNT) ve her türlü kumaşı hijyenik tutabilmek için anti-bakteriyel özelliği olan Ag nanopartiküllerden sektörde yoğun olarak yararlanılmaktadır. Cam, seramik gibi yüzeylerde ve yalıtım malzemelerinde renk koruyucu, hidrofobik ve dayanıklılık arttırıcı özelliklerde seramik nanokompozitler, TiO₂ ve silika nanopartiküller kullanılmaktadır.

Şekil 2.4'te nanopartikül kullanılarak üretilen ticari ürünlerin ağırlıklı olarak hangi sektörlerle dağıldığı ve 2006 - 2011 yılları arasında ürün sayısının değişimi verilmiştir. Bu bilgiler değerlendirildiğinde; 5 yıl içinde endüstride nanopartikül kullanımının katlanarak arttığı açıkça görülmektedir. Ayrıca nanopartiküllerin en çok

kişisel sağlık ve ev temizliği gibi her gün temas ettiğimiz ürünler içinde bulunduğu da dikkat çekici bir diğer bilgidir.



Şekil 2.4. 2006 ve 2011 yıllarında kategorilerine göre NP içeren ürün sayıları (PEN 2011)

2.6.3. Nanopartiküllerin potansiyel toksik etkileri

Nanopartikül maddelerin boyutlarına bağlı olarak farklılaşan özellikleri ve endüstriyel alanlarda yoğun olarak kullanılması bu maddelerin ekosistemler ve canlı hücreler üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Literatürde nanopartiküllerin memeli hayvanlar, sucul ortam organizmaları ve bitki gelişimi gibi alanlardaki potansiyel toksik etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur (Handy ve Shaw 2007, Handy vd 2008, Barrena vd 2009, Kahru ve Dubourguier 2010). Yapılan literatür taraması nanopartiküllerin canlılar üzerindeki etkilerinin ağırlıklı olarak toksik olduğunu göstermiştir. Fareler üzerinde Lam vd (2004) tarafından gerçekleştirilen bir çalışma, intratrakeal aşılama yolu ile 0,5 mg CNT'e maruz kalan farelerin %56'sının 7 gün içinde öldüğünü göstermiştir. Takenaka vd (2004) tarafından yapılan bir çalışmada solunum yolu ile 6 saat boyunca 550 µg/m³ oranında kadmiyum oksit nanopartikülüne maruz bırakılan sıçanların kanlarındaki kadmiyum seviyesinin arttığı tespit edilmiştir. Bu tespit, nanopartiküllerin vücutta sistemler arası hareket edebildiği şeklinde yorumlanmıştır. Kahru ve Dubourguier (2010) tarafından hazırlanan bir derleme yayında bakteriler, mayalar, nematodlar, balıklar, algler, eklem bacaklı kabuklular ve siliatlara uygulanan TiO₂, ZnO, CuO, Ag, CNT ve C₆₀ nanopartiküllerinin farklı dozları karşılaştırılmış ve ölümü, en düşük nanopartikül dozlarında gözlenen canlıların algler ve eklem bacaklı kabuklular olduğu görülmüştür. Barrena vd (2009) tarafından yapılan bir çalışmada salatalık ve marul kökleri Ag, Fe₃O₄ ve Au

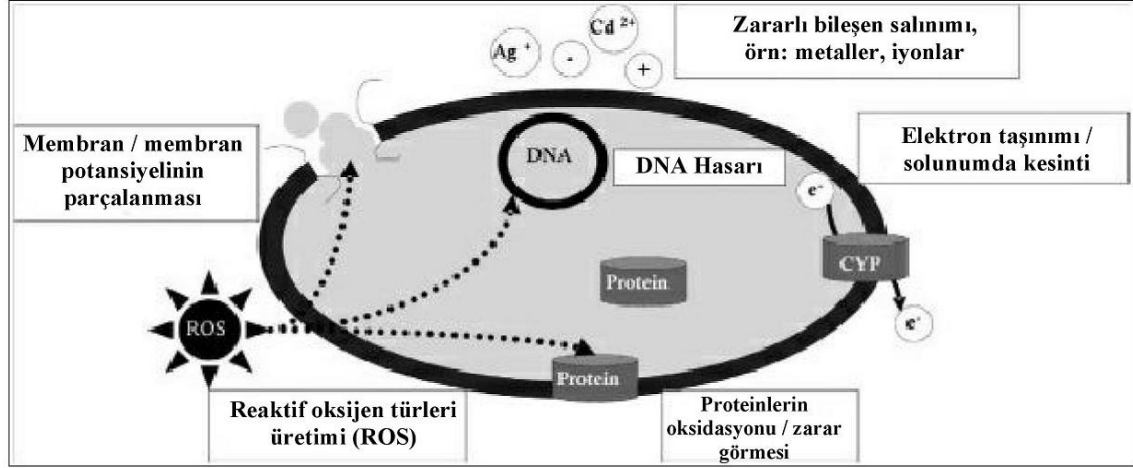
nanopartiküllerine sırası ile 100 mg/L, 116 mg/L ve 62 mg/L konsantrasyonlarında maruz bırakılmış ve kontrol grubuna kıyasla çimlenme ve gelişme hızlarındaki farklılıklar 7 gün boyunca gözlenmiştir. Au nanopartiküllerinin çimlenme ve gelişmeyi ortalama %15 arttırıcı etkisi olduğu tespit edilirken Ag ve Fe₃O₄ nanopartiküllerinin çimlenme ve gelişim süreçlerini kontrol grubuna kıyasla yavaşlattığı gözlenmiştir. Hallock vd (2008) tarafından yapılan bir derleme çalışmada nanopartiküllerden kaynaklanan toksik etkilerin, nanopartikülün temel materyaline, diğer bir deyişle hangi atomlardan oluştuğuna, büyüklüğüne, herhangi bir kaplama malzemesi ile kaplanıp kaplanmadığına bağlı olduğu belirtilmiştir. Hayvan hücreleri için bu derleme çalışmada bahsedilen olası toksik etkiler ve bunlara ait örnek çalışmalar Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Nanopartiküllerden kaynaklanan toksikolojik etkiler ve bu etkileri örnekleyen çalışmalar (Hallock vd 2008)

Toksikolojik Etki	Çalışma Örneği
Nanopartiküller, <i>in vitro</i> hücreler için toksik olabilirler	Cd-Se kuantum noktalarının insan ve maymun hücreleri için toksik olduğu tespit edilmiştir.
Hücre zehirlenmesi, kaplamalar ya da ikameler ile modifiye edilebilir ya da azaltılabilir	ZnS veya polietilen glikol ile kaplanmış Cd-Se kuantum noktalarının 2 haftalık inkübasyonda karaciğerde ölüme yol açmadığı görülmüştür.
Kısa dönemli hayvan testlerinde nanopartiküller, mikro partiküllerden daha toksik olabilirler.	Nano TiO ₂ (20 nm) sıçanlar üzerinde yürütülen kısa dönemli akciğer toksisitesi testinde makro TiO ₂ ’e (250 nm) göre 43 kat daha fazla iltihaplanmaya sebep olmuştur.
Nanopartiküller vücut içinde organlar arasında yer değiştirebilir.	Sıçanlarda, radyoaktif karbon partikülleri solunduktan 6 saat sonra karaciğerde görülmüştür.
Nanopartiküller burun sinirleri yolu ile beyine girebilirler	Sıçanlarda, radyoaktif karbon partiküllerinin burun sinirleri yolu ile beyin ve beyinciğe ulaştığı gözlenmiştir.
Nanopartiküller, kısa dönemli havyasal testlerde akciğer iltihabı, granülom ve fibrozise sebep olabilirler.	CNT, farelerde, tek doz solumanın ardından akciğer iltihabı, granülom ve fibrozise sebep olmuştur. Ayrıca nefes alma hızını ve sterilliği azaltmıştır.
Nanopartiküller izole edilmiş deri analizlerinde deriye nüfuz edebilirler.	Kuantum noktaları izole edilmiş domuz derisi analizinde canlı cilde nüfuz etmiştir.

Nanopartiküller çeşitli yollarla hücre içine girerek tespit edilen toksik etkilere sebep olmaktadır. Hücre zarından içeriye nüfuz edebilmekte, endositoz ya da adhezyon ile hücre içine alınabilmektedirler. Kuantum noktaları ve CNT gibi bir takım nanopartiküller özel olarak proteinlerle, nükleik asitlerle ya da hücre zarı ile etkileşime girmeleri için tasarlanmışlardır. Nanopartiküllerin toksisite mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmış olmasa da olası mekanizmalar; hücre zarının parçalanması, protein oksidasyonu, DNA yapısının bozulması, hücre içi enerji üretiminin kesilmesi, reaktif oksijen türlerinin oluşması ve toksik bileşenlerin salınımı şeklinde sıralanabilmektedir (Klaine vd 2008).

Şekil 2.5'te nanopartiküllerin hücre içinde toksisiteye sebep olan davranışları açıklanmaktadır. Nanopartiküller gösterilen mekanizmalardan biri ya da daha fazlası ile hücre içinde toksisiteye sebep olabilmektedirler.



Şekil 2.5. Nanopartiküllerin bakteriler üzerindeki olası toksisite mekanizmaları (CYP: Sitokrom P enzim grubu) (Klaine vd 2008)

2.6.4. Çevresel etkileri

Çevre, nanoölçekli pek çok doğal partikülü içinde bulundurmaktadır. Tatlı sulardaki kolloidler (1 µm – 1 nm), atmosferdeki volkanik tozlar ve toprak erozyonundan gelen partiküller doğada kendiliğinden bulunan nanopartiküllerdendir. Doğada bu materyallerin milyonlarca yıldır mevcut olduğu ve organizmaların bu doğal yapılarla bir arada yaşamaya adapte olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, insan aktiviteleri sırasında üretilen egzoz kaynaklı ya da araba lastiği gibi çeşitli malzemelerin aşınması sonucu ortaya çıkan nanoölçekli kirleticiler de uzun süredir hayatın görünmez birer parçasıdır. Bu nanopartiküllerin yanı sıra tasarlanmış nanopartiküllerin özel durumları olabileceğini hesaba katmak gerekmektedir; çünkü bunlar, özel kimyasal ve yüzey özelliklere sahip olmaları için tasarlanmış partiküllerdir (Handy vd 2008). Tasarlanmış olma durumlarından dolayı diğer kirleticilerle olan etkileşimleri, organizmalar ile olan ilişkileri, uzun dönemli ve doza bağlı etkileri gibi konularda yanıtlanması gereken çok daha fazla soru bulunmaktadır (Handy vd 2008, Mu vd 2011, Yang vd 2012).

Nanopartiküllerin çevresel etkileri, taşınımları ve ekosistemlere verdikleri zararların mekanizmaları hakkında oldukça az şey bilinmektedir (Khanna 2009). Benzer şekilde atıksu arıtımının nanopartiküller üzerindeki ya da nanopartiküllerin atıksu arıtımı üzerindeki etkisi ve bu partiküllerin atıksu ya da çamurdan etkin giderim metotları net olarak bilinmemektedir (Brar vd 2010). Literatürde mevcut çalışmalar bu partiküllerin atıksu arıtımı dışında kullanılan çeşitli mikroorganizmalar, bitkiler, balıklar ve insan sağlığı üzerindeki zararlı etkilerine odaklanmıştır (Klaine vd 2008, Barrena vd 2009, Khanna 2009, Savolainen vd 2010, Tae Kim vd 2010, Kahru ve Dubourguier 2010, Peralta-Videa vd 2011). Organizmaları ya da hücreleri spesifik olarak ele alan bu tür çalışmaların sayısına kıyasla, nanopartikül maddelerin çeşitli ekosistemlere etkilerini bütün olarak inceleyen çalışmalar çok daha azdır (Klaine vd 2008). Limitsiz çeşitliliğe

sahip bu partiküllerin bazıları biyolojik sistemler için toksik, bazıları tehlikesiz ve bazıları da fayda sağlayıcıdır (Buzea vd 2007).

Nanopartiküllerin hava, toprak ve sudaki kirleticiler ile reaksiyona girerek onları zararsız bileşiklere dönüştürme potansiyeli fayda sağlayıcı bir özellikleri olarak tanımlanabilmektedir. Örneğin; demir bazlı bazı nanopartiküllerin sudan ve topraktan organik kloru ve çözeltilerini arındırma özellikleri vardır. Bu bileşikleri zararsız hidrokarbonlara çevirerek kanserojen etkilerini ortadan kaldırmaktadırlar (Klaine vd 2008). Benzer şekilde, literatürde, nanopartiküllerin içinde buldukları ekosisteme herhangi bir etkilerinin olmadığı tespit edilen çalışmalar da mevcuttur (Barrena vd 2009, Garcia vd 2012).

Bununla birlikte tasarımılanmış nanopartiküllerin toksik etkilere neden olup olmadıkları hakkında kesin bilgiler verebilmek için çok daha detaylı ve fazla sayıda araştırma yapılması gerekmektedir. Özellikle tasarımılanmış nanopartiküllerin uzun dönemli çevresel etkilerinin tespit edilebilmesi için geçmiş olması gereken zamanın yeni oluşmaya başladığı düşünülmektedir. Ayrıca, nanopartikül toksisitesindeki esas endişe, bazı tasarımılanmış nanopartiküllerin redoks aktif olması ve bazılarının da hücre zarı içinden geçebilme ve mitokondriye yerleşme gibi özelliklerinin bulunmasıdır. Konu hakkında yapılan çeşitli bilimsel çalışmalarda farklı türlerdeki hayvan hücreleri ve bakteriler TiO_2 , nano-Ag, ZnO, C_{60} (fulleren), CNT gibi nanopartiküllere maruz bırakılmış ve hayvan hücreleri ile bakteriler farklı derecelerde toksik etkiler göstermiştir (Kahru ve Dubourguier 2010). Tespit edilen bu etkilerin yanı sıra Avrupa Komisyonu Bilimsel Komitesi (SCENIHR) tarafından hazırlanan “*Nanoteknoloji Ürünleri Risk Değerlendirmesi*” (2009) raporunda nanopartiküllerin embriyolara geçme, birikme ve besin zincirine dahil olma potansiyellerinin bulunduğu bahsedilmektedir (SCENIHR 2009).

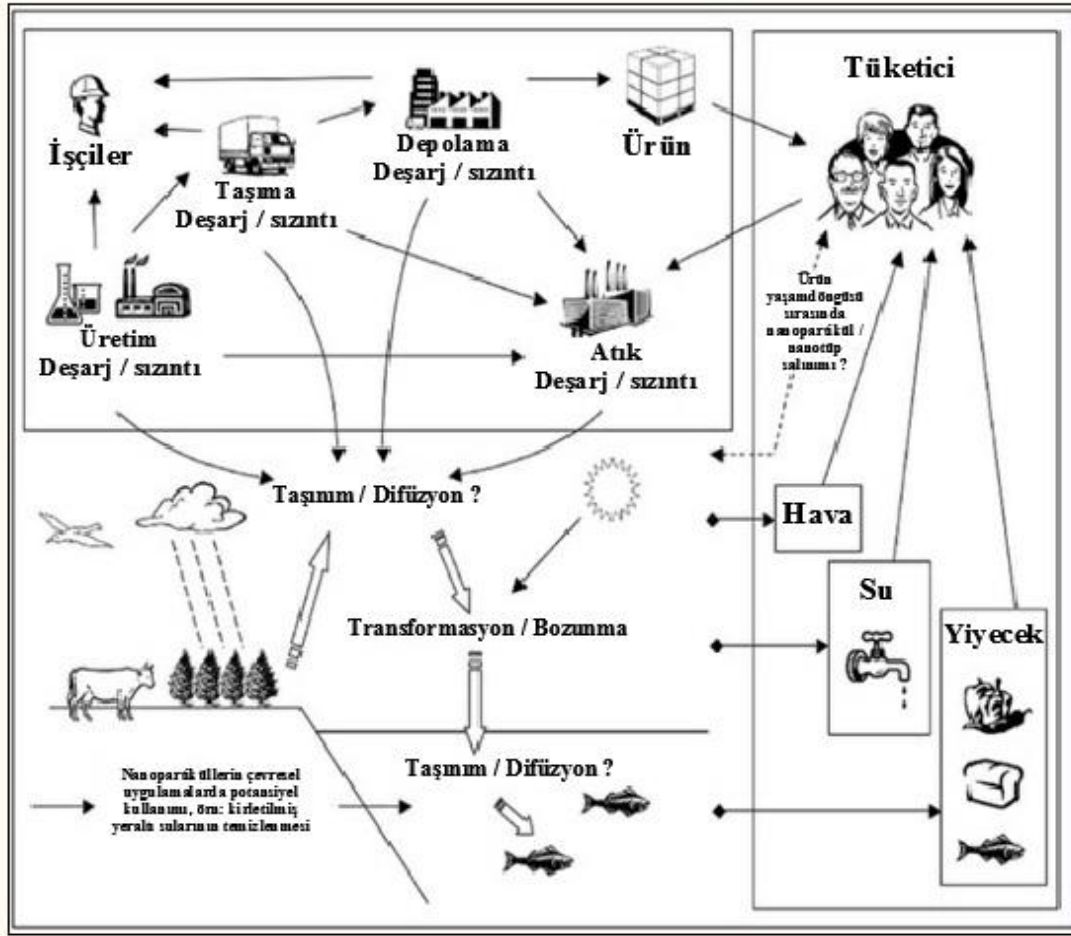
2.6.5. Çevresel akıbetleri

Nanopartikül içeren tüketici ürünlerinin ve nanopartikül üretim tesislerinin hızlı artışının doğal sonucu olarak nanopartiküller hızla çevreye salınmaktadır. Bu salınım nanopartiküllerin çeşitli prosesler ile hava, su ve/veya toprak ortamına girmeleri ile gerçekleşmektedir. Nanopartiküllerin çevre içindeki akıbetleri çeşitlerine, şekillerine, fiziko-kimyasal özelliklerine ve alıcı ortam özelliklerine bağlıdır. Bu özellikler nanopartiküllerin hangi proseslerle çevreye salınacağı konusunda belirleyici olmaktadır (ENRHES 2009). Çizelge 2.2’de nanopartiküllerin içinde buldukları ortamdan ayrılarak çevreye salınımlarına sebep olan prosesler açıklanmaktadır.

Çizelge 2.2. Nanopartiküllerin toksik etkileri (ENRHES 2009)

Proses	Tanım
Çözünme	Katı bir nanopartikülün çözelti oluşturmak için bir çözücü içinde çözünmesidir.
Çökme/Çökelme	Nanopartiküllerin eklendikleri sıvının dibine çökmesidir.
Türleşme	Nanopartikülün moleküler ya da iyonik başka kimyasallarla birleşmesidir.
Askıda biyotik/abiyotik maddelerle etkileşime girme	Nanopartiküllerin çevredeki diğer materyallerle adhezyon ya da sorpsiyon gibi yollarla etkileşime girmesidir.
Transformasyon	Bir nanopartikülün biyolojik ya da kimyasal olarak transforme olmasıdır.
Agregasyon/Dağılıma	Nanopartiküllerin mevcut ortamları içinde agrega olmaları ya da birbirlerinden uzaklaşmalarıdır.
Mineralleşme	Karbon içeren bir nanopartikülün biyotik ya da abiyotik parçalanma yolu ile inorganik bir hale geçmesidir.
Difüzyon	Nanopartikülün moleküler hareket ile yoğun konsantrasyonlu bir ortamdan düşük konsantrasyonlu bir ortama geçişidir.
Birikme	Nanopartiküllerin bir çözelti, süspansiyon ya da buhar formunda çökmesidir. Örn: aerosol formundan suya geçmeleri ve birikmeleridir.
Yeniden askıda hale geçme	Çözünemeyen nanopartiküllerin çökeldikten sonra yeniden askıda hale gelmeleridir. Örn: bir yüzey üzerinden gaza ya da sediment formundan suya geçmeleridir.

Nanopartiküllerin çevreye karışması üretim sürecinde, kullanım sırasında ya da bir ürünün yaşam döngüsünün tamamlanması aşamasında, yukarıda belirtilen prosesler ile gerçekleşebilmektedir. Nanopartiküllerin büyük çapta endüstriyel üretimi aşamasında meydana gelebilecek çevresel salınımları kaçınılmazdır. Şekil 2.6'da üretim aşamasından itibaren nanopartiküllerin çevrede hangi yolları izlediği ve insan ile nasıl temas ettiği özetlenmiştir. Üretim, taşıma, depolama ve kullanım aşamalarında ürünlerden ayrılarak deşarj ve sızıntılar ile çevreye salınan nanopartiküller taşınım ve difüzyon ile ekosisteme dahil olmakta ve ekosistemin birer parçası olan hava, su ve besinler ile insanlarla temasa geçmektedir.



Şekil 2.6. Nanopartikül maddelerin çevre ve insanlara olası maruziyet yolları (Enrhes 2009)

Endüstriyel ölçekteki üretimleri sırasında nanopartikül kullanılan ürünlerin kullanım alanları düşünüldüğünde, nanopartiküllerin gerek su ve gerekse hava yolu ile çevreye yayılmalarının oldukça kolay olduğu görülmektedir. Özellikle hijyen ve kozmetik alanlarında kullanılıyor olmaları ise bu nanopartiküllerin su ile temasını arttırmakta ve konunun Çevre Mühendisliği disiplini açısından incelenmesini gerekli kılmaktadır. Duş, bulaşık, çamaşır ve yağmur sularının nanopartikül içeren ürünlere teması ile suyun içeriğine karışan nanopartiküllerin izlediği yol, aynı zamanda suyun izlediği yol olmakta ve bu şekilde nanopartiküller atıksu arıtma tesisine ulaşmaktadırlar. Benn vd (2008) tarafından yapılan bir çalışmada Ag nanopartikül kullanılarak üretilmiş ve piyasada satılan çorapların yalnızca su ile yıkanması suretiyle çoraplar üzerindeki nanopartiküllerin su ortamına geçtiği tespit edilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise bir çamaşırhanenin atıksuları incelenmiş ve nano ölçekli AgCl partiküller tespit edilmiştir (Kim vd 2010). Çizelge 2.3'te nanopartikül içeren ürünlerin Avrupa ölçeğinde kullanımı sonucunda atıksu toplama sistemlerine yapılan nanopartikül salınım senaryosu verilmiştir.

Çizelge 2.3. Nanopartikül içeren çeşitli ürünlerden kaynaklanan emisyon miktarları (Brar vd 2010)

Ürün Tipi	Emisyon (g/kişi/G)	Açıklama	Kaynak
Antiperspirant	0,35	0,7g/G ve %50 nüfus kullanım oranı	Loretz vd 2005, 2006
Vücut kremi	1,2	6,0 g/G ve %20 nüfus kullanım oranı	Loretz vd 2005, 2006
Vücut sabunu	0,32	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Temizleyiciler	0,3	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Deodorantlar	0,08	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Yüz kremi	1,64	8,2 g/G ve %20 nüfus kullanım oranı	Loretz vd 2005, 2006
Saç kremi	0,47	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Saç şekillendiriciler	0,10	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Kireç sökücüler	0,11	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Boyalar	0,09-0,36 ml/kişi/yıl	İngiltere'deki kullanım ve temizlik sırasında %1- 4 salınım	Avrupa Komisyonu 2004
Çamaşır deterjanları	10,1-20,5	ABD, İsveç, Danimarka, Finlandiya ve Norveç için geçerli bilgi	Eriksson vd 2002
Ağız hijyen ürünleri	0,7	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Parfüm	0,05	0,5 g/G ve %10 nüfus kullanım oranı	Loretz vd 2005, 2006
Şampuan	1,83-6,30	İsveç ve Danimarka için geçerli bilgi	Eriksson vd 2002, 2003
Tıraş kremi	0,07	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Sabun	2,5	İsveç için geçerli bilgi	Eriksson vd 2002
Cilt bakım ürünleri	1,3	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003
Yumuşatıcılar	16,4	Avrupa'daki kullanım miktarı bilgisine dayanılarak	Eriksson vd 2002
Güneş koruyucular	3,0	30 g/G ve %10 nüfus kullanım oranı	Loretz vd 2005, 2006
Cam temizleyiciler	0,03	Danimarka'da yapılan kimyasalları kullanım anketi	Eriksson vd 2003

Her ne kadar Çizelge 2.3'te verilen değerler Avrupa temel alınarak hazırlanmış olsa da, ortaya konulan durum tüm dünya için geçerli bir senaryodur ve yalnızca günlük insan aktivitelerinden kaynaklanan nanopartikül kirliliğini gözler önüne sermektedir (Brar vd 2010). Her gün evsel atıksulara karışan nanopartikül miktarı giderek artmaktadır.

Avrupa Komisyonu Bilimsel Komitesi (SCENIHR) tarafından hazırlanan "Nanoteknoloji Ürünleri Risk Değerlendirmesi" (2009) raporunda nanopartiküllerin

agrega olma ve organik maddelere tutunma eğilimi taşıdığı dolayısı ile atıksuya ulaşan nanopartiküllerin atıksuyun katı kısmında birikerek yüksek konsantrasyonlara ulaşabileceği belirtilmektedir. Benzer şekilde, yapılan çalışmalarda nanopartiküllerin atıksudan büyük ölçüde ayrıştırılabildiği ve nihayetinde çamurda toplandığı tespit edilmiştir (Benn vd 2008, Limbach vd 2008, Kiser vd 2010, Wang vd 2012, Yang vd 2012). Arıtma çamuru, salınımı olan her türlü yeni kimyasal için alıcı ortam ve çevre için olası bir kirlilik vektörüdür. Arıtma çamuruna girerek atıksudan ayrılmış herhangi bir madde arıtma çamurunun tarımsal uygulamaları, anaerobik parçalanması, yakılması ya da nihai depolanması ile çevreye yeniden girmekte ve girdiği ekosisteme çeşitli mekanizmalarla zarar vermektedir (Kim vd 2010).

2.7. Nanopartikül Maddelerin Anaerobik Parçalanma Prosesine Etkileri

Evsel atıksu arıtma tesislerinde oluşan arıtma çamurlarının anaerobik parçalanma ile stabilize edilmesi yaygın olarak kullanılan bir stabilizasyon yöntemidir. Bu yöntem biyogaz yoluyla enerji eldesi bakımından da önemlidir. Evsel atıksu arıtma tesisine kanalizasyon sistemiyle ulaşan nanopartiküller genellikle ön çökeltme çamuru ve atık aktif çamurda birikmektedir. Literatürde, nanopartiküllerin evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanma prosesini nasıl etkilediği ve etki mekanizmalarının ne olduğu konusundaki çalışmaların çok sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Yürütülen sınırlı sayıdaki çalışmalarda ağırlıklı olarak nanopartikül maddelerin kısa dönemli toksik etkileri araştırılmıştır. Uzun dönemdeki etkiler için oldukça az sayıda nanopartikül incelenmiştir. Çizelge 2.4'te nanopartikül maddelerin anaerobik mikroorganizmalar üzerine etkileri hakkında literatürde mevcut çalışmalar özetlenmiştir.

Çizelge 2.4. Nanopartikül maddelerin anaerobik mikroorganizmalar üzerine etkileri hakkında literatürde mevcut çalışmalar

NP çeşidi	NP dozu	Reaksiyon süresi	Biyogaz üretimi üzerinde tespit edilen etki	Kaynak
TiO ₂ Al ₂ O ₃ SiO ₂ ZnO	6, 30 ve 150 mgNP/gTKM	18 gün	Tüm dozlarda etkisiz Tüm dozlarda etkisiz Tüm dozlarda etkisiz Dozlar için sırası ile etkisiz, %22,8 ve %81,1 inhibisyon	Mu vd 2011
ZnO	1, 30 ve 150 mgNP/gTKM	105 gün	Dozlar için sırası ile etkisiz, %18,3 ve %75,1 inhibisyon	Mu & Chen 2011
CuO ZnO	7,5 – 480 mg/L	14 gün	15 mg/L'den itibaren inhibisyon 120 mg/L'den itibaren inhibisyon	Luna del-Risco vd 2011
Ag	10, 20 ve 40 mg/L	28 gün	Tüm dozlarda etkisiz	Yang vd 2012
CeO ₂ TiO ₂ Ag Au	640 mg/L 1120 mg/L 100 mg/L 170 mg/L	50 gün	%90 inhibisyon %10 artış Etkisiz Etkisiz	Garcia vd 2012

Çizelge 2.4'ün Devamı

NP çeşidi	NP dozu	Reaksiyon süresi	Biyogaz üretimi üzerinde tespit edilen etki	Kaynak
Fe ₃ O ₄	18 mg/L			
Ag	16 mg/L	21 gün	Etkisiz	Barrena vd 2009
Au	10 mg/L			
C ₆₀	0,321 ve 8,6 mg/kg	154 gün	Tüm dozlarda etkisiz	Nyberg vd 2008
	30000 ve 50000 mg/kg	89 gün		

Mu vd (2011) tarafından yapılan çalışmada 4 farklı nanopartikülün atık aktif çamurun anaerobik parçalanması üzerine etkileri 18 gün süresince gözlenmiştir. Çalışmada, 6, 30 ve 150 mgNP/gTKM olmak üzere 3 farklı nanopartikül dozunun üretilen toplam biyogaz hacmine etkisi incelenmiştir. Çalışmada TiO₂, Al₂O₃, SiO₂ ve ZnO nanopartikülleri kullanılmış ve çalışmanın sonunda sadece ZnO nanopartikülü için anlamlı toksik etki gözlenmiştir. Buna göre; TiO₂, Al₂O₃ ve SiO₂ nanopartiküllerini içeren deney şişelerinden ölçülen biyogaz miktarları ile kontrol şişesinden ölçülen biyogaz miktarı arasında istatistiksel bir fark (p<0,05) bulunmamaktadır. Diğer yandan ZnO içeren deney şişelerinde 6 mgNP/gTKM dozu için biyogaz üretim miktarında herhangi bir etki gözlenmezken, 30 mgNP/gTKM dozunda üretilen biyogaz miktarında kontrol grubuna göre %22,8 ve 150 mgNP/gTKM dozunda %81,1 inhibisyon gözlenmiştir. Mu ve Chen (2011) ZnO nanopartikülünün atık aktif çamurun anaerobik parçalanması üzerine uzun dönemli etkilerini de tespit etmek için kesikli BMP testi ile biyogaz üretim miktarını 105 gün süresince ölçmüştür. Yapılan çalışmada ZnO nanopartikülünün 1, 30 ve 150 mgNP/gTKM dozlarının üretilen biyogaz miktarı üzerine etkileri incelenmiştir. 105 gün süresince yürütülen biyogaz üretimi ölçümü sonunda 1 mgNP/gTKM dozunda kontrole göre herhangi bir fark tespit edilememiştir. 30 mgNP/gTKM dozu üretilen biyogaz miktarı bakımından kontrole göre %18,3 ve 150 mgNP/gTKM dozu %75,1 azalmaya sebep olmuştur. Sonuç olarak ZnO nanopartikülünün anaerobik mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkisinin doza bağlı olduğu tespit edilmiş ve ağırlıklı olarak nanopartikülden salınan Zn²⁺ iyonundan kaynaklandığı bulunmuştur.

Makro ve nano boyutlu partiküllerin aktif çamurun anaerobik parçalanma mekanizmasına etkilerini kıyaslayan bir çalışmada makro ve nano ölçekteki CuO ve ZnO partiküller kullanılarak ISO 13641-2 standardı uygulanmış ve anaerobik ortamda üretilen biyogazın basıncı 14 gün ölçülerek inhibisyon etkileri tespit edilmiştir (Luna del-Risco vd 2011). Her iki ölçekteki partiküller için 7,5, 15, 30, 60, 120, 240 ve 480 mg/L dozlar denenmiş ve çalışmada, nano boyutlu partiküllerin biyogaz üretimine olan inhibisyon etkilerinin, makro boyutlu partiküllerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. CuO partikülleri makro boyutlu iken 120 mg/L, nano boyutlu iken ise 15 mg/L konsantrasyondan itibaren anaerobik ortamdaki biyogaz üretimini nano ya da makro boyutlu partikül içermeyen kontrol örneklerine göre sırası ile %19 ve %30 oranında inhibe etmiştir. ZnO partikülleri ise makro boyutta 240 mg/L ve nano boyutta 120 mg/L konsantrasyonlarda biyogaz üretimi üzerinde sırası ile %72 ve %43 inhibisyon etkisine sebep olmuşlardır. CuO makro ve nanopartikülleri için EC₅₀ konsantrasyonları sırası ile

129 ve 10,7 mg/L olarak hesaplanmıştır. ZnO makro ve nanopartikülleri için EC₅₀ konsantrasyonları ise sırası ile 101 ve 57,3 mg/L olarak bulunmuştur.

Yang vd (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Ag nanopartiküllerinin 10, 20 ve 40 mg/L konsantrasyonlarının anaerobik parçalanma prosesine olan etkileri 28 gün toplam biyogaz ölçümü yapılarak tespit edilmiştir. Oda koşulları ve mezofilik şartlarda yürütülen testlerde 40 mg/L'ye kadar olan Ag nanopartiküllerinin biyogaz üretimine ihmal edilebilir etkileri olduğu tespit edilmiştir. Gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyon (Real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR) analizi kullanılarak yapılan mikrobiyolojik incelemede Ag nanopartiküllerin mikroorganizma popülasyonunda herhangi bir değişikliğe yol açmadığı görülmüştür. 40 mg/L Ag NP içerecek şekilde hazırlanmış anaerobik çamurdan 24 saat boyunca önceden belirlenmiş zaman aralıklarında 5 mL örnek alınmış ve örnekler 0,45 µm gözenek çaplı filtreden geçirilerek indüktif olarak eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy, ICP-AES) ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda ortamda oldukça az Ag iyonu salınımı olduğu ya da hiç salınım olmadığı tespit edilmiştir. Anaerobik koşullarda Ag nanopartiküllerinin gaz üretimi üzerine ihmal edilebilir etkilerinin tespit edilmesi Ag iyonu salınımının oldukça az olması sonucu ile ilişkilendirilmiştir.

Üretiminde kullandıkları ürünleri kullanım sırasında terk ederek atıksuya geçtikleri tespit edilen nanopartiküllerin atıksu arıtma tesislerine ulaşmaları kaçınılmazdır (Brar vd 2010). 2012 yılında yapılan bir çalışmada CeO₂, TiO₂, Ag ve Au nanopartiküllerinin atıksu arıtma tesislerinde kullanılan mikroorganizma kültürleri üzerindeki etkileri incelenmiştir (Garcia vd 2012). Hem aerobik hem de anaerobik mikroorganizmaların maruz kaldığı etkilerin incelendiği çalışmada anaerobik mikroorganizmalar için mezofilik ve termofilik test ortamları oluşturulmuştur. 250 mL anaerobik aşı çamuru ve 250 mL nanopartikül süspansiyonundan oluşan 500 mL çalışma hacminde her iki sıcaklık koşulu için 50 gün toplam gaz üretimi ölçülerek kontrol grubuna kıyasla gaz miktarında oluşan farklılıklar gözlenmiştir. Çalışmada CeO₂, TiO₂, Ag ve Au nanopartikülleri için sırası ile 1120, 640, 170 ve 100 mg/L konsantrasyonlarının biyogaz üretimi üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan gözlem sonucunda CeO₂ nanopartiküllerinin biyogaz üretimini her iki sıcaklık koşulunda da %90 inhibe ettiği tespit edilmiştir. Hem mezofilik hem de termofilik koşullar altında TiO₂, Au ve Ag nanopartiküllerinden kaynaklanan inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. Bununla birlikte, TiO₂ nanopartiküllerin bulunduğu termofilik koşullarda biyogaz üretiminde %10 artış tespit edilmiştir.

