

Azot kısıtlı atıksulardan biyoplastik üretimi için yeni bir aktif çamur prosesi

Bertan BAŞAK*, **Orhan İNCE**

İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı, 34469, Ayazağa, İstanbul

Özet

Bu çalışmada, biyolojik olarak tümüyle ayrışabilir nitelikte poliestерler oldukları için biyoplastik olarak bilinen malzemenin hammaddesi olarak kullanılan polihidroksialkanoatların (PHA), karışık mikrobiyal kültürler tarafından, farklı işletme koşullarındaki üretimleri karşılaştırılmıştır. Biyokütle zenginleştirmek amacıyla aerobik dinamik besleme (ADB) koşullarında üç ardışık kesikli reaktör (AKR) işletilmiş ve AKR çevrimi süresince azot varlığının popülasyon dinamiklerine ve seçilen biyokütlenin depolama yeteneğine etkisi araştırılmıştır. Reaktörlerden biri ilk defa bu çalışmada önerilen ve gecikmiş azot besleme (GAB) olarak adlandırılan bir yöntemle beslenmiştir. Azot ve karbonun bir arada bulunmalarının engellendiği bu prosesten alınan biyokütle ile gerçekleştirilen kesikli deneylerde, elde edilen spesifik polimer depolama hızı, substratın polimere dönüşüm oranı, depolanan polimer miktarı ve biyokütlenin polimer içeriğinin genellikle daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Her bir AKR'deki bakteriyel çeşitlilikte gözlenen değişim farklılık gösterse de β -proteobacteria'nın Rhodocyclaceae ailesine bağlı türler, özellikle de Zoogloae her üç reaktörde de sürekli baskın olmuştur. AKR'lerden alınan biyokütle tarafından depolanan polimer konsantrasyonu, artan substrat yüklemesine bağlı olarak artmıştır. Azotsuz olarak gerçekleştirilen deneylerde artan substrat yüklemeleri spesifik polimer depolama hızında artışa yol açarken, azotla gerçekleştirilen deneylerde bu durum depolama hızında düşüşe yol açmıştır. Substratın polimere dönüşüm oranı her üç biyokütle için de artan substrat yüklemesine bağlı olarak düşmüştür. AKR işletimi sırasında ve bu reaktörden alınan çamur ile gerçekleştirilen deneyler sırasında uygulanan koşullar arasındaki uyumun polimer depolamasına olumlu yönde etki ettiği belirlenmiştir. Substrat türü ile depolanan polimerin yapısı arasında sıkı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aktif çamur, polihidroksialkanoatlar (PHA), biyoplastik, aerobik dinamik besleme (ADB), gecikmiş azot besleme (GAB).

*Yazışmaların yapılacağı yazar: Bertan BAŞAK. bertanbasak@gmail.com; Tel: (533) 215 45 43.

Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı'nda tamamlanmış olan "Comperative evaluation of microbial diversity and PHA storage ability of activated sludge under different operating conditions" adlı doktora tezinden hazırlanmıştır. Makale metni 18.05.2010 tarihinde dergiye ulaşmış, 10.06.2010 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 31.08.2011 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir. Bu makaleye "Başak, B., İnce, O., (2011) 'Azot kısıtlı atıksulardan biyoplastik üretimi için yeni bir aktif çamur prosesi', İTÜ Dergisi/E Su Kirlenmesi Kontrolü, 21: 1, 45-54" şeklinde atıf yapabilirsiniz.

A novel activated sludge process for production of bioplastic from nitrogen deficient wastewaters

Extended abstract

Polyhydroxyalkanoates (PHAs), which are biologically-derived and completely biodegradable polyesters, represents a potentially sustainable substitution to synthetic polymers known as plastics. Currently, high production and recovery costs are the main limitations for the bulk production of bioplastics. PHA production processes based on mixed microbial cultures, such as activated sludge systems, are being investigated as a possible technology to decrease production costs. In activated sludge systems no sterilization is required and bacteria can adapt quite well to the complex and cheap substrates, such as wastewaters. To understand the impact of different enrichment strategies on PHA production, and population dynamics is an obligation because selection of organisms with high storage ability is one of the most critical factors effecting on development of a competitive process for PHA production based on mixed cultures.

In this study, two sequencing batch reactors (SBR) were operated under aerobic dynamic feeding (ADF) conditions for biomass enrichment in order to investigate the effect of nitrogen (N) availability during a SBR cycle, on PHA accumulation ability of selected biomass. In one of the reactors nitrogen was depleted completely together with carbon source at the end of feast phase. The second SBR was operated with delayed nitrogen feeding (DNF) strategy which was proposed in this study. In this feeding regime synthetic wastewater without nitrogen was fed to the SBR and nitrogen source was fed to the reactor following substrate depletion to hinder being substrate and ammonia simultaneously in the reactor.

Changes in polymer storage ability of two biomasses were determined in terms of specific polymer storage rate, yield of polymer on substrate consumed, amount of polymer accumulated, and biomass polymer content. Polymer storage ability of biomasses enriched under ADF conditions were considerably higher when compared to those obtained for inoculum sludge. Substrate was accumulated mainly in the form of Polyhydroxybutyrate (PHB) because acetate was supplied as sole carbon source.

Experimental data showed that, throughout biomass enrichment, nitrogen restraint during substrate uptake stimulated polymer accumulation. Accordingly, polymer content of biomass enriched under dynamic conditions with DNF and also polymer yield and polymer uptake rate obtained for this biomass was higher. Amounts of PHAs accumulated were 199.5 and 234.9 mg/L on COD basis during cycles of SBRs operated without and with DNF respectively. Accordingly, yields of polymers on substrate consumed were 0.61 and 0.71 Cmmol PHA/Cmmol HAc for SBRs operated without and with DNF respectively. Specific polymer storage rate of biomass enriched under DNF conditions increased to 0.283 Cmmol PHA/Cmmol X.h, whereas that of biomass enriched under ADF conditions increased to 0.383 Cmmol PHA/Cmmol X.h.

