

17/143



T.C

GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKROBİYOLOJİK DEMİR ARITIMI

Derya Yüksel KÖSEOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI

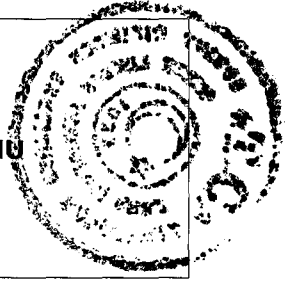
TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Bülent KESKİNLER

GEBZE
2005



**GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ
ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU



Derya Yüksel Köseoğlu'nun tez çalışması, G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~25.06~~ 2005 tarih ve 2005/26 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof.Dr.Bülent KESKİNLER

ÜYE

: Doç.Dr.Aziz TANRISEVEN

ÜYE

: Doç.Dr.Elif ERHAN

ONAY

G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~08.09.2005~~ 08.09.2005 tarih ve ~~205/32~~ sayılı kararı.





ÖZET

Bu çalışmada, poliüretan köpük ve modifiye edilmiş polimerik malzeme üzerinde immobilize edilmiş *Thiobacillus ferrooxidans* bakterisi ile Fe^{+2} 'nin sürekli oksidasyonu incelenmiş ve endüstriyel boyutlarda kullanım için gerekli olacak kinetik bilgiler elde edilmiştir.

Thiobacillus ferrooxidans'ın yüzeylerde kolaylıkla gelişmesini sağlayan doğal yeteneği, onu hücre immobilizasyonu ve Fe^{+2} oksidasyon hızlarını artırmak için uygun bir bakteri yapar. Çalışmada, Fe^{+2} içeriği yüksek, kuvvetli asidik sulardaki demir biyooksidasyonu dolgu yataklı bir biyoreaktörde, Fe^{+2} konsantrasyonu (2000-8000 mg/L), su debisi (139,8 – 900,6 mL/h) ve pH (<2.0)'nın fonksiyonu olarak incelenmiştir. İmmobilize biyoreaktör sisteminde, poliüretan köpük ve modifiye edilmiş polimerik malzeme, Fe^{+2} 'nin oksidasyon verimi ile tanımlanan hücrenin immobilizasyon performansına göre test edilmiştir. Poliüretan köpüğün kullanıldığı immobilize biyoreaktör sistemi yalnızca 139,8 mL/h su debisinde iyi bir Fe^{+2} oksidasyon verimi gösterirken, modifiye edilmiş polimerik malzemenin kullanıldığı immobilize biyoreaktör sistemi 900,6 mL/h su debisine kadar iyi bir Fe^{+2} oksidasyon verimi göstermiştir.

Bu çalışmada, modifiye edilmiş polimerik malzemenin kullanıldığı biyoreaktörde; en hızlı kinetik performans, $4,94 \text{ h}^{-1}$ gerçek dilüsyon hızı ve 12,16 dak. hidrolik bekleme süresinde $7,58 \text{ gFe}^{+2}/\text{Lh}$, poliüretan köpüğün kullanıldığı biyoreaktörde; $0,56 \text{ h}^{-1}$ gerçek dilüsyon hızı ve 106 dak. hidrolik bekleme süresinde $4,52 \text{ gFe}^{+2}/\text{Lh}$ olarak bulunmuştur. Giriş atıksu debisinin artırılması dönüşüm hızında bir azalmaya neden olmuştur. Atıksu reaktör yüksekliği boyunca hareket ederken oksidasyon hızı azalmaktadır fakat tam tersine dönüşüm artmaktadır.



SUMMARY

In this study was investigated the continuous oxidation of ferrous iron by *Thiobacillus ferrooxidans* immobilized on a polyurethane foam and a modified polymeric material and obtained the kinetic data necessary for industrial scale-up of the process.

The natural ability of *Thiobacillus ferrooxidans* to grow on surfaces makes it an adequate microorganism for cell immobilisation and useful to increase Fe^{+2} oxidation rates. In this study, biooxidation of iron in strongly acidic water with a high Fe^{+2} content was investigated by using *Thiobacillus ferrooxidans* in a packed-bed column reactor as a function of ferrous iron concentration (2000–8000 mg/L), water flowrate (139,8-900,6 mL/h) and pH (<2.0). In the immobilized bioreactor system, polyurethane foam and modified polymeric material were tested with respect to the cell's immobilizing performance which determines the oxidation efficiency of ferrous iron. The immobilized bioreactor system using modified polymeric material showed good oxidation efficiency of ferrous iron up to the liquid flow rate of 900,6 mL/h, while the immobilized bioreactor system using polyurethane foam showed good oxidation efficiency only the liquid flow rate of 139,8 mL/h.

In this study, the fastest kinetic performance achieved was about 7,58 g Fe^{+2} /Lh at a true dilution rate of 4,94 h⁻¹ corresponding to a hydraulic retention time of 12,16 min. in the bioreactor using modified polymer, 4,52 g Fe^{+2} /Lh at a true dilution rate of 0,56 h⁻¹ corresponding to a hydraulic retention time of 106 min. in the bioreactor using polyurethane foam. Increasing the flowrate of the inlet wastewater caused a reduction in conversion rate. The oxidation rate reduced along the reactor height as the wastewater moved towards the exit at the top but conversion showed the opposite trend.



TEŞEKKÜR

Sayın hocam Prof.Dr.Bülent Keskinler'e tez çalışmam boyunca bana sağladığı imkanlar ve desteği için sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerine başvurduğum sevgili hocalarım Doç.Dr.Elif ERHAN, Yrd.Doç.Dr.Ahmet KARAGÜNDÜZ ve Yrd.Doç.Dr.Melek ÖZKAN'a yardımları ve paylaşımları için çok teşekkür ederim.

Her zaman birçok konuda fikir alışverişinde bulunduğum çok sevgili çalışma arkadaşlarım Arş.Gör.Şeyda Korkut, Arş.Gör.Aras Gezer ve Arş.Gör.Banu Bahşi'ye manevi destekleri için içten teşekkür ederim.

Laboratuardaki çalışmalarım süresince yardımlarını benden esirgemeyen Müh.İnci Türk'e ve İpek Akın'a teşekkür ederim. Her zaman desteklerini gördüğüm bölümümüzdeki sayın hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Ve her konuda bana destek olan sevgili aileme ve Berkin İmer'e binlerce teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. DEMİR METALİNİN TANIMI VE ÇEVRESEL ÖNEMİ	3
2.1. Demir Metalinin Kimyasal Özellikleri	3
2.2. Demir Oksidasyonu	3
2.2.1. Oksijen ile Oksidasyon	4
2.2.2. Klor ile Oksidasyon	6
2.2.3. Potasyum Permanganat ile Oksidasyon	6
2.3. Demirin Çevresel Önemi	7
2.4. Demir Arıtım Metotları	9
3. İMMOBİLİZE MİKROORGANİZMA BİYOREAKTÖRLERİ	12
3.1. İmmobilizasyon Metotları	13
3.1.1. Aktif İmmobilizasyon	14
3.1.1.1. Kovalent Bağlama	14
3.1.1.2. Tutuklama	14
3.1.2. Pasif İmmobilizasyon	15
3.1.2.1. Adsorbsiyon	15
3.1.2.2. Kolonizasyon	16
3.2. İmmobilizasyon Hücreleri İçin Reaktör Tipleri	16
3.2.1. Tam Karışımli Reaktörler	17
3.2.2. Sabit Yataklı Reaktörler	18
3.2.2.1. Dolgu Yataklı Reaktörler	18
3.2.2.2. Diğer Sabit Yataklı Reaktörler	19
3.2.3. Akışkan Yataklı Biyoreaktörler	19
4. DEMİR ARITIMINDA BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLER	21