Barrena vd (2009), tasarımlanmış Fe₃O₄, Ag ve Au nanopartiküllerinin salatalık ve marul bitkilerinin çimlenme evresi, deniz bakterisi olan *Photobacterium phosphoreum* ve anaerobik çamur üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Anaerobik mikroorganizmalar üzerindeki etkilerin belirlenmesi amacıyla anaerobik aşı çamur evsel katı atıkların anaerobik olarak çürütüldüğü bir tesisten alınmış ve sonuçlar toplam biyogaz üretim miktarının ölçümü üzerinden yapılan anaerobik toksisite testi ile değerlendirilmiştir. Fe₃O₄, Ag ve Au nanopartikülleri için sırasıyla 18, 16 ve 10 mg/L konsantrasyonların kullanıldığı anaerobik test 21 gün sürdürülmüştür. Ölçüm sonunda kontrol şişesinde 471±19, Fe₃O₄ NP şişesinde 519±22, Ag NP şişesinde 474±44 ve Au NP şişesinde 509±62 L biyogaz/kgTKM toplam biyogaz üretimi gerçekleşmiştir. Elde

edilen bu değerlerin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda her üç nanopartikülün de gaz üretimine herhangi bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Her ne kadar bu çalışmada inhibisyon etkisi tespit edilemediyse de Barrena vd (2009) inorganik nanopartiküllerin çevre ile etkileşimlerinin daha derinlemesine araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Nyberg vd (2008), C₆₀ nanopartikülünün çeşitli anaerobik deney ortamları içinde biyogaz üretimine etkilerini üretilen gaz miktarını ölçerek tespit etmiştir. C₆₀ nanopartikülü hidrofobik özellikte olmakla birlikte alkol içinde çözünebilmektedir. Bu nedenle hem sulu ve hem de etanol ile metanolün kullanıldığı deney ortamları oluşturulmuş, bu ortamlarda substrat olarak glikoz, etanol ve metanol kullanılmıştır. Aynı çalışma içinde, o-xylene ve toluende çözdürülen C₆₀ nanopartikülü de kullanılmış ve yine substrat olarak glikoz, etanol, metanol karışımı tercih edilmiştir. Sulu ve etanol ve metanolün karıştırıldığı deney ortamlarında gaz ölçümü 89 gün sürdürülmüş, 30000 ve 50000 mgNP/kg biyokütle konsantrasyonları denenmiştir. Kontrol grubuna göre gaz üretim miktarında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. Gaz ölçümü yapılan kontrol dahil tüm şişelerde yaklaşık 450'şer mL biyogaz üretilmiştir. O-xylene ve toluende çözdürülen C₆₀ nanopartikülünün kullanıldığı deney ortamında ise gaz ölçümü 154 gün sürdürülmüştür. Bu deney ortamında ise 0,321 ve 8,6 mgNP/kg biyokütle konsantrasyonları çalışılmıştır. Üretilen gaz miktarı tüm şişeler için yaklaşık 550 mL olmuş ve gaz üretim miktarı bakımından inhibisyon tespit edilmemiştir.

Literatür taramasından da görüldüğü üzere nanopartiküllerin anaerobik arıtım ve anaerobik parçalanma sistemleri üzerine etkileri genel olarak gaz üretiminin incelendiği sınırlı sayıda çalışmadan oluşmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Evsel Arıtma Çamuru ve Anaerobik Aşı Çamur Numunelerinin Alınması ve Saklanması

Topografik yapısı nedeniyle Antalya kent merkezinde atıksu toplama sistemi doğu ve batı olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Şekil 3.1’de Antalya şehri atıksu arıtma tesisleri hizmet alanı ve arıtma tesisleri yerleşimi verilmiştir. Lara Atıksu Arıtma Tesisi şehrin doğusunda bulunmakta ve 31.250 m³/gün debi ile 250.000 eşdeğer nüfusa hizmet vermektedir. Tesis 2007 yılında işletmeye alınmıştır ve günlük çamur üretimi % 20 katı madde ile 30 tona ulaşmaktadır. Hurma Atıksu Arıtma Tesisi şehrin batısına kurulmuştur ve 2001 yılında çalıştırılmaya başlanmıştır. Geçirdiği son revizyondan sonra ise 2011 yılında yeniden işletmeye alınmış olan tesis 210.000 m³/gün debi ile 1.400.000 eşdeğer nüfusa hizmet edebilecek kapasitede dizayn edilmiştir. Günümüzde tesis 130.000 m³/gün debi ve 850.000 eşdeğer nüfusa hizmet etmektedir. Bu tesiste ise her gün % 20 kuru madde içeriğinde 110 ton çamur üretilmektedir.



Şekil 3.1. Antalya şehri atıksu arıtma tesisleri hizmet alanı

Bu yüksek lisans tezi kapsamında substrat olarak kullanılan atık aktif çamur, Lara İleri Atıksu Arıtma Tesisi çamur santrifüj çıkışından 8 saat süre ile kompozit olarak alınmıştır. Aşı çamur olarak kullanılan anaerobik çamur ise Hurma Atıksu Arıtma Tesisi anaerobik çamur reaktörlerinden tedarik edilmiştir. Arıtma çamuru karakterizasyon analizlerinde atık özelliklerinin değişmemesi için atık aktif çamur numuneleri alındıktan hemen sonra analiz edilmiştir. Biyokimyasal Metan Potansiyeli (BMP) ve Anaerobik İnhibisyon Testi (ISO 13641-1) testlerinde substrat olarak kullanılan taze atık aktif çamur numuneleri özelliklerinin değişmemesi için -20°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. BMP ve ISO 13641-1 testlerinde kullanılan anaerobik aşı çamur her test için Hurma Atıksu Arıtma Tesisinden taze olarak alınmış, kısa sürede

testler başlatılmış ve bu süre içerisinde anaerobik aşı çamur 35°C’de inkübatörde bekletilmiştir.

3.2. Arıtma Çamurlarının Karakterizasyon Analizleri

Arıtma çamurlarının karakterizasyonu için toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), toplam kimyasal oksijen ihtiyacı (tKOİ), toplam kjeldahl azotu (TKN), protein, şeker (glukoz), indirgen şeker, yağ, selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözünen madde (SOLU) analizleri ve elementel analiz (C, H, N ve S) yapılmıştır. Arıtma çamuru karakterizasyon analizleri Akdeniz Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı’nda yapılmıştır. Arıtma çamurları elementel (C, H, N ve S) analizi ise hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Arıtma çamurlarının karakterizasyon analizlerinde numuneler paralel olarak çalışılmış ve sonuçlarda ortalama analiz sonuçları verilmiştir.

3.2.1. Toplam katı madde (TKM)

TKM analizleri Standart Metot 2540-C’ye göre yapılmıştır. TKM, belirli miktarda numunenin 103-105°C’de sabit tartıma gelene kadar etüvde kurutulması sonucunda oluşan ağırlık kaybının belirlenmesi ile ölçülmüştür (APHA 2005).

3.2.2. Uçucu katı madde (UKM)

UKM, TKM’nin organik kısmını temsil etmektedir. UKM analizi Standart Metot 2540-C’ye göre yapılmıştır. UKM, TKM içeriği bilinen numunenin 550°C’de fırında yakılması ve sabit tartıma getirilmesi sonucu gözlenen ağırlık kaybının belirlenmesi ile ölçülmüştür (APHA 2005).

3.2.3. Toplam kimyasal oksijen ihtiyacı (tKOİ) ve çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ)

tKOİ analizleri Standart Metot 5220-B’ye göre yapılmıştır (APHA 2005). Kullanılan kimyasal oksijen ihtiyacı tayin yöntemi, 100-700 mg/L aralığı için geçerlidir. 0,1–0,5 g ağırlığında kurutulmuş arıtma çamuru saf su ile 20 mL’ye tamamlanmış ve K₂Cr₂O₇ çözültisi eklenmiştir. Örneğin içerisine kaynama taşı ilave edilerek 0,4 g Ag₂SO₄ eklenmiştir. Üzerine 40 mL derişik H₂SO₄ eklenmiş, örneğin bulunduğu rodajlı balon geri soğutucuya bağlanmış ve kaynama başladıktan sonra 15 dk. reaksiyon süresince beklenmiştir. Standart metoda göre KOİ analizinde kaynatma süresi 2 saattir. Kullanılan bu yöntemde H₂SO₄ miktarı artırılarak reaksiyon süresi 2 saatten 15 dakikaya indirilmiştir (Korenaga vd 1990, Meredith 1990). Reaksiyon ortamı 10 dakika soğutulduktan sonra geri soğutucu 200 mL saf su ile yıkanmış ve süzöntü çözültiye eklenmiştir. Soğutulan numuneye 2 damla ferroin indikatörü ilave edilerek 0,25 N Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ çözültisi ile titre edilmiştir. İndikatör renk değişimi sarımsı yeşilden - mavimsi yeşil - kırmızımsı kahverengi şeklindedir. Şahit için aynı şartlarda örnek yerine 20 mL saf su kullanılmıştır (Güven 2004).

çKOİ analizleri Hach-Lange LCK314 hazır test kiti ile yapılmıştır. Analizlerde kullanılan hazır kit 15-150 mg/L aralığındadır. Analizin prensibi, oksitlenebilen

maddelerin, gümüş sülfatın katalizör olarak bulunduğu ortamda 148°C'de 2 saat oksitlenmesi ve sülfürik asit-potasyum dikromat çözeltisi ile reaksiyona girmesi şeklindedir. Numunenin çKOİ (mg/L) değeri spektrofotometrede 605 nm dalga boyunda okunmuştur. çKOİ analizinde Hach-Lange DR5000 spektrofotometre ve Lange LT200 marka ısıtıcı blok kullanılmıştır.

3.2.4. Toplam kjeldahl azotu (TKN)

TKN analizi; numunede mevcut organik azotun H₂SO₄, kjeldahl katalizörü (CuSO₄) ve sıcaklık uygulanarak ekstraksiyonla amonyum sülfata [(NH₄)₂SO₄] dönüştürülmesi, soda ilavesi ile alkalinizasyonundan sonra amonyumun borik asit (H₃BO₃) ile destilasyonunun yapılması ve hidroklorik asit ile titrasyonu prensibine dayanmaktadır. TKN analizi, standart metotlara göre TKN analizinin katı atıklar için adapte edilmiş formu kullanılarak yapılmıştır (Buffiere vd 2006). TKN analizlerinde yakma, destilasyon ve titrasyonu otomatik olarak yapan Büchi Digest Automat K-438, Büchi Auto Kjeldahl Unit K-370 ve Radiometer TitrLab 840 kullanılmıştır.

3.2.5. Protein analizi

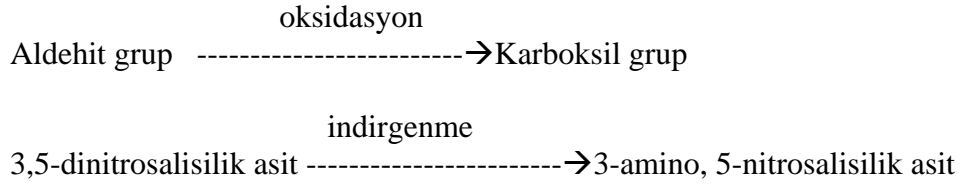
Protein konsantrasyonu Lowry metodu kullanılarak analiz edilmiştir (Lowry vd 1951). Metod peptidik bağların miktarını ölçmektedir. Protein konsantrasyonu mg/L Bovine serum albimun (BSA) eşdeğeri olarak belirlenmiştir. Standart bovine serum albumin çözeltileri (0, 20, 40, 60, 80 ve 100 mg/L) hazırlanarak, standart konsantrasyonlara karşı absorbans değerleri 750 nm'de okunmuş ve kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Tuz ve folin çözeltisi reaksiyonundan sonra numunelerin absorbansı spektrofotometre yardımıyla 750 nm'de ölçülmüş ve kalibrasyon eğrisi yardımıyla numune içerisindeki protein miktarı belirlenmiştir. Protein analizi için hazırlanan kalibrasyon eğrisi Ek 1'de verilmiştir.

3.2.6. Toplam şeker (tGlukoz) ve toplam indirgen şeker analizi (tİndŞeker)

Toplam şeker (glukoz) konsantrasyonunun belirlenmesinde Anthrone metodu kullanılmıştır (Dreywood 1946). Anthrone metodu, karbonil grupların (C=O) miktarının ölçülmesi ile karbonhidrat konsantrasyonunun belirlenmesi prensibine dayanmaktadır. Yöntem, yüksek sıcaklık ve asit konsantrasyonuna (100°C ve %98'lik H₂SO₄) maruz bırakılan polisakkaritlerin monomerlerine parçalanması sonrasında beş karbonlu (pentoz) ve altı karbonlu (heksoz) şekerlerin sırasıyla furfural ve hidroksimetilfurfurala çevrilmesi ve oluşan bu parçalanma ürünlerinin anthrone ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk değişiminin ölçümü esasına dayanmaktadır. Şeker miktarı, standart glukoz kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır. Anthrone ve sülfürik asit reaksiyonundan sonra numunelerin absorbansı spektrofotometre yardımıyla 625 nm'de ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0, 20, 40, 60, 80, 100 mg glukoz/L konsantrasyonları kullanılmıştır. Şeker analizi için hazırlanan glukoz kalibrasyon eğrisi Ek 2'de verilmiştir.

Toplam indirgen şeker tayini için Dinitrosalisilik Asit (DNS) metodu (Miller 1959) kullanılmıştır. DNS metodu; aldehit grupların oksidasyonu sonucu oluşan ve indirgen şeker olarak bilinen serbest karbonil grupların (C=O), 3,5-dinitrosalisilik asitle

indirgenmesi esasına dayanmaktadır. 3,5-dinitrosalisilik asit alkali şartlar altında sırasıyla 3-amino, 5-nitrosalisilik aside indirgenmektedir.



İndirgen şeker miktarı analizinde, glukoz kullanılarak standart glukoz çözeltileri hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0, 200, 400, 600, 800, 1000 mg glukoz/L konsantrasyonları kullanılmıştır. DNS ile muamele sonrası numunelerin absorbanansı spektrofotometre yardımıyla 575 nm’de ölçülmüştür. İndirgen şeker analizi için hazırlanan glukoz kalibrasyon eğrisi Ek 3’de verilmiştir.

3.2.7. Ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) analizi

Aritma çamurlarının ekstrakte olabilen madde ve yağ analizinde soxhlet metodu kullanılmıştır (Bridoux vd 1994). Aritma çamuru numunesinde mevcut ekstrakte olabilen maddelerin analizi için arıtma çamuru soxhlet kartuşu içinde petrolyum eter ile ekstraksiyona tabi tutularak petrolyum eter ile yağ ve ekstrakte olan madde soxhlet balonunda toplanmıştır. Petrolyum eterin uzaklaştırılması amacıyla 70-80 °C sıcaklıkta Heidolph 4000 Rotary evaporatör cihazı kullanılmıştır. Evapore edilen numunelere 24 saat kurutma (105°C) uygulanmış ve ekstraksiyon balonlarının ağırlıkları ölçülerek mevcut yağ ile ekstrakte olabilen madde miktarı tespit edilmiştir.

3.2.8. Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözüner madde (SOLU) fraksiyon analizleri

Selüloz, hemiselüloz, lignin ve çözüner fraksiyon analizleri Van Soest (1963) metoduna göre yapılmıştır. Gravimetrik analiz metodu olan Van Soest yöntemi, nötral ve asidik deterjanla ardışık ekstraksiyonun ardından selüloz konsantrasyonunun belirlenmesi için güçlü asit ekstraksiyon temeline dayanmaktadır. Van Soest analiz sonucu dört fraksiyonla ifade edilmektedir. SOLU (çözüner fraksiyon); nötral deterjanla ekstrakte edilen organik madde miktarıdır. HEMI (hemiselüloz fraksiyonu); nötral deterjan ile asit deterjan ekstraksiyonu arasındaki farktır. CELL (selüloz fraksiyonu); %72’lik H₂SO₄ ile ekstraksiyon sonrasında tespit edilmektedir. LIGN (lignin fraksiyonu) ise %72’lik H₂SO₄ ile muamele sonrasında elde edilen UKM miktarıdır (Van Soest vd 1963). Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözüner madde (SOLU) fraksiyon analizlerinin yapılmasında Gerhardt, FBS6 Van Soest Seti kullanılmıştır.

3.2.9. Elementel analiz

Aritma çamurunun elementel analizleri (C, H, N ve S) Orta Doğu Teknik Üniversitesi, AR-GE Eğitim ve Ölçme Merkezi laboratuvarında hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.

3.3. Nanopartikül Süspansiyonlarının Hazırlanması ve Partikül Büyüklüğünün Tespit Edilmesi

Deneysel çalışmalar kapsamında kullanılan Gümüş (Ag) (Alfa Aesar - 45509), Bakır II Oksit (CuO) (Alfa Aesar - 44663), Demir III Oksit (Fe₂O₃) (Alfa Aesar - 44895), Alüminyum Oksit (Al₂O₃) (Alfa Aesar - 44931) ve Seryum IV Oksit (CeO₂) (Alfa Aesar - 44960) nanopartikülleri hazır olarak satın alınmıştır. BMP analizlerinde kullanılan nanopartikül stok süspansiyonlar her bir nanopartikül için 2 g/L konsantrasyonda hazırlanmıştır. Stok nanopartikül süspansiyonlarına, nanopartiküllerin agrega olmasını engellemek için nihai konsantrasyon 0,1 mM olacak şekilde Sodyum Dodesilbenzen Sülfonat (SDBS) (Sigma-Aldrich - 289957) eklenmiştir. Anaerobik inhibisyon (ISO 13641-1) testinde kullanılan stok süspansiyonlar ise 30 g/L konsantrasyonda hazırlanmıştır. İnhibisyon testinde kullanılan stok süspansiyonlar içinde agrega olan nanopartikül yumaklarının kırılması için BMP testinde kullanılan süspansiyonlardan farklı olarak her süspansiyon 1 saat boyunca 20 kHz frekans ve 30 Watt güçte çalışan Sonics&Materials Vibra Cell boynuz tipi ultra ses cihazında muamele edilmiştir. Sonikasyon işleminin ardından süspansiyonlara nihai konsantrasyon 0,1 mM olacak şekilde SDBS eklenmiştir.

Stok nanopartikül süspansiyonlarındaki partikül büyüklükleri Malvern Zetasizer Nano ZS marka spektrofotometrik cihaz ile 633 nm dalga boyunda okunarak tespit edilmiştir. Her bir süspansiyon için beş tekrarlı olacak şekilde partikül büyüklüğü ölçümü yapılmıştır. Hazır olarak satın alınan nanopartiküllerin ambalajları üzerinde verilen partikül boyut aralıkları ve stok süspansiyon haline getirildikten sonraki ortalama partikül boyut aralıkları Çizelge 3.1'de görülmektedir.

Çizelge 3.1. Nanopartiküllerin kuru ve stok süspansiyon halindeki partikül boyutları

Nanopartikül	Ticari Boyut (nm)	BMP Testi için Boyut (nm)	İnhibisyon Testi için Boyut (nm)
Ag	20-40	75±30	45±5
CuO	30-50	499±40	320±20
Fe ₂ O ₃	30-60	170±50	140±30
Al ₂ O ₃	40-50	330±50	270±10
CeO ₂	15-30	220±10	162±20

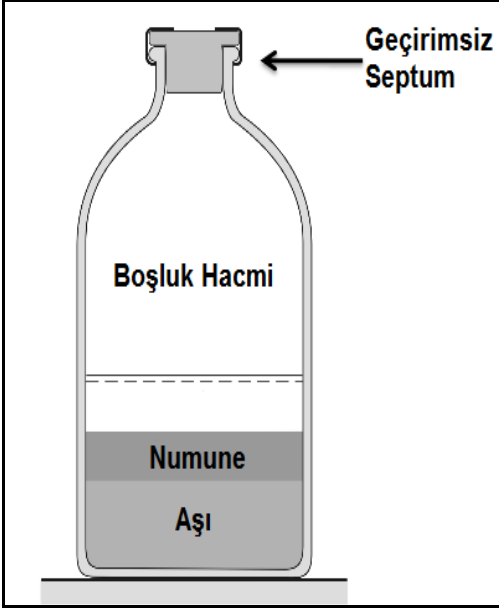
Partikül boyutu ölçümünden elde edilen sonuçlara göre NP süspansiyonlarına SDBS eklenmesi ve sonikasyon ile muamele edilmesine rağmen su ortamında nanopartiküllerin aglomerasyonu tam olarak engellenememektedir. Ortaya çıkan bu sonuç Mu vd (2011) tarafından yapılan çalışmada elde edilen sonuç ile tutarlılık göstermektedir. BMP testi için hazırlanan stok NP süspansiyonundan, BMP reaktörleri içindeki nihai konsantrasyonlar her bir nanopartikül için 5, 50, 150, 250 ve 500 mgNP/gTKM olacak şekilde kullanılmıştır. Anaerobik inhibisyon testinde kullanılan stok nanopartikül süspansiyonlarından ise reaktörler içindeki nihai konsantrasyonlar yine her bir nanopartikül için 5, 50, 150, 250, 500, 750 ve 1000 mgNP/gTKM olacak şekilde kullanılmıştır.

3.4. Biyokimyasal Metan Potansiyeli (BMP)

Atıkların metan üretim potansiyellerinin belirlenmesi için birçok kesikli yöntem bulunmaktadır (Owen vd 1979, ASTM E1196 1992, Owens ve Chynoweth 1993, Eleazer vd 1997). Bu yöntemlerde temel yaklaşım anaerobik aşı ile karıştırılmış belirli miktardaki atığın belirli bir sıcaklıkta inkübe edilmesi ve üretilen gaz hacmi ile gaz kompozisyonunun ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Biyokimyasal metan potansiyeli testinde temel amaç standart sıcaklık ve basınçta metan üretim veriminin tespit edilmesidir. BMP, organik maddenin anaerobik parçalanması süresince üretilen metan miktarının hesaplanması amacıyla kullanılan prosedürdür. Kesikli olarak gerçekleştirilen yöntem atık materyalin aktif mikroorganizmalar tarafından metana dönüştürülmesi esasına dayanmaktadır. Deney süresince üretilen gaz miktarı ve kompozisyon ölçümleri yapılarak üretilen metan miktarı hesaplanabilmektedir. Organik atıklardan metan üretim potansiyelinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen kapsamlı çalışmalar bulunmakla birlikte (Owens ve Chynoweth 1993, Hansen vd 2004), bu çalışmalarda kullanılan BMP prosedürleri birbirinden farklılıklar göstermektedir (Fernandez vd 2005, Raposo vd 2006, ASTM E1196 1992). Bu farklılıklar arasında BMP reaktörleri içine ilave edilen aşının konsantrasyonu ve aşı-substrat oranı gibi parametreler bulunmaktadır.

3.4.1. BMP Testi

Nanopartiküllerin evsel arıtma çamurunun anaerobik parçalanabilirliğine etkisinin belirlenmesi amacıyla numunelerin BMP testleri Fransız Ulusal Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Çevre Biyoteknolojisi Laboratuvarı (Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement INRA - LBE) tarafından önerilen standart yönteme göre yapılmıştır. Önerilen yönteme göre BMP reaktörü içerisindeki aktif aşı konsantrasyonunun 3-5 g UKM/L ve substrat-aşı oranının ise 0,5 (katı numuneler için g UKM/g UKM, sıvı numuneler için g KOİ/g UKM) olması gerekmektedir. Ayrıca, deney süresince aşı çamur aktivitesinin devam etmesi için BMP reaktörüne uygun miktarda makro ve mikro besinler ve reaktörler içerisinde pH değişiminin tamponlanması amacıyla NaHCO_3 ilave edilmesi gerekmektedir. Numune, aşı ve gerekli besinlerin BMP reaktörüne ilave edilmesinden sonra ortamdaki oksijenin giderilmesi için N_2/CO_2 (%70/%30) gaz karışımının kullanılması önerilmektedir. Oksijenin giderilmesinden sonra BMP reaktörleri (Şekil 3.2) sızdırmaz septum kapak ile kapatılarak inkübatöre yerleştirilmelidir.



Şekil 3.2. BMP reaktörü

BMP testleri için 500 mL kapasiteli cam şişeler kullanılmış ve çalışma hacmi 400 mL olarak belirlenmiştir. BMP testleri mezofilik (35°C) şartlarda 48 gün devam ettirilmiştir. BMP reaktörlerinde aşı konsantrasyonu 3 gUKM/L olacak şekilde anaerobik aşı çamur eklenmiştir. BMP reaktörlerine eklenen aşı miktarının hesaplanmasında aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır.

$$V_b = \frac{C_{xe} \cdot V}{C_x} \quad (3.1)$$

Eşitlikte yer alan V_b , BMP reaktörüne ilave edilecek aşı çamur hacmini, C_{xe} , BMP reaktöründe olması istenen aşı çamur konsantrasyonunu (3 g/L), C_x , anaerobik aşı çamur konsantrasyonunu (gUKM/L) ve V ise BMP reaktörünün çalışma hacmini temsil etmektedir.

Her bir BMP reaktörü içerisinde substrat-aşı oranı 0,5 olacak şekilde numune ilave edilmiştir. BMP reaktörüne eklenecek olan numunenin sıvı ya da katı olma özelliği dikkate alınarak numune miktarı hesaplanmıştır. Katı numuneler için BMP reaktöründe olması gereken numune miktarı Eşitlik 3.2 ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Numune Miktarı (gr)} = \frac{(B) \cdot V \cdot C_{xe}}{N_{UKM}} \quad (3.2)$$

Eşitlikte; (B) , BMP reaktörü içerisindeki substrat-aşı oranını (0,5 gr UKM_{numune}/grUKM_{aşı}), N_{UKM} ise numunenin uçucu katı madde (g/g) değerini belirtmektedir.

Sıvı numuneler için BMP reaktörüne ilave edilen numune miktarı ise Eşitlik 3.3 ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Numune Miktarı (mL)} = \frac{(B) * 1000 * V * C_{xe}}{N_{KOİ}} \quad (3.3)$$

Eşitlikte, $N_{KOİ}$ sıvı numunenin KOİ değeridir (grO₂/L).

BMP reaktörüne ilave edilen numune konsantrasyonu katı numuneler için 1,5 gUKM/L ve sıvı numuneler için ise 1,5 gKOİ/L olacak şekilde Eşitlik 3.4 ile hesaplanmıştır.

$$\text{Numune konsantrasyonu} = \frac{(B) * V_b * C_x}{V} \quad (3.4)$$

BMP reaktörlerinde C:N:P oranı 100:3:1 olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca, aşı aktivitesinin sürekliliğini sağlamak amacıyla mikro ve makro elementleri içeren çözelti ile pH'nın tamponlanması için NaHCO₃ çözeltisi eklenmiştir. İnkübasyon öncesinde her BMP reaktörüne %70 N₂ ve %30 CO₂ içeren gaz karışımı 1 dakika süreyle verilerek başlangıç koşullarının anaerobik olması sağlanmıştır. Deney süresince BMP reaktörlerinden gaz kaçışının engellenmesi için kalın plastik septumlar ve alüminyum kapaklar kullanılmıştır. 5, 50, 150, 250 ve 500 mgNP/gTKM konsantrasyonları için BMP testi üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Ag, CuO, Fe₂O₃, Al₂O₃ ve CeO₂ nanopartiküllerinin 5 farklı konsantrasyonu için 75 adet BMP reaktörü ile glukoz ve aşı kontrol için 3'er adet olmak üzere toplam 81 adet BMP reaktörü hazırlanmıştır. BMP reaktörleri 48 gün süresince inkübatörde 35°C'de bekletilmiştir. 48 gün süresince BMP reaktörlerinde oluşan biyogaz miktarı belirli günlerde gaz-su yer değiştirme prensibiyle çalışan gaz ölçüm sistemi kullanılarak ölçülmüştür. Biyogaz kompozisyonu ise gaz kromatografi cihazı ile belirlenmiştir. Aşıdan kaynaklanan metan üretiminin belirlenmesi için anaerobik aşı çamur şahit olarak kullanılmıştır. Ayrıca saf glikoz standart substrat kaynağı olarak kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.4.2. Makro ve mikro element ile NaHCO₃ çözeltileri

NH₄Cl (26,6 g/L), KH₂PO₄ (10 g/L), MgCl₂.6H₂O (6 g/L) ve CaCl₂.2H₂O (3 g/L) içeren stok makro element çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan stok çözeltilerden her bir BMP reaktörü içerisine Çizelge 3.2'de verilen konsantrasyonlar sağlanacak şekilde makro element çözeltisi ilave edilmiştir.

Çizelge 3.2. BMP testi için gerekli makro elementler ve konsantrasyonları (Angelidaki ve Sanders 2004, Mottet vd 2010)

Besin	Konsantrasyon (mg/L)
NH ₄ Cl	172
KH ₂ PO ₄	65
MgCl ₂ . 6H ₂ O	39
CaCl ₂ . 2H ₂ O	19

FeCl₂.4H₂O (2 g/L), CoCl₂.6H₂O (0,5 g/L), MnCl₂.4H₂O (0,1 g/L), NiCl₂.6H₂O (0,1 g/L), ZnCl₂ (0,05 g/L), H₃BO₃ (0,05 g/L), Na₂SeO₃ (0,05 g/L), CuCl₂.2H₂O (0,04 g/L), Na₂MoO₄.2H₂O (0,01 g/L) içeren stok mikro element çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan stok çözeltiden her bir BMP reaktörü içerisine Çizelge 3.3'te verilen konsantrasyonlar sağlanacak şekilde mikro element çözeltisi ilave edilmiştir.

Çizelge 3.3. BMP testi için gerekli mikro elementler ve konsantrasyonları (Angelidaki ve Sanders 2004, Mottet vd 2010)

Besin	Konsantrasyon (mg/L)
FeCl ₂ . 4H ₂ O	20
CoCl ₂ . 6H ₂ O	5
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1
NiCl ₂ . 6H ₂ O	1
ZnCl ₂	0,5
H ₃ BO ₃	0,5
Na ₂ SeO ₃	0,5
CuCl ₂ . 2H ₂ O	0,4
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,1

BMP testinde aşı inhibisyonunun önlenmesi için numune pH'sının uygun çözelti kullanılarak tamponlanması gerekmektedir. Bunun için 50 g/L NaHCO₃ stok çözeltisi hazırlanmış ve her BMP reaktörü içerisinde NaHCO₃ konsantrasyonu 2,6 g/L olacak şekilde stok NaHCO₃ çözeltisi ilave edilmiştir.

3.4.3. Anaerobik aşı çamur

BMP testinde kullanılan anaerobik aşı çamur Hurma Atıksu Arıtma Tesisi'nin anaerobik çamur çürütme reaktörlerinden sağlanmıştır. Aşı çamur iyice karıştırılmış ve yaklaşık 1 saat bekletilerek çökmesi sağlanmıştır. Çökme işlemi sonunda üstte kalan sıvı faz uzaklaştırılarak yoğun aşı çamur elde edilmiş ve BMP testlerinde yoğun aşı çamur kullanılmıştır. BMP reaktörlerine ilave edilecek aşı miktarının tespit edilebilmesi için anaerobik aşı çamurda TKM ve UKM analizleri Standart Metod'lara (APHA 2005) göre yapılmıştır. BMP testlerinde kullanılan aşı çamuruna ait TKM ve UKM sonuçları Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Nanopartiküllerin evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine etkilerinin tespiti için yapılan BMP testlerinde kullanılan anaerobik aşı çamura ait TKM ve UKM sonuçları

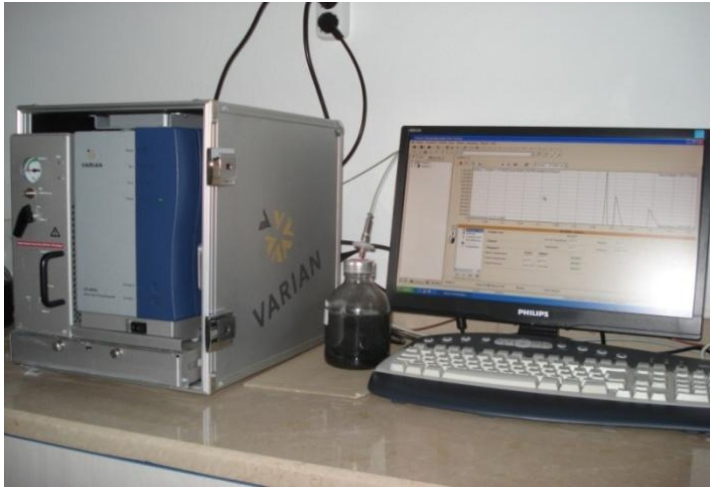
	TKM (g/kg)	UKM (g/kg)
Aşı Çamur	51,08	34,20

3.4.4. Biyogaz hacmi ve gaz kompozisyonunun belirlenmesi

BMP testinde oluşan gaz miktarının belirlenmesinde gaz-sıvı yer değiştirme metodu temel alınarak hazırlanan deney düzeneği (şekil 3.3) kullanılmıştır. Deney düzeneği, dereceli silindir, asidik tuz çözeltili haznesi ve bir adet pompadan oluşmaktadır. Deney düzeneğinde Masterflex marka peristaltik pompa, asitli tuz çözeltilisinin dereceli silindire doldurulup boşaltılabilmesi için kullanılmıştır. Deney düzeneğinde, CO₂ gazının sudaki çözünürlüğünü engellemek için pH 1 olacak şekilde asidik tuz çözeltilisi Standart Metot 2720'ye göre hazırlanmıştır (APHA 2005). BMP reaktörlerinde oluşan biyogaz miktarı ölçülerek kayıt edilmiştir.



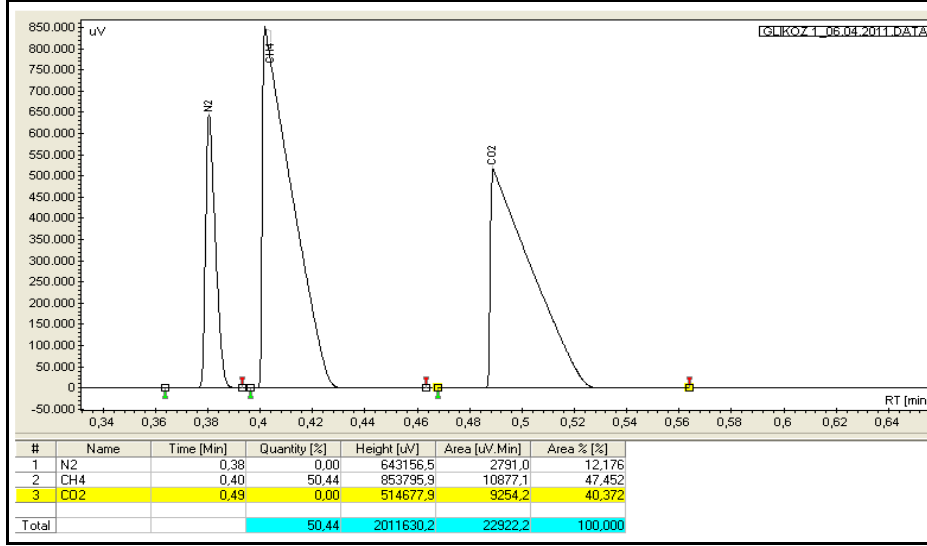
şekil 3.3. Biyogaz miktarı ölçüm düzeneği



şekil 3.4. Gaz kromatografisi ile gaz kompozisyonu ölçümü

BMP reaktörleri içerisinde oluşan biyogaz bileşenleri ise (CH₄, CO₂ ve N₂) Varian CP-4900 Mikro gaz kromatografisi (GC) cihazı ile tespit edilmiştir. Kullanılan GC, termal iletkenlik dedektörü (online-TCD) ile donatılmış ve PPQ kolona (10 m) sahiptir. Analiz metodunda kullanılan enjektör ve kolon sıcaklıkları sırasıyla 110°C ve 70°C'dir. Varian CP 4900 Micro GC'de helyum (25 mL/dk) taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır.