Two batch experiments were conducted by using two different biomasses and applying a substrate loading of 0.4 g COD S/g COD X, which was four times of applied during SBR operation. Results obtained from batch experiments showed that concentrations of polymer accumulated by both sludges increased directly with substrate loading and higher polymer accumulation obtained for the biomass enriched under delayed nitrogen feeding conditions. Sludge polymer content (41.2% on COD basis) obtained for the biomass enriched under these conditions was also higher than that obtained for biomass enriched under ADF conditions. Yield of polymer on substrate consumed decreased with substrate loading for both sludges. Substrate was accumulated mainly in the form of hydroxybutyrate (HB) because acetate was supplied as sole carbon source.

Restriction of nitrogen availability during substrate uptake improved polymer storage ability of biomass. Among two different enrichment strategies, DNF process, which was proposed first time in this study, was found to be more effective. If this process optimized and combined with other strategies, such as pulsewise feeding control, it can be a stronger alternative to industrial production of PHAs achieved by pure cultures. Ammonia deficient organic wastes can be used as a cheap carbon source in this process for PHA production after a fermentation process.

Keywords: Activated sludge, polyhydroxyalkanoates (PHA), bioplastic, Aerobic Dynamic Feeding (ADF), Delayed Nitrogen Feeding (DNF).

Giriş

Biyolojik olarak üretilen ve biyolojik olarak tümüyle ayrışabilir nitelikte poliesterler olan polihidroksialkanoatlar (PHA) daha sürdürülebilir olduklarından, plastik dediğimiz sentetik polimerlerin yerini almaya adaydırlar. Biyoplastiklerin yaygın olarak üretilmelerinin önündeki en büyük engel yüksek üretim maliyetleridir (Lee, 1996; Fritz vd., 1998; Reddy vd., 2003). Aktif çamur gibi karışık mikrobiyal kültürlerle dayalı sistemler sterilizasyon gerektirmemeleri ve bakterilerin atıksu gibi karışık ve ucuz besinlere kolayca uyum sağlamaları nedeni ile bu sistemlere dayalı PHA üretimi düşük maliyetli bir olasılık olarak belirlemekte ve bu konudaki araştırmalar sürmektedir (Dias vd., 2006).

Yüksek depolama özelliğine sahip mikroorganizmaların seçilmesi, rekabet şansı yüksek bir PHA üretim sisteminin geliştirilmesi açısından hayati olduğundan, farklı zenginleştirme stratejilerinin PHA üretimine etkisinin anlaşılması bir zorunluluktur.

PHA, önemli bir karbon ve enerji depo maddesi olduğundan, aktif çamurda karşılaşılan pek çok mikroorganizmada bulunmakta ve özellikle elektron vericisi ve alıcısının birlikte bulunmadığı durumlarda önemli roller üstlenmektedir (Sato vd., 1998). Karbonlu substratın fazla miktarda bulunduğu ve ardından kısıtlı olduğu ardışık zaman dilimleri içeren aktif çamur sistemlerinin PHA depolama yeteneği yüksek bir biyokütlenin seçilmesinde etkili olduğu bilinmektedir. Aerobik dinamik besleme (ADB) ya da bolluk/kıtlık diye adlandırılan bu proseste, biyokütle aşırı substrat ile karşılaştığında PHA'nın depolanması ve büyüme birlikte gerçekleşmekte, mevcut substrat tükendiğinde de depolanan polimer, karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Majone vd., 1996).

Depolamanın gerçekleşmesi, substrat üzerinde büyümenin içsel ya da dışsal faktörler ile engellenmesine bağlıdır. İçsel faktörlerden büyüme için gerekli olan RNA ve enzimlerin, dışsal faktörlerden de oksijen ya da büyüme için gerekli olan besinlerin yeterli miktarda olup olmadığı anlaşılmaktadır. Uzun süren kıtlık periyodu, bü-

yüme için gerekli olan RNA ve enzimlerin miktarlarının azalmasına yol açmaktadır. Depolama için gerekli olan enzim miktarı, büyüme için gerekli olandan daha düşük olduğundan, kıtlığı takip eden bolluk periyodunda alınan substrat başlangıçta büyüme için değil depolama için kullanılmaktadır (Daiger, ve Grady, 1982). Görelilik olarak kısa bolluk ve uzun kıtlık evrelerini de içeren bir ardışık kesikli reaktör (AKR) işlemi, depolama yeteneği yüksek mikroorganizmaların seçilmesine yol açmaktadır.

İçsel faktörlerin denetlenmesi üzerine kurulu olan ve Serafim ve diğerleri (2004) tarafından optimize edilen ADB prosesi şimdiye kadar karışık kültürler kullanılarak PHA üretilmesi için geliştirilen en etkili prosestir. Ayrıca bu proseste zenginleştirilen biyokütle ile yapılan kesikli deneyler atıksuyun azot içeriğinin kısıtlanmasının, daha yüksek bir polimer içeriğine ve dönüşüm oranına yol açtığını göstermiştir. Punrattanasin ve diğerleri (2006)'de en yüksek dönüşüm oranını, azot ve fosforun kısıtlı olduğu gerçekleştirdikleri kesikli deneylerde elde etmelerine rağmen bu şartlarda biyokütle zenginleştirme konusunda başarılı olamamışlardır.