4.1. Demir Bakterileri	21
4.2. <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> Bakterisi	21
4.2.1. Genel Özellikler	21
4.2.2. Kullanım Alanları	23
4.2.2.1. Atık Gazların Desülfürizasyonu	24
4.2.2.2. Metal Biyofiltreleme (biyoliçing)	25
4.2.2.3. Asidik Maden Sularının Arıtılması	27
4.2.2.4. Kömürün Desülfürizasyonu	27
4.2.3. Fe ⁺² Oksidasyon Mekanizması	28
4.2.4. Gelişme kinetiği ve fizikokimyasal parametrelerin etkisi	31
4.2.4.1. pH	31
4.2.4.2. Sıcaklık	31
4.2.4.3. Fe ⁺² konsantrasyonu	32
4.2.4.4. Karbondioksit ve Oksijen	34
4.2.5. İnhibisyon	35
4.2.6. Fe ⁺³ bileşenlerinin Çökmesi	36
4.3. Demir Arıtımında Kullanılan Biyoreaktör Tipleri	37
4.3.1. <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> Biyofilm Yapısı	38
4.3.2. Dolgu Yataklı Biyoreaktörler	39
4.3.3. Akışkan Yataklı Biyoreaktörler	42
4.3.4. Döner Biyolojik Diskler	43
5. MATERYAL – METOT	47
5.1. Materyal	47
5.1.1. Bakteri	47
5.1.2. Kimyasal Maddeler	47
5.1.3. Deney Düzeneği	47
5.2. Metot	49
5.2.1. Bakteri Üretimi	49
5.2.2. Demir Analizi	50
5.2.3. Poliüretan Köpüğün Hazırlanması	51
5.2.4. Polimer Disklerin Hazırlanması	52
5.2.5. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması	54
5.2.6. Deneylerin Yapılışı	55



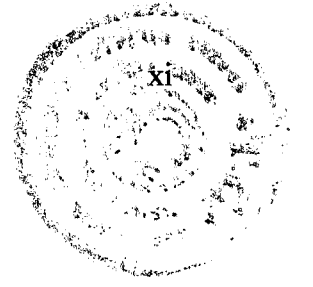
5.2.6.1. Kesikli ve Sürekli Denemeler	
5.2.6.2. Kesikli Ortamda Farklı Malzemelerin Denenmesi	56
6. BULGULAR VE TARTIŞMA	58
6.1. Kesikli Ortamda Yapılan Malzeme Deneyinden Elde Edilen Veriler	58
6.2. Kesikli Denemelerde Elde Edilen Veriler	61
6.3. Sürekli Denemelerde Elde Edilen Veriler Yardımıyla Kinetik	63
Parametrelerin Hesaplanması	
7. SONUÇ	71
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	78





ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Çözelti pH'sı ve Fe^{+2} oksidasyon hızı arasındaki ilişki	5
2.2 Demir Tasfiye Akım Şeması	10
3.1 İmmobilizasyon Metotlarının Sınıflandırması	13
3.2 Tam Karışımli Reaktör	18
3.3 Dolgu Yataklı Reaktör	19
3.4 Akışkan Yataklı Biyoreaktör	20
4.1 Bakteriyel Demir Oksidasyonunun Şematik Gösterimi	28
4.2 <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> 'ın Fe^{+2} Oksidasyon Zinciri	29
5.1 Çalışmada Kullanılan Deney Düzenekinin Şematik Gösterimi	48
5.2 Fe^{+2} Kalibrasyon Eğrisi	51
5.3 Poliüretan Köpüğün Kimyasal Yapısı	52
5.4 Divinil Benzen ile Stiren Arasındaki Polimerizasyon	53
5.5 Divinil Benzen ile Stiren Arasındaki Sülfonlu Polimerizasyon	53
6.1 Birinci Malzeme Deneyinde Fe^{+2} Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	58
6.2 İkinci Malzeme Deneyinde Fe^{+2} Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	59
6.3 Üçüncü Malzeme Deneyinde Fe^{+2} Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	60
6.4 Poliüretan Köpükte Kesikli Çalışmada Oksidasyon Verimi ve Zaman İlişkisi	62
6.5 Aktif Karbon Sülfonlu Polimerde Kesikli Çalışmada Oksidasyon Verimi ve Zaman İlişkisi	62
6.6 Kolon Çıkışında Farklı Su Debilerine Göre Zamanla Fe^{+2} Dönüşüm Verimi	63
6.7 Oksidasyon Hızı ve Dilüsyon Hızı Arasındaki İlişki	66
6.8 Kolon Çıkışında Çeşitli Konsantrasyonlarda Dönüşüm Zaman İlişkisi	67
6.9 Oksidasyon Hızı ile Fe^{+2} Konsantrasyonu Arasındaki İlişki	68
6.10 Fe^{+2} Oksidasyon Hızı ile Fe^{+2} Yükleme Hızı Arasındaki İlişki	70



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Demirin Süreye Bağlı Olarak Okside Olan Yüzdesi	9
4.1 Farklı Çalışmalarda Kullanılan pH Aralıkları	31
4.2 Farklı Çalışmalarda Kullanılan Sıcaklık Değerleri	32
4.3 Literatürdeki Çalışmalarda Elde Edilen Farklı Kinetik Katsayılar	33
4.4 Farklı Biyoreaktör Konfigürasyonlarında Fe ⁺² oksidasyon hızları	45
6.1 Poliüretan Köpük İçin Çeşitli Besleme Hızlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları	65
6.2 Aktif Karbonlu Sülfonlu Polimer İçin Çeşitli Besleme Hızlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları	65
6.3 Poliüretan Köpük İçin Çeşitli Besleme Konsantrasyonlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları	69
6.4 Aktif Karbonlu Sülfonlu Polimer İçin Çeşitli Besleme Konsantrasyonlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları	69



1. GİRİŞ

Yeni birçok sanayi dalının gelişmesi, varolanların etkinliğini artırması ve sürekli artan şehir nüfusu, bu yüzyılın başından itibaren doğal kaynakların kirlenmesine neden olmuş ve beraberinde çevre sorunlarının çözümüne yönelik teknolojilerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Bu teknolojilerden biri olan çevre biyoteknolojisi, canlı organizmaların ve onlardan elde edilen ürünlerin, zararlı atıkların arıtımında ve çevre kirliliğinin önlenmesinde kullanılmasını kapsamaktadır.

Çevre biyoteknolojisi uygulamaları çoğunlukla, doğal mikroorganizmalarla atıkların arıtımı için kullanılır. Modern biyoteknolojiden yararlanılan kimi tekniklerde, parçalanması zor bazı atıklarla uğraşmak için genetik değişikliğe uğramış mikroorganizmaların kullanılması mümkündür. Geleneksel yöntemlerden çok daha verimli olan çevre biyoteknolojisi yüksek sıcaklıklarda yakma ve atık sahaları oluşturma gibi yöntemlere de alternatifler oluşturabilmektedir.