Şekil 3.4'te gaz kromatografi ile BMP reaktörü içerisinde gaz kompozisyonu ölçümü ve Şekil 3.5'te ise gaz kromatografi cihazı ile ölçülen biyogaz bileşenlerinin kompozisyonuna bir örnek verilmiştir.



Şekil 3.5. Gaz kompozisyonunun belirlenmesi

CH₄, CO₂ ve N₂ gazlarının biyogaz içerisindeki yüzdeleri pik alanlarının hesaplanması ile bulunmuştur. Gaz bileşenlerinden CH₄ gazının % miktarının hesaplanmasında Eşitlik 3.5 kullanılmıştır.

$$\% \text{ Metan İçeriği} = \frac{A_1 * (0,995)}{A_2} * 100 \quad (3.5)$$

A₁, numuneye ait CH₄ gazının pik alanını, A₂ ise %99,5 saf CH₄ gazının pik alanını belirtmektedir.

3.4.5. Üretilen metan miktarının hesabı

BMP reaktöründe üretilen metan miktarının hesaplanmasında aşağıda verilen Eşitlik 3.6 kullanılmıştır.

$$\text{mL CH}_4 = \left(\frac{Vh * (P_2 - P_1)}{100} * \frac{273,15}{T_1 + 273,15} \right) + \left(\frac{Vg * (P_2 + P_1) * 0,5}{100} * \frac{273,15}{T_2 + 273,15} \right) \quad (3.6)$$

V_h, BMP reaktöründeki boşluk hacmini, P₁ ve P₂ ard arda ölçüm günlerinde ölçülen metan gazının % değerlerini, T₁ inkübasyon sıcaklığını (°C), T₂ normal şartlar altındaki sıcaklık (°C) değerini, V_g ise ölçülen biyogaz hacmini belirtmektedir.

BMP reaktöründeki boşluk hacminin (V_h) hesaplanmasında ise Eşitlik 3.7 kullanılmıştır.

$$Vh = D_0 - D \quad (3.7)$$

Eşitlikte yer alan D_0 su dolu BMP reaktörünün ağırlığını, D ise BMP reaktörü ile numune, aşı ve çözeltilerin beraber tartılan son ağırlığını temsil etmektedir.

3.4.6. Aşı çamur ve glukoz kontrol BMP değeri

48 gün süren BMP testlerinde aşı çamur tarafından üretilen metan miktarı mLCH₄/gUKM olarak hesaplanmıştır. Nanopartiküllerin evsel arıtma çamurunun anaerobik parçalanabilirliğine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan BMP testlerinde kullanılan aşı çamur kümülatif metan miktarı 29,56 mLCH₄/gUKM, 28,21 mLCH₄/gUKM ve 36,01 mLCH₄/gUKM olarak ölçülmüş olup ortalama kümülatif metan miktarı 31,26 mLCH₄/gUKM olarak hesaplanmıştır.

Arıtma çamuru numunelerinin (nanopartikül içeren & içermeyen) ortalama BMP değerleri; arıtma çamurlarının ölçülen ortalama BMP değerlerinden, aşının ölçülen ortalama BMP değerlerinin çıkarılması ile hesaplanmış ve sonuçlarda sadece arıtma çamurlarına ait BMP değerleri verilmiştir (Jeon vd 2007).

BMP testlerinde kullanılan anaerobik aşı çamur aktivitesinin belirlenebilmesi amacıyla saf glukoz kullanılarak kontrol deneyi yapılmıştır. Saf glukozdan hazırlanan 5 g/L çözeltinin BMP miktarları ölçülmüştür. Nanopartiküllerin evsel arıtma çamurunun anaerobik parçalanabilirliğine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan BMP testlerinde kullanılan aşı çamur aktivitesi için glukoz kontrol BMP değerleri 229,48, 146,77 ve 106,04 mLCH₄/gKOİ ölçülmüş ve ortalama kümülatif metan miktarı 160,76 mLCH₄/gKOİ olarak hesaplanmıştır.

1 g glukoz'un teorik KOİ değerinin 1,066 g O₂ olduğu kabulü ile BMP reaktörü içerisine konulan 0,56 g glukoz'un eşdeğer KOİ değeri 0,597 g olarak hesaplanmıştır. 0,597 g KOİ'den üretilebilecek maksimum teorik metan miktarı ise 208,95 mL CH₄ olarak tespit edilmiştir. Nanopartiküllerin evsel arıtma çamurunun anaerobik parçalanabilirliğine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan BMP testlerinde kullanılan aşı çamurunun aktivitesi için substrat olarak saf glukoz kullanılmış olup deneyler sonucunda teorik BMP değerinin %76,9'una ulaşılmıştır. Bu sonuçlar BMP analizinde kullanılan aşı aktivitesinin uygun olduğunu göstermekte ve güvenilir sonuçların elde edildiğini ortaya koymaktadır.

3.5. Anaerobik İnhibisyon Testi (ISO 13641-1)

Evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine nanopartiküllerin kısa süreli inhibisyon etkilerinin (akut) tespit edilebilmesi amacı ile toplam gaz basıncı ölçümü prensibine dayanan anaerobik inhibisyon testi kullanılmıştır. Anaerobik inhibisyon testi "*ISO 13641-1 Su Kalitesi: Anaerobik Bakterilerin Gaz Üretimlerinin İnhibisyonunun Belirlenmesi*" standardına göre yapılmıştır. Bu standart, seçilen test materyalinin anaerobik çürütücülerdeki biyogaz (karbondioksit ve metan) üretimine olası inhibisyon etkilerini en fazla 3 güne kadar uzayan test süresinde belirlemeye dayanan bir metottur (ISO 13641, 2003). 20-40 g TKM/L konsantrasyon aralığındaki anaerobik çamurlara herhangi bir toksik maddenin inhibisyon etkisinin belirlenmesi için ISO 13641-1 metodu kullanılmaktadır.

Aritma çamurlarının anaerobik parçalanmasında nanopartiküllerin akut inhibisyon etkisinin belirlenmesi amacıyla her bir nanopartikül konsantrasyonu için ISO 13641 testi üç tekrarlı olarak çalışılmış ve substrat olarak Lara Atıksu Aritma Tesisi dekantör çıkışından temin edilen evsel arıtma çamuru kullanılmıştır. Anaerobik aşı çamur ise Hurma Atıksu Aritma Tesisi'nin anaerobik çamur çürütme ünitesinden temin edilmiştir. ISO 13641 testi çerçevesinde hazırlanan reaktör sayısının çalışmayı sınırlamayacak şekilde seçilmesi ve ISO standartı gereği aşı çamurunun taze kullanılması gerekliliğinden ötürü test iki seferde gerçekleştirilmiş ve bunun için Hurma Atıksu Aritma Tesisi'nden iki kez anaerobik aşı çamur alınmıştır. İlk alınan anaerobik aşı çamur ile Al₂O₃ ve CeO₂ nanopartiküllerinin farklı konsantrasyonlarını içeren 42 adet reaktör kurularak anaerobik inhibisyon testi yapılmıştır. Kullanılan aşı çamur konsantrasyonu 28,49 gTKM/L olarak ölçülmüştür. İkinci alınan anaerobik aşı çamur Ag, Fe₂O₃, CuO nanopartikülleri ve SDBS'nin farklı konsantrasyonlarını içeren test reaktörleri için kullanılmış ve 84 adet reaktör ile inhibisyon testi gerçekleştirilmiştir. Bu testlerde kullanılan aşı çamur farklı iki bidona alınmış ve konsantrasyonları sırası ile 29,89 ve 30,96 gTKM/L olarak ölçülmüştür. 500 mL'lik reaktörlerde 400 mL çalışma hacmi ile yürütülen ISO testlerinde reaktör içeriğinin hazırlanmasında standartta belirtilen oranlar kullanılmıştır. ISO 13641-1'de verilen ve Çizelge 3.5'te sunulan örnek oranlar temel alınarak reaktör içerisinde atık aktif çamur (substrat), anaerobik aşı çamur, NP çözeltisi ve saf su olacak şekilde her bir NP konsantrasyonu için reaktörler üç tekrarlı olarak hazırlanmıştır.

Çizelge 3.5. 100 mL çalışma hacmi için örnek reaktör içeriği oranları (ISO 13641, 2003)

N.P. Süspansiyonu (mL)	Saf Su (mL)	Anaerobik Aşı Çamur (mL)	Atık Aktif Çamur (Substrat) (mL)
0 (kontrol)	20	60	20
2	18	60	20
5	15	60	20
10	10	60	20
15	5	60	20
20	0	60	20

Her bir NP konsantrasyonu için hazırlanan reaktörlerin pH'sı kontrol edilmiş ve yüksek pH tespit edilen reaktörlerin pH'ları 0,1 M HCl kullanılarak 6,5-7,5 aralığına ayarlanmıştır. Reaktör içerisinde anaerobik koşulların sağlanması amacıyla reaktör içeriğinin hazırlanmasında kullanılan saf sudan N₂/CO₂ (%70/%30) gaz karışımı standartta belirtildiği gibi 1 saat süre ile geçirilmiştir. Reaktör içeriklerinin hazırlanmasından sonra reaktörlerin üst boşluk hacminde mevcut hava içerisindeki oksijenin giderilmesi için reaktörlere 1 dakika boyunca N₂/CO₂ (%70/%30) gaz karışımı verilmiş ve ardından sızdırmaz septum kapak ile kapatılarak 35°C inkübatöre yerleştirilmiştir. İnkübasyona başladıktan 1 saat sonra reaktörlerin içerisindeki gaz basıncı Digitron 2085p el tipi dijital manometre ile sıfırlanmıştır. Bu an, t=0 kabul edilerek her 12 saatte bir aynı manometre ile reaktörler içerisinde oluşan toplam gaz

basıncı 72 saat boyunca ölçülmüştür. Analiz süresi sonunda reaktörlerdeki nihai pH'lar ölçülmüştür.

3.5.1. İnhibisyon miktarının tespit edilmesi

ISO 13641-1 testinde kullanılan her bir nanopartikül konsantrasyonunun sebep olduğu inhibisyon değeri standartta verildiği üzere yüzde (%) değer olarak aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$I = (1 - (P_t/P_c)) * 100 \quad (3.8)$$

Eşitlikte verilen; I yüzde inhibisyon, P_t inhibisyon değeri hesaplanan nanopartikül konsantrasyonunun seçilen ölçüm saatinde Pascal (Pa) cinsinden ölçülen biyogaz basıncı ve P_c ise aynı saatte kontrol reaktöründe Pascal (Pa) cinsinden ölçülen biyogaz basıncıdır.

3.5.2. %50 Etkin konsantrasyonun (EC₅₀) belirlenmesi

ISO standartında test edilen inhibitörün %50 etkin konsantrasyonunun (EC₅₀) bulunması için test edilen inhibitör maddenin test edilen konsantrasyonlarının logaritmasının, hesaplanan % inhibisyon (%I) değerlerine karşı grafiğinin çizilmesi ve EC₅₀ değerinin regresyon analizi ile bulunması önerilmektedir (ISO 13641-1, 2003). Standartta aerobik bakterilerin inhibisyon testinde inhibitör maddenin test edilen konsantrasyonlarının logaritmasının hesaplanan % inhibisyon (%I) değerlerine karşı grafiğinin çizilmesi tavsiye edilirken, bazı maddelerin anaerobik çamur inhibisyon testlerinde inhibitör maddenin test edilen konsantrasyonlarının hesaplanan % inhibisyon (%I) değerlerine karşı grafiğinin çizilmesinin daha uygun olacağı belirtilmektedir (ISO 13641-1, 2003).

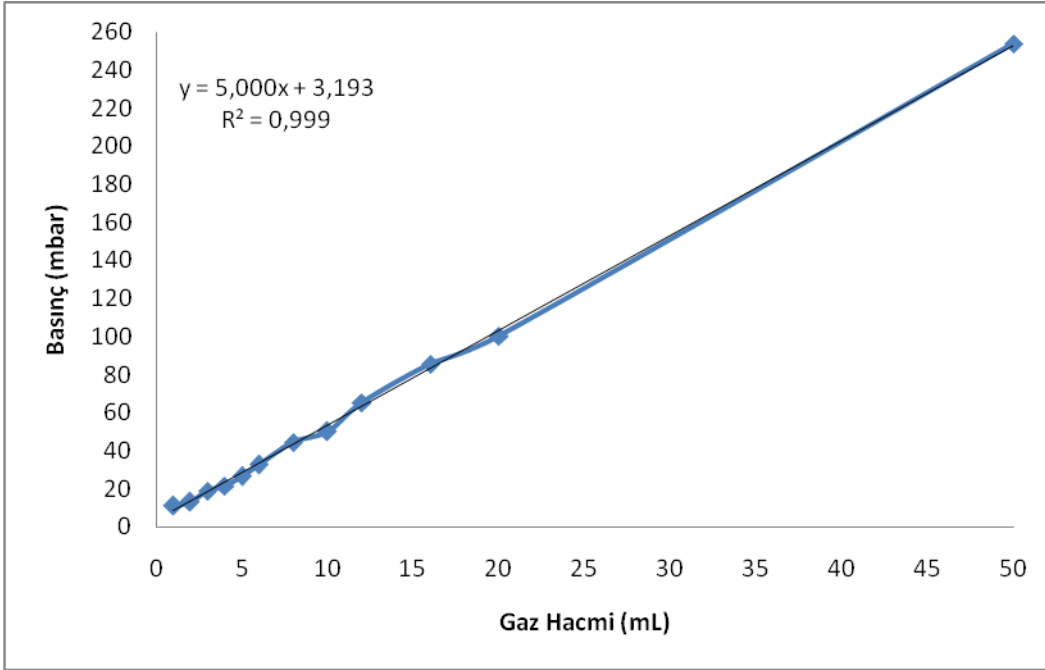
Standartta belirtildiği üzere nanopartikül konsantrasyonlarına (5, 50, 150, 250, 500, 750, 1000 mgNP/gTKM) karşı hesaplanan inhibisyon (%I) değerlerinin grafikleri Excel programı ile çizdirilmiştir. Elde edilen grafiklerin regresyon analizi yapılmış ve EC₅₀ değerleri eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır.

3.5.3. Gaz basıncının gaz hacmine çevrilmesi

ISO 13641-1 testinde ölçülen biyogaz basınçları reaktörde üretilen gaz hacmi ile ilişkilendirilmektedir. Bunun için standartta verilen Ek A'ya göre el tipi dijital manometrenin kalibrasyonu yapılmıştır.

Çalışma hacmine eşit 400 mL distile su ile doldurulan 5 adet reaktör, ağzı sızdırmaz septa ile kapatılarak 1 saat 35°C su banyosunda tutulmuştur. 1 saatin sonunda reaktörlerin içinde oluşan gaz basıncı manometre ile sıfırlanmıştır. Sıfırlama işleminin ardından sızdırmaz septadan geçirilen şırınga ile reaktörlere 1'er mL hava enjekte edilmiş daha sonra el tipi dijital manometre ile reaktörlerdeki basınç ölçülmüş ve yeniden sıfırlanmıştır. Daha sonra şişelere 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 16, 20 ve 50 mL hava enjekte edilerek kapalı test şişeleri içinde oluşan gaz basınçları dijital manometre ile ölçülmüştür. 5 şişede ölçülen basınç değerlerinin ortalaması alınarak ortalama ölçülen

gaz basınçlarına karşı enjekte edilen gaz miktarını temsil eden kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisi Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.6. Gaz basıncına karşılık gaz hacmi değerleri

3.6. Flüoresanlı Yerde Hibritleme

Organik atıkların anaerobik parçalanmasında Arke'ler metan üretiminden sorumludur. Nanopartiküllerin arıtma çamurlarının anaerobik parçalanmasında görev alan Arke'ler üzerinde yarattığı inhibisyon etkisinin gözlenmesi amacıyla Floresanlı Yerde Hibritleme (FISH) tekniği kullanılmıştır.

Floresanlı yerde hibritleme (FISH) tekniği hücrelerin morfolojisini bozmadan, hücre içerisinde, spesifik dizilimlere sahip nükleik asitlerin, işaretli oligo-nükleotitlerle (prob) hibritlenmesi, böylece hedef moleküllerin hücre içerisinde mikroskopla gözlenebilmesini sağlayan yöntemdir. Fiksasyon, hibritleme, yıkama ve görüntülemeye ilişkin dört adet aşaması bulunmaktadır. Fiksasyon; hücre duvarının problemlere geçirgen hale getirilmesi ve hücrede hedef moleküllerin bütünlüğünün korunması amacıyla yapılmaktadır. Fiksasyonun ardından gerçekleştirilen hibritleme aşamasında prob ve hedefledikleri moleküllerin birbirine bağlanması sağlanmaktadır. Hedefe bağlanamayan prob yıkama ile ortamdan uzaklaştırılmakta ve son olarak bağlı prob mikroskop altında görüntülenmektedir.

3.6.1. Flüoresanlı yerde hibritleme analizi

BMP testi ve anaerobik inhibisyon (ISO 13641-1) testi sonunda anaerobik arkelerin FISH tekniği ile gözlenebilmesi için numuneler alınmıştır. Numuneler hacimce %50 oranında etanol ile karıştırılmış ve fiksasyon aşamasına kadar -20°C'ta muhafaza edilmişlerdir. Derin dondurucuda saklanan numuneler Fosfat – Tuz çözeltisi

(Phosphate Buffered Saline, PBS) ile yıkandıktan sonra eşit miktarlarda olacak şekilde hacimce ikiye ayrılmış ve yarısı gram negatif diğer yarısı ise gram pozitif mikroorganizmalar için sırası ile paraformaldehit (PFA) ve etanol ile fikse edilmiştir. PFA fiksasyonunda, numuneler PBS ile yıkandıktan sonra ortama %4'lük PFA eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışımda gece boyu bekletilen numuneler iki kez daha PBS ile yıkandıktan sonra hibritleme aşamasına kadar -20°C'ta saklanmıştır. Etanol fiksasyonunda ise PBS ile yıkanan numuneler bir kez daha PBS ve etanol karışımında yıkanarak hibritleme aşamasına kadar -20°C'ta saklanmıştır.

Hibridizasyon aşamasında -20°C'de saklanan fikse edilmiş numuneler flokların kırılması amacı ile vortekslendikten ve pipetlendikten sonra iki kez PBS ile ve bir kez de saf su ile yıkanmıştır. Yıkanan numuneler FISH slaytları üzerindeki kuyucuklara 10'ar µL olacak şekilde eklenmiş ve ardından slayta sabitlenmesi için 46°C'ta kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra slaytlar sırası ile %50, %80 ve %96'lık etanol'de 3'er dk bekletilmiş ve ardından tekrar 46°C'ta kurutulmuşlardır. Kurutulan numunelerin üzerine 3 µL prob ve problemlerin başka moleküllere bağlanmasını engellemek için içeriği Çizelge 3.6'da verilen 17 µL hibridizasyon tampon çözeltisi (Hybridization Buffer, HB) eklenmiştir. Slaytlardaki numunelerin üzerine HB ve problemler eklendikten sonra numuneler 2 saat 46°C'ta hibridizasyona bırakılmıştır. Bu tez çalışmasında anaerobik aşı çamur içerisinde bulunan Arke'leri testip etmek için kullanılan problemler Çizelge 3.7'de verilmiştir.

Çizelge 3.6. Hibridizasyon tampon çözeltisi içeriği

Kimyasal	Konsantrasyon	Hacim
NHCl	4,5 M	0,2 mL
Ficoll	40 mg/mL	0,05 mL
Polyvinyl pyrrolidone (PVP)	40 mg/mL	0,05 mL
Bovine serum albumen (BSA)	40 mg/mL	0,05 mL
EDTA	0,5 mM	10 µL
NaH ₂ PO ₄ , pH 7,0	250 mM	0,1 mL
Sodium Dodecyl Sulfate	% 10	10 µL
Deiyonize formamid*		X mL
2x distile su*		Y mL
Toplam hacim		1 mL

* Kullanılan miktarlar proba ait formamid konsantrasyonuna göre özel olarak ayarlanmıştır

Çizelge 3.7. Anaerobik aşı çamur içerisinde bulunan arkeleri testip etmek için kullanılan problemler ve özellikleri

Prob ismi	Hedef Mikroorganizma Grubu	Dizilim	Formamid Konsantrasyonu (%)	Referans
EUB338	Tüm bakteriler	GCT GCC TCC CGT AGG AGT	35	Amann vd 1990
EUB338II	Tüm bakteriler	GCA GCC ACC CGT AGG TGT	35	Daims vd 1999

Çizelge 3.7'nin Devamı

Prob ismi	Hedef Mikroorganizma Grubu	Dizilim	Formamid Konsantrasyonu (%)	Referans
EUB338III	Tüm bakteriler	GCT GCC ACC CGT AGG TGT	35	Daims vd 1999
ARC915	Archaea	5'- GTG CTC CCC CGC CAA TTC CT -3'	35	Stahl ve Amann 1991
MX825	Methanosaeta spp.	5'- TCG CAC CGT GGC CGA CAC CTA GC -3'	50	Raskin vd 1994
MSMX860	Methanosarcinales	5'- GGC TCG CTT CAC GGC TTC CCT -3'	45	Raskin vd 1994
MC1109	Methanococcus spp.	5'- GCA ACA TAG GGC ACG GGT CT -3'	45	Raskin vd 1994

Hibridizasyon tamamlandıktan sonra herhangi bir nükleotit dizisine bağlanmayan problemlerin ortamdaki uzaklaştırılması ve alınacak görüntünün kalitesinin artırılması için yıkama yapılmıştır. Bu aşamada, hibridizasyonu tamamlanan kuyulara 100 µL %0,1 diamidino phenylindole (DAPI) çözeltisi eklenmiş, 46°C'ta 15 dakika bekletilmiş ve ardından slaytlar 4°C'taki çift distile suya batırılmıştır. Çift distile sudan çıkartılan slaytlar, içinde 46°C'ta yıkama tampon çözeltisi (Washing Buffer, WB) bulunan iki adet tüpte sıra ile 7'er dakika bekletilmiş ve daha sonra 2'er kez 10 saniye 4°C'taki çift distile suya batırılarak yıkanmıştır. Yıkama tampon çözeltisi bileşimi Çizelge 3.8'de verilmiştir. Bu işlemler tamamlandıktan sonra slaytlar karanlık bir ortamda kurumaya bırakılmıştır. Bu işlemin ardından slaytlardaki kuyuların üzerine 5'er µL anti-soldurucu eklenmiş ve ardından slaytlar lam ile kapatılmıştır. Hazırlanıp kurutulan slaytlar havlu kağıt ile nazikçe sarılarak falkon tüpler içine yerleştirilmiş ve görüntü alma aşamasına kadar -20°C'ta saklanmıştır.

Çizelge 3.8. Yıkama tampon çözeltisi

Besin	Konsantrasyon	Hacim
NaCl	4,5 M	10 mL
Tris HCl pH 7,2	200 mM	5 mL
NaH ₂ PO ₄ pH 7,0	250 mM	2,5 mL
EDTA	0,5 M	> %20 FA; 200 µL
SDS	% 10	200 µL
2x distile su ile tamamlanan toplam hacim		50 mL

Görüntüleme için Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü'nde bulunan Olympus BX51 model flüoresan mikroskop kullanılmıştır. FISH tekniği kullanılarak alınan görüntüler Cytovision programı ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Arıtma Çamuru Karakterizasyon Analiz Sonuçları

Arıtma çamuru numunesinin karakterizasyonunda; toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), toplam ve çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (tKOİ ve çKOİ), toplam kjeldahl azotu (TKN), toplam çözünmüş şeker (çŞeker), çözünmüş indirgen şeker (çİndŞeker), protein, yağ, selüloz, hemiselüloz, lignin, çözünmüş madde fraksiyonu ve elementel kompozisyon (C, H, N ve S) analizleri yapılmıştır. Arıtma çamuru numunesine ait TKM, UKM, TKN, tKOİ, çKOİ, çŞeker, çİndŞeker, protein, yağ, selüloz, hemiselüloz, lignin, çözünmüş madde fraksiyonu ve elementel kompozisyon (C, H, O ve N) analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Arıtma çamuru karakterizasyon analiz sonuçları

Analiz	Birim	Arıtma Çamuru
TKM	(g/kgNumune)	182,60
UKM	(g/kgNumune)	124,86
TKN	(mg/gUKM)	96,35
Toplam KOİ	(mg/gUKM)	1862,09
çKOİ	(mg/gUKM)	198,36
Protein	(mgPro/gUKM)	231,25
Toplam çŞeker	(mgGlukoz/gUKM)	98,30
çİndŞeker	(mg/gUKM)	467,96
Yağ	(%)	0,12
Çözünür Madde Fraksiyonu	(%)	93,64
Hemiselüloz	(%)	3,12
Selüloz	(%)	0,76
Lignin	(%)	2,48
Karbon (C)	(%)	32,59
Elementel Hidrojen (H)	(%)	5,29
Analiz Azot (N)	(%)	5,31
Kükürt (S)	(%)	0,72

Çizelge 4.1’den görüleceği üzere, Lara İleri Atıksu Arıtma Tesisi çamur santrifüj çıkışıdan alınan arıtma çamuru TKM ve UKM değerleri sırasıyla 182,60 gTKM/kgNumune (%18,26) ve 124,86 gUKM/kgNumune (%12,49) olarak bulunmuştur. Qiao vd (2011) arıtma çamurunun TKM ve UKM değerlerini sırasıyla %14,58 ve %10,63 bulmuştur. Dubrovskis vd (2010) evsel atıksu arıtma tesisi dekantör çıkışıdan alınan arıtma çamuru numunesinin TKM ve UKM değerlerini sırasıyla %13,8 ve %11,8 olarak bulmuşlardır. Lara İleri AAT’de çamur santrifüjü kullanılması ve literatürde sunulan bu değerlerin muhtemelen diğer susuzlaştırma ekipmanlarının kullanılmasıyla elde edilmesi nedeniyle Lara İleri AAT arıtma çamuru TKM ve UKM değerleri literatürde bulunan bu değerlerden yüksektir.

Arıtma çamuru numunesi toplam KOİ değeri 1862,09 mgKOİ/gUKM ve çKOİ değeri ise 198,36 mgKOİ/gUKM olarak ölçülmüştür. Chang vd (2001) arıtma

çamurunun tKOİ değerini 1075-3399 mg/L aralığında ve çKOİ değerini ise 5-159 mg/L aralığında bulmuştur. Ji vd (2010) son çökeltim tankından alınan atık aktif çamurun KOİ değerini 2080 mgKOİ/gUKM ve çKOİ değerini 28,1 mgKOİ/gUKM olarak tespit etmişlerdir. Ölçülen toplam KOİ değeri Ji vd ve Chang vd tarafından ölçülen değerlere yakın olmakla birlikte, çKOİ değeri literatürde verilen değerlerden bir miktar yüksektir.

Çizelge 4.1'den görüleceği üzere arıtma çamuru numunesi toplam Kjeldahl azot değeri 96,35 mgTKN/gUKM (%1,3) olarak ölçülmüştür. Literatürde arıtma çamuru TKN değerleri % 3,73-7,81 aralığında değişmektedir (Rizk vd 2007, Babel vd 2009). Ölçülen değerlerin literatürde verilen değerlerden düşük olduğu tespit edilmiştir.

Arıtma çamuru numunesi protein miktarı 231,25 mgPro/gUKM ölçülmüştür. Mottet vd (2010) beş farklı atık aktif çamur numunesinin protein içeriğini 340-470 mgPro/gUKM aralığında ölçmüştür. Lara İleri AAT arıtma çamuru protein miktarı Mottet vd (2010) tarafından verilen protein miktarı aralığının altında kalmaktadır.

Arıtma çamuru numunesi çİndŞeker ve toplam çŞeker değerleri sırasıyla 467,96 mg çİndŞeker/gUKM ve 98,30 mgGlu/gUKM (12,3 mgGlu/L) olarak tespit edilmiştir. Laurent vd (2012) aktif çamur numunesinin çŞeker değerini 3 mgGlu/L tespit etmiştir. Mottet vd (2010) beş farklı atık aktif çamur numunesinin çŞeker değerini 170-300 mgGlu/gUKM aralığında ölçmüştür. Lara İleri AAT arıtma çamuru çŞeker miktarı Mottet vd (2010) tarafından ölçülen çŞeker miktarından düşük fakat Laurent vd tarafından aktif çamurda tespit edilen çŞeker miktarından yüksektir. Elde edilen ölçüm değerleri literatürde verilen iki ölçüm değeri arasındadır.

Arıtma çamuru numunesinde mevcut yağ miktarı %0,12 (1,2 mg/gUKM) olarak ölçülmüştür. Kolar vd. (2008) ön çökeltim tankı arıtma çamurunda petrolü eter ile ekstrakte olabilen yağ miktarını %8,60 bulmuştur. Mottet vd (2010) beş farklı atık aktif çamur numunesinin yağ miktarını 0-90 mg/gUKM aralığında ölçmüştür. Lara İleri AAT arıtma çamuru yağ miktarı Mottet vd tarafından tespit edilen değer aralığında bulunmaktadır. Kolar vd (2008) tarafından ön çökeltim tankında tespit edilen ekstrakte olabilen yağ miktarının atık aktif çamur numunesinden fazla olması beklenen bir sonuçtur.

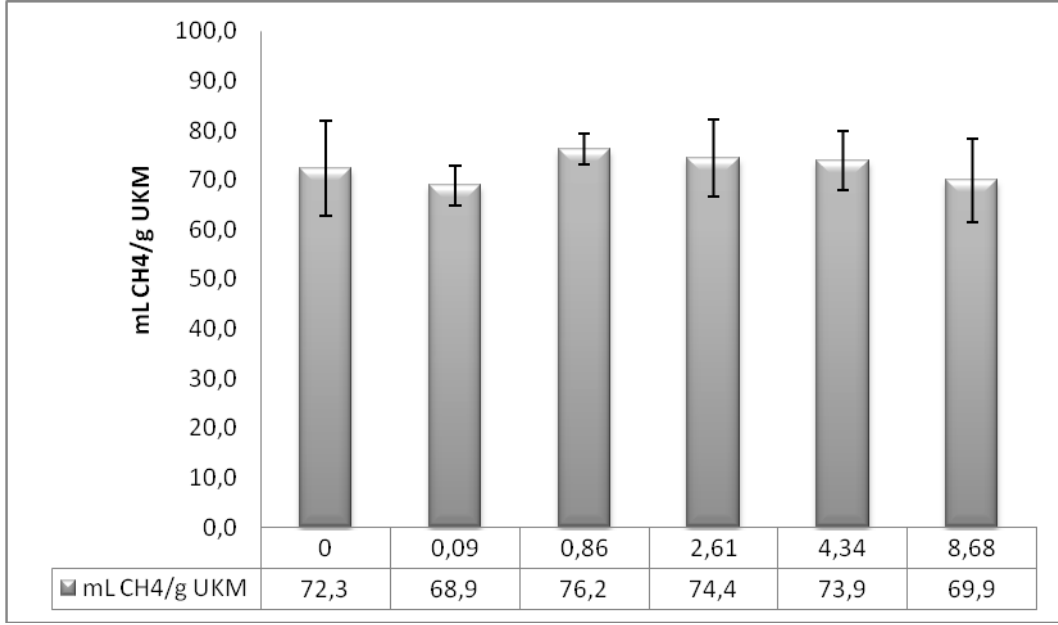
Arıtma çamurunda mevcut selüloz, hemiselüloz, lignin ve çözünür madde fraksiyon değerleri sırasıyla %0,76, %3,12, %2,48 ve %93,64 olarak ölçülmüştür. Mottet vd (2010) beş farklı atık aktif çamur numunesinin selüloz, hemiselüloz, lignin ve çözünür madde fraksiyon değerlerini sırasıyla %5-19, % 10-24, %5-15 ve %55-73 aralıklarında ölçmüştür. Lara İleri AAT arıtma çamuru selüloz, hemiselüloz, lignin ve çözünür madde fraksiyon değerleri Mottet vd (2010) tarafından ölçülen değerlerden düşük olmakla birlikte benzer bir dağılım göstermektedir.

Arıtma çamuru C, H, N ve S değerleri sırasıyla %32,59, %5,29, %5,31 ve %0,72 bulunmuştur. Heo vd. (2003) ve Kim vd (2003) arıtma çamurunda C, H, N ve S değerlerini sırasıyla %38,75, %5,39, %6,69, %0,96 ve %24,4, %3,4, %3,9, % 0,7 tespit etmişlerdir. Lara İleri AAT arıtma çamuru numunesi elementel analiz sonuçları Heo vd (2003) tarafından bulunan sonuçlar ile uyum içerisindedir.

4.2. Nanopartiküllerin Arıtma Çamurlarının Biyokimyasal Metan Potansiyeline (BMP) Etkileri

Nanopartiküllerin arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine uzun dönemli etkilerinin tespit edilmesi amacıyla 5, 50, 150, 250 ve 500 mgNP/gTKM konsantrasyonlarında Ag, Al₂O₃, Fe₂O₃, CuO ve CeO₂ nanopartikülleri kullanılarak arıtma çamurlarına BMP testi uygulanmıştır. BMP testi her numune için üç tekrarlı çalışılmış ve test 48 gün sonunda bitirilmiştir. Numunelere ait BMP değerleri hesaplanırken aşının ürettiği metan miktarı numuneler tarafından üretilen metan miktarından çıkartılarak normalize edilmiş ve numunelerin BMP sonuçları mLCH₄/gUKM cinsinden sunulmuştur. 48 gün sonunda aşı çamurun ürettiği ortalama kümülatif metan miktarı 31,26 mLCH₄/gUKM olarak ölçülmüştür.