İlk defa bu çalışmada önerilen ve ADB prosesi- nin bir modifikasyonu olan gecikmiş azot besleme (GAB) prosesi, substrat üzerinde büyümenin engellenmesi için içsel ve dışsal faktörlerin birlikte uygulanmasını hedeflemektedir. Reaktörde azot ve karbonun birlikte bulunmadığı bu sistemde uzun bir kıtlık evresinin ardından reaktöre azot içermeyen bir atıksu beslenmekte ve azot çözeltisi, mevcut karbon kaynağı tüketildikten sonra reaktöre verilmektedir. Bu çalışmada, biyokütle iki AKR'de sentetik olarak hazırlanmış azot kısıtlı bir numuneyle (KOİ/N/P: 100/2/2) yaklaşık 80 gün süresince zenginleştirilmiştir Reaktörlerden birinde (ADB), azot diğer bileşenlerle birlikte sisteme beslenirken, diğer reaktörde (GAB) gerekli olan azot miktarı diğer bileşenlerden ayrı olarak ve onlardan bir saat sonra reaktöre ilave edilmiştir. Her iki reaktörden alınan çamurla yapılan kesikli deneyler ile önerilen prosesin ADB ile karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Materyal ve yöntem

Laboratuvar ölçekli ardışık kesikli reaktörler, atık kağıttan, kağıt ve karton üreten bir tesisin (Halkalı Kağıt Karton Sanayi ve Tic. A.Ş.), arıtma tesisinden alınan bir aktif çamur ile aşılanmıştır. AKR çevrimi 5 saat reaksiyon, 30 dakika çökeltme ve 30 dakika boşaltma fazlarından oluşmaktadır. Reaktörlerin çalışma hacmi 3 L olup, çevrim sonundaki 1.5 L'lik üst faz boşaltılmakta ve bu hacim taze sentetik atıksu ile doldurulmaktadır. Doldurma işlemi 3 dakika sürmektedir. Reaktörler doldurma boşaltma pompaları, havalandırma pompaları ve karıştırıcılar ile donatılmış olup, mevcut ekipman otomatik olarak kontrol edilmiştir. Çalışma, sıcaklığı kontrol edilen bir laboratuvar (20±2°C) gerçekleştirilmiş ve çalışma sırasında reaktörlerin pH'ı kontrol edilmemiştir. Reaktörler, çamur yaşı 8 gün olacak şekilde çalıştırılmış ve nitrifikasyon thiourea kullanılarak engellenmiştir. Her iki reaktör de giriş KOİ konsantrasyonu 300 mg/L olan ve KOİ/N/P oranı 100/2/2 olan sentetik olarak hazırlanmış numuneyle beslenmiştir. Karbon kaynağı olarak sodyum asetat kullanılmış olup numune karakteri Tablo 1'de gösterilmiştir. Reaktörlerden birinde (ADB), azot diğer bileşenlerle birlikte sisteme beslenirken, diğer reaktörde (GAB) gerekli olan azot miktarı diğer bileşenlerden ayrı olarak ve onlardan bir saat sonra reaktöre ilave edilmiştir.

Tablo 1. Reaktörlere beslenen sentetik atıksuyun karakteri

Bileşen	Birim	Konsantrasyon
KOİ	mg/L	300
NH ₃ -N	mg N/L	6
P	mg/L	6
Mg	mg/L	4.44
Ca	mg/L	2.16
Fe	mg/L	0.6
Zn	mg/L	0.55
Mn	mg/L	0.4

Gerçekleştirilen iki kesikli deneyde farklı AKR'lerden alınan biyokütleler, azot içermeyen sentetik olarak hazırlanmış bir numune ile beslenmiştir. Azot dışındaki parametreler AKR işletimi sırasında beslenenin dört katı olacak şekilde ayarlanmıştır.

PHA ölçümü için alınan biyokütle örnekleri, 2 damla formaldehit içeren 10 mL'lik santrifüj tüplerine alınmış, santrifüj edildikten sonra fosfat tamponu ile yıkanmıştır. İkinci santrifüj sonrasında elde edilen topak liyofilize edilmiştir. Ekstraksiyon, hidroliz ve esterleştirme işlemleri Beun ve diğerleri (2000) tarafından belirtildiği şekilde, hidroklorik asit, 1-propanol ve diklore-tan karışımı kullanılarak 100°C'de gerçekleştirilmiştir. Serbest asitleri gidermek için yapılan distile su ile yıkamanın ardından, çözelti santrifüj edilerek fazların ayrılması sağlanmış ve organik faz gaz kromatograf (Agilent 6980N) ile analiz edilmiştir.

AKR işletimi sırasında periyodik olarak alınan numunelerde KOİ, NH₃-N, AKM, UAKM ve pH ölçülmüştür. Bunlara ilave olarak kesikli deneyler sırasında alınan numunelerde asetat konsantrasyonu da belirlenmiştir. KOİ ve NH₃-N için alınan numuneler 0.45 µm şırınga filtreden süzöldükten sonra analiz edilmişler, asetat miktarının tayin edildiği numuneler önce 0.22 µm şırınga filtreden süzölmüş ve asetat tayini bu numuneler üzerinde Agilent 6980N marka gaz kromatograf kullanılarak gerçekleştirilmiştir. KOİ, AKM ve UAKM analizleri Standart Metodlar'da belirtildiği gibi yapılmıştır (APHA, 2005). NH₃-N konsantrasyonu Neslerizasyon işleminin ardından spektrofotometre ile belirlenmiştir (Greenberg vd., 1992).

Toplam PHA konsantrasyonu, ölçülen hidroksi-bütirat, hidroksivalerat ve hidroksimetilvalerat konsantrasyonlarının KOİ cinsinden ifade edilip toplanması ile elde edilmiştir.