Atıksuların arıtılmasında biyoteknolojik uygulamalar büyük bir hızla artış göstermektedir. Mevcut atık ve atık su uzaklaştırma ve arıtma problemleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtım yöntemleriyle bazen küçük bazen de büyük yatırımlar yapılarak zamanla çözüme ulaştırılabilesine rağmen sonuç olarak daima arıtılması çok güç konsantre arıtma çamurları ve katı atıklar kalmaktadır. Bu nedenle bir çok atık türünün arıtılmasında biyolojik arıtım tercih edilmektedir. Doğada kendiliğinden var olan bu arıtım yöntemi teknolojik imkanlar kullanılarak çok miktarda atığın hızlı ve kontrollü olarak arıtılmasını sağlamaktadır. Bu yöntemle enerji, su ve kimyasal madde kullanımından tasarruf edilmekte, daha verimli üretim gerçekleşmekte ve daha az atık oluşmaktadır.

Çeşitli kaynaklardan alıcı ortama ulaşan demir metalinin kimyasal oksidasyonuna alternatif olarak son yıllarda biyoteknolojik yöntemler geliştirilmiştir. Özellikle düşük pH değerlerine sahip sulardaki demir metalinin arıtılmasında yüksek alkali madde ihtiyacı nedeniyle maliyetli olan klasik arıtım tekniklerinin yanında, düşük pH'larda demir oksidasyonu yapabilen bakterilerin kullanıldığı sistemler daha



avantajlıdır.

Bu çalışmada düşük pH'a sahip, yüksek Fe^{+2} konsantrasyonlu sularda, Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e oksidasyonu laboratuvar ölçeğinde hazırlanmış dolgu yataklı biyoreaktörde *Thiobacillus ferrooxidans* bakterisi ile gerçekleştirmek amaçlanmıştır. Bu bakterinin karbon kaynağı olarak havanın karbondioksitini kullanması nedeniyle atık suya ilave bir karbon kaynağı verilmesi gerekmemiştir. Çalışmada, Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e oksidasyonu klasik arıtma sistemlerinin aksine pH 7-7,5'da değil pH 1,8'de gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmada, Fe^{+2} konsantrasyonu, atık su debisi, kolon yüksekliği ve immobilizasyon için kullanılan malzeme cinsinin proses ve arıtım verimine etkisinin belirlenmesine çalışılmıştır. Biyoreaktörde immobilizasyon matrisi olarak poliüretan köpük ve modifiye edilmiş polimerik malzeme kullanılmıştır. Bu iki malzeme için ayrı ayrı demir oksidasyon hızları, reaktördeki kalış süreleri ve Fe^{+2} yükleme hızı gibi kinetik parametreler hesaplanarak, bu parametrelerin oksidasyon işlemindeki etkileri araştırılmıştır.

2. DEMİR METALİNİN TANIMI VE ÇEVRESEL ÖNEMİ



2.1. Demir Metalinin Kimyasal Özellikleri

Demir metali periyodik cetvelin 8.grubunda yer alır. Geçiş metalidir. Atom numarası 26, yoğunluğu (298⁰K'de) 7,86 g/cm³, mol ağırlığı 55,847 g/mol'dür. +2, +3, +4, +6 değerliklerine sahip olan demir oksit, hidroksit, klorür, asetat, karbonat, sülfid, nitrat, sülfat ve çok sayıda kompleks iyonla birleşebilir. Demir yer kabuğunda en çok bulunan 4.elementtir, kütlesinin %5,1'ini oluşturur. Kimyasal olarak oldukça aktiftir, reaksiyonlarda en çok karşılaşılan formu Fe⁺² ve Fe⁺³'tür. Hangi formda bulunacağı çevre şartlarına bağlıdır. Fe⁺² ve Fe⁺³ arasındaki redoks değişimi, anoksik topraklarda ve sedimentlerdeki redoks proseslerinde önemli bir rol oynar. Oksijen varlığında, Fe⁺² yalnızca asidik şartlar altında stabildir, nötral pH'larda hızlı bir şekilde Fe⁺³'e okside olur [Straub et.al., 2001].

En çok karşılaşılan demir bileşikleri ve kullanım alanları ise şöyledir; FeSO₄.7H₂O, sulu sülfürik asit ile metalik demirin birleşmesinden oluşmuştur, mürekkep, boya ve dezenfektan üretiminde kullanılmaktadır. FeCl₃.6H₂O, aşındırma bileşeni ve boya endüstrisinde sabitleştirici olarak kullanılan yeşil-kahverengi kristal yapıda bir bileşiktir. Demir oksit Fe₂O₃, boya pigmenti ve cila olarak kullanılan kırmızı kahverengi bir tozudur. Prusya mavisi KFe₂(CN)₆'de, bir pigment olarak kullanılmaktadır [www.encyclopedia.com/html/section/iron_Properties.asp].

2.2. Demir Oksidasyonu

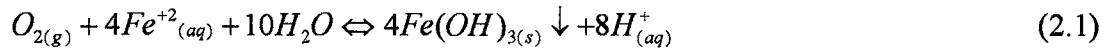
Demir tabiatta çözünmeyen (Fe⁺³) ve çözünen (Fe⁺²) hallerinin her iki şeklinde de bulunmaktadır. İki değerlikli demir, çoğunlukla yer altı sularında bulunur. Bu sular oksijene maruz bırakıldıklarında okside olarak iki değerlikli demir, üç değerlikli demire dönüşür [Eroğlu, 1995]. Su temininde demir gidermek için günümüzde kullanılan arıtım metotlarının bir çoğu, çözünür Fe⁺²'yi çözünemeyen



Fe^{+3} e oksidasyonu şeklinde yapılmaktadır [Koby, 2001]. Demir oksidasyonunda çoğunlukla havanın oksijeni, oksijenin yanısıra klor ve potasyum permanganat da oksitleyici olarak kullanılmaktadır.

2.2.1. Oksijen ile Oksidasyon

Demirin oksijen ile oksidasyonu aşağıdaki reaksiyona göre gerçekleşmektedir.



Bu reaksiyonda stokiyometrik olarak; 0,14 mg/L O_2 , 1 mg/L Fe^{+2} 'yi oksitleyecektir.

Stumm ve Lee (1961) nötr pH aralığında bikarbonat çözeltilerinde oksijen ile Fe^{+2} 'nin oksidasyonunu araştırmıştır. Ve hız eşitliği aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır.

$$\frac{d[Fe^{+2}]}{dt} = k[Fe^{+2}][OH^-]^3 P_{O_2} \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte;

$$\frac{d[Fe^{+2}]}{dt}: Fe^{+2}, \text{nin oksidasyon hızı (mol/Ldak)}$$

k: reaksiyonun hız sabiti. Bu sabitin değeri $20,5^{\circ}C$ 'de 8×10^{13} ($L^2/mol^2 \text{atm.dak}$) olarak bulunmuştur.

P_{O_2} : Gaz fazdaki oksijenin kısmi basıncı (atm). Birçok durumda 0,21 atm. olarak kabul edilir.