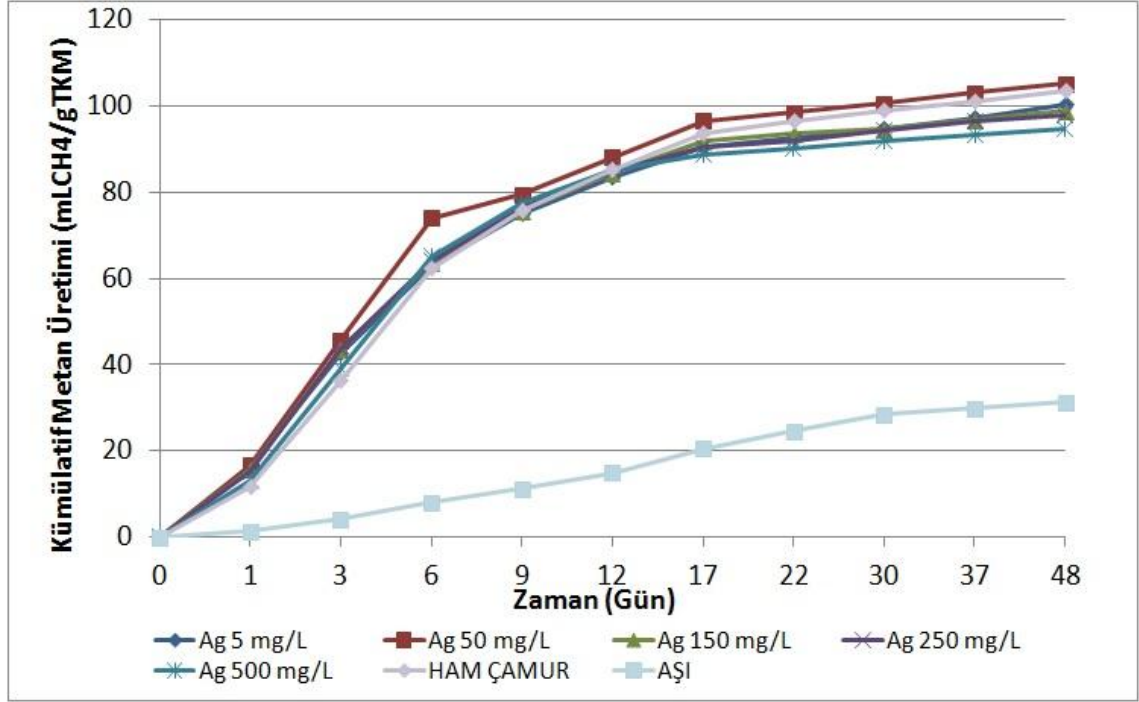
NP stok süspansiyonlarına NP agregasyonuna engel olması için agregasyon önleyici Sodium Dodecylbenzene Sulfonate (SDBS) ilave edilmiştir. SDBS, NP stok süspansiyonlarına, süspansiyon içindeki nihai konsantrasyonu 0,1 mM olacak şekilde eklenmiştir. Eklenen SDBS'nin metan üretimi üzerindeki etkisini tespit etmek amacı ile NP süspansiyonları ile birlikte BMP reaktörlerine eklenen SDBS miktarına eşit olan 0,09, 0,86, 2,61, 4,34 ve 8,68 mgSDBS/gTKM konsantrasyonlarında SDBS kontrol numuneleri hazırlanmış ve 48 gün metan üretimleri ölçülmüştür. SDBS kontrol numunelerine NP eklenmemiş ve yalnızca SDBS'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanabilirliği üzerindeki etkileri tespit edilmiştir. Şekil 4.1'de 0,09, 0,86, 2,61, 4,34 ve 8,68 mgSDBS/gTKM konsantrasyonlarında SDBS içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları verilmiştir. Şekil 4.1'den de görüleceği üzere 0,09, 0,86, 2,61, 4,34 ve 8,68 mgSDBS/gTKM konsantrasyonlarında SDBS içeren arıtma çamurunun ortalama kümülatif BMP değerleri 70-76 mLCH₄/gUKM aralığında değişmiştir. Elde edilen düşük standart sapma değeri (2.78 mLCH₄/gUKM) SDBS'nin metan üretimi üzerinde etkisi olmadığını ortaya koymaktadır.



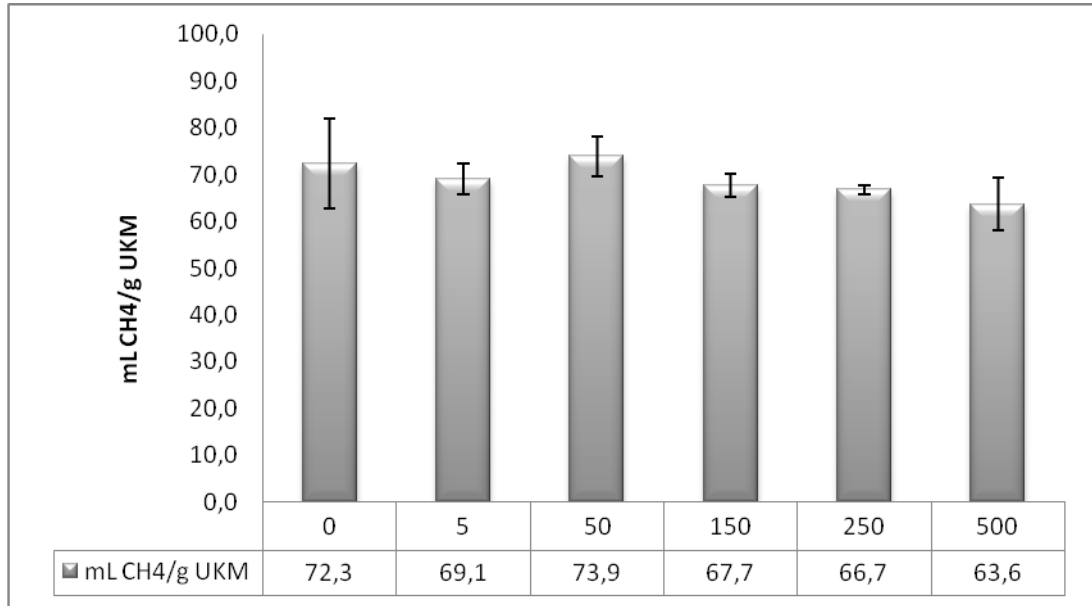
Şekil 4.1. 0,09, 0,86, 2,61, 4,34 ve 8,68 mgSDBS/gTKM konsantrasyonlarında SDBS içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları

4.2.1. Gümüş nanopartikülü (Ag NP) BMP sonuçları

Ag nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonuna (5, 50, 150, 250, 500 mg Ag NP/gTKM) maruz bırakılan arıtma çamuru, Ag NP içermeyen ham arıtma çamuru ve yalnızca aşı çamurdan üretilen metan miktarının zamanla değişimi Şekil 4.2’de verilmiştir. Ag nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonuna maruz bırakılan arıtma çamurları ve Ag NP içermeyen ham arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları ise Şekil 4.3’te sunulmuştur. Şekil 4.3’ten görüleceği üzere, Ag NP ile muamele edilmemiş atık arıtma çamurundan elde edilen metan miktarı 72,3 mLCH₄/gUKM olarak ölçülmüştür. Kontrol numunesi olan ham arıtma (Ag NP ile muamele edilmemiş) çamuruna göre metan üretim miktarında %5’ten fazla inhibisyona sebep olan dozlar 150, 250 ve 500 mgAg/gTKM konsantrasyonlarıdır. Bu konsantrasyonlarda metan gazı üretiminde sırası ile %6,5, %7,8 ve % 12,1 azalma gözlenmiştir. Şekil 4.3’ten görüleceği üzere 5 ve 50 mgAg/gTKM konsantrasyonlarından elde edilen metan miktarlarında kontrol numunesine göre belirgin farklar gözlenmemiştir. Ag NP ile yapılan BMP testinde uygulanan konsantrasyonlar arasındaki metan üretim farkları Şekil 4.2’den görülebileceği gibi 17. günden itibaren gözlenmeye başlamıştır.



Şekil 4.2. Ag NP farklı konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg Ag/g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi



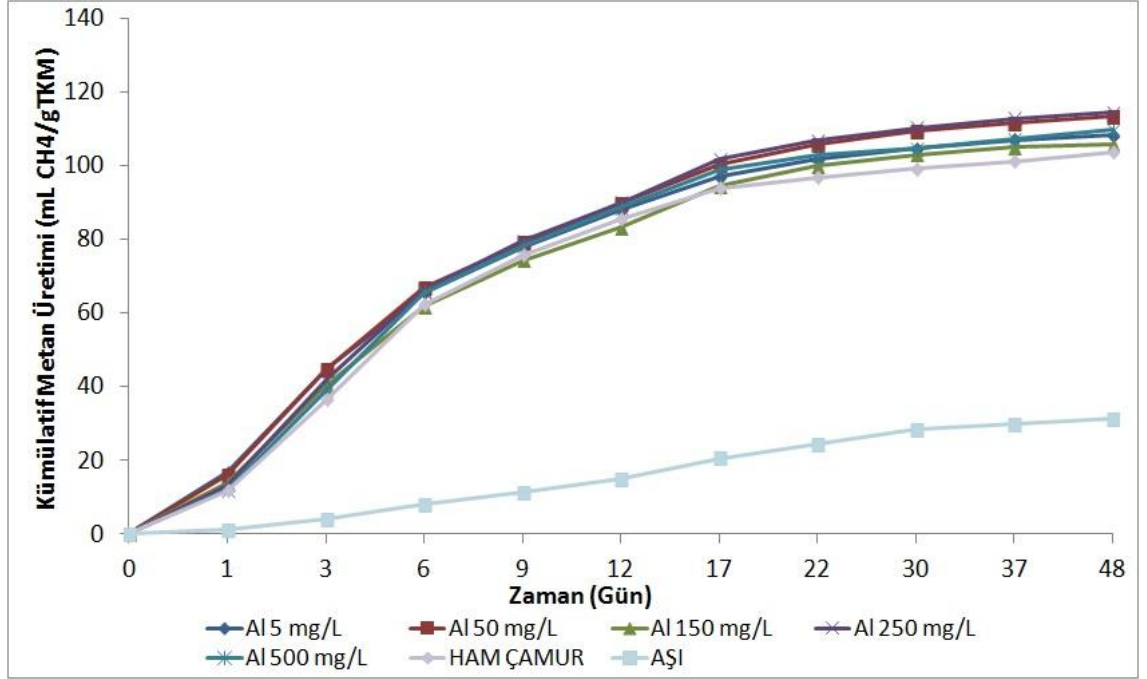
Şekil 4.3. Ag NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg Ag/g TKM konsantrasyonlarında Ag NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları

Literatürde, nanopartiküllerin anaerobik parçalanma prosesi üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalar çok sınırlıdır. Buna rağmen, az sayıdaki çalışmalar içinde etkileri en çok incelenen nanopartikül Ag'dir. Literatürde yapılan çalışmalarda, Ag nanopartikülünün yalnızca düşük dozlarının anaerobik parçalanma üzerinde etkileri

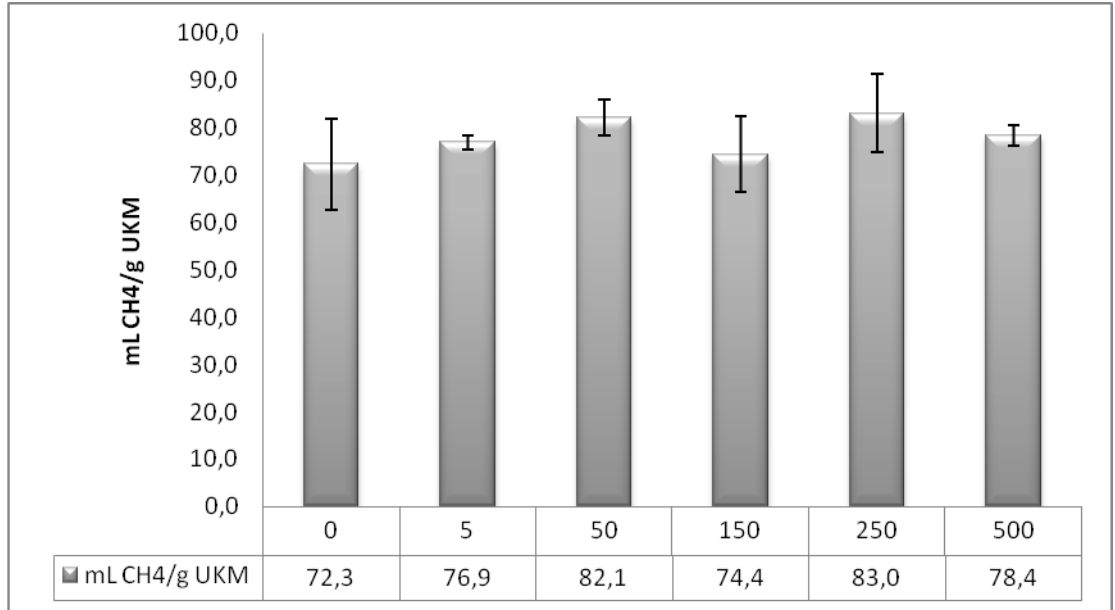
incelenmiştir. Barrena vd (2009) tarafından yapılan çalışmada substrat olarak selüloz kullanılmış ve 16 mg Ag NP/L konsantrasyonun anaerobik parçalanma sonucu üretilen toplam biyogaz miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. 15 gün sürdürülen ölçüm sonucunda 16 mg Ag NP/L konsantrasyonunda Ag nanopartikülünün toplam biyogaz üretimine bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Yang vd (2012) tarafından yapılan çalışmada Ag nanopartikülünün, 10, 20 ve 40 mgAg/L konsantrasyonlarının anaerobik parçalanma üzerine etkileri incelenmiştir. 14 gün sürdürülen ve substrat olarak arıtma çamuru kullanılan metan üretim miktarı ölçümü sonunda Ag nanopartikülünün metan üretim miktarını etkilemediği gözlenmiştir. Garcia vd (2012) tarafından yürütülen çalışmada en yüksek doz kullanmış ve 100 mgAg/L konsantrasyonun biyogaz üretimine etkileri 50 gün süresince ölçülmüştür. Elde edilen sonuç Ag NP'nin biyogaz üretimine etkisi olmadığı yönündedir. Aynı çalışmada Ag NP'lerin, aerobik heterotrofik organizmaların oksijen tüketim hızları üzerinde ise %33 inhibisyona sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu tez kapsamında kullanılan Ag NP konsantrasyonları ile yapılan BMP testi sonuçları literatürde incelenmemiş dozları içermektedir. Yapılan ölçümler sonucunda düşük dozlar için literatür ile benzer sonuçlar elde edilmiş olmakla birlikte, literatürde 150, 250 ve 500 mgAg/gTKM konsantrasyonları için yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında kötü senaryo koşullarının oluşabileceği düşünülerek kullanılan yüksek Ag NP konsantrasyonları için metan üretim miktarlarında %10'un üzerinde bir inhibisyon gözlenmiştir. Bilinen antibakteriyel özellikleri nedeniyle endüstriyel ürünlerde yoğun olarak kullanılan Ag NP'lerin anaerobik mikroorganizmalar üzerinde bu çalışmada tespit edilen inhibisyon etkilerinin yanı sıra virüslere, prokaryotlara ve memeli hücrelerine de toksik etkileri olduğu bilinmektedir (Braydich-Stolle vd 2005, Hussain vd 2005, Barrena vd 2009). Ag NP'lerin hücre zarının parçalanması, enzim inaktivasyonuna sebep olan Ag iyonunun salınımı ya da protein defosforilasyonu yoluyla antibakteriyel etkileri yarattığı düşünülmektedir (Prabhu ve Poulouse 2012).

4.2.2. Alüminyum oksit nanopartikülü (Al₂O₃ NP) BMP sonuçları

Al₂O₃ nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonuna (5, 50, 150, 250 ve 500 mgAl₂O₃/gTKM) maruz bırakılan arıtma çamuru, Al₂O₃ NP içermeyen arıtma çamuru ve yalnızca aşı çamurdan üretilen metan miktarının zamanla değişimi Şekil 4.4'te verilmiştir. Al₂O₃ nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonuna maruz bırakılan arıtma çamurları ve Al₂O₃ NP içermeyen ham arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları ise Şekil 4.5'te sunulmuştur. Şekil 4.5'ten görüleceği üzere, Al₂O₃ NP ile muamele edilmemiş arıtma çamurundan elde edilen kümülatif metan miktarı 72,34 mLCH₄/gUKM olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.4. Al₂O₃ NP farklı konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg Al₂O₃/g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi



Şekil 4.5. Al₂O₃ NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg Al₂O₃/g TKM konsantrasyonlarında Al₂O₃ NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları

48 gün sürdürülen BMP testinde metan üretimi açısından Al₂O₃ NP'den kaynaklanan inhibisyon etkisi tespit edilmemiştir. İnhibisyon etkisinin aksine, Al₂O₃ NP'nin 50, 250 ve 500 mg Al₂O₃/g TKM konsantrasyonlarında metan gazı üretimi sırası ile %13,5, %14,8 ve %8,4 artmıştır. Al₂O₃ NP içeren numunelerin metan üretimleri

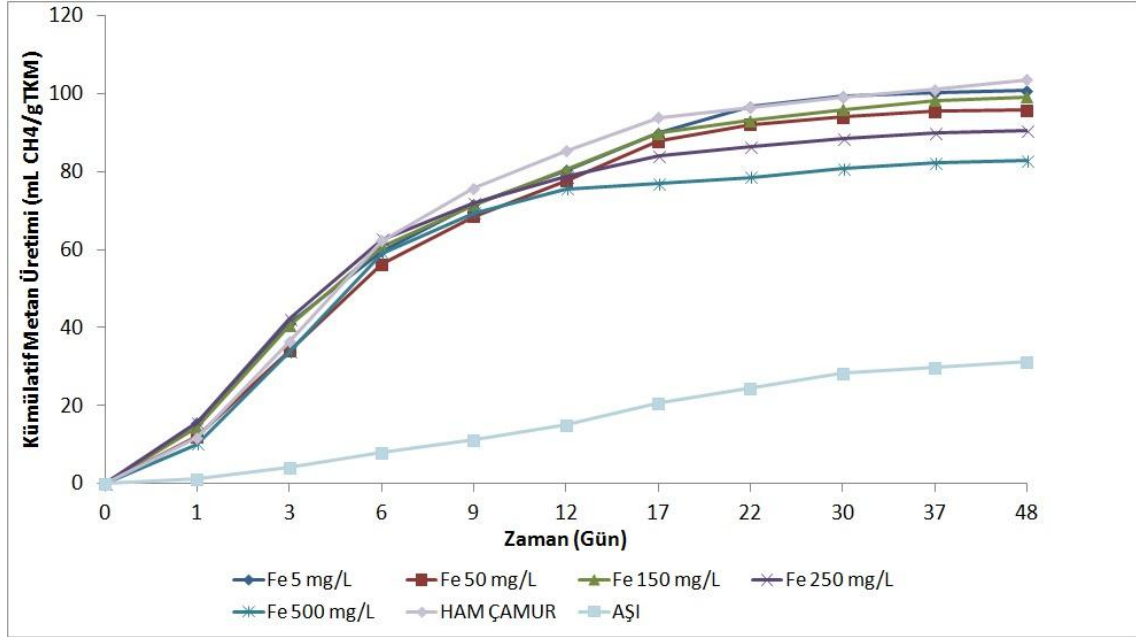
arasındaki fark Şekil 4.4'ten görülebileceği gibi 17. günden itibaren ortaya çıkmıştır. Jiang vd (2009) tarafından yapılan bir çalışmada Al_2O_3 nanopartikülünün 20 mg/L konsantrasyonda, aerobik *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas fluorescens* mikroorganizmalarının sırası ile %57, %36 ve %70 oranlarında ölümüne neden olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen bu olumsuz etkinin nanopartiküllerin reaktif oksijen türleri üretilmesine neden olmasından kaynaklanabileceği yorumu yapılmıştır. Yapılan literatür taraması sonucunda Al_2O_3 NP'nin anaerobik parçalanma prosesine etkilerinin incelendiği tek bir çalışmaya rastlanmıştır. Mu vd (2011) tarafından yapılan çalışmada 6, 30 ve 150 mg Al_2O_3 /gTKM konsantrasyonlarında Al_2O_3 nanopartikülünün arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine etkileri 18 gün süre ile metan gazı ölçümü yapılarak izlenmiş ve Al_2O_3 nanopartikülünün çalışılan konsantrasyonlarda metan üretimi üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bu tez kapsamında kullanılan Al_2O_3 NP konsantrasyonları ile yapılan BMP testi sonuçları literatürde Mu vd (2011) tarafından incelenen dozları ve ayrıca 250 ve 500 mgAg/gTKM konsantrasyonlarını da içermektedir. Bütün konsantrasyonlar için uzun süreli BMP testinde herhangi bir inhibisyon gözlenmemiş olması anaerobik aşı çamurunun Al_2O_3 NP'den etkilenmediğini, aksine BMP miktarında gözlenen artışın NP ile sağlanan yüksek yüzey alanının mikrobiyal grup için aktivitenin artması ile ortaya çıktığı görüşünü ortaya çıkartmıştır.

4.2.3. Demir (II) oksit nanopartikülü (Fe_2O_3 NP) BMP sonuçları

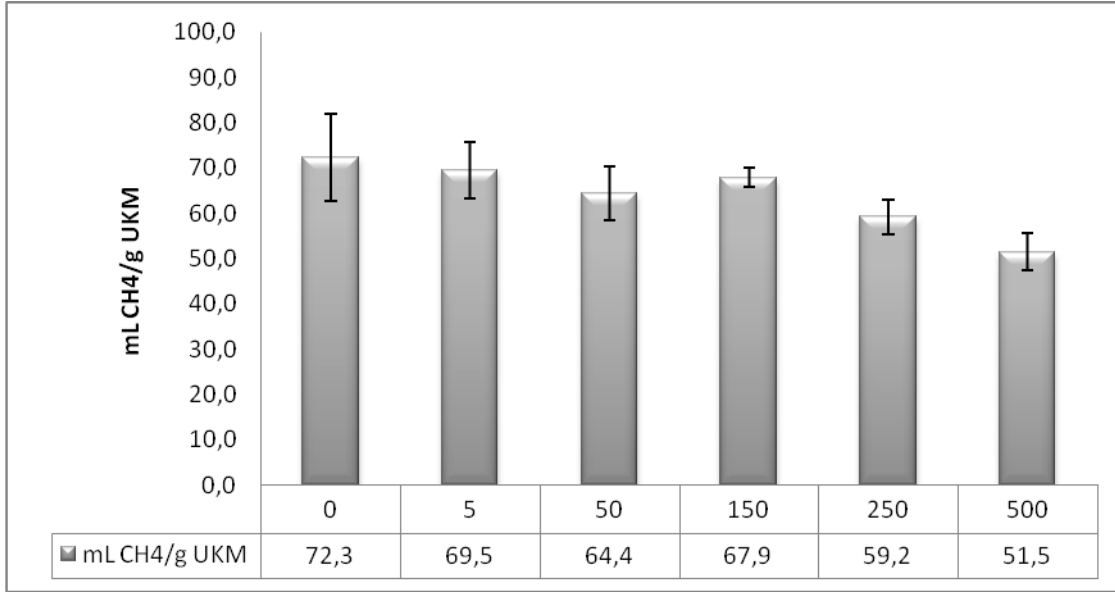
Anaerobik koşullarda, Fe_2O_3 nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonuna (5, 50, 150, 250 ve 500 mg Fe_2O_3 /gTKM) maruz bırakılan arıtma çamuru, Fe_2O_3 NP içermeyen arıtma çamuru ve yalnızca aşı çamurdan üretilen metan miktarının zamanla değişimi Şekil 4.6'da verilmiştir. Fe_2O_3 nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonuna maruz bırakılan arıtma çamurları ve Fe_2O_3 NP içermeyen ham arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları ise Şekil 4.7'de sunulmuştur. Şekil 4.7'den görüleceği üzere, Fe_2O_3 NP ile muamele edilmemiş atık arıtma çamurundan elde edilen metan miktarı 72,34 mL CH_4 /gUKM'dir. 48 gün sürdürülen BMP testlerinde farklı konsantrasyonlarda Fe_2O_3 NP'ye maruz bırakılan arıtma çamuru numunelerinin metan üretim miktarları arasındaki farklar Şekil 4.6'dan görülebileceği üzere 12. günden itibaren gözlenmeye başlamıştır. Elde edilen kümülatif metan miktarlarına göre Fe_2O_3 nanopartikülü, NP içermeyen kontrol grubuna kıyasla metan üretimi üzerinde olumsuz bir etki meydana getirmiştir. 5, 50, 150, 250 ve 500 mg Fe_2O_3 /gTKM konsantrasyonlarının arıtma çamurunun metan üretimi üzerine inhibisyon etkisi normalize edilmiş kümülatif metan miktarları dikkate alınarak hesaplanmış ve inhibisyon değerleri sırası ile %4, %10,9, %6,1, %18,2 ve %28,9 olarak tespit edilmiştir.

Fermentatif bir ökaryot olan *Saccharomyces cerevisiae* üzerine demir oksit NP'nin etkilerinin pH'nın 4 ve 10 olduğu iki deney ortamında incelendiği bir çalışmada pH 4 iken 120 mg/L demir oksit konsantrasyonunda mikroorganizmaların %25±10 oranında inhibe olduğu, pH 10'da ise 109 mg/L NP konsantrasyonunda %90 oranında inhibisyonun gerçekleştiği tespit edilmiştir. Farklı pH değerlerinde inhibisyonun farklı konsantrasyonlarda gerçekleşmesinin nedeni çalışmada açıklanmamıştır (Schwegmann vd 2010). Yapılan literatür taramasında Fe_2O_3 nanopartikülünün anaerobik parçalanma prosesine etkilerinin araştırıldığı tek bir çalışmaya rastlanabilmiştir. Barrera vd (2009) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada Fe_2O_3 NP 18 mg/L konsantrasyonunda

kullanılmış ve anaerobik ortamda NP içermeyen kontrol numunesine karşılık biyogaz üretim miktarındaki değişim araştırılmıştır. 15 gün sürdürülen biyogaz üretim miktarı ölçümü sonunda Fe₂O₃ nanopartikülünün biyogaz üretimine etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Barrena vd (2009) tarafından yapılan çalışmada kullanılan konsantrasyon, bu tez kapsamında kullanılan konsantrasyonlara kıyasla daha düşük değerdedir. Bu tez çalışması kapsamında daha yüksek Fe₂O₃ NP konsantrasyonları ve daha uzun ölçüm süresi için elde edilen sonuçlar Fe₂O₃ nanopartikülünün 500 mgFe₂O₃/gTKM konsantrasyonunda arıtma çamurundan elde edilen metan miktarını yaklaşık %30 oranında inhibe ettiğini göstermiştir.



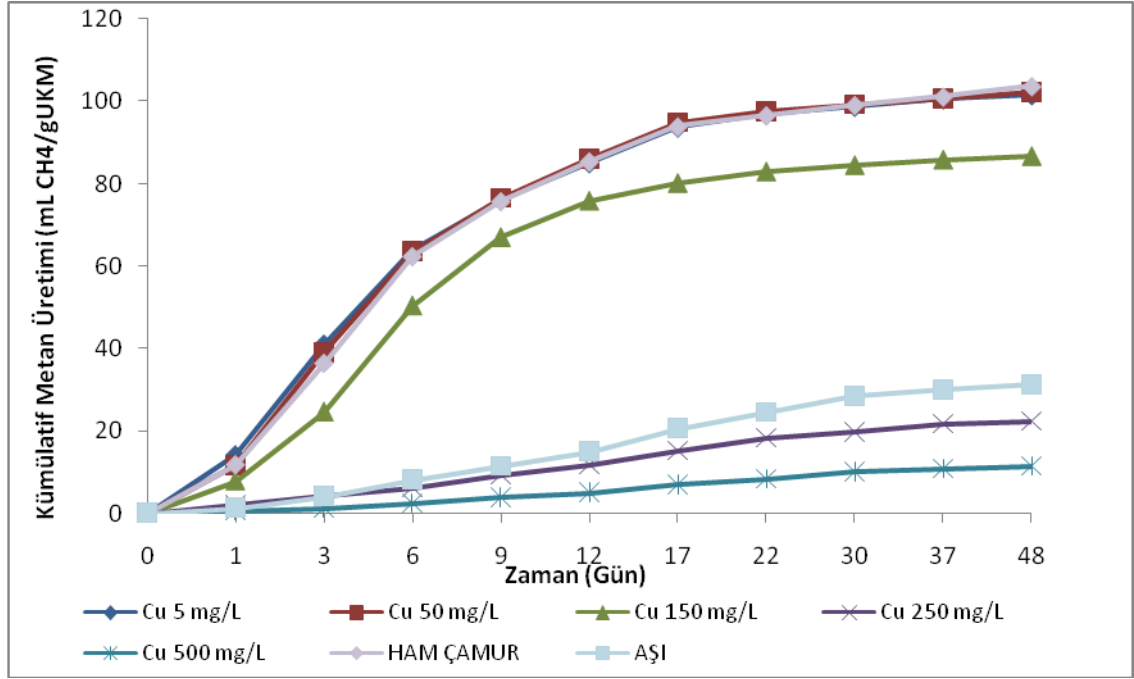
Şekil 4.6. Fe₂O₃ NP farklı konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg Fe₂O₃/g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi



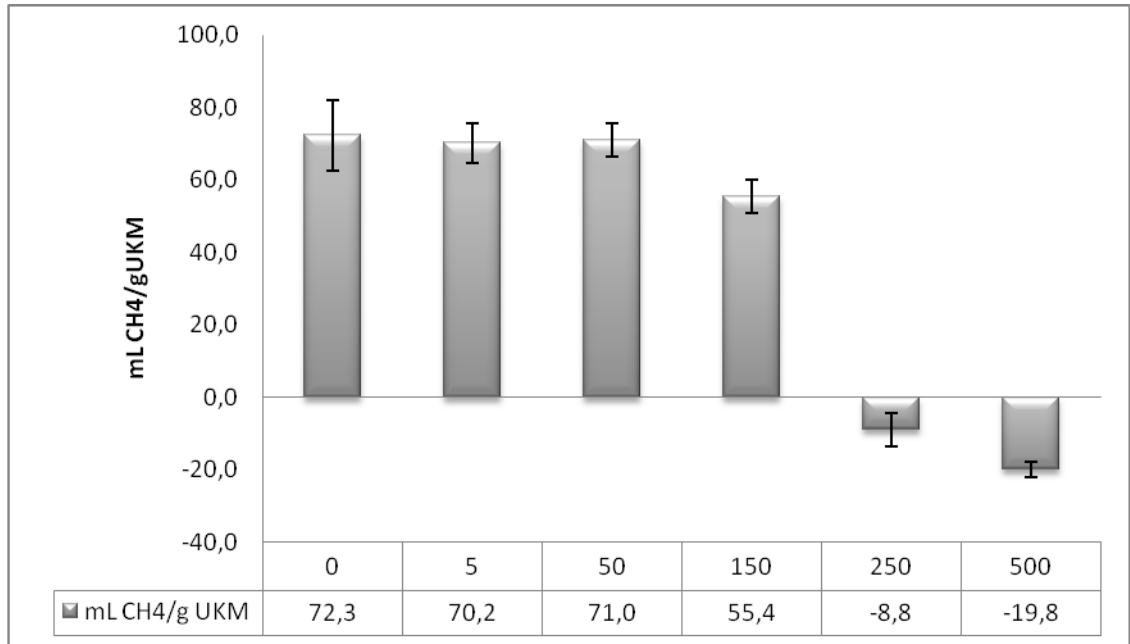
Şekil 4.7. Fe₂O₃ NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg Fe₂O₃/g TKM konsantrasyonlarında Fe₂O₃ NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları

4.2.4. Bakır (II) oksit nanopartikülü (CuO NP) BMP sonuçları

CuO nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonu (5, 50, 150, 250 ve 500 mg Fe₂O₃/gTKM) ile muamele edilen arıtma çamuru, CuO NP ile muamele edilmemiş ham arıtma çamuru ve yalnızca aşı çamurdan üretilen metan miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.8’de verilmiştir. CuO nanopartikülünün 5 farklı konsantrasyonuna maruz bırakılan arıtma çamurları ve CuO NP ile muamele edilmeyen arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları ise Şekil 4.9.’da sunulmuştur. Şekil 4.9’dan görülebileceği gibi CuO NP 150 mgCuO/gTKM konsantrasyonundan itibaren arıtma çamurundan metan üretim prosesini inhibe etmiş, 250 ve 500 mgCuO/gTKM konsantrasyonlarında ise aşı çamurdan elde edilen metan miktarından daha düşük metan üretimi gerçekleşmiştir. 250 ve 500 mgCuO/gTKM konsantrasyonlarındaki kümülatif metan miktarının aşı çamurdan daha az olduğu için ve aşı düzeltmesi yapılarak normalize edilmesiyle Şekil 4.9’daki bar diyagramı negatif eksene düşmüştür. Bu tez kapsamında incelenen nanopartiküllerden arıtma çamurlarının anaerobik parçalanması prosesine en toksik etkinin CuO nanopartikülünden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Bakır tuzları uzun yıllardan beri dezenfektan madde olarak kullanılmakta olup çeşitli ekosistemler için son derece toksik olduğu bilinmektedir (Baek ve An 2011). Baek ve An (2011), 3 adet model aerobik mikroorganizmanın 28,6 - 65,9 mg CuO NP /L konsantrasyonlarında %50 oranında inhibe olduğunu tespit etmişlerdir. CuO NP’ünün toksik etkisi bakırın ağır metal özelliği ile ilişkilendirilmiştir. Literatürde, CuO NP’nin anaerobik prosese olabilecek inhibisyon etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya ve sonuçların karşılaştırılabileceği bir veriye rastlanmamış olmakla birlikte, Cu’ın dezenfeksiyonda kullanılan bir ajan olması ve benzer inhibisyon etki mekanizmasını anaerobik arkeler üzerinde de yarattığı düşünülmektedir.