DeneySEL çalışMA sonUçları

İşletim süresince AKR performansı

Her iki AKR'nin de ilk hafta %90'ın üzerinde olan KOİ giderim verimleri biraz daha artarak %95'in üzerine çıkmıştır ve operasyon süresince bu değerin üzerinde kalmıştır. ADB prosesinde daha yüksek bir substrat alım hızı elde edilmiş ve beslenen KOİ'nin neredeyse tamamının ilk 15 dakika içerisinde tüketildiği gözlenmiştir. Dolayısıyla ilk 15 dakika bolluk, takip eden 275 dakika da kıtlık fazı olarak düşünülmüştür. GAB prosesinde reaktöre beslenen KOİ'nin neredeyse tamamı ilk 30 dakika içerisinde tüke-

tilmiştir fakat bu proseste karbon ve azot birlikte bulunmadıklarından tam bir bolluk fazından bahsetmek mümkün değildir.

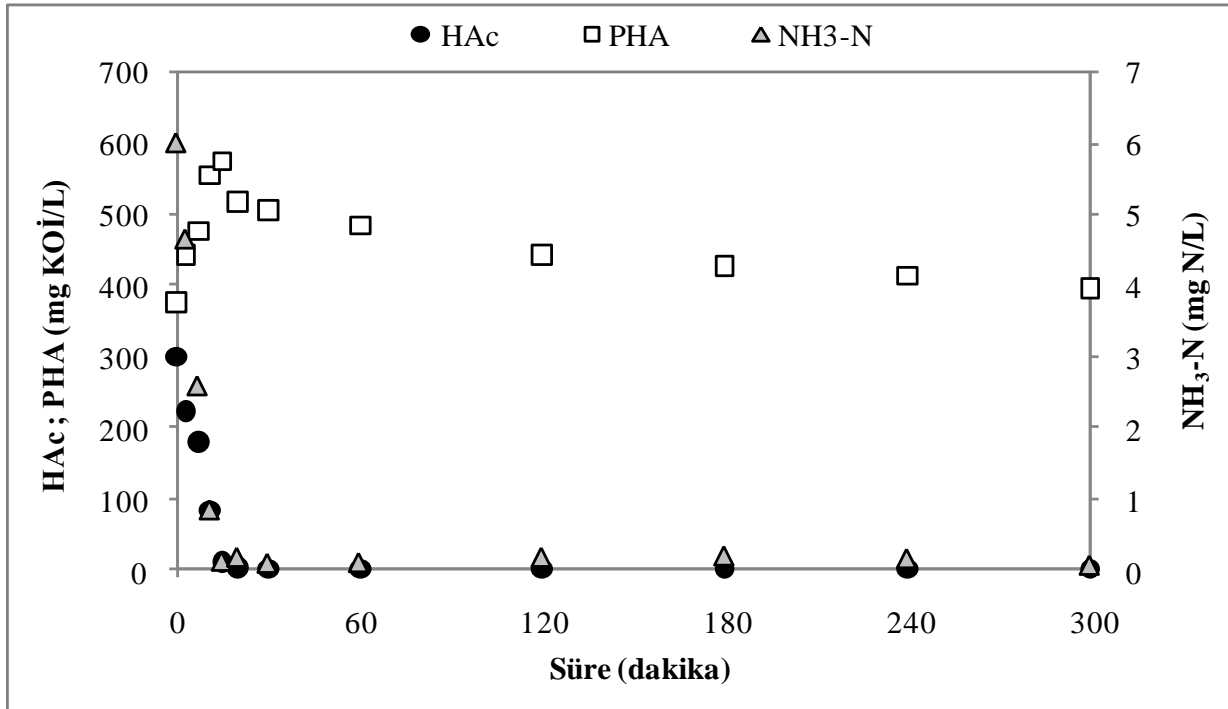
ADB reaktöründe 40 gün içerisinde 2310 mg/L'ye ulaşan UAKM konsantrasyonu operasyonun geri kalan kısmında neredeyse değişmemiştir. GAB reaktörü için tespit edilen UAKM konsantrasyonu ise 2560 mg/L'dir.

ADB reaktöründe operasyonun başında tamamı 2 saat içerisinde tüketilen azotun, zamanla alım hızı yükselmiş ve yaklaşık 1 ay içerisinde beslenen azotu tamamı asetat gibi ilk 15 dakika içerisinde tüketilir hale gelmiştir. GAB reaktörüne, asetattan 1 saat sonra beslenen azotun tüketim hızındaki artış daha yavaş olmuştur. Beslenen azotun tamamının aynı çevrim içerisinde tüketilmesi 1 haftalık bir işletim süresinin ardından gerçekleşmiştir. Yaklaşık 45 gün içerisinde de, beslenen azotun neredeyse tamamı ilk 15 dakika içerisinde tüketilmeye başlanmıştır.