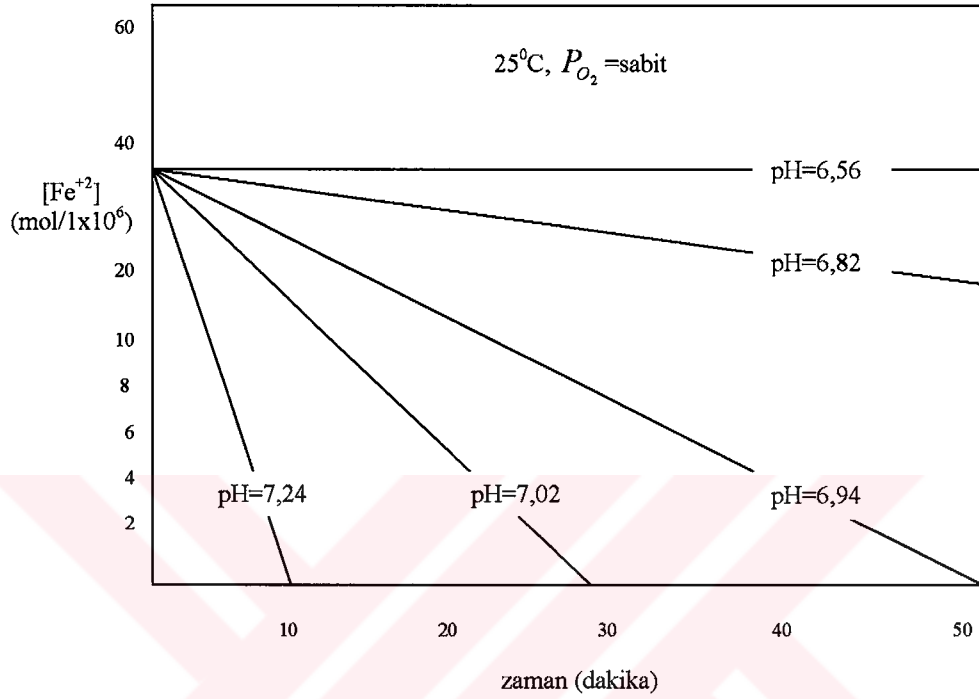
$[OH^-]$: Hidroksil iyon konsantrasyonu (mol/L)

$[Fe^{+2}]$: Herhangi bir zamandaki Fe^{+2} konsantrasyonu (mol/L)

Fe^{+2} 'nin oksidasyon hızı ile hidrojen iyonu konsantrasyonu arasında ters bir ilişki vardır. Hidrojen konsantrasyonunun artması, yani pH'nın azalması ile



oksidasyon hızı da düşer. pH 5'in altında reaksiyon pratik olarak gerçekleşmez. pH 5,5'a kadar da son derece yavaştır. Fe^{+2} oksidasyon hızı pH'ın artması ile artar. [Koby, 2001]. Reaksiyon hızının pH ile değişimi Şekil 2.1'de verilmiştir.

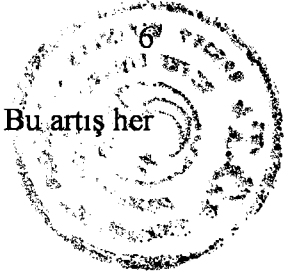


Şekil.2.1. Çözelti pH'sı ve Fe^{+2} oksidasyon hızı arasındaki ilişki.

[Koby,2001]

P_{O_2} 0,21 atm, 20°C ve bikarbonatla tamponlanmış sularda pH 6,9 ve 7,2'de Fe^{+2} oksidasyon reaksiyonunun %90'ının tamamlanması için gerekli süre sırasıyla 43 ve 8 dakikadır. Reaksiyon hızı Cu^{+2} , HPO_4^{-2} , H_3SiO_4 gibi katalizörlerle artırılabilir. Su arıtımında, bazen bakır sülfat kullanılmakla birlikte, katalizör kullanımı sınırlıdır. Reaksiyonda oluşan Fe^{+3} hidroksit bir heterojen kataliz fonksiyonu görür. Bu nedenle çökelti geri devir yaptırılabilir. Diğer taraftan Fe^{+3} ile kompleks yapan maddeler de reaksiyon hızını artırır.

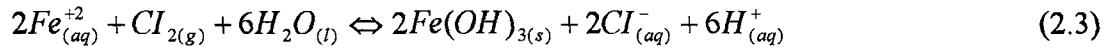
Sularda bulunan çözünmüş silis (H_4SiO_4) demir oksidasyonuna katalitik etki yapar. Yüksek silis Fe^{+3} iyonlarını kompleks olarak bağlar ve çözeltide tutar. Sularda yüksek konsantrasyonlarda bulunan humik ve tannik asitler Fe^{+3} oksidasyonunu



güçleştirir. Reaksiyon hızı diğer koşullar değişmediğinde sıcaklıkla artar. Bu artış her 15⁰C’de bir yaklaşık iki katıdır [İstanbul Üniversitesi, 2000].

2.2.2. Klor ile Oksidasyon

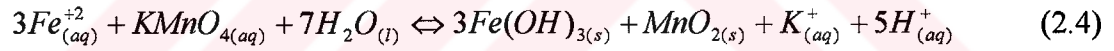
Cl₂ ve hipoklorit, Fe⁺²,nin oksitlenmesinde kullanılan etkili oksitleyicilerdir. Oksidasyon reaksiyonu şu şekildedir:



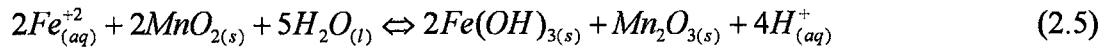
Yukarıdaki reaksiyona göre teorik olarak 1 mg/L Fe⁺²,yi oksitlemek için 0,64 mg/L Cl₂ gerekecektir [Koby,2001].

2.2.3. Potasyum Permanganat ile Oksidasyon

Fe⁺²,nin potasyum permanganat ile oksidasyonu aşağıdaki şekildedir.



Stokiyometrik olarak 1 mg/L Fe⁺²,yi oksitlemek için 0,94 mg/L KMnO₄’e ihtiyaç vardır. Engelbrecht ve arkadaşları 1965’de bu reaksiyonların MnO₂’nin oluşumuna bağlı olduğunu ve aşağıda belirtilen ikincil reaksiyonlar ile olayın katalizleneceğini belirtmişlerdir.



Fe⁺²,nin oksidasyon hızı üzerine birçok araştırmacı tarafından yapılmış çalışmalar mevcuttur. Genelde bu çalışmalarda oksitleyici olarak oksijen kullanılmıştır, diğer oksitleyiciler hakkında çok az kinetik bilgi vardır. Bununla birlikte literatürde klor ve potasyum permanganatın kullanılmış olduğu reaksiyon tanklarının tasarımının yapılmasının daha yararlı olduğu konusunda bazı genel yorumlar bulunmaktadır [Koby, 2001].



2.3. Demirin Çevresel Önemi

Demir yer altı sularında hemen her zaman, yüzeysel sularda ise yılın bazı aylarında yüksek konsantrasyonda bulunduğundan, içme ve kullanma suları bakımından sorun yaratmaktadır. Demirin neden bazı sularda ve bazı zamanlarda yüksek konsantrasyonlara ulaştığı, biyokimyasal reaksiyonlar nedeniyle su ve toprak ortamlarının özelliklerinin yerel ve zamansal değişimlerine dayanılarak cevaplanmalıdır.

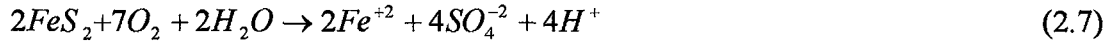
Örneğin; bazı jeolojik formasyonlar demiri, demir karbonat (siderit) halinde bulundurabilir. Sideritin sudaki çözünürlüğü normal şartlarda çok azdır. Ancak yer altı sularının taşıdığı CO_2 , (2.6) reaksiyonuna göre sideriti kolayca çözünür bikarbonatlara çevirir.