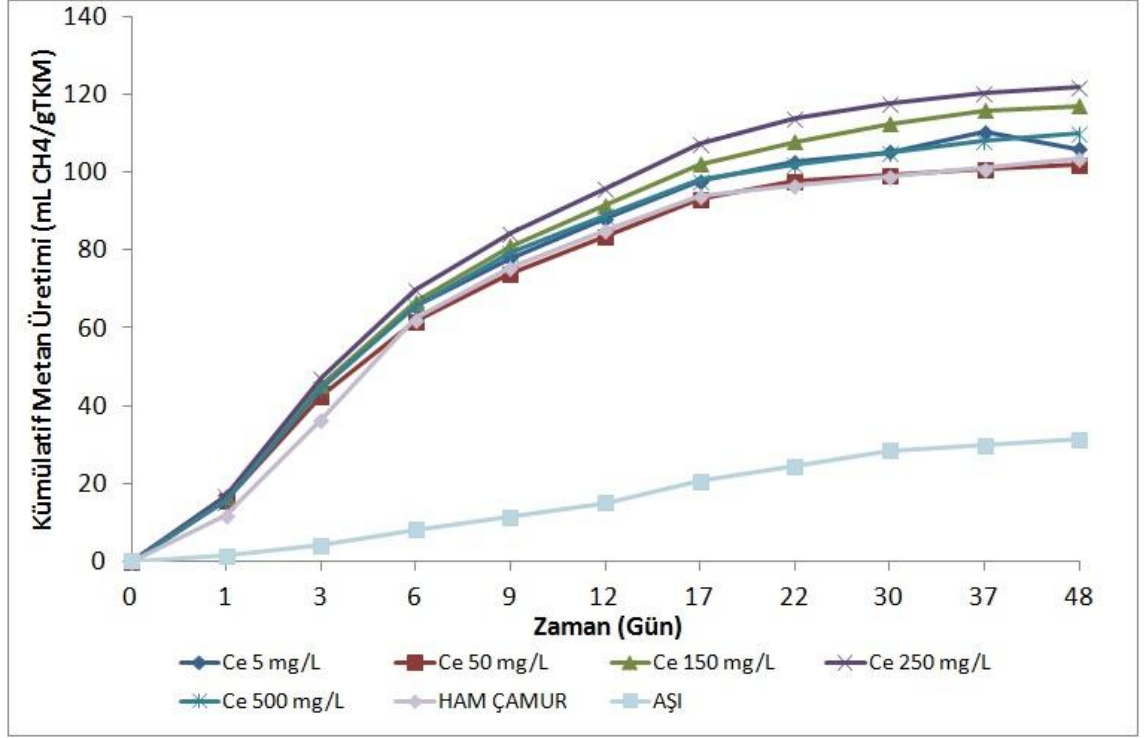
Şekil 4.8. CuO NP konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg CuO/g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi



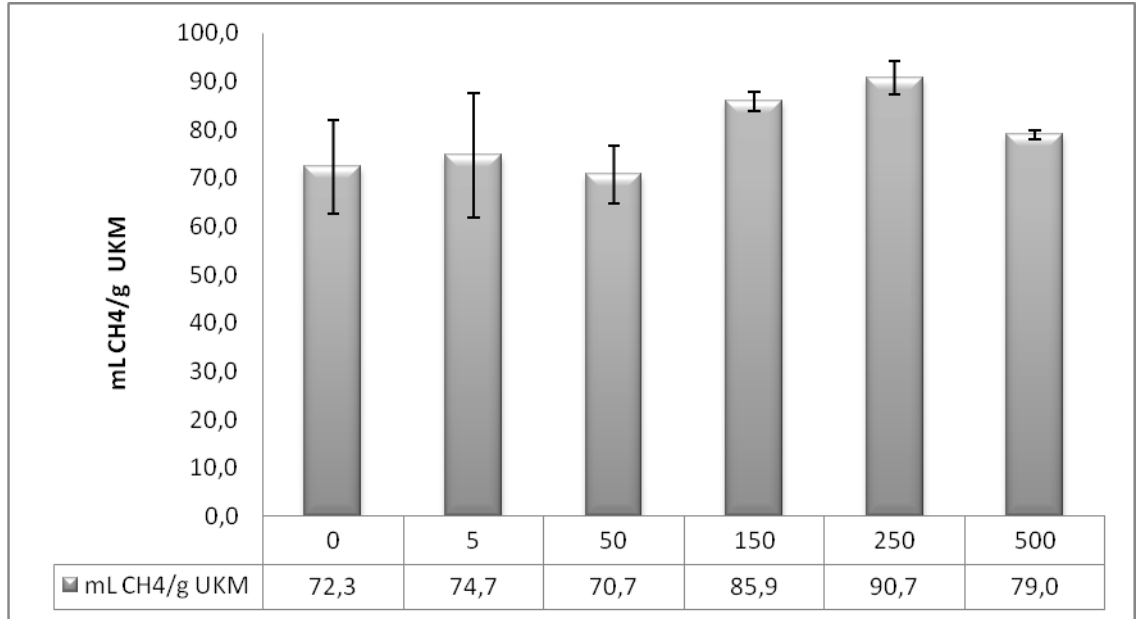
Şekil 4.9. CuO NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg CuO/g TKM konsantrasyonlarında CuO NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları

4.2.5. Seryum (IV) oksit nanopartikülü (CeO₂ NP) BMP sonuçları

CeO₂ nanopartikülünün arıtma çamurlarının metan üretim potansiyeline etkilerinin tespit edilebilmesi için arıtma çamurlarına 5, 50, 150, 250 ve 500 mgCeO₂/gTKM konsantrasyonlarında CeO₂ NP eklenmiş ve 48 gün süresince üretilen metan miktarları tespit edilmiştir. Elde edilen kümülatif metan üretim miktarları Şekil 4.10'da verilmiştir. CeO₂ ile muamele edilen ve CeO₂ NP ile muamele edilmeyen ham arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları ise Şekil 4.11'de sunulmuştur. Şekil 4.11'den de görülebileceği üzere CeO₂ nanopartikülünün arıtma çamurunun metan üretim potansiyelini arttırıcı etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. 150, 250 ve 500 mgCeO₂/gTKM konsantrasyonlarında CeO₂ nanopartikülü, arıtma çamurunun metan üretimini sırasıyla %18,8, %25,5 ve %9,2 oranında zenginleştirmiştir. Garcia vd (2012), substrat olarak selülozun kullanıldığı anaerobik parçalanma prosesine CeO₂ nanopartiküllerinin etkisini biyogaz üretim miktarı açısından incelemiştir. Çalışmanın ilk aşamasında, yalnızca, 640 mgCeO₂/L konsantrasyonunun biyogaz üretim miktarına etkilerinin ölçüldüğü test 50 gün sürdürülmüştür. Yapılan bu ölçüm sonucunda 640 mgCeO₂/L konsantrasyonunun, NP içermeyen kontrol numunesine oranla toplam biyogaz üretimini %90 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonucun ardından CeO₂ nanopartikülünün EC₅₀ konsantrasyonunu tespit etmek amacı ile aynı nanopartikülün daha seyreltik konsantrasyonları aynı test ortamına uygulanmış ve elde edilen sonuçlara göre CeO₂ nanopartikülünün 160 mg/L konsantrasyonunun altındaki değerlerde toplam biyogaz üretimine etkisi olmadığı gözlenmiştir. CeO₂ nanopartikülü için biyogaz üretimini %50 inhibe eden konsantrasyon (EC₅₀) 260 mg/L olarak hesaplanmıştır. CeO₂ NP'nin sentez prosesi aşamasında kristal yapısına oksijeni alması ve çevresel koşullara bağlı olarak yapısındaki oksijeni tutma ya da salma kapasitesi nedeniyle endüstriyel uygulamalarda CeO₂ NP tercih edilmektedir. Bu özelliğin mikrobiyolojik popülasyonun respirasyon mekanizmasını bozabileceği ve gözlenen inhibisyona neden olabileceği yorumu yapılmıştır. Elde edilen bu bulgu, bu tez kapsamında yapılan ölçümler doğrultusunda elde edilen sonuçtan farklı bir bilgi ortaya koymaktadır. Yapılan literatür taraması sonucu CeO₂ nanopartikülünün anaerobik parçalanma üzerindeki etkilerini araştıran ve bu tez kapsamında elde edilen sonucun karşılaştırılabileceği başka bir çalışma bulunamamıştır.



Şekil 4.10. CeO₂ NP konsantrasyonlarının (5, 50, 150, 250, 500 mg CeO₂/g TKM) arıtma çamurunun metan üretimi üzerine etkilerinin zamanla değişimi



Şekil 4.11. CeO₂ NP içermeyen ve 5, 50, 150, 250, 500 mg CeO₂/g TKM konsantrasyonlarında CeO₂ NP içeren arıtma çamuru numunelerinin normalize edilmiş ortalama kümülatif metan miktarları

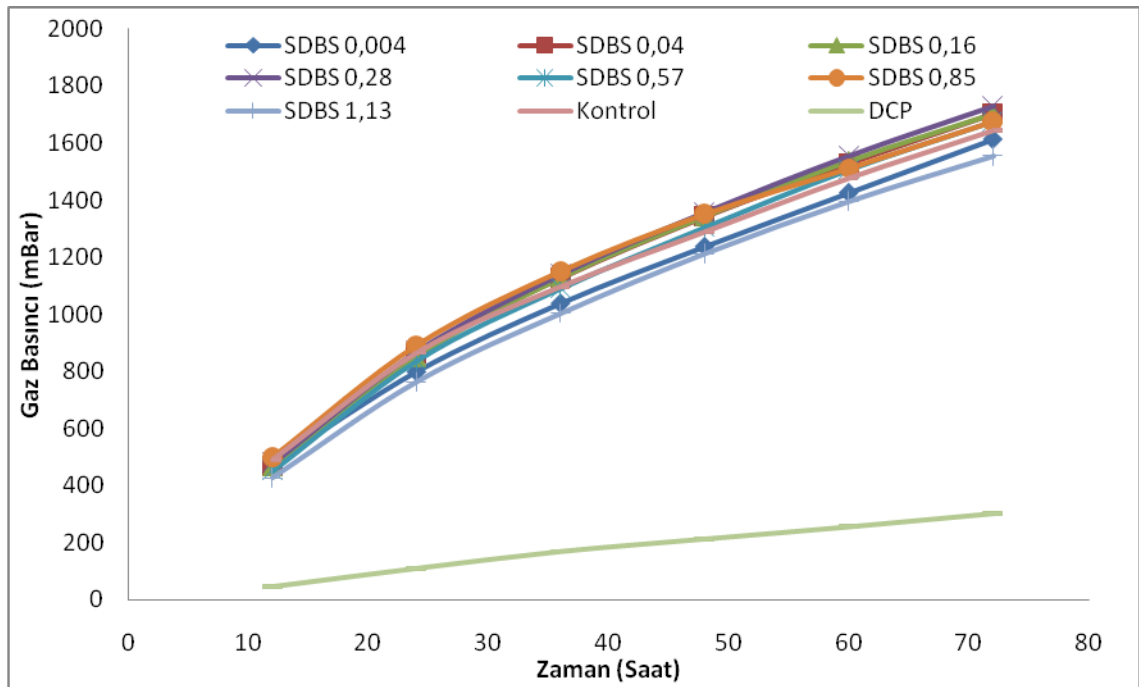
4.3. Arıtma Çamurlarının Anaerobik Parçalanma Prosesine Nanopartiküllerin İnhibisyon Etkilerinin Tespit Edilmesi

Evsel arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine nanopartiküllerin kısa süreli (akut) inhibisyon etkilerinin tespit edilebilmesi amacı ile toplam gaz basıncı ölçümü prensibine dayanan anaerobik inhibisyon testi “ISO 13641-1 Su Kalitesi: Anaerobik Bakterilerin Gaz Üretimlerinin İnhibisyonunun Belirlenmesi” kullanılmıştır. Test 72 saat sürdürülmüş ve standartta belirtildiği gibi 12 saatte bir reaktörlerin içerisindeki gaz basıncı Digitron 2085p el tipi dijital manometre ile ölçülmüştür. Standartta, testin geçerliliğinin kontrol edilmesi amacı ile aşı çamurdan elde edilecek gaz üretiminin yaklaşık %50 oranında azalmasını sağlayacak inhibisyon koşullarının oluştuğunun gözlenmesi için bir referans reaktör tanımlanmıştır. Referans reaktörünün içeriği aşı çamur, substrat ve 150 mg/L nihai konsantrasyonda 3,5-diklorofenol (DCP) çözeltisinden oluşmaktadır. Referans reaktörünün içermesi gereken 3,5-diklorofenol çözeltisi, standartta verilen tanımlamaya uygun olarak, 250g/L konsantrasyonundaki NaOH çözeltisi içinde, nihai DCP konsantrasyonu 10g/L olacak şekilde çözdürülerek hazırlanmıştır.

Standartta, inhibisyon testinin doğruluğunun kontrol edilebilmesi için üç koşul belirtilmiştir. Bu koşullardan birincisi test sonunda tüm reaktörlerin pH değerlerinin 6,2 – 7,5 aralığında olmasıdır. İkinci koşul; DCP çözeltisi içeren reaktörlerde yalnızca aşı çamur ve substrat içeren kontrol reaktörlerine göre en az %20 oranında gaz üretim inhibisyonu gerçekleşmelidir. Son olarak üçüncü koşul ise kontrol reaktörlerinde ölçüm sonunda 50 mL biyogaz/gTKM toplam biyogazın ölçülmüş olmasıdır. 72 saat sonunda yapılan pH ölçümü tüm reaktörlerde pH koşulunun sağlandığını göstermiştir. İnhibisyon testi kapsamında kullanılan üç farklı aşı çamur için üç farklı referans reaktörü (DCP içeren) üç tekrarlı olarak hazırlanmıştır. Kontrol reaktörlerine karşılık, hazırlanan referans reaktörlerine ait gaz üretim inhibisyonları %79,2, %81,8 ve %81,3 (ortalama %80,8) ölçülmüştür. Bu değer, inhibisyon testinin doğruluğu ile ilgili ikinci koşulun da sağlandığını göstermektedir. Kullanılan üç farklı aşı çamur için yalnızca substrat ve aşı çamur içeren üç farklı kontrol reaktörü üç tekrarlı olarak kurulmuştur. Üçüncü koşulun kontrolü için kurulan reaktörlerde 72 saat sonunda gTKM başına üretilen gaz miktarı sırasıyla %79,8, %95,6 ve %86,4 bulunmuş ve ortalama %87,3 doğruluk ile bu koşul da sağlanmıştır.

Bu tez kapsamında uygulanan ISO 13641-1 anaerobik inhibisyon testinde Ag, Al₂O₃, Fe₂O₃, CuO ve CeO₂ nanopartiküllerinin 5, 50, 150, 250, 500, 750 ve 1000 mgNP/gTKM konsantrasyonlarının anaerobik parçalanma prosesinde üretilen biyogaz miktarı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yapılan ölçümlerin sonuçları standartta belirtildiği üzere % inhibisyon olarak ifade edilmiştir. Gaz basıncı ölçümleri sonucunda inhibisyon etkisine sebep olduğu tespit edilen nanopartiküller için EC₅₀ değeri hesaplamaları yapılmıştır. ISO 13641-1 anaerobik inhibisyon testi kapsamında kullanılan stok nanopartikül süspansiyonlarına nanopartiküllerin agraşe olmasını engellemek amacıyla süspansiyon içindeki nihai konsantrasyonu 0,1 mM olacak şekilde SDBS eklenmiştir. Eklenen SDBS'nin biyogaz üretimi üzerindeki etkisini tespit etmek amacıyla NP içeren reaktörlerdeki SDBS konsantrasyonuna eşit konsantrasyonda SDBS içeren ve NP içermeyen reaktörler kurulmuştur. Farklı konsantrasyonlarda SDBS (0,004, 0,04, 0,16, 0,28, 0,57, 0,85 ve 1,13 mgSDBS/gTKM) inhibisyonunun zamana

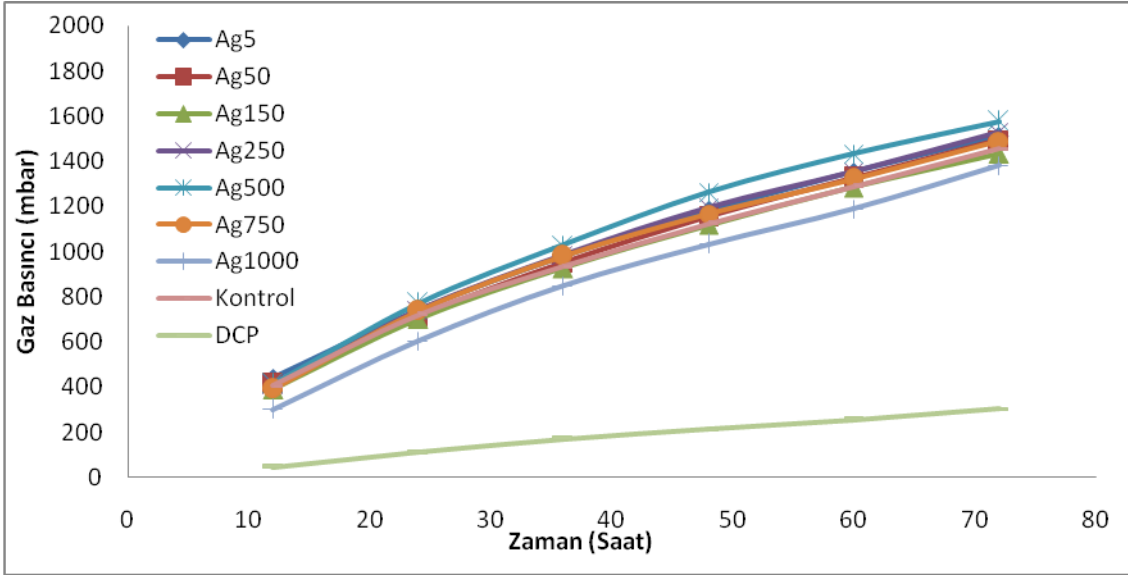
karşı değişimi Şekil 4.12’de verilmiştir. SDBS’nin tüm konsantrasyonlarında üretilen gaz miktarları ve kontrol grubu gaz üretim miktarları birbirine çok yakın değerlerde tespit edilmiştir. Standart sapma ve ortalama sapma sırasıyla 11,3 ve 8,3 mL olarak hesaplanmıştır. Bu nedenle 72 saat test süresinin sonunda elde edilen sonuçlara göre SDBS’nin biyogaz üretimi üzerinde bir etkisinin bulunmadığı ve inhibitör etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu veri, Mu vd (2011) tarafından sunulan SDBS’nin metan üretimi üzerinde etkisi olmadığı bilgisi ile tutarlılık göstermektedir. Literatürde nanopartiküllerin anaerobik parçalanma prosesine etkilerinin incelenmesinde ISO 13641 anaerobik inhibisyon testini kullanan yalnızca bir çalışmaya rastlanabilmiştir. Luna del-Risco vd (2011) tarafından yapılan çalışmada ZnO ve CuO NP ve makro partiküllerinin anaerobik prosten gaz üretimi üzerine etkilerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.



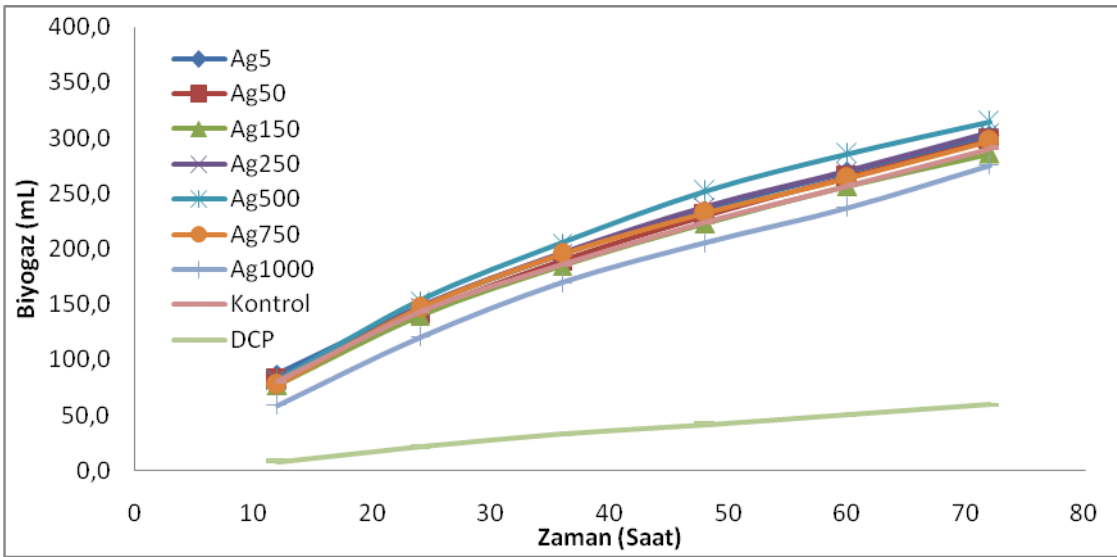
Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlarda SDBS inhibisyonunun zamana karşı değişimi

4.3.1. Gümüş nanopartikülün (Ag NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri

5, 50, 150, 250, 500, 750 ve 1000 mgAg/gTKM konsantrasyonlarında Ag NP içeren numunelerin, Ag NP içermeyen kontrol numunelerinin ve referans DCP reaktörlerinin 72 saat boyunca 12 saatte bir yapılan kümülatif ortalama gaz basıncı ölçümleri ve üretilen kümülatif ortalama gaz miktarları sırası ile Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de verilmiştir. Ölçülen gaz basıncını üretilen gaz miktarına çevirmek amacıyla el tipi manometrenin kalibrasyonu sırasında oluşturulan kalibrasyon eğrisinden elde edilen eşitlik kullanılmıştır. Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’den görülebileceği gibi reaktörlerden elde edilen gaz basıncı ve gaz miktarının gösterdiği eğilim aynıdır.



Şekil 4.13. Ag NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları



Şekil 4.14. Ag NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri

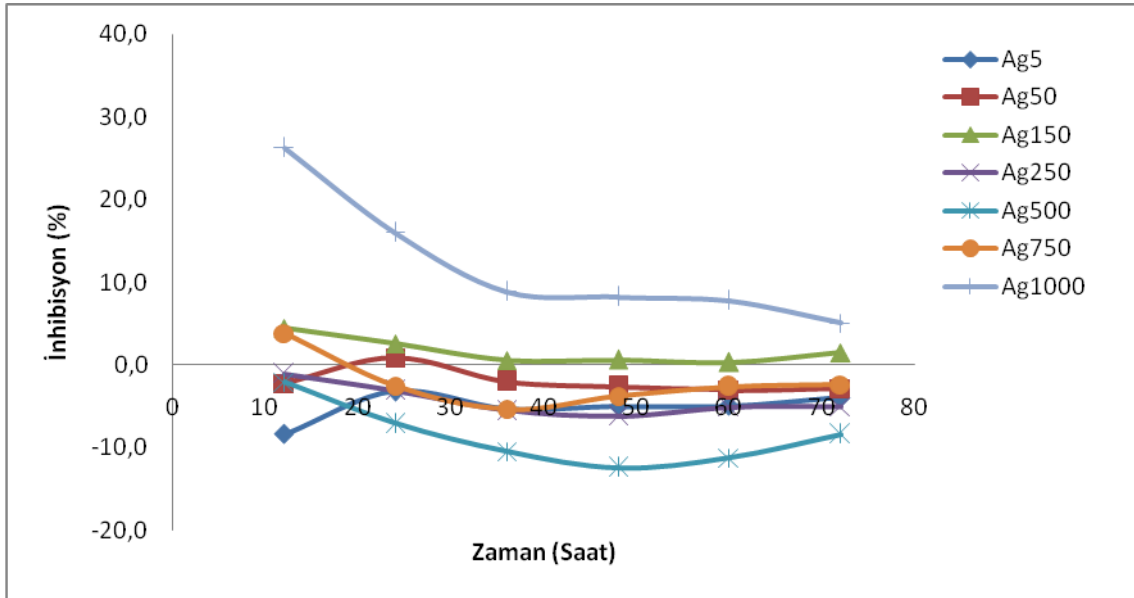
Anaerobik parçalanma prosesi üzerine özellikle yüksek konsantrasyonlarda uzun dönemli inhibisyon etkisi gözlenen Ag nanopartikülünün kontrol grubuna kıyasla biyogaz üretimi üzerine kısa dönemli akut bir inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. Şekil 4.14'den de görülebileceği gibi Ag NP içeren numunelerin, NP içermeyen kontrol reaktörüne göre gaz üretim miktarlarında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Ag NP'nin 1000 mg konsantrasyonu dışında tüm Ag NP konsantrasyonlarında üretilen gaz miktarları ve kontrol grubu gaz üretim miktarları birbirine çok yakın değerlerde tespit edilmiştir. Standart sapma ve ortalama sapma sırasıyla 12 ve 9,1 mL olarak hesaplanmıştır. Bu nedenle 72 saat test süresinin sonunda elde edilen sonuçlara göre Ag

NP 1000 mg/L konsantrasyonunun biyogaz üretimi üzerinde düşük düzeyde inhibitör etkisi olduğu Şekil 4.14'ten görülmektedir.

ISO 13641-1 testinde kullanılan her bir nanopartikül konsantrasyonunun sebep olduğu inhibisyon değeri standartta verildiği üzere yüzde (%) değer olarak aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$I = (1 - (P_t/P_c)) * 100 \quad (4.1)$$

Eşitlikte verilen; I yüzde inhibisyon, P_t inhibisyon değeri hesaplanan nanopartikül konsantrasyonunun seçilen ölçüm saatinde Pascal (Pa) cinsinden ölçülen biyogaz basıncı ve P_c ise aynı saatte kontrol reaktöründe Pascal (Pa) cinsinden ölçülen biyogaz basıncıdır. Şekil 4.15'te farklı konsantrasyonlarda Ag NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi verilmiştir.



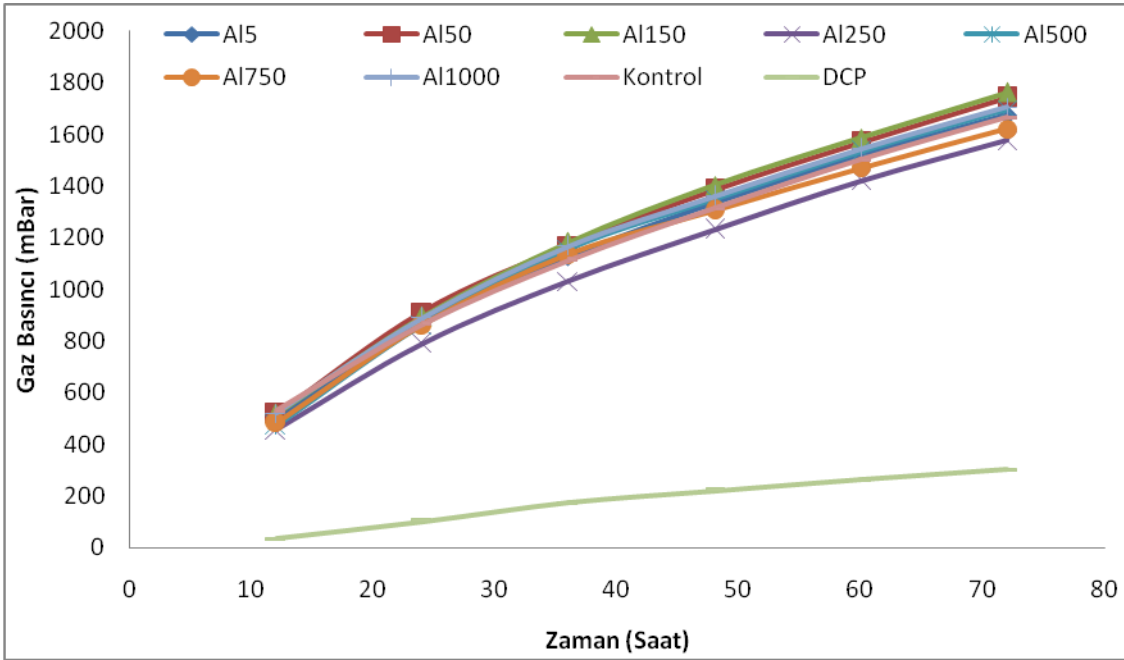
Şekil 4.15. Farklı konsantrasyonlarda Ag NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi

Şekil 4.15'ten görüleceği üzere Ag nanopartikülünün biyogaz üretimi üzerinde oldukça düşük oranda inhibisyon etkisi ile birlikte yine düşük miktarda olumlu etkisi de gözlenmiştir. Yapılan % inhibisyon hesapları tüm etkilerin %10'dan düşük olduğunu göstermektedir. % inhibisyon değeri standartta belirtildiği üzere ortalama kümülatif biyogaz basıncı üzerinden hesaplanmıştır. Yapılan bu hesaplamalar sonucunda 5, 50, 250, 500 ve 750 mgAg/gTKM konsantrasyonlarında Ag nanopartikülünün biyogaz basıncını sırası ile %4, %2,8, %5, %8,4 ve %2,4 oranında arttırdığı saptanmıştır. 150 ve 1000 mgAg/gTKM konsantrasyonlarında ise biyogaz basıncı sırası ile %1,5 ve %5,1 oranlarında azaltmıştır. Elde edilen bu sonuçlardan görüldüğü üzere Ag nanopartikülünün biyogaz üretimi üzerinde akut olarak kayda değer bir etkisi bulunmamaktadır. Farklı konsantrasyonlarda Ag NP'nin arıtma çamurunun anaerobik

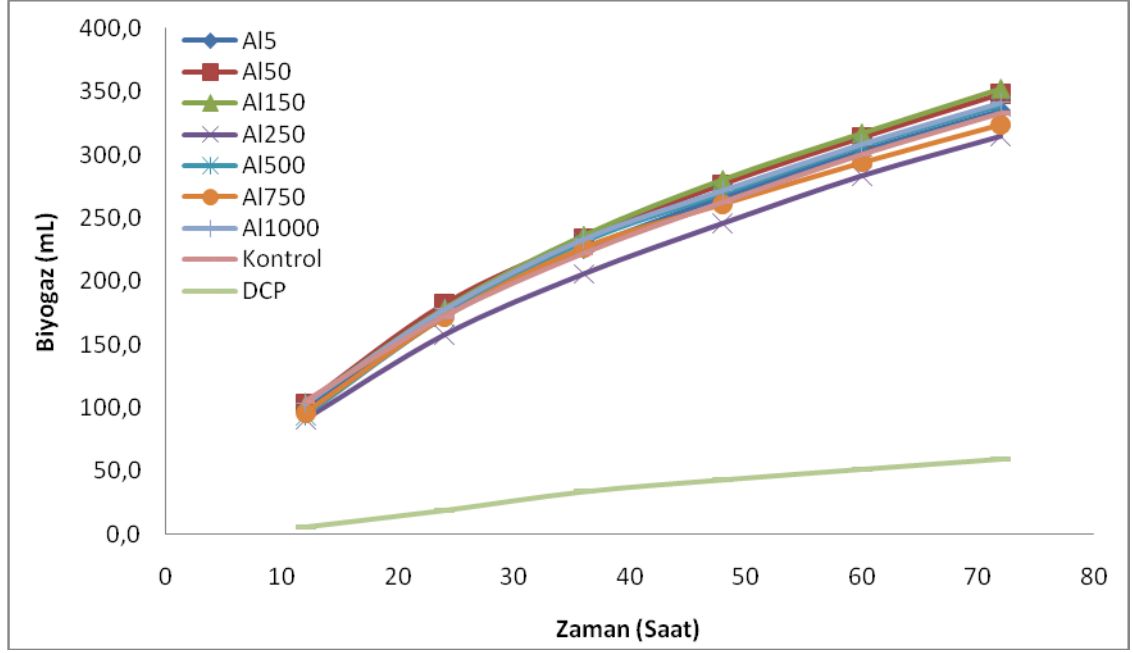
parçalanması üzerine akut inhibisyon etkilerinin incelendiği test sonucunda Ag NP'den kaynaklanan anlamlı inhibisyon etkisi tespit edilmemesi nedeniyle Ag NP için EC₅₀ değeri hesaplanması mümkün olmamıştır. Akut etkilerin gözlenebilmesi için yürütülen bu çalışma ile BMP testinden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında Ag nanopartikülünün biyogaz üretimi üzerine yüksek dozlarda şok etki yaratmadığı tespit edilirken, uzun dönemde Ag NP maddelerin yüksek konsantrasyonlarda anaerobik prosesin çalışma dengesini bozduğu ve gaz üretimini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir.

4.3.2. Alüminyum oksit nanopartikülün (Al₂O₃ NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri

Farklı konsantrasyonlarda Al₂O₃ NP içeren reaktörlerde, kontrol reaktörlerinde ve referans DCP reaktörlerinde üretilen ortalama kümülatif gaz basıncı ve hesaplanan ortalama kümülatif gaz hacminin zamanla değişimi sırasıyla Şekil 4.16'da ve Şekil 4.17'de verilmiştir. 72 saat süren anaerobik inhibisyon testi sonucunda Al₂O₃ nanopartikülünün tüm konsantrasyonlarında üretilen gaz miktarları ve kontrol grubunda üretilen gaz miktarı birbirine çok yakın değerlerde tespit edilmiştir. Standart sapma ve ortalama sapma sırasıyla 12,2 ve 9,2 mL olarak hesaplanmıştır.

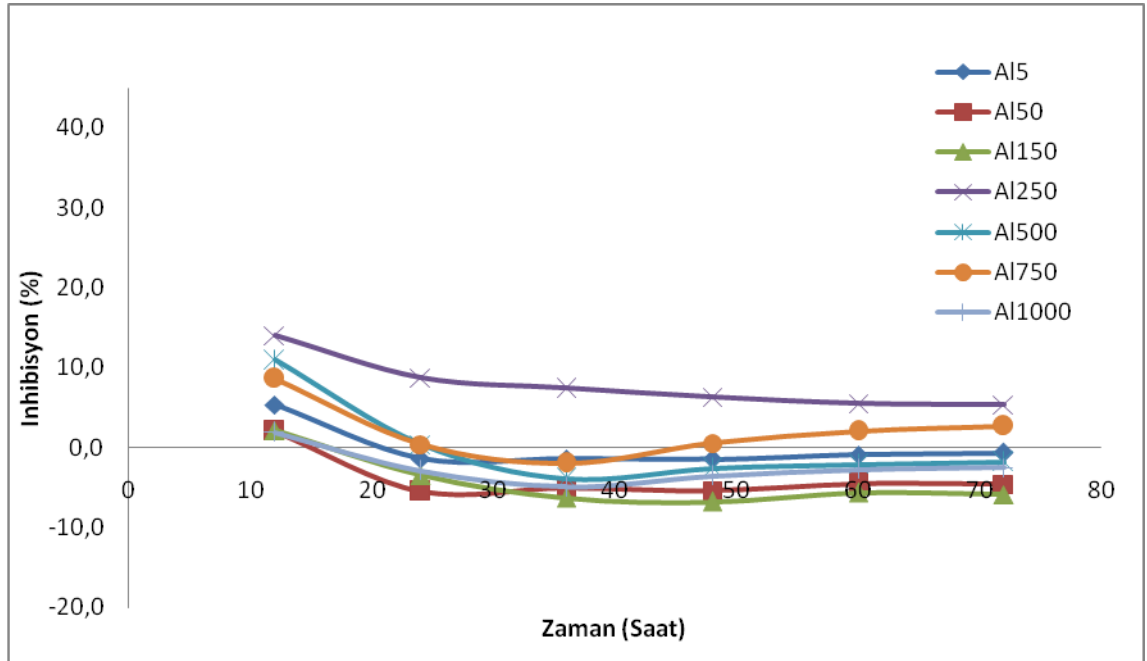


Şekil 4.16. Al₂O₃ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları



Şekil 4.17. Al_2O_3 NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri

ISO 13641-1 standartına göre inhibisyon değerleri Al_2O_3 nanopartikülün her bir konsantrasyonu için yüzde (%) değer olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.18’de farklı konsantrasyonlarda Al_2O_3 NP’nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi sunulmuştur.