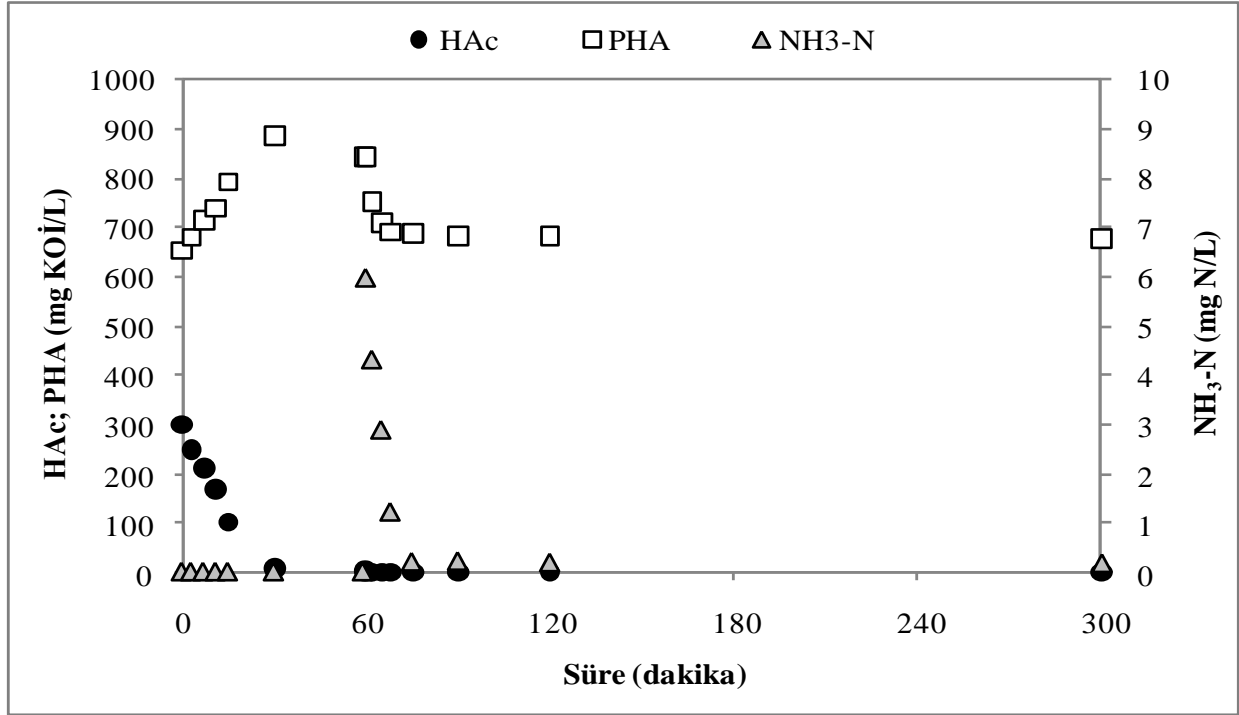
ADB ve GAB koşullarında işletilen reaktörlerin bir çevrimleri sırasında KOİ, PHA ve NH₃-N konsantrasyonlarında gözlenen değişimler sırasıyla Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir.

AKR işletimi süresince PHA depolama performansı

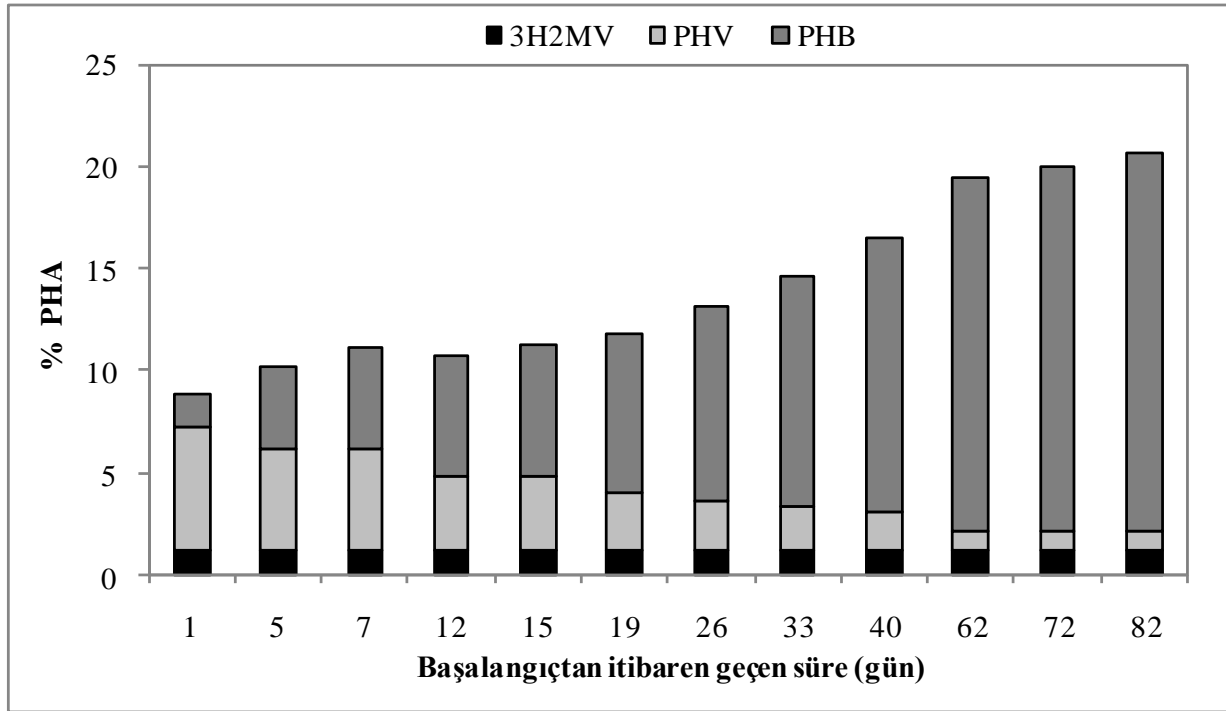
ADB reaktöründe aşı çamuru olarak kullanılan biyokütlenin içerdiği polimer fraksiyonları arasında, PHV %5.7 ile en önemli kısmı oluşturmaktadır. PHB ve 3H2MV fraksiyonları sırasıyla biyokütlenin %1.2'si ve %1.3'ü kadardır. AKR operasyonu boyunca çamurun 3H2MV içeriği değişmemiş, PHV içeriği ise yavaşça %0.9'a düşmüştür. Substrat olarak asetat kullanılmasına bağlı olarak, biyokütlenin PHB içeriği sürekli artmış ve 82 gün sonunda %18.6'ya ulaşmıştır. ADB reaktörünün işletimi sırasında çamurun içerdiği polimer fraksiyonlarındaki değişimler Şekil 3'te gösterilmiştir. Bir çevrim süresince depolanan polimer konsantrasyonunun ADB reaktörünün işletimi sırasında 58.6 mg KOİ/L den 185.5 mg KOİ/L ye yükseldiği gözlenmiştir. ADB reaktörü için hesaplanan, q_s, spesifik asetat alım hızı (Cmmol HAc/Cmmol X.h), q_p, spesifik polimer depolama hızı (Cmmol PHA/Cmmol X.h), Y_{P/S}, substratın polimere dönüşüm oranı (Cmmol PHA/Cmmol HAc) ve ΔPHA, bir çevrim süresince depolanan polimer miktarındaki (mg KOİ/L) gelişim Tablo 2'de gösterilmiştir.