Demir iyonunun çözünerek su ortamına karışması şu dört noktadan kaynaklanır:

- 1) Oksijenden yoksun ancak CO_2 'ce zengin sularda, Fe^{+2} iyonları bulunur. (örnek: yer altı suları)
- 2) İyi kaliteli sular veren ve düşük konsantrasyonda demir içeren kuyuların, çevresine organik atıklar yığıldığında, toprakta oluşan anaerobik koşullar yüzünden birden bire çok kötü kaliteli sular haline dönüştüğü gözlenmiştir.
- 3) Yeterli derinliğe sahip olan suni göllerde su tabakalaşması nedeniyle alt tabaka (hipolimnion) anoksik olursa ortaya çıkabilecek anaerobik koşullar yüzünden demir bu alt tabakalarda bulunan suda konsantre olur. Bu nedenle göl tabakalaşmasının sonbahardaki alt-üst olmasını izleyen günlerde rezervuardan çekilen sular demir bakımından zengindir.
- 4) Bazen yer altı sularının aşırı çekildiği arazide aynı akiferlere suyu geri basmak gerekir (yer altı suyu beslemesi). Bu durumda oksijence zengin olan yüzey suyunun, yer altına basılmasından sonra yer altı suyunun demir

konsantrasyonunda artış olduğu gözlenmiştir. Bu olayın açıklaması, suda bulunan oksijenin, çözünmeyen pirit bileşiklerini oksitleyerek;



dengesi uyarınca Fe^{+2} 'yi artırması ve çözünen demir sülfatın oluşumudur.

İçme suyunda demir iyonlarının fazla oluşu insan bünyesinde zararlı etkiler yapmaz. Sadece bu sular, hava ile temas ettikleri zaman bulanık ve renkli bir hal alır, estetik nedenlerle kötü sular sınıfına girerler. Bunun nedeni Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} haline oksitlenmesi ve suda çözünmeyen bir kısım renkli kolloidler oluşturmasıdır. Oksitlenmenin hızı oldukça yavaş olduğundan; bu bulanıklık uzun süre devam eder. Bu reaksiyonlar özellikle demir için pH 6'dan daha küçük ise daha büyük boyutlarda meydana gelir. Reaksiyon hızları suda bulunan bazı anorganik iyonların katalitik etkisi ile ve mikrobiyolojik reaksiyonlarla da destek görerek artabilmektedir [Samsunlu, 1999]. Demirin fazla miktarda bulunması su temininde tüketiciler için bazı problemler yaratmaktadır. Bu problem aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

- ◆ Büyük miktarlardaki demir, içme suyunda istenmeyen renk ve bulanıklığa sebep olur. Ayrıca sulara metalik bir tat verir.
- ◆ Kağıt, tekstil veya deri gibi endüstriyel ürünlerin lekelenmesine neden olmaktadır.
- ◆ Porselen kaplar, banyo küvetleri ve cam malzemelerin lekelenmesine yol açmaktadır.
- ◆ Giysilerde sarı veya kahverengi-sarı renkler oluşturur.
- ◆ Su borularının iç cidarlarına biriken demir yük kayıplarının artmasına neden olmaktadır.
- ◆ Suyun iletildiği borularda demir bakterilerinin çoğalmasına sebep olur. Bu bakteri kütleleri, borularda kesit daralmasına, zaman zaman koparak içme suyunun kirlenmesine ve boru, vana, su saati gibi aksamın tıkanmasına sebep olmaktadır.

Bu sakıncaları nedeniyle EPA'ya göre içme suyunda demir konsantrasyonu 0,3 mg/L'den fazla olmamalıdır.



2.4. Demir Arıtım Metotları

İçme ve kullanma sularındaki demirin arıtılması, esas itibarıyla çözünebilen demir formunun bazı metotlarla çözünemeyen forma dönüştürülmesi ve çöktürmek suretiyle ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Oksidasyon hızı pH, alkalinite, organik madde içeriği ve ortamda okside edici kimyasal madde olup olmamasına bağlıdır. En çok kullanılan demir arıtım prosesleri aşağıdaki şekilde sıralanmıştır:

- ◆ Havalandırma + Bekletme + Filtrasyon
- ◆ Havalandırma + Kimyasal Oksidasyon + Bekletme + Filtrasyon
- ◆ Havalandırma + Yumaklaştırma + Çöktürme + Filtrasyon
- ◆ Havalandırma + Yeraltına Suni Besleme + Kuyularla Çekme
- ◆ İyon Değişirme

Havalandırmada maksat Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e dönüştürülmesidir. Şayet suda sadece demir mevcutsa (çok küçük miktarda mangan olabilir), basit bir havalandırmayı izleyen doğrudan doğruya filtrasyon uygulanabilir. Havalandırmadan sonra 5-10 dak bekleme süreli bir temas havuzundan sonra hızlı kum filtresinden geçirilmesi uygundur. Oksidasyona yardımcı olması için bekletme havuzundan önce klor ilave edilebilir. Demirin okside olma yüzdesi bekletme süresine bağlıdır. Bekletme sürelerine bağlı olarak oksidasyon yüzdeleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Demirin Süreye Bağlı Olarak Okside Olan Yüzdesi.

Süre (dakika)	Oksidasyon yüzdesi
1	20
3	50
6	70
10	85

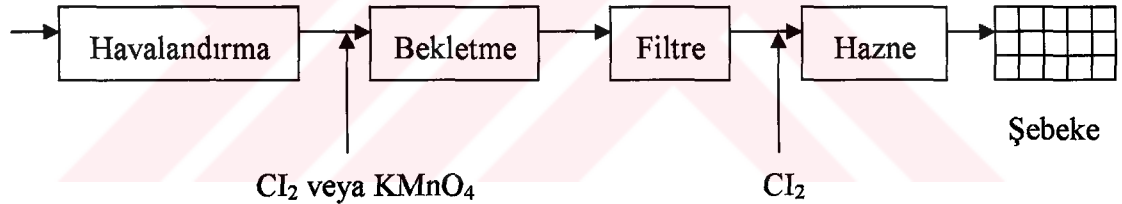
Ancak pH'nın artırılması suretiyle oksidasyon için gerekli süre azaltılabilir. Uygun şartlarda 5 dakikalık bir reaksiyon periyodu yeterli gelebilir. pH'nın yükseltilmesi için suya kireç, soda gibi alkaliler ilave edilebilir. CO_2 ihtiva eden



suların pH'sı havalandırma sonunda bir miktar artar. pH'yı daha fazla yükseltmek gerekiyor ise CaO, Ca(OH)₂, NaOH gibi alkalilerden birisi kullanılabilir.

Havalandırılmış su, hızlı süzen kum filtrelerinden geçtiğinde oksidasyon neticesinde oluşan Fe(OH)₃ kum yatakta tutulur. Bekletme havuzunda okside olmayan bir kısım Fe⁺² de filtrede okside olur. Çünkü filtre içindeki oksidasyon hızı, havuzdaki oksidasyon hızından daha büyüktür. Bunun sebebi, kum daneciklerin etrafını saran Fe(OH)₃'ün Fe⁺²'nin oksidasyonunda katalitik bir etki göstermesindendir. Demir arıtımında kullanılan kumun çapı 1-2 mm, yatak derinliği 1,5-3 m civarında alınmaktadır. Filtrasyon hızı ise 5-20 m³/m²saat arasında seçilebilir.

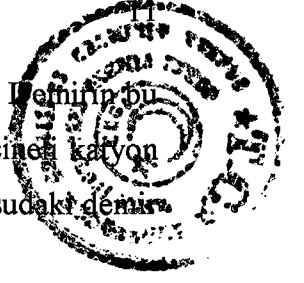
Demir arıtma tesisinin projelendirilmesi laboratuvar ve pilot tesis testlerine göre yapılmalıdır. Havalandırma, kimyasal oksidasyon, bekletme ve filtrasyon ünitelerinden oluşan örnek bir demir tasfiye akım şeması Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil.2.2.Demir Tasfiye Akım Şeması.