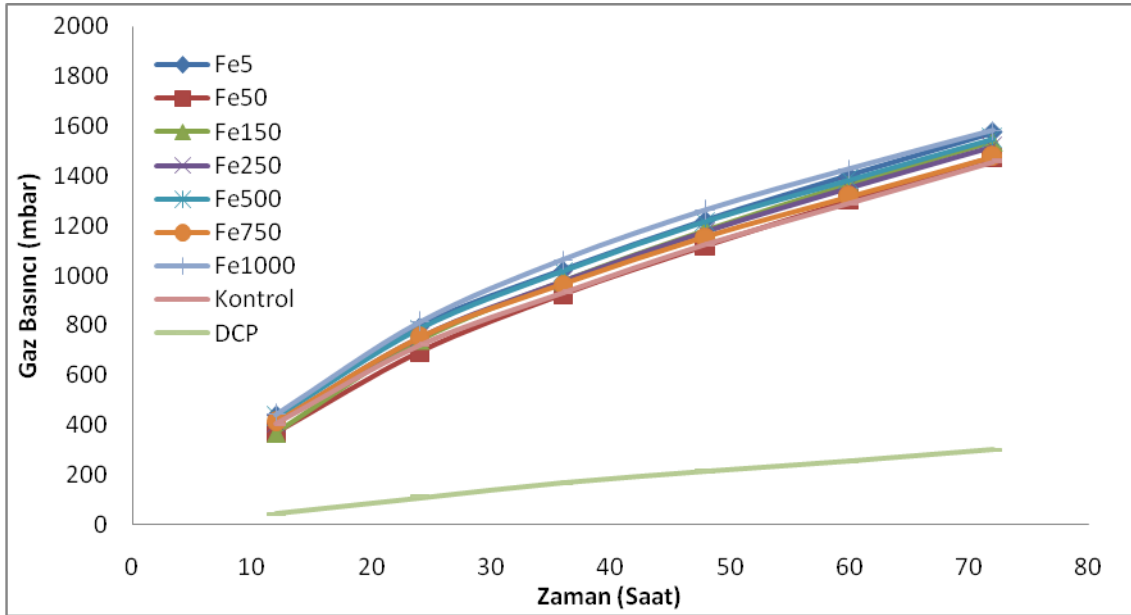


Şekil 4.18. Farklı konsantrasyonlarda Al_2O_3 NP’nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi

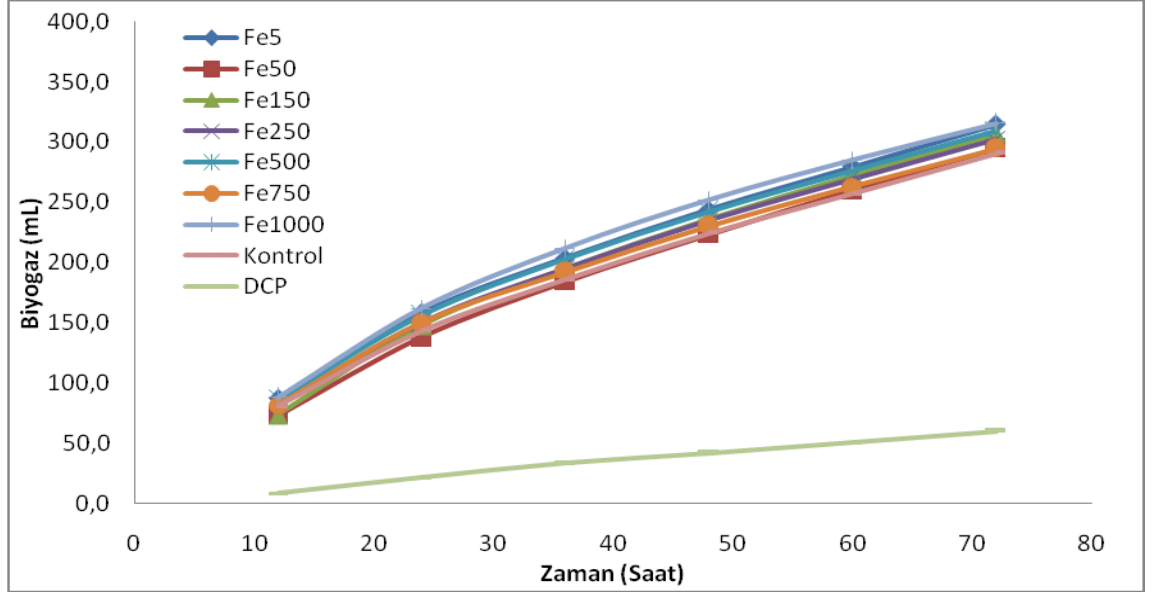
Şekil 4.18'den görülebileceği üzere biyogaz üretimi üzerinde Al_2O_3 nanopartikülünden kaynaklanan anlamlı bir inhibisyon etkisi tespit edilememiştir. Al_2O_3 NP biyogaz üretimi üzerinde akut olarak toksik etkiye neden olmamaktadır. Elde edilen bu sonuç uzun dönemli etkilerin gözlemlendiği BMP testi ile paralellik göstermektedir. Al_2O_3 NP için akut bir inhibisyon etkisi tespit edilmemesi nedeniyle bu nanopartikülün gaz üretimini %50 inhibe ettiği değer olan EC_{50} değerini hesaplamak mümkün olmamıştır. Yapılan literatür taraması sonucunda Al_2O_3 nanopartikülünün biyogaz üretimi üzerindeki akut etkilerini inceleyen başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4.3.3. Demir (III) oksit nanopartikülün (Fe_2O_3 NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri

5, 50, 150, 250, 500, 750 ve 1000 mg Fe_2O_3 /gTKM konsantrasyonlarında Fe_2O_3 NP içeren reaktörler ile 72 saat sürdürülen ve 12 saatte bir yapılan toplam gaz basıncı ölçümleri ile anaerobik parçalanma prosesi üzerindeki akut etkileri gözlenen Fe_2O_3 nanopartikülünün kontrol grubuna kıyasla biyogaz üretimi üzerine kısa dönemli inhibisyon etkisi hiçbir konsantrasyonda tespit edilmemiştir. Fe_2O_3 nanopartikülünün tüm konsantrasyonları biyogaz üretimini kontrol grubuna nazaran düşük miktarda da olsa arttırmıştır. Üretilen ortalama kümülatif gaz basıncı ve ortalama kümülatif gaz hacmi sırası ile Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de verilmiştir.

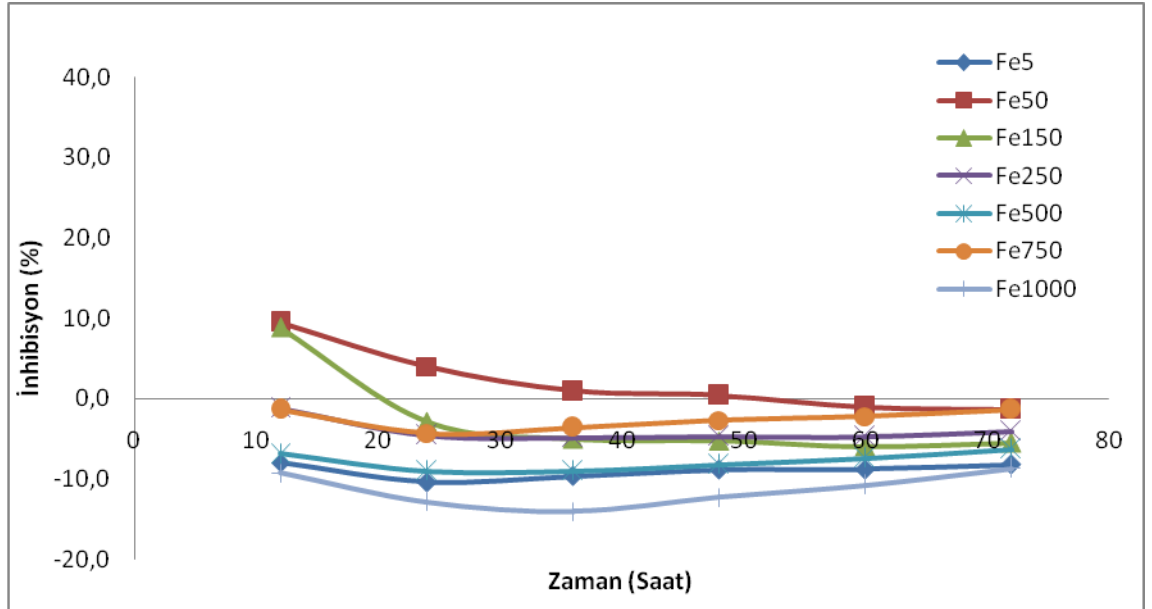


Şekil 4.19. Fe_2O_3 NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları



Şekil 4.20. Fe₂O₃ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri

ISO 13641-1 standartına göre inhibisyon değerleri Fe₂O₃ nanopartikülün her bir konsantrasyonu için yüzde (%) değer olarak hesaplanmıştır. 5, 50, 150, 250, 500, 750 ve 1000 mgFe₂O₃/gTKM konsantrasyonlarında Fe₂O₃ nanopartikülünün biyogaz üretimine sırası ile %8,2, %1,4, %5,6, %4, %6,4, %1,4 ve %8,7 oranında olumlu etkisi olduğu saptanmıştır. Şekil 4.21’de farklı konsantrasyonlarda Fe₂O₃ NP’nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi verilmiştir.

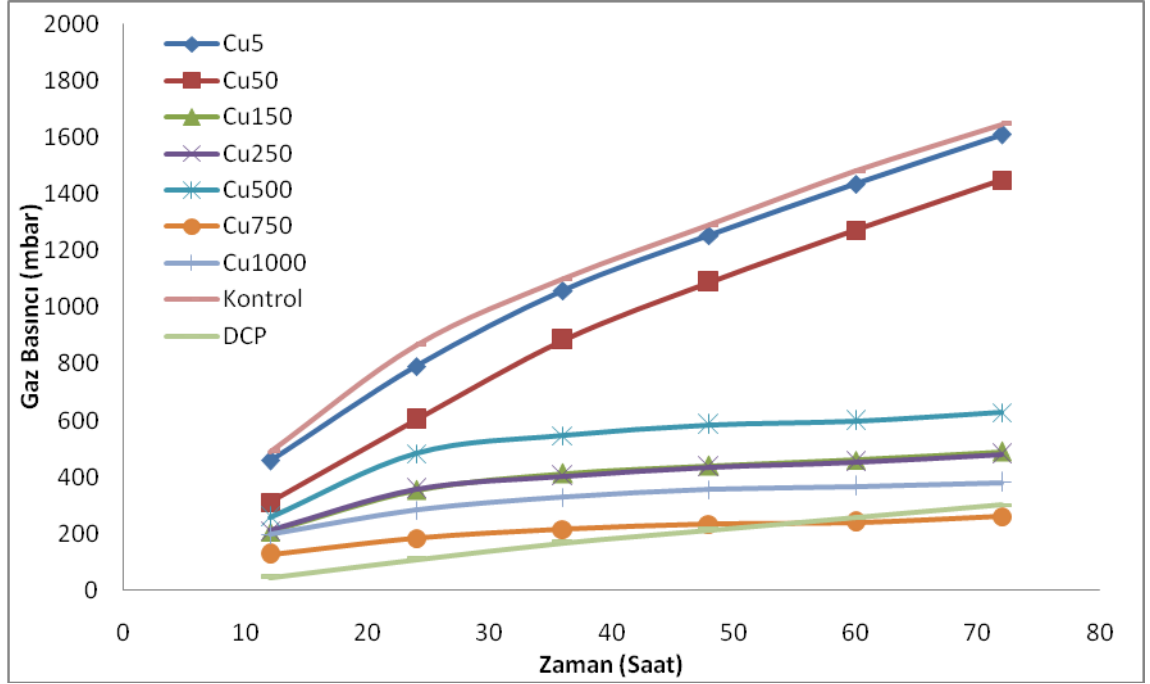


Şekil 4.21. Farklı konsantrasyonlarda Fe₂O₃ NP’nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi

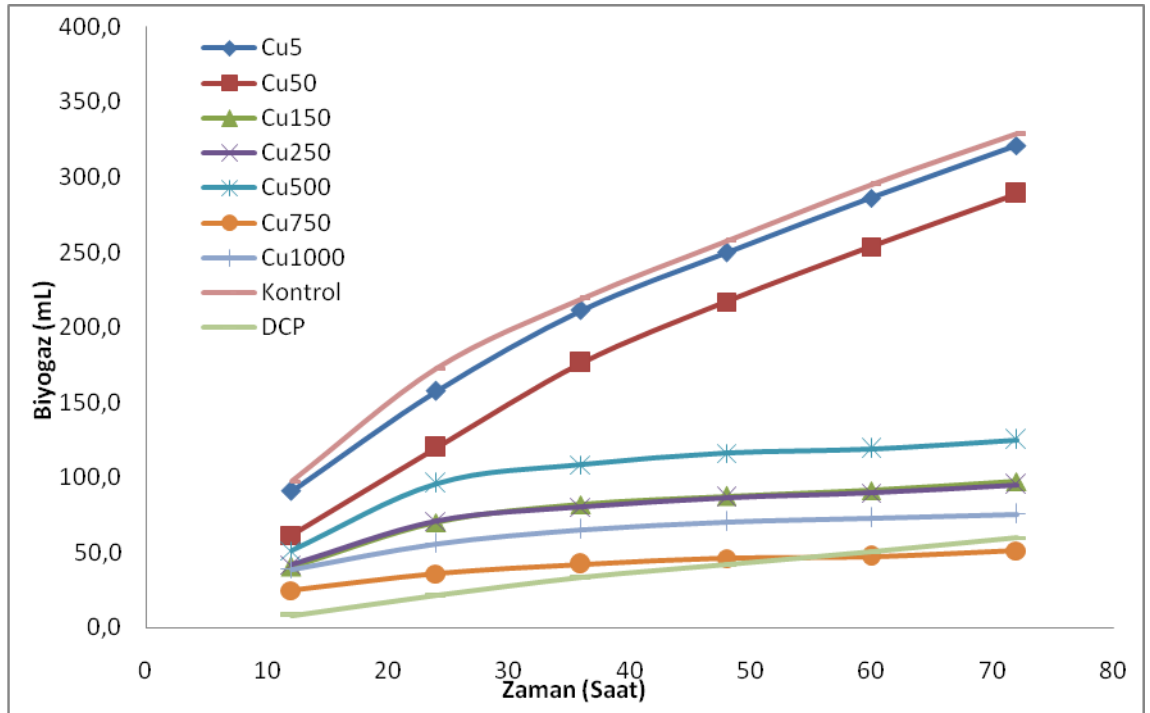
Kısa dönemli akut inhibisyon testinden elde edilen sonuçlar Fe_2O_3 nanopartikülü için yapılan uzun dönemli BMP testinden elde edilen sonuçlardan farklıdır. BMP testi sonunda 5, 50, 150, 250 ve 500 mg Fe_2O_3 /gTKM konsantrasyonlarının arıtma çamurunun metan üretimi üzerinde sebep olduğu inhibisyon miktarları normalize edilmiş kümülatif metan miktarlarına göre sırası ile %4, %10,9, %6,1, %18,2 ve %28,9 olarak tespit edilmiştir. BMP testinde Fe_2O_3 nanopartikülünden kaynaklanan inhibisyon etkisi testin 12. gününden itibaren gözlenmeye başlanmıştır. Bu durum, Fe_2O_3 nanopartikülünün anaerobik proses işleyişi üzerinde olumsuz bir akut etki oluşturmazken, uzun dönemli etkilerinin biyogaz üretimini doza bağlı olarak inhibe ettiğini göstermektedir. Bu sonuç, Fe_2O_3 nanopartikülünün ani etki eden bir inhibisyon mekanizmasına değil temas süresi arttıkça etkinleşen bir mekanizmaya sahip olduğu şeklinde yorumlanabilir. Fe_2O_3 NP için akut inhibisyon etkisi tespit edilmediği için bu nanopartikülün EC_{50} değeri hesaplanmamıştır.

4.3.4. Bakır (II) oksit nanopartikülün (CuO NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri

Nanopartiküllerin anaerobik parçalanma üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile yapılan ISO 13641-1 anaerobik inhibisyon testi kapsamında etkileri incelenen beş farklı nanopartikül arasından anaerobik prosese etkileri en toksik olan nanopartikülün CuO NP olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'te sırası ile farklı konsantrasyonlarda CuO NP içeren reaktörlerden, NP içermeyen kontrol reaktörlerinden ve DCP içeren reaktörlerden ölçülen ortalama kümülatif biyogaz basıncı ve hesaplanan ortalama kümülatif biyogaz miktarları verilmiştir. Diğer tüm nanopartiküllerde olduğu gibi CuO NP için de biyogaz basıncı, üretilen biyogaz hacmine dönüştürülürken el tipi manometre için oluşturulan kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem kullanılmıştır. Şekil 4.22 ve 4.23'ten görüldüğü gibi CuO NP tüm konsantrasyonlarında biyogaz üretimine olumsuz etki etmiş ve biyogaz üretim miktarının kontrol grubunun altında kalmasına sebep olmuştur.

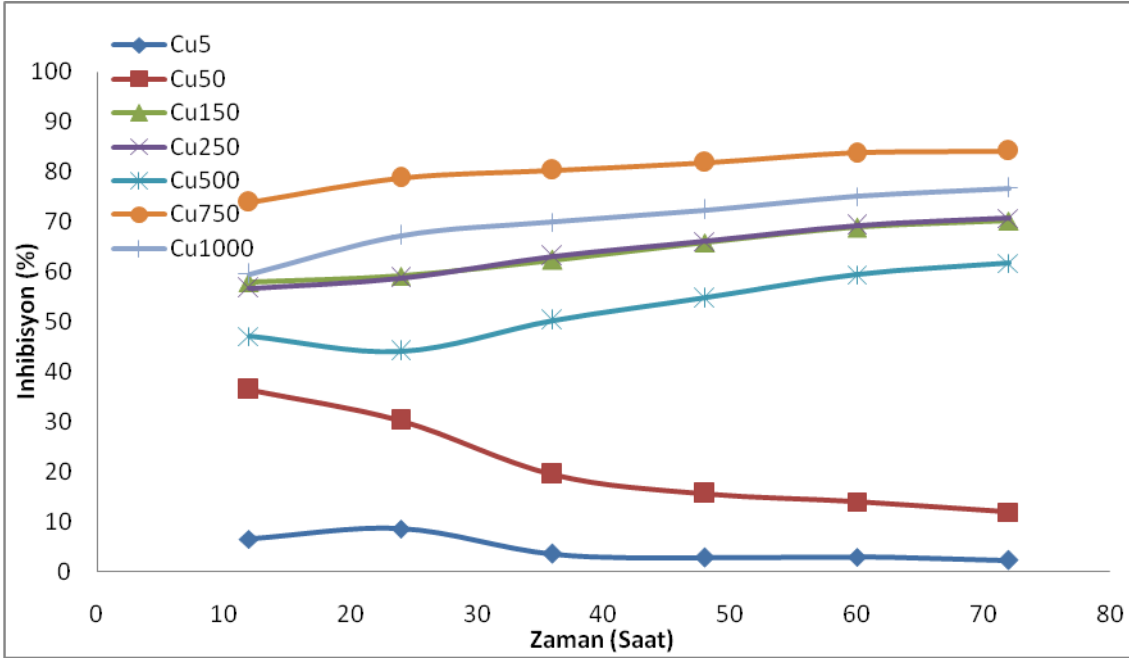


Şekil 4.22. CuO NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları



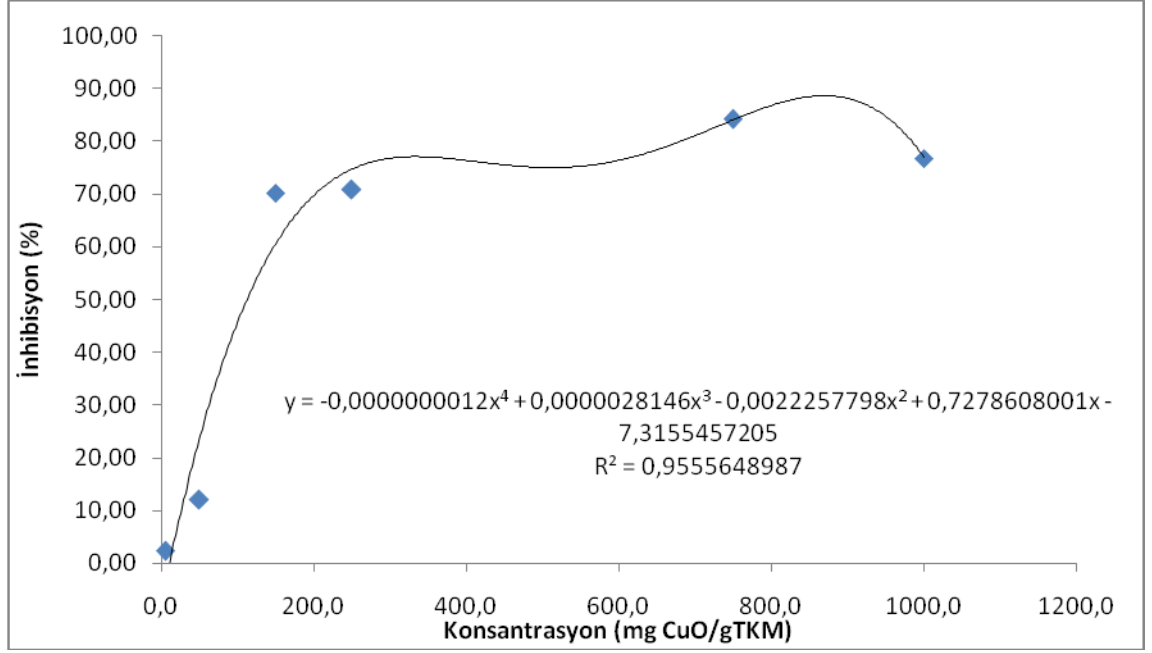
Şekil 4.23. CuO NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri

ISO 13641-1 standartına göre inhibisyon değerleri CuO nanopartikülün her bir konsantrasyonu için yüzde (%) değer olarak hesaplanmıştır. 5, 50, 150, 250, 500, 750 ve 1000 mg CuO NP/gTKM konsantrasyonları için hesaplanan inhibisyon değerleri sırasıyla %2,3, %12, %70,3, %70,8, %61,8, %84,2 ve %76,8'dir. Farklı konsantrasyonlarda CuO NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi Şekil 4.24'de sunulmuştur.



Şekil 4.24. Farklı konsantrasyonlarda CuO NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi

Elde edilen inhibisyon değerleri kullanılarak CuO NP için EC_{50} konsantrasyonu hesaplanmıştır. Bu amaçla, standartta belirtildiği gibi, CuO NP konsantrasyonlarına karşı % inhibisyon grafiği çizilmiş ve EC_{50} değerini en sağlıklı şekilde hesaplayabilmek amacı ile 4. dereceden polinomial bir eğilim çizgisi ile denklemini elde edilmiştir. Bu metotla oluşturulan model grafiği Şekil 4.25'te verilmiştir.



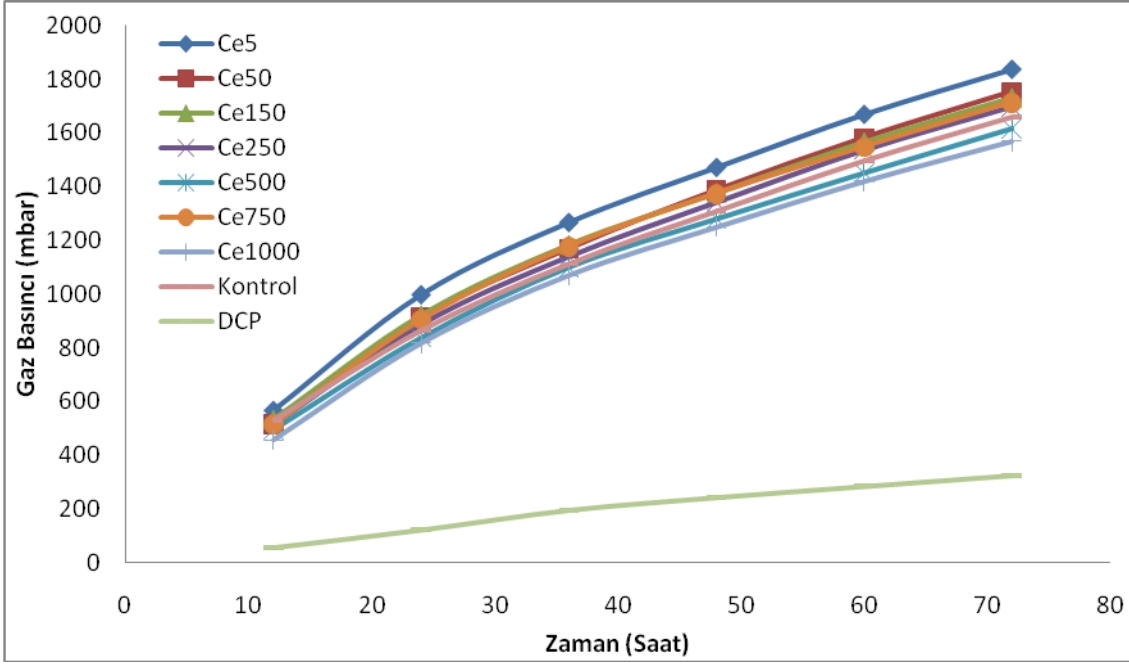
Şekil 4.25. CuO NP için konsantrasyona karşı % inhibisyon değerlerinin değişimi

CuO NP için ISO 13641-1 akut inhibisyon testi ile tespit edilen ve biyogaz üretimini %50 oranında inhibe etmesi beklenen EC₅₀ konsantrasyonu R² değeri (0,9555) yüksek bu denklem ile 110,8 mgCuO/gTKM olarak hesaplanmıştır. Aynı denklem kullanılarak CuO nanopartiküllerinin biyogaz üretimini %10 ve %25 inhibe ettiği konsantrasyonlar da hesaplanmış ve sırası ile 25,8 ve 52,2 mgCuO/gTKM olarak bulunmuştur.

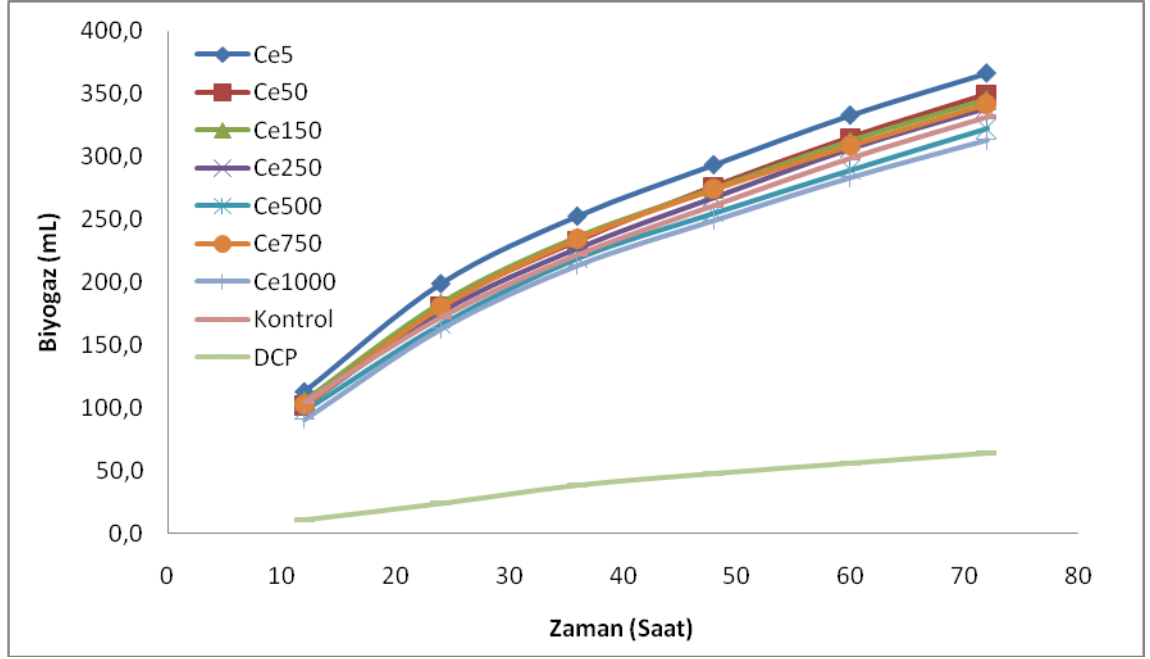
Literatürde ISO 13641 anaerobik inhibisyon testini kullanarak CuO nanopartiküllerinin anaerobik ortamdaki gaz üretimine etkisini tespit eden bir adet çalışmaya rastlanabilmiştir. Luna-delRisco vd (2011) tarafından yapılan çalışmada CuO nanopartiküllerinin 7,5 ila 480 mgCuO/L (0,8 ila 53,3 mgCuO/gTKM) arasında değişen konsantrasyonları için ISO 13641 testi uygulanmıştır. Luna-delRisco vd (2011) tarafından yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre 15 mgCuO/L (1,7 mgCuO/gTKM) konsantrasyonu NP içermeyen kontrol grubuna kıyasla biyogaz üretiminde %30 oranında bir inhibisyona sebep olmuştur. Aynı çalışma içinde değerlendirilen ZnO NP ve makro boyutlu CuO ve ZnO partiküllerine göre biyogaz üretimi üzerinde en toksik etkiye CuO NP sebep olmuştur. Luna-delRisco vd (2011) tarafından yapılan çalışmada verilen sonuçlar bu tez kapsamında yapılan çalışmada elde edilen konsantrasyonlardan daha düşüktür. Luna-delRisco vd ölçüm sonuçlarını değerlendirmek için aerobik reaksiyonlar için oluşturulduğu bildirilen REGTOX yazılımını kullanmışlardır. Elde edilen sonuçlar arasındaki farkın Luna-delRisco vd tarafından kullanılan hesap modelinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu tez kapsamında CuO NP'nin tespit edilen kısa ve uzun dönemli toksik etkileri sınırlı sayıdaki literatür ile örtüşmektedir.

4.3.5. Seryum (IV) oksit nanopartikülün (CeO_2 NP) arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine kısa dönemli inhibisyon etkileri

CeO_2 nanopartikülün arıtma çamurunun anaerobik parçalanması üzerine akut etkilerinin belirlenmesi amacı ile yapılan ISO 13641-1 testi sonuçlarına göre CeO_2 nanopartikülün biyogaz üretimi üzerine anlamlı bir inhibisyon etkisi tespit edilmemiştir. Farklı konsantrasyonlarda CeO_2 NP içeren reaktörlerden, DCP içeren reaktörden ve kontrol reaktöründen elde edilen ortalama kümülatif biyogaz basıncı ve ortalama kümülatif biyogaz miktarları sırası ile Şekil 4.26 ve Şekil 4.27’de verilmiştir.

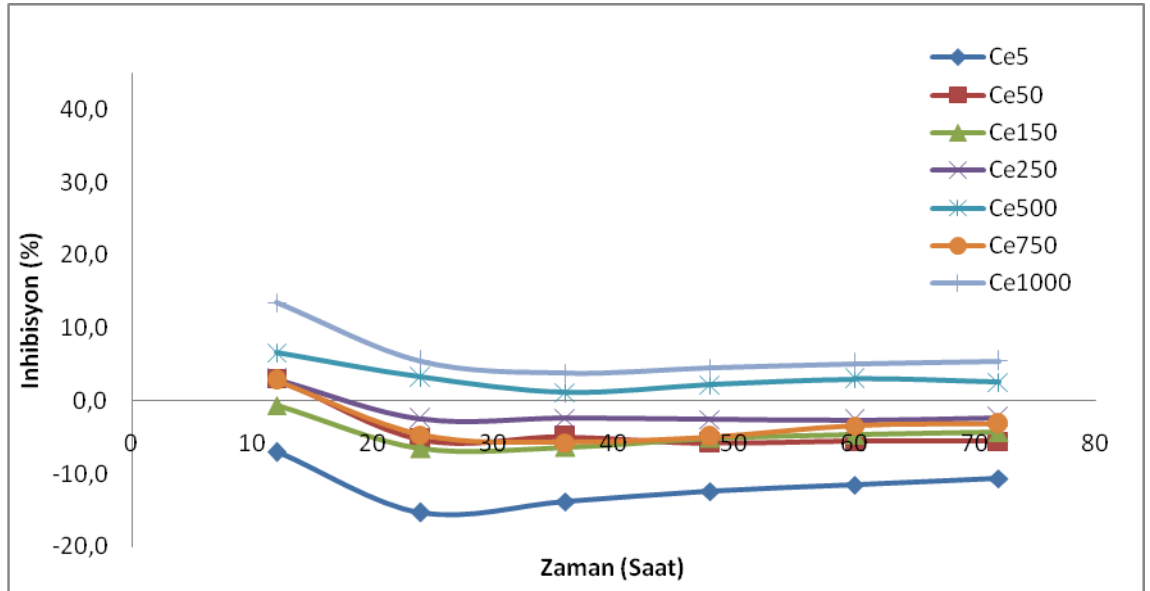


Şekil 4.26. CeO_2 NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz basınçları



Şekil 4.27. CeO₂ NP ve DCP içeren reaktörlerde zamana karşı üretilen kümülatif gaz hacimleri

ISO 13641-1 standartına göre inhibisyon değerleri CeO₂ nanopartikülün her bir konsantrasyonu için yüzde (%) değer olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.28'de farklı konsantrasyonlarda CeO₂NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi verilmiştir.



Şekil 4.28. Farklı konsantrasyonlarda CeO₂ NP'nin arıtma çamurunun anaerobik parçalanma prosesine olan kısa dönemli inhibisyon etkilerinin zamana karşı değişimi

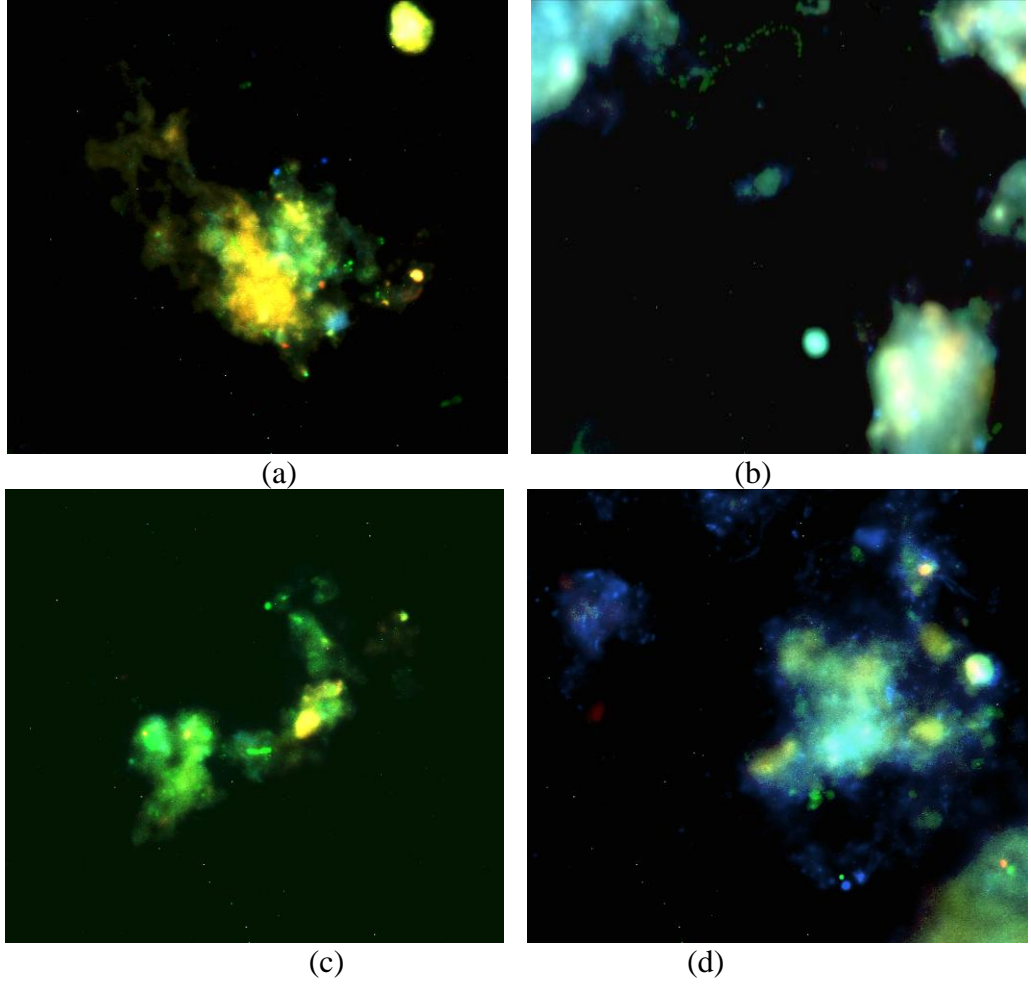
Şekil 4.28'den de görüldüğü gibi CeO₂ NP arıtma çamurlarının anaerobik parçalanmasını akut olarak inhibe etmemektedir. 1000 mg CeO₂ NP konsantrasyonunda %5,5 gibi düşük bir düzeyde akut inhibisyon gözlenmiştir. Kısa dönemli inhibisyon testi sonuçları, uzun dönemli inhibisyon etkisinin belirlenmesi için kullanılan BMP testinde gözlenen kronik etkiler ile paralellik göstermektedir. CeO₂ NP için inhibisyon etkisi saptanmadığından dolayı bu NP için biyogaz üretimini %50 inhibe eden konsantrasyon değeri anlamına gelen EC₅₀ değeri hesaplanmamıştır.