Şekil 1. ADB reaktöründe asetat, PHA ve NH₃-N konsantrasyonlarında gözlenen değişimler



Şekil 2. GAB reaktöründe asetate, PHA ve NH₃-N konsantrasyonlarında gözlenen değişimler



Şekil 3. ADB reaktörünün işletimi sırasında çamurun içerdiği polimer fraksiyonlarındaki değişimler

GAB reaktörüne aşılana çamurun içerdiği polimer, biyokütlenin %5.2'si olup, bunun yaklaşık yarısını PHB oluşturmaktadır. PHV ve

3H₂MV fraksiyonları sırasıyla biyokütlenin %1.8'i ve %1.5'i kadardır. AKR operasyonu boyunca çamurun PHV ve 3H₂MV içeriklerinde

neredeyse bir değişiklik olmamıştır. Substrat olarak asetat kullanılmasına bağlı olarak, biyokütlenin PHB içeriği sürekli artmış ve 80 gün sonunda %2.6'dan %25.7'ye ulaşmıştır. Şekil 4'te GAB reaktörünün işletimi sırasında çamurun içerdiği polimer fraksiyonlarındaki değişimler gösterilmiştir. ADB reaktörünün işletimi sırasında, bir çevrimde depolanan polimer konsantrasyonunun 68.9 mg KOİ/L den 257.4 mg KOİ/L ye yükseldiği gözlenmiştir. GAB reaktörü için elde edilen, q_s , spesifik asetat alım hızı (Cmmol HAc/Cmmol X.h), q_p , spesifik polimer depolama hızı (Cmmol PHA/Cmmol X.h), $Y_{P/S}$, substratın polimere dönüşüm oranı (Cmmol PHA/Cmmol Hac) ve ΔPHA , bir çevrim süresince depolanan polimer miktarındaki (mg KOİ/L) gelişim Tablo 3'te gösterilmiştir.

Kesikli deneyler

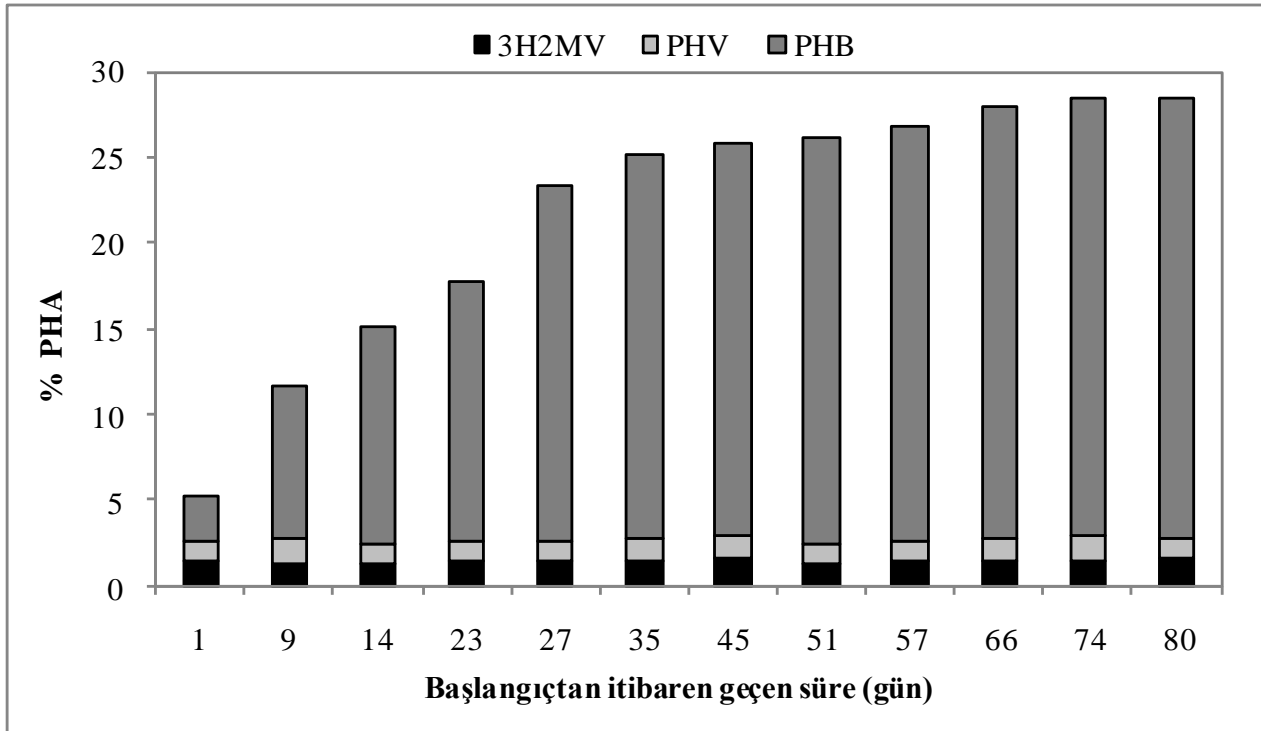
ADB reaktöründen alınan aktif çamurla gerçekleştirilen kesikli deneyde biyokütlenin polimer içeriğinin %13.6'dan %31.3'e yükseldiği tespit edilmiştir. Beslenen 1200 mg KOİ/L asetatın 90 dakikada tüketildiği deneyde, reaktördeki PHA konsantrasyonu 434.3 mg KOİ/L den 998.3 mg

KOİ/L ye yükselmiştir. Asetatın polimere dönüşüm oranının 0.43 olarak hesaplandığı deneyde spesifik asetat alım ve spesifik polimer depolama hızları da sırasıyla 0.34 Cmmol HAc/Cmmol X.h ve 0.16 Cmmol PHA/Cmmol X.h olarak tespit edilmiştir.