Havalandırma, yumaklaştırma, çöktürme ve filtrasyondan oluşan arıtma sistemi de demir giderilmesinde kullanılabilir. Ancak bu şekildeki giderimin verimli olması için yumaklaştırma işleminden önce Fe⁺²'nin okside edilmesi gerekir.

Fe⁺² ihtiva etmeyen suların yeraltına suni olarak verilmesi, sonra kuyularla çekilmesi suretiyle de yeraltında demir içeren suların demirden arınmış olarak temini mümkündür. İşin esası, oksijene doygün olarak zemine verilen sudaki oksijenin yer altı suyunda bulunan Fe⁺²'yi oksitlemesinden ibarettir. Oksidasyon işlemi yeraltında olmaktadır.



İyon değiştirme kolonlarında da, Fe^{+2} 'nin giderilmesi mümkündür. Demirin bu şekilde giderilmesinde katyon değiştirici reğineler kullanılmaktadır. Reęineli katyon değiştiriciler veya zeolitler bünyelerindeki sodyumu verip bunun yerine sudaki demir iyonlarını alırlar. Reaksiyonlar;

Sodyum devresinde zeolitler için;



Sodyum devresinde reęineli katyon deęiřtiriciler için;



Hidrojen devresindeki reęineli katyon deęiřtiriciler için;



şeklinde basit olarak yazılabilir.

Demir bileşiklerinin kimyası hakkında bilgiler arttıkça, demir arıtımı ile ilgili yeni metotlar geliştirilmektedir. Son zamanlarda demir hidroksitin katalitik etkisinden yararlanılan çalışmalar yapılmaktadır. Havalandırma ve çöktürme kısımlarının bulunduğu bir demir giderme tesisinde çöktürme havuzu tabanında çöken demir hidroksit amurlarının, havalandırma havuzunun başına geri devrettirilmesi suretiyle daha küçük havalandırma havuzu hacmi ile oksidasyon işleminin yapılabilceği gösterilmiştir. Sonuç olarak suyun özelliklerine göre arıtma metoduna karar verilmelidir. Seçim yapılırken arıtımın mali yönü de dikkate alınmalıdır [Eroğlu, 1995].

3.İMMOBİLİZE MİKROORGANİZMA BİYO REAKTÖRLERİ



Son yirmi yıldır endüstriyel uygulamalarda, katalizör olarak enzimlerin kullanımı hızlı bir gelişim göstermiştir. Enzimleri, klasik kimyasal reaksiyonlarda kullanılan katı fazdaki katalizörlere benzetmek ve kullanımını daha kolay hale getirmek için immobilizasyon teknikleri geliştirilmiştir. Endüstriyel ölçeklerde, immobilize sistemlerde saf haldeki enzimi kullanmanın maliyeti yüksek olduğu için çoğu durumda enzimi içeren mikroorganizmayı kullanmak daha avantajlı olmaktadır. Immobilize hücreleri kullanmanın avantajları şu şekilde sıralanabilir;

- ◆ Çok kademeli enzim reaksiyonlarının uygulanması mümkün olabilir,
- ◆ Sistem kararlılığı genelde yüksektir,
- ◆ Enzim ekstraksiyonu veya saflaştırması gerekmez,
- ◆ Hücre yoğunlukları ve enzim aktiviteleri uzun çalışma sürelerinde korunur,
- ◆ Reaksiyon ürünleri immobilize hücrelerden kolaylıkla ayrılabilir,
- ◆ Immobilize hücreler mikrobiyal kontaminasyonlara karşı daha az duyarlıdır.

İmmobilize hücre kullanımındaki potansiyel dezavantajlar ise şu şekilde sıralanabilir;

- ◆ İstenmeyen bölge reaksiyonları çok sayıda katalitik aktif enzimler tarafından katalizlenebilir,
- ◆ Taşıyıcıdan sızan hücreler çıkış suyuna karışarak kontaminasyona neden olabilir,
- ◆ Substratın ve ürünlerin hücre zarından geçmesi sınırlıdır bu da reaksiyon verimini düşürür.

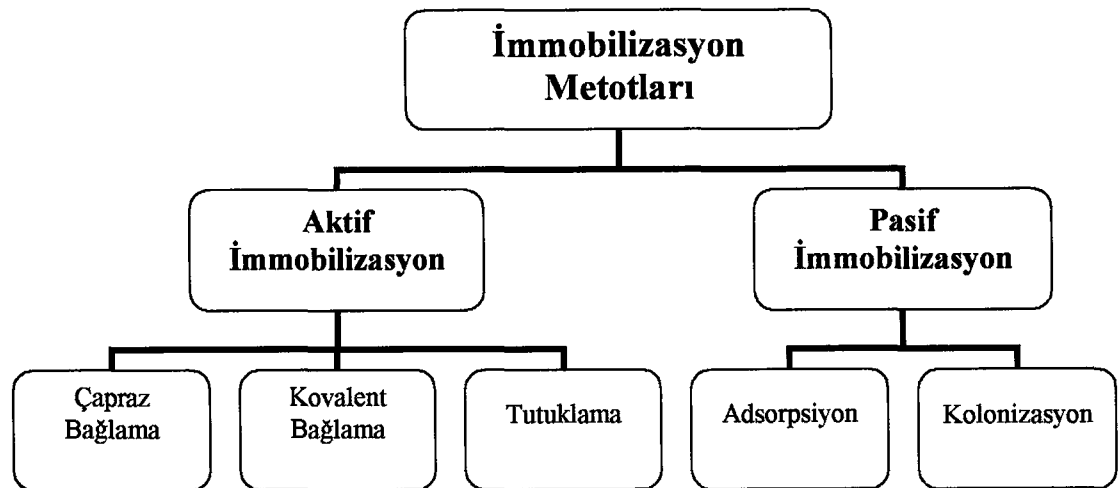
Bu dezavantajlara rağmen immobilize hücre biyoreaktörleri üzerindeki çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.



İmmobilize hücre sistemlerini endüstriyel ölçekte başarılı bir şekilde uygulamak için, ilk önce hücrelerin yaşayabileceği uygun bir ortamın sağlandığı biyoreaktörleri dizayn etmek gereklidir. Verilen bir proses için özel bir dizayn seçmek kütle transferine, hücrelerin gelişim ve yapısal özelliklerine bağlıdır. İmmobilize hücrelerin uzun süre canlılıklarını korumak, stabilizasyonunu sağlamak ve kütle transferi sınırlamalarını azaltmak immobilize hücre biyoreaktörleri için çok önemlidir. Kütle transferi, kinetik hesaplamalar ve reaktörün hidrodinamiği ile ilgili deneysel çalışmalar ve teorik analizlerle biyoreaktör dizaynlarını geliştirmek gerekir. Günümüzde endüstriyel ölçekte çok başarılı reaktör konfigürasyonları kullanılmaktadır [Asenjo, 1994].

3.1. İmmobilizasyon Metotları

Temel olarak immobilizasyon metotları aktif ve pasif olarak isimlendirilen iki ana grupta toplanmaktadır. Aktif immobilizasyonda hücrelerin bağlanması için çeşitli kimyasal ajanlar kullanılırken, pasif immobilizasyonda hücreler sadece elektrostatik etkileşimler ile destek malzemesinin içlerine veya yüzeyine bağlanırlar. İmmobilizasyon tekniğini belirlerken bakterinin yaşamsal özellikleri ve sistemin fizikokimyasal özellikleri göz önünde bulundurulmalıdır. Şekil 3.1’de immobilizasyon metotlarının bir sınıflandırılması gösterilmiştir [Asenjo, 1994].