4.4. Flüoresanlı Yerinde Hibritleme (FISH) Analizi Sonuçları

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan nanopartiküllerin anaerobik parçalanma prosesine etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için BMP ve ISO analizlerinin ardından nanopartiküllerin anaerobik parçalanmadan sorumlu mikrobiyal türler üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla numunelere FISH analizi uygulanmıştır. Anaerobik prosesin son aşaması olan ve enerji değeri bulunan metan gazının üretildiği metanojenesis aşamasında görev alan arke popülasyonunun nanopartiküllerden nasıl etkilendiğinin araştırılması amaçlanmış ve bu amaçla tüm arkeleri ve spesifik olarak 3 farklı arkeyi hedefleyen probalar kullanılmıştır. FISH analizi ile incelenmek için seçilen 3 spesifik tür *Methanosaeta spp.*, *Methanococcus spp.* ve *Methanosarcinales*'dir. İlgili arke problemleri seçilirken yapılan literatür taramasına göre hem asetattan hem de H₂ ve CO₂'den metan üreten arkelerin seçilmesine özen gösterilmiştir. Metan üretimi sırasında *Methanosaeta spp.*, asetatı, *Methanococcus spp.*, H₂ ve CO₂'i, *Methanosarcinales* ise her iki metabolik yolu da kullanmaktadır (Juottonen 2008). Numuneler söz konusu arkelere özgü oligonükleik probalar ile işaretlenirken, her numunede mevcut olan tüm organizmaların işaretlenmesi için mavi renkli DAPI ve tüm bakterilerin işaretlenmesi için yeşil renkli EUBmix (EUB_I, EUB_{II} ve EUB_{III}) kullanılmıştır. Böylece kırmızı renk veren probalar ile diğer organizma ve bakterilerin birbirinden ayrılması sağlanmıştır. İnhibisyon gözlenen numunelere ait slaytlar dikkatlice incelenerek popülasyon durumunun tespit edilmesinin ardından temsil edici görüntüler fotoğraflanarak değerlendirme yapılmıştır.

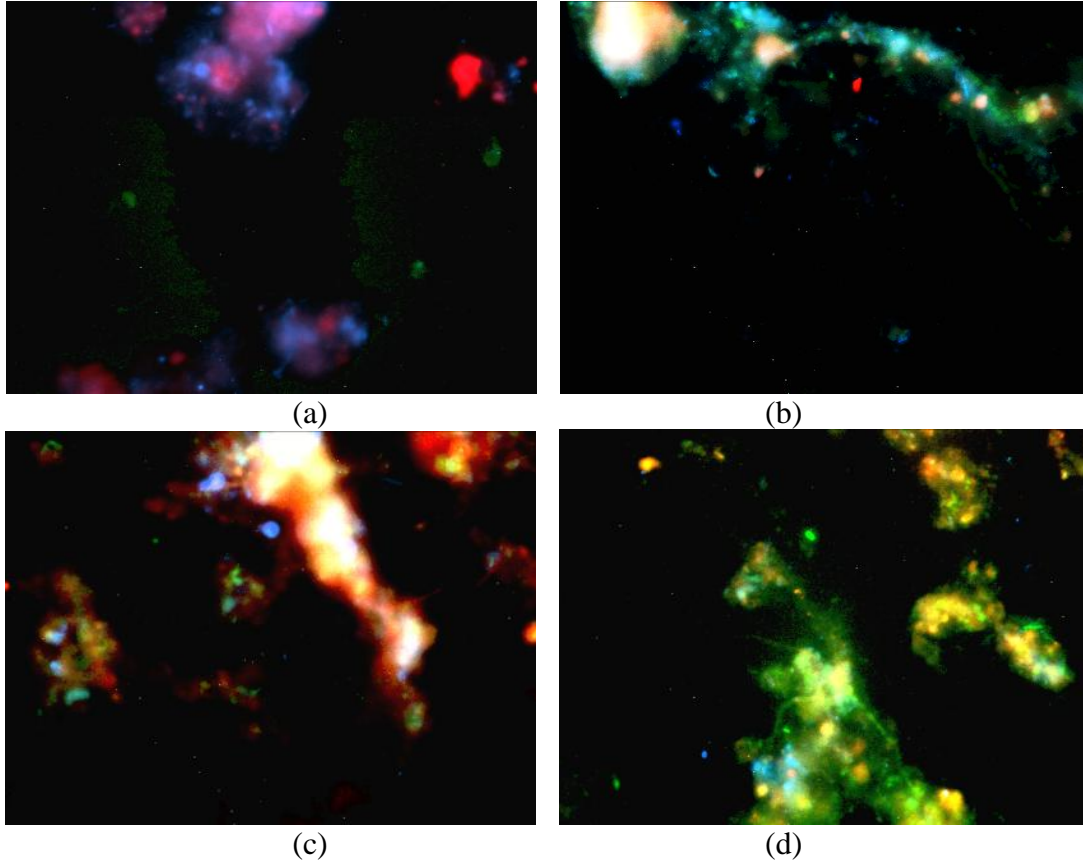
4.4.1. Arke probu (ARC915) FISH görüntüleme sonuçları

Şekil 4.29a, b, c ve d'de sırasıyla kontrol numunesi, 500 mgAg NP/gTKM, 500 mgFe₂O₃NP/gTKM ve 500 mgCuO NP/gTKM içeren numunelerin BMP testleri sonrasında elde edilen FISH görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.29a'dan Arkelerin, BMP testine ait kontrol numunesinde toplam bakterinin büyük bir kısmını oluşturduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, BMP testi sonucunda tespit edilen inhibisyona paralel olarak 500 mgNP/gTKM konsantrasyonunda Ag, Fe₂O₃ ve CuO NP içeren numunelerde kontrol numunesine kıyasla daha az bakteri bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.29b, c ve d). 500 mgNP/gTKM konsantrasyonunda Ag, Fe₂O₃ ve CuO NP içeren numunelerdeki Arke miktarının azalmasıyla gaz üretim miktarındaki düşmenin nedeninin nanopartiküllerin anaerobik mikroorganizma kültürü içinde bulunan ve metan üretiminde görev alan Arkeleri inhibe ettiği sonucunu ortaya çıkarmaktadır.



Şekil 4.29. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve Arke (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) BMP kontrol numunesi, (b) 500 mgAg NP/gTKM BMP numunesi, (c) 500 mgFe₂O₃ NP/gTKM BMP numunesi ve (d) 500 mgCuO NP/gTKM BMP numunesi

ISO testi sonrası alınan numunelere FISH analizinin uygulanması sonucunda kontrol numunesi ve nanopartikül içeren numunelerde belirlenen arke popülasyonları incelendiğinde ise, özellikle Fe₂O₃ NP olmak üzere nanopartiküllere maruz kalma sonucunda popülasyondaki azalmanın BMP testine kıyasla çok daha az olduğu gözlenmiştir. Şekil 4.30a, b, c ve d'de sırasıyla kontrol numunesi, 1000 mgAg NP/gTKM, 1000 mgFe₂O₃NP/gTKM ve 1000 mgCuO NP/gTKM içeren numunelerin ISO testleri sonrasında elde edilen FISH görüntüleri verilmiştir.



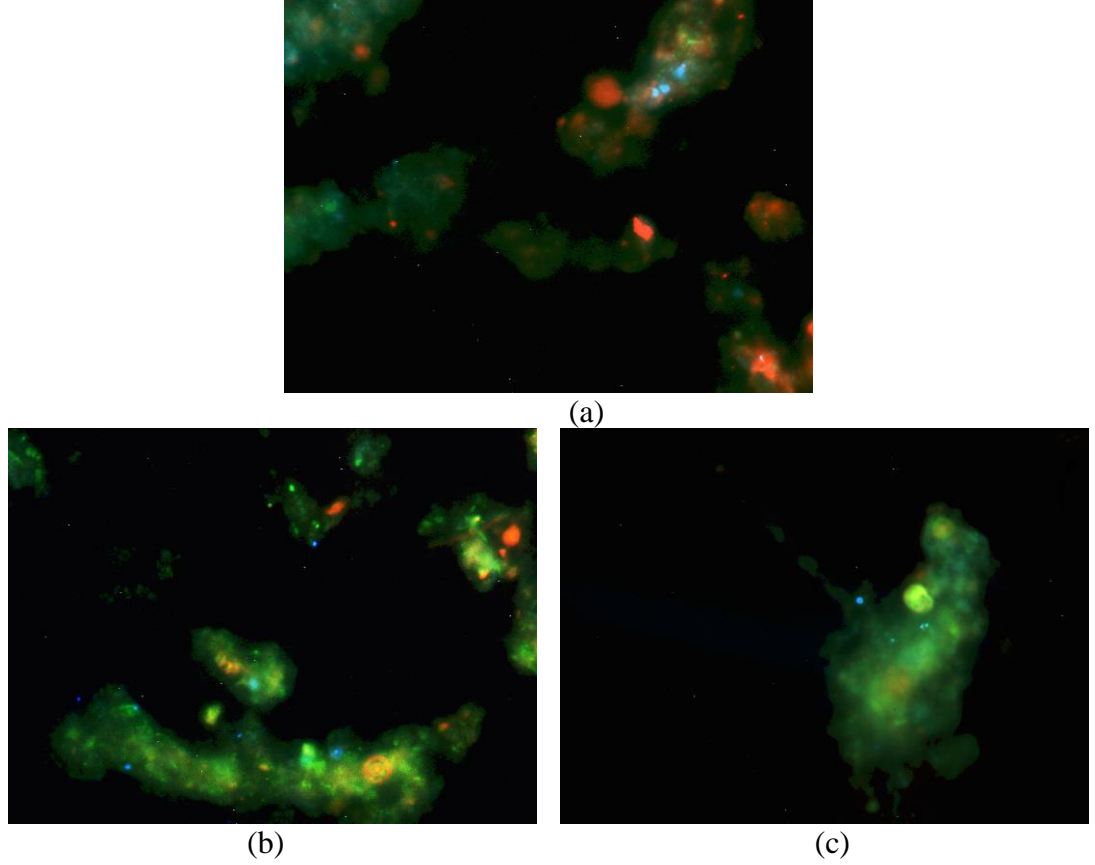
Şekil 4.30. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve Arke (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi, (b) 1000 mgAg NP/gTKM ISO numunesi, (c) 1000 mgFe₂O₃ NP/gTKM ISO numunesi ve (d) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi

Şekil 4.30'dan görüldüğü gibi kontrol numunesinde aktif Arkeler bol miktarda gözlenmiştir. Benzer şekilde yüksek akut inhibisyon etkisi gözlenmeyen Ag ve özellikle Fe₂O₃ NP numunelerinde de diğer mikroorganizmaların yanı sıra Arkeler yüksek yoğunlukta gözlenmiştir. Fakat, 1000 mgCuO NP/gTKM numunesini temsil eden görüntüde, prob boyasından ötürü kırmızı olarak görülebilen arkelerin gözle görülür biçimde azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuç arke popülasyonunun akut olarak nanopartiküllere maruz kalması durumunda dikkate değer inhibisyon gerçekleşmediğini, BMP testi gibi kronik bir maruziyet sonrasında ise arkelerin inhibe olduğunu göstermektedir.

4.4.2. *Methanosaeta spp. probu (MX825) FISH görüntüleme sonuçları*

Şekil 4.31'de ISO testinin ardından sırası ile kontrol, 1000 mgNP/gTKM konsantrasyonunda CeO₂ ve CuO nanopartiküllerini içeren numunelerin FISH analizleri sonucunda elde edilen görüntüler sunulmuştur. Görüntüler incelendiğinde; gaz üretimi üzerinde inhibisyon etkisi tespit edilmeyen 1000 mgCeO₂ NP/gTKM konsantrasyonunda NP içeren numunenin kontrol numunesi ile benzer bir görüntü verdiği ve *Methanosaeta spp.* sınıfının NP varlığından etkilenmediği anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, gaz üretiminin son derece olumsuz etkilediği BMP ve ISO testleri ile

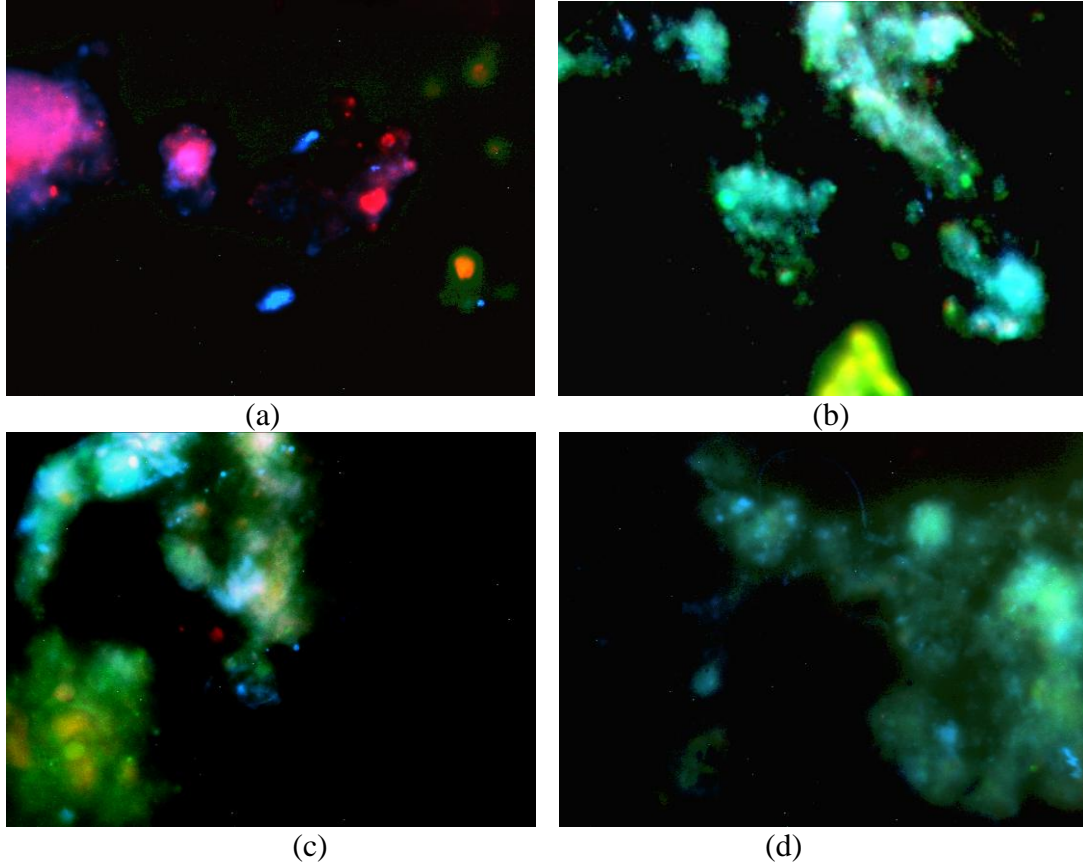
tespit edilen CuO NP içeren numunede asetatı kullanarak metan üreten *Methanosaeta spp.* varlığının azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.31d). Elde edilen bu veriler nanopartiküllerin anaerobik mikroorganizmalar üzerindeki etkilerinin gaz üretiminde gözlenen değişimi yansıttığını ortaya çıkarmaktadır. Bu sonuç, nanopartiküllerin gaz üretimini inhibe etme mekanizmalarının metan üretiminde görev alan Arkelerin inaktive edilmesi şeklinde yorumlanmaktadır.



Şekil 4.31. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve *Methanosaeta spp.* (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi, (b) 1000 mgCeO₂ NP/gTKM ISO numunesi, (c) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi

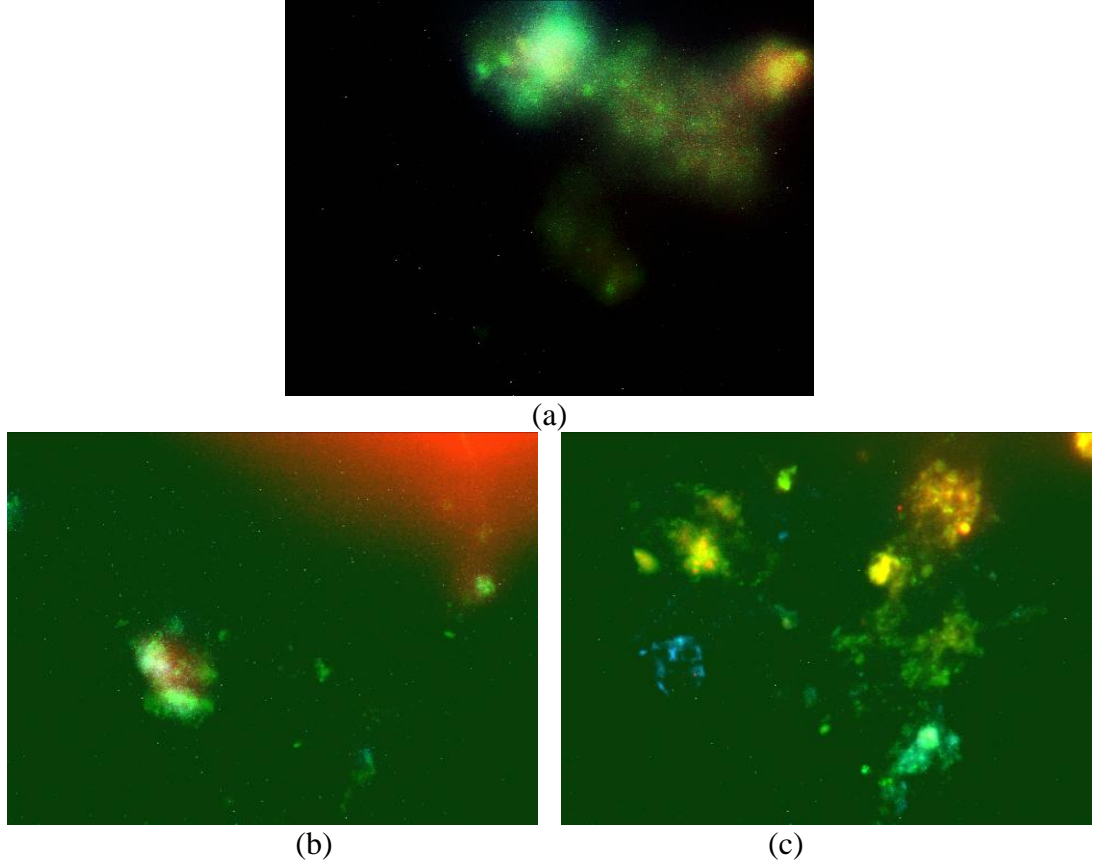
4.4.3. *Methanococcus spp.* probu (MC1109) FISH görüntüleme sonuçları

Şekil 4.32a, b, c ve d'de sırasıyla kontrol numunesi, 500 mgAg NP/gTKM, 500 mgFe₂O₃ NP/gTKM ve 500 mgCuO NP/gTKM içeren numunelerin BMP testleri sonrasında elde edilen FISH görüntüleri sunulmuştur. Yapılan analizin ardından elde edilen görüntüler incelendiğinde; kontrol numunesine kıyasla *Methanococcus spp.* varlığının 500 mgAg NP/gTKM ve 500 mgFe₂O₃ NP/gTKM konsantrasyonlarındaki nanopartiküllerden etkilenmediği, bununla birlikte *Methanococcus spp.* miktarının 500 mgCuO NP/gTKM numunesinde azaldığı gözlenmiştir. Diğer metanojenik mikroorganizmaların aksine *Methanococcus spp.* varlığının mikroorganizma kültürü içinde azalmaması, H₂ ve CO₂ kullanarak metan üreten bu sınıfın biyogaz üretimindeki azalmada etkisi olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.32. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve *Methanococcus* spp. (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) BMP kontrol numunesi, (b) 500 mgAg NP/gTKM BMP numunesi, (c) 500 mgFe₂O₃ NP/gTKM BMP numunesi ve (d) 500 mgCuO NP/gTKM BMP numunesi

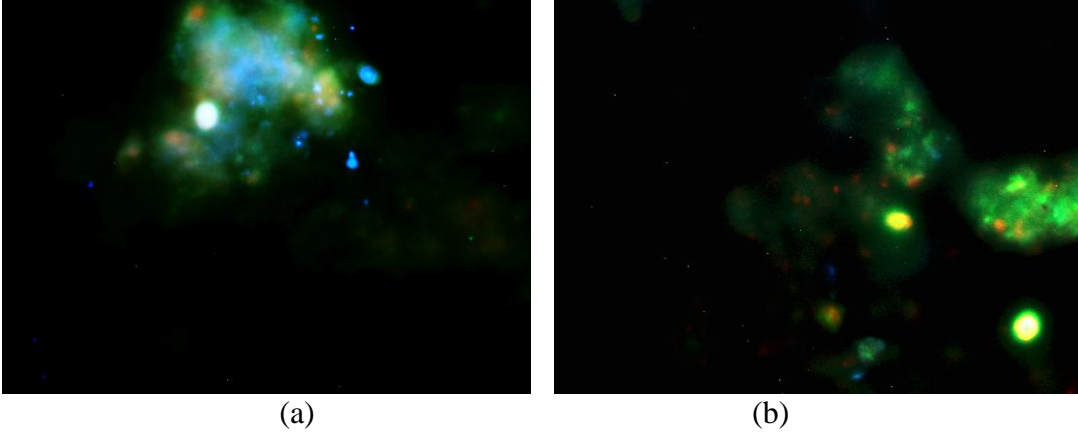
Şekil 4.33a, b ve c’de sırasıyla ISO kontrol numunesi, 1000 mgFe₂O₃ NP/gTKM ISO ve 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numuneleri için *Methanococcus* spp. FISH sonuçları verilmiştir. Şekil 4.33’ten görülebileceği üzere kontrol, Fe₂O₃ ve CuO NP içeren numuneler benzer bir *Methanococcus* spp. popülasyonuna sahiptir ve NP varlığı bu mikroorganizma üzerinde akut olarak etkiye sahip değildir. Elde edilen bu görüntülere dayanılarak, ISO testi sonucunda CuO NP numunelerinde görülen gaz üretim miktarının azalmasından farklı metanojenlerin sorumlu olduğu sonucuna varılması mümkün olmaktadır.



Şekil 4.33. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve *Methanococcus* spp. (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi, (b) 1000 mgFe₂O₃ NP/gTKM ISO numunesi, (c) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi

4.4.4. *Methanosarcinales* probu (MSMX860) FISH görüntüleme sonuçları

Şekil 4.34a ve b'de sırasıyla ISO kontrol numunesi ve 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numuneleri için *Methanosarcinales* spp. FISH sonuçları sunulmuştur. Yapılan incelemelere göre, *Methanosarcinales* gaz üretimini inhibe eden CuO nanopartikülünden önemli şekilde etkilenmemektedir. Elde edilen görüntüler değerlendirildiğinde hem asetatı ve hem de H₂ ve CO₂'i kullanarak metan üretebilme özelliğine sahip olan *Methanosarcinales*'in biyogaz üretimindeki azalmaya etkisinin son derece düşük olduğu yorumu yapılabilir.



Şekil 4.34. DAPI (mavi), tüm bakteri (yeşil) ve *Methanosarcinales* (kırmızı) için FISH sonuçları. (a) ISO kontrol numunesi ve (b) 1000 mgCuO NP/gTKM ISO numunesi

5. SONUÇ

Literatürde, Ag, Al₂O₃, Fe₂O₃, CuO ve CeO₂ nanopartiküllerinin arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine akut ve uzun dönemli etkilerini, düşük ve yüksek dozlar için araştıran ve mikrobiyolojik popülasyondaki etkileri inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine nanopartiküllerin etkilerinin incelendiği bu çalışma farklı inhibisyon etkilerini tespit etmesi ve kıyaslaması açısından literatürde ilk olması nedeniyle önemli bir referans oluşturmaktadır. Ayrıca arıtma çamurları gibi çevresel açıdan önemli problemlere sebep olan bir kirlilik kaynağının stabilizasyonunda etkin olarak kullanılan anaerobik parçalanma prosesine artan kullanımları nedeniyle gelecekte önemli problemler yaratabilecek nanopartikül etkilerinin belirlenmesi için bilimsel veriler sunması açısından önem taşımaktadır.

Bu tez kapsamında; substrat olarak kullanılan arıtma çamurlarının karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. %32,59 karbon içeriği ile Lara İleri AAT'nden alınan arıtma çamurlarının anaerobik parçalanma prosesinde substrat olarak kullanılmasının metan üretimi açısından uygun olduğu görülmüştür. BMP ve ISO 13641 -1 testlerinde kullanılmak üzere stok nanopartikül süspansiyonları hazırlanmış ve bu süspansiyonların partikül boyut ölçümleri gerçekleştirilerek su ortamında agrega olarak partikül boyutu açısından uğradıkları değişimler tespit edilmiştir. Yapılan partikül boyutu ölçümlerine göre, ISO testinde kullanılmak üzere sonikasyondan geçirilen stok nanopartikül süspansiyonları, BMP testinde kullanılmalrı için sonikasyon kullanılmadan hazırlanan stok nanopartikül süspansiyonlardaki nanopartiküllere göre daha az agrega olmuştur. Fakat her iki koşulda da nanopartiküllerin su ortamında agrega olma eğilimleri açık bir şekilde gözlenmiştir.

Karakterizasyon ve partikül boyut ölçümü analizlerinin ardından, nanopartiküllerin arıtma çamurlarının anaerobik parçalanması üzerine uzun dönemli etkilerinin metan üretim miktarı üzerinden tespit edilebilmesi amacıyla BMP testi yapılmıştır. Her bir nanopartikül için 5, 50, 150, 250 ve 500 mgNP/gTKM konsantrasyonlarının kullanıldığı BMP testi 48 gün sürdürülmüştür. Metan üretim miktarının sabitlenmesi sebebiyle test 48 gün sonunda sona erdirilmiştir. BMP testi sonunda Al₂O₃, CeO₂ nanopartiküllerinin metan üretimini arttırıcı katalizör etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu nanopartiküller için 250 mgNP/gTKM konsantrasyonlarında görülen normalize edilmiş maksimum katalizör etki kontrol reaktörlerinden üretilen ortalama kümülatif metan miktarlarına göre sırasıyla %14,8 ve %25,5 oranında gerçekleşmiştir. Ag nanopartikül metan üretimini inhibe etmiştir. En yüksek inhibisyon 500 mgNP/gTKM konsantrasyonunda %12,1 olarak tespit edilmiştir. Fe₂O₃ NP arıtma çamurlarının metan potansiyeli üzerinde olumsuz etkiye sebep olmuş ve maksimum inhibisyon, 500 mgNP/gTKM konsantrasyonunda %28,9 olarak ölçülmüştür. Fe₂O₃ NP için farklı dozlardaki metan üretim miktarları arasındaki fark metan ölçümünün 12. gününden itibaren gözlenmeye başlamış, 12. güne kadar hiçbir konsantrasyon arıtma çamurundan metan üretimini etkilememiştir. Elde edilen bu veri nedeniyle nanopartiküllerin konsantrasyonlarının yanı sıra temas sürelerinin de inhibisyon üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. CuO NP ise arıtma çamurunun metan üretim potansiyeli üzerindeki en toksik etkiye neden olmuştur. 150 mgNP/gTKM konsantrasyonundan itibaren metan üretim potansiyelini önemli ölçüde azaltan CuO

NP, 250 ve 500 mgNP/gTKM konsantrasyonlarında yalnızca aşı çamur içeren kontrol reaktörlerinden dahi daha az metan üretilmesine sebep olmuştur. Kontrol reaktörleri ve CuO NP içeren reaktörler arasındaki metan üretim miktarları farkı ilk ölçüm gününden itibaren gözlenmeye başlamıştır. Anaerobik mikroorganizmaların CuO NP ile teması kısa sürede toksik etki ile sonuçlanmıştır.

ISO 13641-1 testi ile nanopartikül maddelerin akut inhibisyon etkilerini tespit etmek amaçlanmıştır. Ag, Al₂O₃, Fe₂O₃, CuO ve CeO₂ nanopartikülleri için 5, 50, 150, 250, 500, 750 ve 1000 mgNP/gTKM konsantrasyonları ISO 13641-1 testi kapsamında arıtma çamurlarının biyogaz üretimine akut etkilerinin saptanabilmesi amacıyla kullanılmıştır. 72 saat sürdürülen test boyunca 12 saatte bir olmak üzere altı kez toplam gaz basıncı ölçümü yapılmıştır. Ortalama kümülatif gaz basıncı üzerinden her bir NP ve her bir konsantrasyonu için % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalara göre Ag NP için toplam biyogaz basıncı üzerinde anlamlı bir akut etki saptanamamıştır. Bununla birlikte BMP testinde Ag NP için uzun süreli etki sonunda metan üretimi üzerinde %10'dan daha yüksek bir inhibisyon etkisi tespit edilmiştir. Elde edilen sonuç BMP testi ile kıyaslandığında Ag nanopartikülünün anaerobik mikroorganizmalar üzerinde kronik olarak etki ettiğini söylemek mümkündür. Al₂O₃ NP için 150mgNP/gTKM konsantrasyonunda kontrol grubuna göre ortalama toplam biyogaz basıncında %5,9'luk bir artma tespit edilmiştir. 250mgNP/gTKM konsantrasyonunda ise kontrol grubuna göre ortalama toplam biyogaz basıncında %5,4'lük bir inhibisyon tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre Al₂O₃ nanopartikülünün biyogaz üretimi üzerindeki akut etkisi oldukça sınırlıdır. Bununla birlikte, BMP testinde bu NP için metan üretimi üzerinde üretim miktarını artırıcı katalizör etki tespit edilmiştir. Fe₂O₃ NP, 72 saat süresince yapılan ölçümler neticesinde tüm konsantrasyonlarında ortalama kümülatif biyogaz miktarına ihmal edilebilir miktarda katkı yapmıştır ve inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. Elde edilen bu sonuç BMP testinde Fe₂O₃ nanopartikülünden kaynaklanan inhibisyonun 12. günden itibaren gözlenmeye başlaması ile tutarlıdır. CeO₂ nanopartikülünün de yine kontrol reaktörlerine kıyasla ortalama kümülatif biyogaz üretimine inhibisyon etkisi olmamıştır. Bununla birlikte BMP testi sonuçlarına göre CeO₂ nanopartikülünün uzun temas süresi sonunda metan üretimine katalizör etki ile katkı sağladığı tespit edilmiştir. CuO nanopartikülleri BMP testi ile paralel sonuçlar ortaya koymuş ve arıtma çamurlarının anaerobik parçalanabilirliğine en toksik akut etkileri göstermiştir. CuO NP tüm dozları için ilk ölçüm anından itibaren biyogaz basıncı üzerinde inhibisyon etkisi yaratmıştır.

Hem BMP hem de ISO 13641-1 testlerinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde anaerobik mikroorganizmaların CuO NP ile teması tolere edemediği görülmektedir. CuO NP dışında ISO 13641-1 testinde inhibisyon etkisi tespit edilmeyen fakat BMP testinde metan üretimi üzerinde olumsuz etkileri tespit edilen nanopartiküller Ag ve Fe₂O₃ nanopartikülleri olmuştur. Elde edilen bu verilere göre Ag ve Fe₂O₃ nanopartiküllerinin anaerobik mikroorganizmalar üzerindeki olumsuz etkileri dozun yanı sıra temas süresine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Al₂O₃ ve CeO₂ nanopartikülleri de benzer şekilde temas süresi arttıkça gösterdiği etki değişen nanopartiküller olarak tespit edilmişlerdir. Fakat Ag ve Fe₂O₃ nanopartiküllerinden farklı olarak, bu iki nanopartikülün akut etkilerin araştırıldığı ISO testi sonunda gaz üretimi üzerinde anlamlı bir etkisi gözlenmediği halde kronik etkilerin tespit edilmesi

için uygulanan BMP testi sonunda temas süresi arttığında metan üretimini katalizör etki ile olumlu olarak arttırdıkları tespit edilmiştir.

Gaz üretimi üzerindeki etkileri incelenen nanopartiküllerin anaerobik parçalanma prosesinin metanojenesis aşamasında görev alan belirli mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini tespit edebilmek ve böylece nanopartiküllerin etki mekanizmaları hakkında bilgiler sunmak amacıyla BMP ve ISO testlerinin ardından FISH tekniği kullanılarak mikrobiyolojik popülasyon değerlendirilmiştir. Görüntüleme temelli değerlendirmede arke, *Methanosaeta spp.*, *Methanococcus spp.* ve *Methanosarcinales* gruplarındaki değişiklikler incelenmiştir. FISH analizi kapsamında alınan görüntülerin değerlendirilmesi sonucunda ISO ve BMP testlerinde elde edilen inhibisyon sonuçları ile arke popülasyonundaki azalmanın paralellik gösterdiği anlaşılmıştır. Gaz üretimindeki inhibisyon arttıkça mikrobiyolojik popülasyon içindeki arke miktarı azalmaktadır. Bu durum nanopartiküllerin arkeleri inhibe ederek gaz üretiminde azalmaya sebep oldukları şeklinde yorumlanabilir. Benzer şekilde *Methanosaeta spp.* gaz üretimi için toksik olan CuO nanopartikülünün varlığından hem BMP hem de ISO testinde olumsuz etkilenmiş ve mikrobiyolojik popülasyon içindeki varlığı kontrol grubuna göre azalmıştır. Bununla birlikte, metan üretimi için *Methanosaeta spp.*'dan farklı bir metabolik yol kullanan *Methanococcus spp.* gaz üretimini olumsuz etkileyen nanopartiküllerin varlığından etkilenmemiştir. Metan üretimi için asetat ve H₂ ve CO₂ kullanabilen *Methanosarcinales* ise inhibitör nanopartiküllerin varlığından oldukça sınırlı oranda etkilenmiştir.