Tablo 2. ADB reaktörünün işletimi sırasında çamurun polimer depolama performansındaki değişimler

Geçen süre* (gün)	$-q_s$	q_p	$Y_{P/S}$	ΔPHA
5	0.08	0.01	0.22	58.7
7	0.09	0.02	0.26	82.00
12	0.15	0.04	0.31	100.0
15	0.18	0.06	0.35	112.6
19	0.22	0.09	0.38	119.3
26	0.31	0.14	0.42	132.9
33	0.32	0.14	0.45	144.1
40	0.50	0.23	0.48	155.9
62	0.48	0.26	0.56	179.4
72	0.49	0.29	0.58	186.2
82	0.49	0.28	0.58	185.5

*Başlangıçtan itibaren



Şekil 4. GAB reaktörünün işletimi sırasında çamurun içerdiği polimer fraksiyonlarındaki değişimler

Tablo 3. GAB reaktörünün işletimi sırasında çamurun polimer depolama performansındaki değişimler

Geçen süre* (gün)	-q _s	q _P	Y _{P/S}	Δ PHA
9	0.12	0.03	0.27	85.6
14	0.27	0.08	0.27	87.8
23	0.32	0.10	0.32	106.9
27	0.33	0.13	0.39	127.7
35	0.37	0.16	0.42	138.5
45	0.38	0.20	0.50	163.6
51	0.39	0.23	0.58	191.3
57	0.39	0.23	0.57	187.8
66	0.40	0.22	0.63	207.4
74	0.40	0.25	0.68	225.0
80	0.41	0.26	0.68	224.8

*Başlangıçtan itibaren

GAB reaktöründen alınan çamurla gerçekleştirilen kesikli deneyde beslenen 1200 mg KOİ/L asetat 120 dakikada tüketilmiş ve reaktördeki PHA konsantrasyonunun 734.8 mg KOİ/L den 1388.9 mg KOİ/L ye yükseldiği gözlenmiştir. Asetatın tükendiği noktada biyokütlenin polimer içeriğinin %41.2 olduğu tespit edilmiştir. Asetatın polimere dönüşüm oranı 0.48 olarak, spesifik asetat alım ve spesifik polimer depolama hızları da sırasıyla 0.5 Cmmol HAc/ Cmmol X.h ve 0.19 Cmmol PHA/ Cmmol X.h olarak hesaplanmıştır. Her iki AKR'den alınan çamurla yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Farklı AKR'lerden alınan çamurlarla yapılan kesikli deneylerin karşılaştırılması

AKR	PHA içeriği (%)	Δ PHA	-q _s	q _P	Y _{P/S}
ADB	31.3	564.0	0.339	0.160	0.43
GAB	41.2	654.1	0.506	0.193	0.48

Tablo 4'teki sonuçlardan da açıkça anlaşılacağı üzere her iki deney de bütünüyle aynı şartlarda gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, deneyde kullanılan çamurun şartlandırıldığı reaktörün işletme koşullarının çamurun polimer depolamasına katkısı büyüktür. GAB reaktöründe üretilen biyokütlenin depoladığı polimer miktarı, asetat alım hızı, polimer depolama hızı, ve asetatı polimere dönüştürme oranı ADB reaktöründe üretilen biyokütlenin kilerden fark edilir derecede yüksektir.

Literatürde, karışık kültürlerle yapılan deneylerde belirtilen en yüksek dönüşüm oranı 0.83 olup; Serafim ve diğerleri (2004) tarafından elde edilmiştir. Serafim ve diğerleri (2004), azot kısıtlı bir atıksu ile şartlandırılan bir biyokütle kullanarak ve farklı C/N oranlarıyla gerçekleştirdikleri kesikli deneylerin sonunda azot konsantrasyonunun polimer dönüşüm oranını ters yönde etkilediğini saptamışlar ve en yüksek dönüşüm oranını azotsuz atıksu ile gerçekleştirdikleri deneyde elde etmişlerdir. Lemos ve diğerleri (2006)'nin bulguları da Serafim ve diğerleri (2004)'ni destekler niteliktedir. Buna karşın, Dionisi ve diğerleri (2005) çamur zenginleştirme sırasında AKR'deki azot konsantrasyonunu kontrol etmemişler ve kesikli deneyler sırasında reaktördeki azot konsantrasyonunun polimer depolanmasına bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Literatür verileri ve bu çalışmanın bulguları; AKR işletimi ve kesikli deneyler sırasında mikroorganizmaların maruz kaldıkları şartlar arasındaki benzerliğin, polimer depolamaya etki eden önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada en yüksek dönüşüm oranı, azotsuz atıksu ile gerçekleştirilen kesikli deneylerde elde edilmiştir. İşletme şartları azotsuz gerçekleştirilen kesikli deneylerdeki en çok benzeyen biyokütle zenginleştirme yöntemi GAB prosesidir. Eğer biyokütle azotun kontrol edildiği şartlarda üretilmişse, kesikli deneyler sırasında azotu kısıtlamak, biyokütlenin polimer depolanmasına olumlu etki eden bir faktör olmaktadır.