Şekil.3.1.İmmobilizasyon Metotlarının Sınıflandırması.



3.1.1. Aktif İmmobilizasyon

Bu gruptaki immobilizasyon metotları, hücrelerin birbirlerine çapraz bağlanmalarını, yüzeylere kovalent bağlanmalarını veya jellerin içlerine tutuklanmalarını içerir. İlk iki metotta çapraz bağlama ajanı olarak enzim aktivitesine veya hücre canlılığına zarar veren toksik etkiye sahip gluteraldehit veya toluen diisosiyanat gibi kimyasal ajanlar kullanılmaktadır. Tutuklama metotunda hücreler ile destek malzemesi arasında bir bağlanma yoktur, kalsiyum alginate veya k-karragenan gibi toksik olmayan malzemeler kullanılır, o yüzden tutuklama metodu birçok durumda başarılı uygulamaları olan bir metottur.

3.1.1.1. Kovalent Bağlama

Kovalent bağlama, hücrelerin aktifleşmiş desteğe direkt bağlanmasıdır. Poliisosiyanat veya karbodimid gibi bağlama ajanlarının her biri destek yüzeyinin bir spesifik grubunda yer alır ve bu gruplar hücre yüzeyinin reaktif grupları ile reaksiyona girer.

Bu tekniğin avantajları şu şekilde sıralanabilir;

- ◆ Tutuklama prosesindeki difüzyon problemleri bu sistemlerde yoktur,
- ◆ Üniform yüzeylere bir bağ ile bağlanmış hücreler uzun süre stabil kalır,
- ◆ Hücre sızıntıları minimumdur.

Bu tekniğin başlıca dezavantajı ise, kimyasal bağlama ajanlarının hücrenin canlılığına ve aktivitesine zarar vermeleridir.

3.1.1.2. Tutuklama

Tutuklama metodu, hücrelerin serbest halde dolaşmalarını önleyecek polimerik bir matristen oluşan kafesin içerisinde kapatılması prensibine dayanır. Bu metotta kimyasal bağlama metotlarından farklı olarak hücreler jel matrise bağlanmazlar. Tutuklama materyali olarak poliakrilamid, polimetakrilamid, üretan prepolimer,

polietilenglikol ve polivinil alkol gibi sentetik polimerler, alginat, k-kafragenan, agar ve çitosan gibi polisakkaritler, kolajen ve jelatin gibi proteinler kullanılmaktadır.



Metotun avantajları şu şekilde sıralanabilir;

- ◆ Hücrelerin hareketleri sınırlandırıldığı için hücrelerin katı ortamdan suya geçişi azalmış olur böylece mikrobiyal kontaminasyon olasılığı minimuma iner,
- ◆ Tutuklama malzemeleri toksik değildir ve kirletici özellikleri yoktur,
- ◆ Malzemeler büyük miktarlarda üretilip uzun zaman periyotlarında bozulmadan saklanabilirler,
- ◆ Kapsüllenmiş hücrelerin metabolik aktiviteleri yükselir.

Metotun dezavantajları ise şu şekilde sıralanabilir;

- ◆ Gaz ve çözünmüş maddelerin difüzyonu azdır,
- ◆ Kapsüllenmiş hücrelerde oksijen tüketim hızları azalır,
- ◆ Hücre morfolojisi veya metabolik değişimler görülebilir [MB Cassidy et al. 1996].

3.1.2. Pasif İmmobilizasyon

Pasif immobilizasyon teknikleri immobilizasyon için daha doğal yöntemleri içermektedir.

3.1.2.1. Adsorpsiyon

Adsorpsiyonda hücreler gelişmek için ortamın özelliklerine bağlı olarak katı bir yüzeye tutunurlar. Adsorpsiyon dengesi hücre yüzeyleri ile destek materyali arasındaki elektrostatik bağlantıları temel aldığı için bu metotta zeta potansiyeli önemli bir rol oynamaktadır. İmmobilizasyon malzemesi olarak iyon değiştirici reçine ve selüloz türevleri gibi organik, kum, cam, seramik, silikat, metal oksit ve hidroksit çöküntüleri ve magnetik partiküller gibi inorganik materyaller

kullanılmaktadır.

3.1.2.2. Kolonizasyon

Bu metotta porozlu biyokütle destek partikülleri kullanılır. Biyokütle destek partiküllerinde destek matrisindeki boşlukların birbiriyle bağlantılı olması gerekir. Aktif immobilizasyondaki tekniklerden farklı olarak kolonizasyonda hücrelerin immobilizasyondan önce gelişmelerine gerek yoktur. İnert partiküller ve hücreler fermentöre yerleştirilir ve normal çalışma prensibinde çalıştırılır. Hücreler doğal gelişimlerinin ilk aşamasında destek partiküllerinin içlerine immobilize olurlar.

Bu metotun avantajları şu şekilde sıralanabilir ;

- ◆ Kimyasal madde eklenmesine ihtiyaç duymaz,
- ◆ Hücrelerin önceden üretilmesine gerek yoktur,
- ◆ Substrat ve ürünlerin partiküllerin içine kütle transfer hızları yüksektir,
- ◆ Partiküller tekrar kullanılabilir,
- ◆ Biyoreaktörün izlenmesi kolaydır, sistem oldukça stabildir,
- ◆ Maliyeti aktif immobilizasyon teknikleriyle kıyaslandığında düşüktür,
- ◆ Partiküllerin sterilizasyonuna gerek yoktur.

Kolonizasyonda hücre immobilizasyonu için, poliester, polieter, poliüretan köpük, polivinil reçine ve porozlu reçine gibi çeşitli partiküller kullanılmaktadır

3.2. İmmobilizasyon Hücreleri İçin Reaktör Tipleri

İmmobilize hücre reaktörleri akış koşullarına göre tam karışımli, sabit yataklı ve akışkan yataklı reaktörler olmak üzere birkaç kategoriye ayrılabilir. Bu reaktör tipleri kütle transfer karakteristiklerini geliştirmek ve reaktörün kontrolünü kolaylaştırmak için birlikte ya da modifiye edilerek kullanılabilirler. İmmobilize hücre sistemleri için reaktör seçimi birkaç faktöre bağlıdır. Bu faktörler kütle transfer ihtiyaçları, oksijen girişi ve reaksiyon sonunda oluşan gazların çıkışı olarak sayılabilir. Aerobik reaksiyon ile canlılıklarını sürdüren hücreler için, yeterli

miktarda oksijenin sağlanması ve oluşan karbondioksitin ortamdan atılması çok önemli iken anaerobik reaksiyonlarda gaz halindeki ürünlerin atılması büyük önem taşır.