Endüstriyel kullanımlarındaki hızlı artış nedeniyle atıksu arıtma tesislerine her geçen gün daha fazla miktarda ulaşmakta olan nanopartikül maddelerin arıtma çamuru yönetiminde etkin bir şekilde kullanılan anaerobik parçalanma prosesine etkilerinin araştırılması ve etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasının hem literatürde mevcut olan eksikliğe katkıda bulunulması hem de gelecekte atıksu arıtma tesislerinde karşılaşılabilecek olan problemlerin önceden tespit edilebilmesi ve çözüm üretilmesi açısından kayda değer olduğu düşünülmektedir. Nanopartiküllerin anaerobik ekosistem içindeki etki mekanizmalarının anlaşılabilmesi için ileride yürütülecek çalışmalarda, yarı kesikli ve sürekli reaktörler kullanılarak sistem performansı verilerinin (CH₄ üretim hızı, CH₄ verimi vb), proses değişkenlerinin (pH, asetat konsantrasyonu, alkalinite vb), nanopartiküllerin yüzey kimyası ve anaerobik ortam ile etkileşiminin ve de mikrobiyal çeşitlilikteki değişimin incelenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- ABBASI, T., TAUSEEF, SM. and ABBASI, S.A. 2012. Anaerobic digestion for global warming control and energy generation – An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16: 3228-3242.
- ALKAYA, E. 2008. Biorefining of sugar beet processing wastes by anaerobic biotechnology: Waste stabilization and bioproduct formation. Yüksek lisans tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi. Ankara, 114 s.
- ALONSO, E., VILLAR, P., SANTOS, A. and APARICIO, I. 2006. Fraction of heavy metals in sludge from anaerobic wastewater stabilization ponds in southern Spain. *Waste Management*, 26:1270-1276.
- AMANN, R.I., BINDER, B.J., OLSON, R.J., CHISHOLM, S.W., DEVEREUX, R. and STAHL, D.A. 1990. Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol*, 56:1919-1925.
- ANGELIDAKI, I. and SANDERS, W. 2004 Assessment of the Anaerobic Biodegradability of Macropollutants. Reviews in. *Environmental Science and Bio/Technology*.3:117-129.
- APHA/AWWA/WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th Ed., APHA, Washington, D.C.
- APPELS, L., BAEYENS, J., DEGREVE, J. and DEWIL, R. 2008. Principles and Potential of the Anaerobic Digestion of Waste-Activated Sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34:755-781.
- ARIESYADY, H.D., ITO, T. and OKABE, S. 2007. Functional bacterial and archaeal community structures of major trophic groups in a full scale anaerobic sludge digester. *Water Research*, 41:1554-1568.
- ASTM, E1196-92. 1992. Standard Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation Potential of Organic Chemicals. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA.
- BABEL, S., SAE-TANG, J. and PECHARAPLY, A., 2009. Anaerobic codigestion of sewage and brewery sludge for biogas production and land application. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 6(1): 131-140.
- BAEK, Y.W. and AN, Y.J. 2011. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Streptococcus aureus*. *Science of the Total Environment*, 409: 1603-1608.
- BARRENA, R., CASALS, E., COLON, J., FONT, X., SANCHEZ, A. and PUNTES, V. 2009. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. *Chemosphere*, 75: 850-857.

- BENN, T.M. and WESTERHOFF, P. 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environmental Science & Technology*, 42: 4133-4139.
- BONAZZI, M. 2010. Communicating nanotechnology. *European Commission*, Belçika. ISBN 978-92-79-1341-3-5. 188 p.
- BRAGUGLIA, C.M., GAGLIANO, M.C. and ROSSETTI, S. 2012. High frequency pretreatment for sludge anaerobic digestion: Effect on floc structure and microbial population. *Bioresource Technology*, 110:43-49.
- BRAR, S.K., VERMA, M., TYAGI, R.D. and SURAMPALLI, R.Y. 2010. Engineered Nanoparticles in Wastewater and Wastewater Sludge – Evidence and Impacts. *Waste Management*, 30: 504-520.
- BRAYDICH-STOLLE, L., HUSSAIN, S., SCHLAGER, J.J. and HOFMANN, M.C. 2005. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicol. Sci.*, 88: 412-419.
- BRIDOUX, G., DHULSTER, P. and MANEM, J. 1994. Grease Analysis on Municipal Waste Water Treatment Plants. *Techniques Sciences Methodes*, 5: 257-262.
- BUFFIERE, P., LOISEL, D., BERNET, N. and DELGENES, J.P. 2006. Towards new indicator for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties. *Wat. Sci.&Tech.*, 53(8): 233-241.
- BUZEA, C., PACHECO, I.I. and ROBBIE, K. 2007. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4): 55 p.
- CALO, D. and EICHLER, J. 2011. Crossing the membrane in Archaea, the third domain of life. *Biochemica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1808(3):885-891.
- CAO, Y. and PAWLOWSKI, A. 2012. Sewage sludge-to-energy approaches based on anaerobic digestion and pyrolysis: Brief overview and energy efficiency assesment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16: 1657-1665.
- CHAE, K.J., JANG, A., YIM, S.K. and KIM, I.S. 2008. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, 99:1-6.
- CHANG, C.N., MA, Y.S. and LO, C.W. 2002. Application of oxidation-reduction potential as a controlling parameter in waste activated sludge hydrolysis. *Chemical Engineering Journal*, 90(3): 273-281.
- CHEN, Y., CHENG, J.J. and CREAMER, K.S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99: 4044–4064.

- CHIRITA, M., and GROZESCU, I. 2009. Fe₂O₃ – Nanoparticles, physical properties and their photochemical and photoelectrochemical applications. *Chemical Bulletin of Politehnica University*, 54(68): 1, 2009.
- CITULSKI, J.A. and FARAHBAKHS, K. 2010. Fate of endocrine-active compounds during municipal biosolids treatment: a review. *Environ. Sci. Technol.*, 44: 8367-8376.
- CODINA, J.C., MUNOZ, M.A., CAZORLA, F.M., PEREZ-GARCIA, A., MORINIGO, M.A. and DE VICENTE, A. 1998. The inhibition of methanogenic activity from anaerobic domestic sludges as a simple toxicity bioassay. *Water Research*, 32(4): 1338-1342.
- CROCETTI, G.R., MURTO, M. and BJORNSSON, L. 2005. An update and optimisation of oligonucleotide probes targeting methanogenic Archaea for use in fluorescence in situ hybridisation (FISH). *J. Microbiol. Methods*, 65(1):194-201.
- ÇETECİOĞLU, Z., İNCE, B., ORHON, D. and İNCE, O. 2012. Acute inhibitory impact of antimicrobials on acetoclastic methanogenic activity. *Bioresource Technology*, 114: 109-116.
- ÇETECİOĞLU, Z., İNCE, B., GROS, M., MOZAZ RODRIGUEZ, S., BARCELO, D., ORHON, D. and İNCE, O. 2013. Chronic impact of tetracycline on the biodegradation of an organic substrate mixture under anaerobic conditions. *Water Research*, 47: 2959-2969.
- DAIMS, H., BRÜHL, A., AMANN, R., SCHLEIFER, K.H. and WAGNER, M. 1999. The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: Development and evaluation of a more comprehensive probe set. *Syst. Appl. Microbiol.* 22:434-444.
- DEMİREL, B., YENİGÜN, O. and ONAY, T.T. 2005. Süt endüstrisi atıksularının havasız arıtımı. *İTÜ Dergisi-Su Kirlenmesi Kontrolü*, 15(1-3): 3-16.
- DIEKERT, G. and WOHLFARTH, G. 1994. Metabolism of homoacetogens. *Kluwer Academic Publishers, Antoine van Leeuwenhoek*, 66:209-221.
- DISCOVERNANO, Northwestern University. 2005. http://www.discovernano.northwestern.edu/whatis/index_html/howsmall_html
- DREYWOOD, R. 1946. Qualitative test for carbohydrate material. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 18: 199.
- DUBROVSKIS, V. PLUME I., KOTELNECS V. and ZABAROVSKIS E. 2010. Anaerobic digestion of sewage sludge. 9th International Scientific Conference Engineering for rural development Proceedings, Volume (9) May 27-28.
- ENERJİ PİYASASI DÜZENLEME KURUMU (EPDK). 2010. Elektrik piyasası raporu.

- ENERJİ VE TABİİ KAYNAKLAR BAKANLIĞI. 2011. Genel enerji dengesi. http://www.enerji.gov.tr/EKLENTI_VIEW/index.php/raporlar/raporVeriGir/71073/2
- ERKOÇ, Ş. 2011. Nanobilim ve nanoteknoloji. *ODTÜ Yayıncılık*, 107 s.
- ERŞAHİN, M.E., ÖZGÜN, H., DERELİ, R.K. and ÖZTÜRK, İ. 2011. Anaerobic treatment of industrial effluents: An overview of applications. *Waste Water – Treatment and Reutilization*, ISBN: 978-953-307-249-4.
- EUROPEAN UNION Energy and Transport in Figures Brochure. 2010. *European Commission*, Belçika. ISBN 978-92-79-13815-7. 232 p.
- EUROPEAN UNION Energy in Figures Brochure. 2012. *European Commission*, Belçika. ISBN 978-92-79-22556-7. 117 p.
- ELEAZER, W.E., ODLE, W.S., WANG, Y.S. and BARLAZ, M.A. 1997. Biodegradability of municipal solid waste components in laboratory scale landfills. *Environmental Science & Technology*, 31: 911–917.
- FERNÁNDEZ, A., SÁNCHEZ, A. and FONT, X. 2005. Anaerobic co-digestion of asimulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. *Biochemical Engineering Journal*, 26: 22–28.
- GARCIA, A., DELGADO, L., TORA, J. A., CASALS, E., GONZALEZ, E., PUNTES, V., FONT, X., CARRERA, J. and SANCHEZ, A. 2012. Effect of cerium dioxide, titanium dioxide, silver and gold nanoparticles on the activity of microbial communities intended in wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 64-72: 199-200.
- GARTISER, S., URICH, E., ALEX, R. and KUMMERER, K. 2007. Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes. *Chemosphere*, 66:1839-1848.
- GÖKÇÖL, C., SUNAN, E. ve DURSUN B. 2008. Rüzgar enerjisi kullanılarak Gebze’de bir evin elektrik ihtiyacının karşılanması. *Elektrik – Elektronik ve Bilgisayar Mühendisliğ Sempozyumu*, Bursa.
- GÜVEN, G. 2004. Peyniraltı Atıksuyunun Elektrokimyasal Olarak Arıtılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 128 s.
- HALLOCK, M.F., GREENLEY, P., DiBERARDINIS, L. and KALLIN, D. 2009. Potential risks of nanomaterials and how to safely handle materials of uncertain toxicity. *Chemical Health and Safety of the American Chemical Society*, 1871-5532.
- HANDY, R.D. and SHAW, B.J. 2007. Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health Risk Soc.*, 9: 125-144.

- HANDY, R.D., VON DER KAMMER, F., LEAD, J.R., HASSELLÖV, M., OWEN, R. and CRANE, M. 2008. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17: 287-314.
- HANSEN, T.L., SCHMIDT, J.E., ANGELIDAKI, I., MARCA, E., JANSEN, J.C., MOSBÆK, H. and CHRISTENSEN, T.H. 2004. Method for determination of methane potentials of solid organic waste. *Waste Management*, 24: 393–400.
- HEO N.H., PARK S.C., LEE J.S. and KANG H. 2003. Solubilization of waste activated sludge by alkaline pretreatment and biochemical methane potential (BMP) tests for anaerobic co-digestion of municipal organic waste. *Water Science and Technology*, 48 (8): 211–219.
- HESTER, R.E. and HARRISON, R.M. 2007. Nanotechnology: Consequences for Human Health and the Environment. *RSC Publishing*, ISBN-13 978-0-85404-216-6. 149 p.
- HOLM-NIELSEN, J.B., AL SEADI, T. and OLESKOWICZ-POPIEL, P. 2009. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource Technology*, 100:5478-5484.
- HUSSAIN, S.M., HESS, K.L., GEARHART, J.M., GEISS, K.T. and SCHLAGER, J.J. 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol. in Vitro*, 19: 975-983.
- ISO 13641-1:2003, Water Quality – Determination of Inhibition of Gas Production of Anaerobic Bacteria, Part 1: General Test, 2003.
- JEON, E.J., BAE, S.J., LEE, D.H., SEO, D.C., CHUN, S.K., LEE, N.H., and KIM J.Y. 2007. Methane generation potential and biodegradability of MSW components. Proceedings Sardinia 2007, Eleventh International Waste Management and Landfill Symposium, Cagliari, Italy.
- JI, Z., CHEN, G. and CHEN, Y. 2010. Effects of waste activated sludge and surfactant addition on primary sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation. *Bioresource Technology*, 101(10): 3457-3462.
- JIANG, W., MASHAYEKHI, H. and XING, B. 2009. Bacterial toxicity comparison between nano and micro-scaled oxide particles. *Environmental pollution*, 157: 1619-1625.
- JIN, P., BHATTACHARYA, S.K., WILLIAMA, C.J. and ZHANG, H. 1998. Effects of sulfide addition on copper inhibition in methanogenic systems. *Water Res*, 32: 977–988.
- JUOTTENEN, H. 2008. Archaea, Bacteria and methane producing along environmental gradients in fens and bogs. Ph. D. Dissertation. *University of Helsinki*, Helsinki, Finland.

- KAHRU, A. and DUBOURGÜER, H. C. 2010. From ecotoxicology to nanotoxicology. *Toxicology*, 269: 105-119.
- KATZ, E. A. 2006. Fullerene Thin Films as Photovoltaic Material. ISBN 978-0-444-52844-5. <https://en.wikipedia.org/wiki/Buckminsterfullerene#Katz>
- KELESSIDIS, A. and STATSINAKIS, A. S. 2012. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. *Waste Manage.*, 32: 1186-1195.
- KESTİOĞLU, K. 2001. Atıksu arıtımında biyokimyasal prosesler. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No:170, 233 s.
- KHANNA, V. 2009. Environmental and risk assessment at multiple scales with application to emerging nanotechnologies. Ph. D. Dissertation. *Ohio State University*, Ohio, USA.
- KHANAL, S.K. 2008. Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications. A John Wiley & Sons, Ltd. Publications, USA, 299 p.
- KIM, H.W., HAN, S.K. and SHIN, H.S. 2003. The optimisation of food waste addition as a co-substrate in anaerobic digestion of sewage sludge. *Waste Manage. Res.*, 21: 515-526.
- KIM, B., PARK, C.S., MURAYAMA, M. and HOHELLA, M.F. 2010. Discovery and characterization of silver sulfide nanoparticles in final sewage sludge products. *Environmental Science & Technology*, 44: 7509-7514.
- KIM, H.W., NAM, J.Y., KANG, S.T., KIM, D.H., JUNG, K.W. and SHIN, H.S. 2012. Hydrolytic activities of extracellular enzymes in thermophilic and mesophilic anaerobic sequencing-batch reactors treating organic fractions of municipal solid wastes. *Bioresource Technology*, 110:130-134.
- KISER, M.A., RYU, H., JANG, H., HRISTOSKI, K. and WESTERHOFF, P. 2010. Biosorption of nanoparticles to heterotrophic wastewater biomass. *Water Research*, 44: 4105-4114.
- KLAINÉ, S.J., ALVAREZ, P.J.J., BATLEY, G.E., FERNANDES, T.F., HANDY, R. D., LYON, D.Y., MAHENDRA, S., McLAUGHLIN, M.J. and LEAD, J.R. 2008. Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(9): 1825-1851.
- KOLAR, L., KUZEL, S. PETERKA, J. and STINDL, P. Agrochemical value of organic matter of fermenter wastes in biogas production V. *Plant soil environ.*, 54, 2008 (8): 321–328
- KORENAGA, T., TKAHASI, T., MERIWAKE, T. and SANUKI, S. 1990. Water quality monitoring system using a flow-through sensing device, Instrumentation, control and automation of water and wastewater treatment and transport system.

Advances in Water Pollution Control, 10:625-631. Ed. Briggs R., Pergamon Press, London

- KURNIAWAN, F. 2008. New analytical applications of gold nanoparticles. Ph. D. Dissertation. *University of Regensburg*, Germany.
- LAM, C.W., JAMES, J.T., McCLUSKEY, R. and HUNTER, R.L. 2004. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci.*, 77: 126-134.
- LAURENT, J., CASELLAS, M., CARRERE, H. and DAGOT, C. 2011. Effects of thermal hydrolysis on activated sludge solubilization, surface properties and heavy metals biosorption. *Chemical Engineering Journal*, 166(3): 841-849.
- LIMBACH, L.K., BEREITER, R., MÜLLER, E., KREBS, R. and STARK, W.J. 2008. Removal of oxide nanoparticles in a model wastewater treatment plant: Influence of agglomeration and surfactants on clearing efficiency. *Environmental Science & Technology*, 42: 5828-5833.
- LIU, C.F., YUAN, X.Z., ZENG, G.M., LI, W.W. and LI, J. 2008. Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 99(4): 882-888.
- LONG, H. 2010. Aerobic and anaerobic digestion and types of decomposition. *Operation of Wastewater Treatment Plants*, Sacramento, CA.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FAU, A.L. and RANDALL, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- LUNA-DELRISCO, M., ORUPOLD, K. and DUBOURGUIER, H.C. 2011. Particle-size effect of CuO and ZnO on biogas and methane production during anaerobic digestion. *Journal of Hazardous Materials*, 189: 603-608.
- LUTHER, W. 2004. Industrial application of nanomaterials – chances and risks. *Future Technologies*, 54: 119 p. ISSN: 1436-5928.
- MADSEN, M., HOLM-NIELSEN, J.B. and ESBENSEN, K.H. 2011. Monitoring of anaerobic digestion process: A review perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15: 3141-3155.
- MAILLERET, L., BERNARD, O. and STEYER, J.P. 2003. Robust Regulation of Anaerobic Digestion Processes. *Water Science and Technology*, 48: 87-94.
- MATA-ALVAREZ, J. 2002. Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste, IWA Publishing, London, UK. 339p.
- MEREDITH, W.D. 1990. Recent innovations in instrumentation for sewage treatment plant monitoring and control, instrumentation, control and automation of water

- and wastewater treatment and transport system. *Advances in Water Pollution Control*, 10:699-703. Ed. Briggs R., Pergamon Press, London.
- MILLER, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31: 426–428.
- MOTTET, A., FRANCOIS, E., LATRILLE E., STEYER J.P., DELERIS S., VEDRENNE F. and CARRERE H. 2010. Estimating anaerobic biodegradability indicators for waste activated sludge. *Chemical Engineering Journal*, 160: 488-496.
- MRAFKOVA, L., GOI, D., GALLO, V. and COLUSSI, I. 2003. Preliminary evaluation of inhibitory effects of some substances on aerobic and anaerobic treatment plant biomasses. *Chem. Biochem. Eng.* 17(3): 243-247.
- MU, H. and CHEN, Y. 2011. Long-term effect of ZnO nanoparticles on waste activated sludge anaerobic digestion. *Water Research*, 45: 5612-5620.
- MU, H., CHEN, Y. and XIAO, N. 2011. Effects of metal oxide nanoparticles (TiO₂, Al₂O₃, SiO₂ and ZnO) on waste activated sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 102: 10305-10311.
- MUNICIPAL WASTEWATER TREATMENT PLANT ENERGY BASELINE STUDY. 2003. *PG&E New Construction Energy Management Program*, San Francisco, CA. 43p.
- NAGAO, N., TAJIMA, N., KAWAI, M., NIWA, C., KUROSAWA, N., MATSUYAMA, T., YUSOFF, F. M. and TODA, T. 2012 Maximum organic loading rate for the single-stage wet anaerobic digestion of food waste. *Bioresource Technology*, 118: 210-218.
- NARIHIRO, T. and SEKIGUCHI, Y. 2007. Microbial communities in anaerobic digestion processes for waste and wastewater treatment: a microbiological update. *Current Opinion in Biotechnology*, 18: 273-278.
- NYBERG, L., TURCO, R.F. and NIES, L. 2008. Assessing the impact of nanomaterials on anaerobic microbial communities. *Environmental Science & Technology*, 42: 1938-1943.
- OLSSON, G., NIELSEN, M., JENSEN, A.L. and YUAN, Z. 2005. Instrumentation, control and automation in wastewater systems. *IWA Publishing*, Londra. 247 p.
- 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.
- OWENS, J.M. and CHYNOWETH, D.P. 1993. Biochemical methane potential of municipal solid waste components. *Water Science & Technology*, 27: 1–14.

- ÖZTÜRK, İ. 2007. Anaerobik Arıtma ve Uygulamaları. Su Vakfı Yayınları, İstanbul, 479 s.
- PARKIN, G.F. and OWEN, W.F. 1986. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. *J. Environ. Eng.*, 112: 867–920.
- PELLETIER, D.A. 2010. Effects of engineered cerium oxide nanoparticles on bacterial growth and viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 7981-7989.
- PERALTA-VIDEA, J., ZHAO, L., LOPEZ-MORENO, M. L., DE LA ROSA, G., HONG, J. and GARDEA-TORRESDEY, J.L. 2011. Nanomaterials and the environment: A review for the biennium 2008-2010. *Journal of Hazardous Materials*, 186: 1-15.
- PERENDEÇİ, A. 1997. Şeker Endüstrisi Atıksularının Anaerobik Arıtımı. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 107 s.
- PERENDEÇİ, A., EKİNCİ, F.Y. and GODON, J.J. 2013. Monitoring the performance and microbial diversity dynamics of a full scale anaerobic wastewater treatment plant treating sugar factory wastewater. *Environ. Sci.: Processes & Impacts*, 15: 494-502.
- PRABHU, S. and POULOSE, E.K. 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2: 32.
- QIAO, W., YON, X., YE, J., SUN, Y., WANG, W. and ZHANG, Z. 2011. Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pretreatment. *Renewable Energy*, 36: 3313-3318.
- QIAO, J.T., QIU, Y.L., YUAN, X.Z., SHI, X.S., XU, X.H. and GUO, R.B. 2013. Molecular characterization of bacterial and archaeal communities in a full scale anaerobic reactor treating corn straw. *Bioresource Technology*, 2013.06.014.
- RAPOSO, F., BANKS, C.J., SIEGERT, I., HEAVEN S. and BORJA, R. 2006. Influence of Inoculum to Substrate Ratio on the Biochemical Methane Potential of Maize in Batch Tests. *Process Biochemistry*, 41: 1444–1450.
- RASKIN, L., STROMLEY, J.M., RITTMANN, B.E. and STAHL, D.A. 1994. Group-specific 16SrRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens. *Appl. Env. Microbiol.*, 60:1232-1240
- REILLY, R.M. 2007. Carbon Nanotubes: Potential Benefits and Risks of Nanotechnology in Nuclear Medicine. *The Journal of Nuclear Medicine*, 48(7): 1039-1042,
- REIMANN, S.M. and MANNINEN, M. 2002. Electronic structure of quantum dots. *Reviews of Modern Physics*, 74(4): 1283-1342.

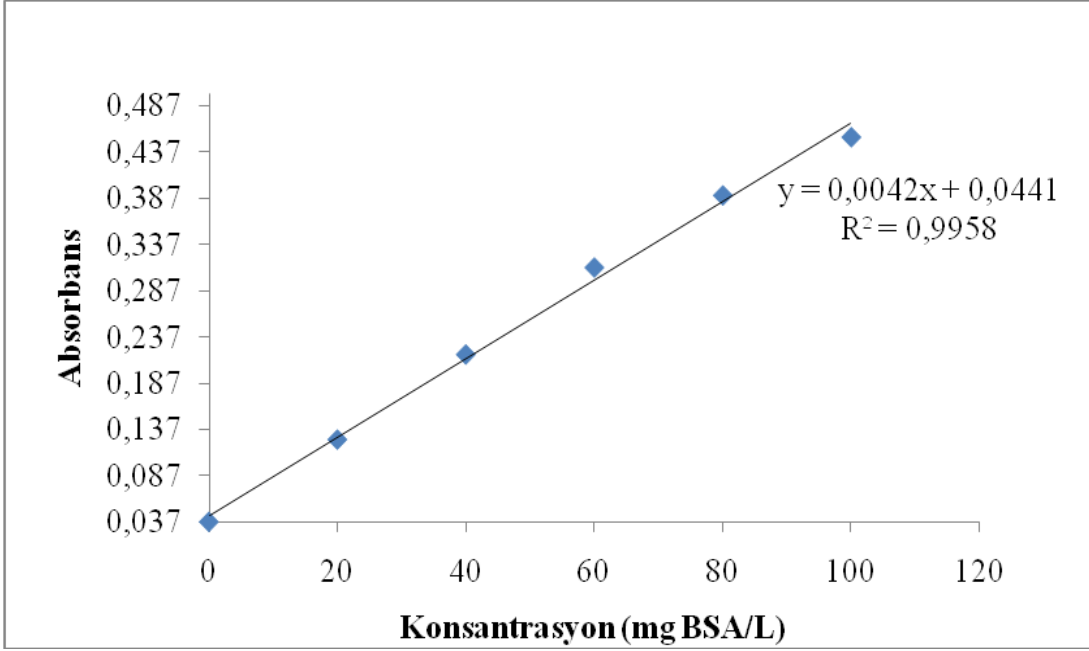
- RIZK, M.C., BERGAMASCO, R. and TAVARES, C.R.G. 2007. Anaerobic codigestion of fruit and vegetable waste and sewage sludge. *Int. J. Chem. React. Eng.*, 5: 1–10.
- ROUSK, J., ACKERMANN, K., CURLING, S.F. and DAVEY, L.J. 2012. Comparative toxicity of nanoparticulate CuO and ZnO to soil bacterial communities. *PLoS ONE*, 7(3): e34197.
- RUIZ, L., BLAZQUEZ, R. and SOTO, M. 2009. Methanogenic toxicity in anaerobic digesters treating municipal wastewater. *Bioresource Technology*, 100: 97-103.
- SAVOLAINEN, K., ALENIOUS, H., NORPPA, H., PYLKKANEN, L., TUOMI, T. and KASPER, G. 2010. Risk assessment of engineered nanomaterials and nanotechnologies- A review. *Toxicology*, 269: 92-104.
- SCHWEGMANN, H., FEITZ, A.J. and FRIMMEL, F.H. 2010. Influence of the zeta potential on the sorption and toxicity of iron oxide nanoparticles on *S. cerevisiae* and *E. coli*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 347: 43-48.
- SCIENTIFIC COMITEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS (SCENIHR). 2009. Risk assessment of products of nanotechnologies. 71 p.
- SERNA, E. 2009. Anaerobic digestion process. *Waste to Energy Research and Technology Council*, <http://www.wtert.eu/default.asp?Menu=13&ShowDok=12>.
- SHAO, L., WANG, T., LI, T., LU, F. and HE, P. 2013. Comparison of sludge digestion under aerobic and anaerobic conditions with a focus on the degradation of proteins at mesophilic temperature. *Bioresource Technology*, 140: 131-137.
- SMITH, J.A. and CARLIELL-MARQUET, C.M. 2009. A novel laboratory method to determine the biogas potential of iron-dosed activated sludge. *Bioresource Technology*, 100: 1767-1774.
- STAHL, D.A. and AMANN, R. 1991. Development and application of nucleic acid probes. 205-248. In E. Stackebrandt and M. Goodfellow (ed.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England.
- STASINAKIS, A.S. 2012. Review on the fate of emerging contaminants during sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 121: 432-440.
- TABATABAEI, M., RAHIM, R.A., ABDULLAH, N., WRIGHT, A.D.G., SHIRAI, Y., SAKAI, K., SULAIMAN, A. and HASSAN, M.A. 2010. Importance of the methanogenic archaea populations in anaerobic wastewater treatments. *Process Biochemistry*, 45(8):1214-1225.
- TAEKIM, K., KLAINE, S.J., CHO, J., KIM, S.H. and KIM, S.D. 2010. Oxidative stress responses of *Daphnia Magna* exposed to TiO₂ nanoparticles according to size fraction. *Science of the Total Environment*, 408: 2268-2272.

- TAKENAKA, S., KARG, E., KREYLING, W.G., LENTNER, B., SCHULZ, H., ZIESENIS, A., SCHRAMEL, P. and HEYDER, J. 2004. Fate and toxic effects of inhaled ultrafine cadmium oxide particles in the rat lung. *Inhal. Toxicol.*, 16:83-92.
- THE PROJECT ON EMERGING NANOTECHNOLOGIES. 2013. Current medical applications – Commercialized. <http://www.nanotechproject.org/inventories/medicine/apps/>.
- TOPKAYA, B. 2013. Kentsel katı atıklardan kompost üretimi. *I. Ulusal Kompost ve Biyogaz Çalıştayı Bildiri Özetleri*, 8-58.
- TOTZKE, D. 2012. Anaerobic treatment technology overview. <http://www.atiae.com/resources/tech-talk/208-2012-ant-overview.html>
- TUFANER, F., AVŞAR, Y., TÜRKMENLER, H., DERE, T. ve GÖNÜLLÜ, M. T. 2013. Türkiye’de biyogaz tesisi ve projelerinde başarı ve başarısızlık nedenlerinin analizi ve merkezi biyogaz tesislerinin önemi. *I. Ulusal Kompost ve Biyogaz Çalıştayı Bildiri Özetleri*, 41-58.
- TÜRKER, M. 2008. Anaerobik Biyoteknoloji ve Biyoenerji Üretimi, ÇEVKOR, 10, İzmir, 255 s.
- TYAGI, V.K. and LO, S.L. 2013. Sludge: A waste or renewable source for energy and resources recovery?. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 25: 708-728.
- VAN SOEST, P.J. 1963. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fibre and lignin. *Journal of the Association of Analytical Chemists*, 46 (5): 829–835.
- WANG, Y., WESTERHOFF, P. and HRISTOVSKI, K.D. 2012. Fate and biological effects of silver, titanium dioxide and C₆₀ (Fullerene) nanomaterials during simulated wastewater treatment processes. *Journal of Hazardous Materials*, 201-202: 16-22.
- WARD, A.J., HOBBS, P.J., HOLLIMAN, P.J. and JONES, D.L. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resourcec. *Bioresource Technology*, 99:7928-7940.
- WIESNER, R.M. and BOTTERO, J.Y. 2007. Environmental nanotechnology: Applications and impacts of nanomaterials. McGraw Hill Publishing, USA. 554 p.
- WONG, K.K.Y. 2013. Silver nanoparticles in medicine: Is the Panacea here?. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*.
- YADVIKA, S., SREEKRISHNAN, T.R., KOHLI, S. and RANA, V. 2004. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques – a review. *Bioresource Technology*, 95(1): 1-10.

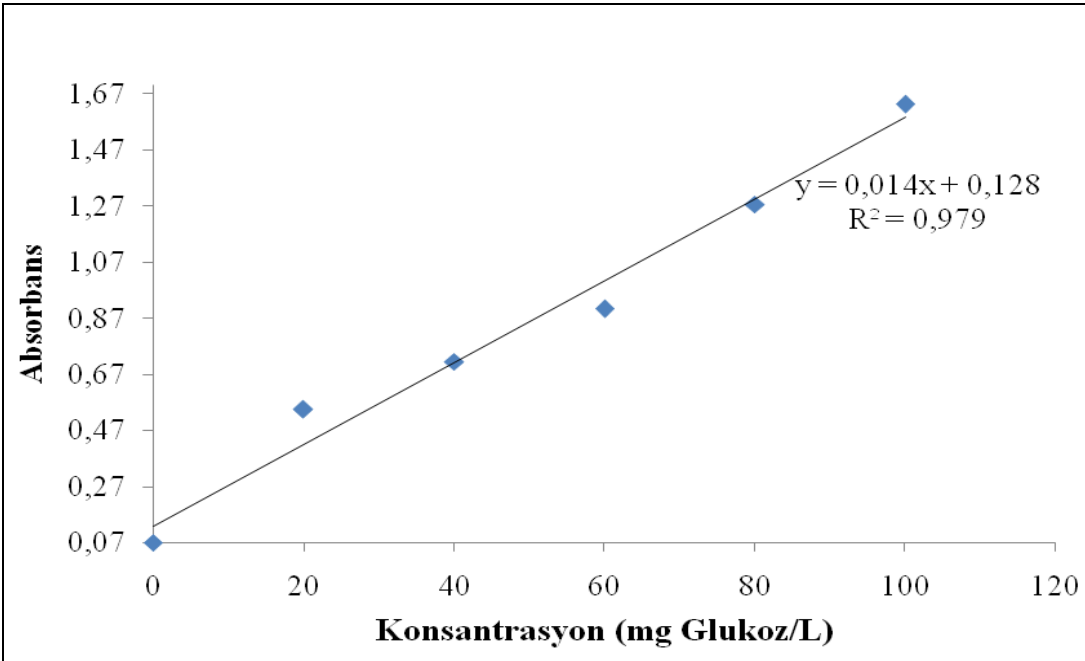
- YALDIZ, O. 2013. Türkiye’de biyogaz üretim stratejisi ve beklenen gelişmeler. *I. Ulusal Kompost ve Biyogaz Çalıştayı Bildiri Özetleri*, 29-58.
- YANG, Y., CHEN, Q., WALL, J.D. and HU, Z. 2012. Potential nanosilver impact on anaerobic digestion at moderate silver concentrations. *Water Research*, 46(4): 1176-1184.
- ZIEMBA, C. and PECCIA, J. 2011. Net energy production associated with pathogen inactivation during mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Research*, 45(16):4758-4768.

7. EKLER

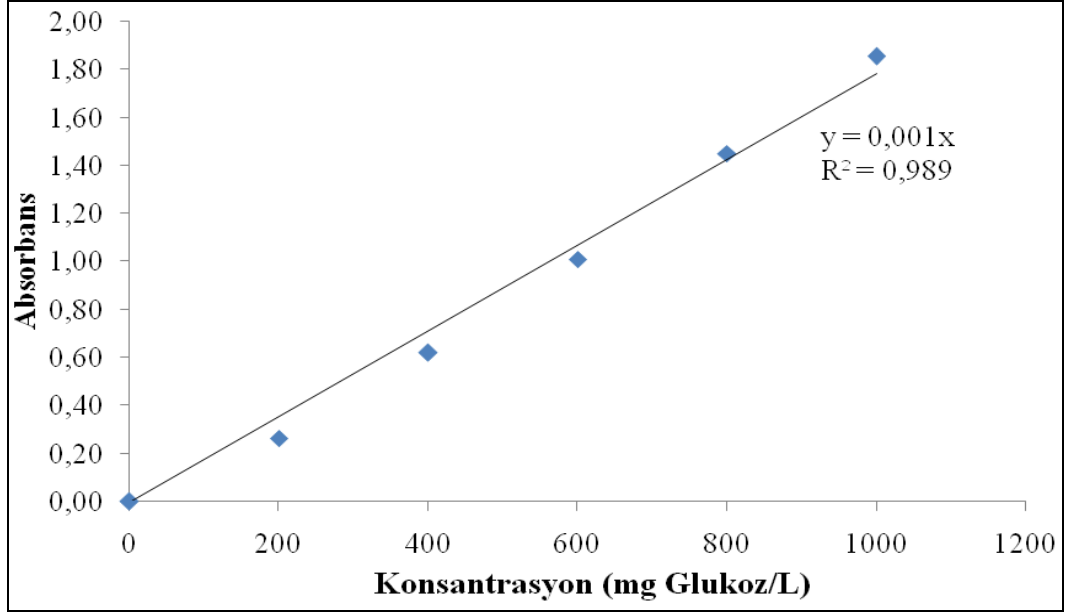
EK-I. Protein analizi için kullanılan standart kalibrasyon eğrisi



EK-II. Şeker analizi için kullanılan standart kalibrasyon eğrisi



EK-III. İndirgen şeker analizi için hazırlanan standart glikoz kalibrasyon eğrisi



ÖZGEÇMİŞ

Elçin Kökdemir ÜNŞAR 1986 yılında Ankara'da doğdu. İlköğrenimini Alanya'da, orta öğrenimini Antalya'da, lise öğrenimini Antalya ve Danimarka-Roskilde'de tamamladı. 2005 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü'nden 2010 yılında Çevre Mühendisi olarak mezun oldu. Eylül 2010 - Temmuz 2013 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimini tamamladı.