Literatürde aynı AKR'den alınan çamurla değişik kesikli deneyler gerçekleştirilmiş olmasına

rağmen, çamur zenginleştirme koşullarının polimer depolama üzerine etkisini araştırmak üzere, farklı AKR'lerden alınan çamurlarla yapılan kesikli deneylere rastlanmamaktadır. Yüksek depolama özelliğine sahip mikroorganizmaların seçilmesi, rekabet şansı yüksek bir PHA üretim sisteminin geliştirilmesi açısından hayati olduğundan, farklı zenginleştirme stratejilerinin PHA üretimine etkisinin anlaşılması bir zorunluluktur. GAB, sadece içsel faktörlerin değil, dışsal faktörlerin de çamur zenginleştirme sırasında uygulanabildiği bir proses olup, artırılmak için azot ilavesi gerektiren atıksulara kolayca uygulanabilecek bir prosestir. Eğer bu proses optimize edilirse ve çözünmüş oksijen kontrollü besleme gibi yöntemlerle kombine edilirse, saf kültürler kullanılarak gerçekleştirilen endüstriyel PHA üretimi karşısında güçlü bir alternatif olabilir.

Sonuçlar

Elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Çalışma, aktif çamurun PHA depolama yeteneğinin, dinamik bir beslemeyle işletilen AKR'lerde geliştirilebileceğini göstermiştir.
- Dinamik şartlarda zenginleştirilen biyokütle, daha yüksek organik yüklemelere maruz bırakıldığında daha fazla polimer depolayabilmiştir.
- Azot ve karbonun birlikte bulunmasına izin verilmeyen bir reaktör işletimi, substrat üzerinde büyümeyi engelleyerek, substratın daha büyük bir kısmının depolama için kullanılmasına neden olmuştur.
- İlk defa bu çalışmada önerilen bir proses olan GAB, dinamik şartlarda beslenen AKR işletimi sırasında uygulanan azot kontrolünü ileri bir noktaya taşıyarak depolamaya etki eden içsel ve dışsal faktörlerin birlikte uygulanmasına olanak vermiştir.
- Özellikle, azot kısıtlı kuvvetli organik atıksuların PHA üretilmesinde kullanımına imkan sağlayabilecek bir proses olan GAB, optimize edildiği takdirde saf kültürlerle gerçekleştirilen PHA üretimi karşısında güçlü bir alternatif olabilir ve üretim maliyetlerini düşürerek biyoplastiğin daha yaygın kullanılmasına neden olabilir.

Kaynaklar

- APHA, AWWA, WPCF., (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st Ed., Washington D.C.
- Beun, J.J., Paletta, F., Van Loosdrecht, M.C.M. and Heijnen, J.J., (2000). Stoichiometry and kinetics of poly- β -hydroxybutyrate metabolism in aerobic, slow growing, activated sludge cultures, *Biotechnology and Bioengineering*, **67**, 4, 379-389.
- Daiger, G.T. and Grady, P.L., (1982). The dynamics of microbial growth on soluble substrates: A unifying theory, *Water Research* **16**, 365-382.
- Dias, J.M.L., Lemos, P.C., Serafim, L.S., Oliveira, C., Eiroa, M., Albuquerque, M.G.E., Ramos, A.M., Oliveira, R. and Reis, M.A.M., (2006). Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures: from the substrate to the final product, *Macromolecular Bioscience*, **6**, 885-906.
- Dionisi, D., Beccari M., Di Gregorio, S., Majone, M., Papini, M.P. and Vallini, G., (2005) Storage of biodegradable polymers by an enriched microbial community in a sequencing batch reactor operated at high organic load rate, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **80**, 1306-1318.
- Fritz, H.G., Seidenstucker, T., Bolz, U., Juza, M., Schroeter, J. and Enders, H.J., (1998). *Production of thermoplastics and fibres based on mainly biological material* in Meester, K.H.P., eds, *Production of poly(3-hydroxyalkanoates) from waste streams*, Delft, Todelft Press.
- Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton A.D., (1992). Standard Methods for the examination of water and wastewater, Washington DC. American Public Health Association.
- Lee, S.Y., (1996). Bacterial polyhydroxyalkanoates, *Biotechnology and Bioengineering*, **49**, 1-14.
- Lemos, P.C., Serafim, L.S. and Reis, M.A.M., (2006). Synthesis of polyhydroxyalkanoates from different short-chain fatty acids by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding, *Journal of Biotechnology* **122**, 226-238.
- Majone, M., Massanisso, P., Carucci, A., Lindrea, K. and Tandoi, V., (1996). Influence of storage on kinetic selection to control aerobic filamentous bulking, *Water Science and Technology*, **34**, 223-232.
- Punrattanasin, W., Randall, A.A. and Randall, C.W., (2006). Aerobic production of activated sludge polyhydroxyalkanoates from nutrient deficient wastewaters, *Water Science and Technology*, **54**, 8, 1-8.

- Reddy, C.S.K., Gai Rashmi, R. and Kalia, V.C., (2003). Polyhydroxyalkanoates: An overview, *Bioresource Technology*, **87**, 137-146.
- Satoh, H., Iwamoto, Y., Mino, T. and Matsuo, T., (1998). Activated sludge as a possible source of biodegradable plastic, *Water Science and Technology*, **38**, 2, 103-109.
- Serafim, L.S., Lemos, P.C., Oliveira, R. and Reis, M.A.M., (2004). Optimization of Polyhydroxybutyrate production by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding conditions, *Biotechnology and Bioengineering*, **87**, 2, 145-160.