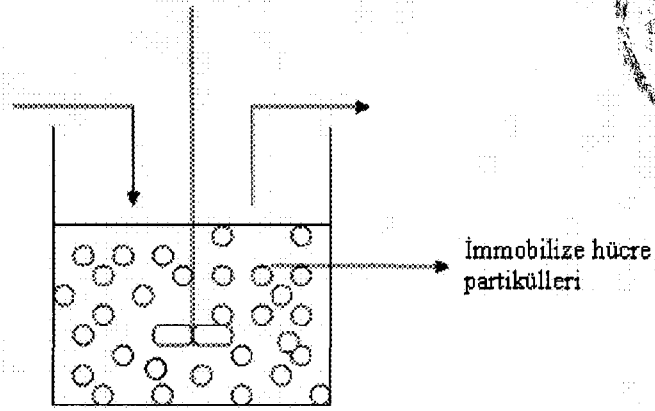
İmmobilizasyon metodu ve partikül karakteristiği birlikte düşünülmelidir. Tam karışımli reaktörlerde mekanik kuvvetler dolgu yataklı reaktörlerden daha çok partiküllere zarar verir. Bu yüzden tam karışımli reaktörlerde daha sert partiküller kullanılır. Dolgu yataklı reaktörlerde çok küçük partikül kullanmak basınç düşüşlerine ve istenmeyen tıkanmalara neden olur, bu durumda akışkan yataklı reaktör kullanmak sorunu giderir.

Kinetik hesaplamalar da reaktör seçiminde kullanılan önemli bir parametredir. Örneğin, tam karışımli reaktörlerde ortalama reaksiyon hızı dolgu yataklı reaktördekinden daha düşüktür fakat tam karışımli reaktörlerde diğer reaktörlere göre substrat inhibisyonu daha azdır.

Substratın niteliği, işletme parametreleri, hidrolik ve ekonomik nedenler reaktör seçimini etkileyen diğer faktörlerdir [Asenjo, 1994].

3.2.1. Tam Karışımli Reaktörler

Tam karışımli reaktörler genelde serbest haldeki hücreler için kullanılır. Sıcaklık ve pH kontrolünün kolay olması, homojen bir karışımın sağlanması bu nedenle substrat inhibisyonuna izin vermemesi ve uygulamasındaki kolaylıklar gibi avantajlara sahiptir. İmmobilize hücrelerin tam karışımli reaktörde uygulanmasındaki ana problem immobilizasyon matrislerinin özellikle jel partiküllerinin karıştırma sırasında oluşan yüksek mekanik kuvvetler nedeniyle zarar görmeleridir. Bu problemi ortadan kaldırmak için pervane tipli karıştırıcılar yerine sarmal şeklindeki karıştırıcılar tercih edilmelidir. Şekil 3.2’de immobilize hücrelerin kullanıldığı, klasik bir tam karışımli biyoreaktör gösterilmiştir [Asenjo, 1994].



Şekil.3.2. Tam Karışımli Reaktör.

3.2.2. Sabit Yataklı Reaktörler

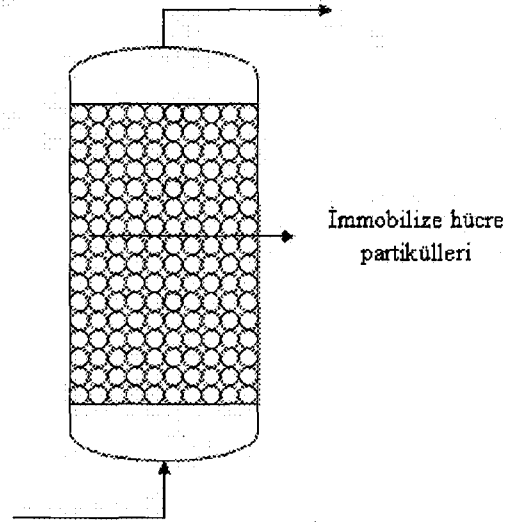
3.2.2.1. Dolgu Yataklı Reaktörler

Şekil 3.3’de gösterilmiş olan dolgu yataklı reaktörler, immobilize hücre reaktörleri arasında en çok kullanılan reaktörlerdir. Bu reaktörlerde, substratın immobilize hücre yatağı boyunca seçilen akış yönünde sabit bir hareketi vardır. Böylece dolgu yataklı reaktörler, akış hızı profilinin mükemmel olduğu tapa akışlı reaktörler olarak kullanılabilirler. Tapa akışlı reaktörler, yüksek substrat konsantrasyonlarında yüksek reaksiyon hızları sunar fakat düşük sıvı hızlarında kütle ve sıcaklık transferleri düşük olur.

Dolgu yataklı reaktörler, uygulamasının basit olması ve yüksek reaksiyon hızları sağlaması gibi avantajlara sahiptir. İmmobilize canlı hücrelerin kullanımında sıvı-gaz ilişkisinin verimi ve karbondioksitin arıtımı dikkat edilmesi gereken konulardır. Bazı koşullarda dolgu yataklı reaktörlerde hareketsiz hava boşlukları birikebilir. Bu gazların boşluklarda sıkışması, kötü sıvı dağılımına, reaktörün performansının düşmesine ve eğer jel şeklinde matris kullanılmış ise matrisin yıpranmasına veya parçalanmasına neden olur. Gaz birikiminden korunmak için dar yatay reaktörlerin kullanılması önerilmiştir. Bu reaktörlerde yatak üzerinde karbondioksitin kolayca sistemden çıkmasını sağlayan boşluklar vardır. Maya hücrelerinin bu tip yatay bir reaktörde kalsiyum alginate jellerinde tutuklanması ile etanol üretim veriminin incelenmesinde, reaksiyon veriminin dikey dolgu yataklı reaktörlerden 1,5 kat daha fazla olduğu bulunmuştur.



Dolgu yataklı biyoreaktörlerde yüksek kütle ve ısı transferi veya reaktör içinde iyi bir karışım isteniyorsa geri devirli sistemler kullanılabilir [Asenjo, 1994]



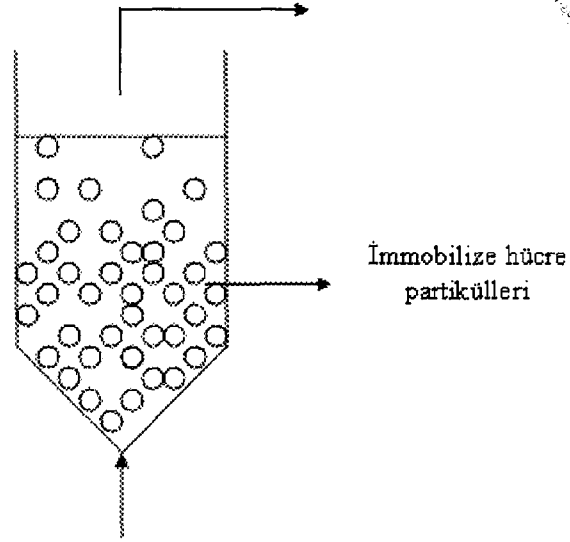
Şekil.3.3. Dolgu Yataklı Reaktör.

3.2.2.2. Diğer Sabit Yataklı Reaktörler

Sabit yataklı biyoreaktörlerin bir diğeri damlatmalı yatak reaktörleridir. Bu reaktörlerde sıvı akışı ince bir film halindeki yatakta aşağıya doğrudur. Gazların reaktörden atılmasında ve oksijenin reaktöre verilmesinde verimli sistemlerdir. Doğal süngerde immobilize edilmiş *Clostridium acetobutylicum* bakterisi ile aseton-bütanol-etanol üretimi çalışmasında seri bağlı iki damlatmalı yatak biyoreaktörü kullanılmıştır. Bu çalışmada inhibisyona neden olabilecek reaksiyon ürünlerinin gaz sıyrılması ile verimli bir şekilde ortamdan uzaklaştırılmasıyla solvent üretiminin tam karışımli reaktörden 2,8 kat daha verimli olduğu bulunmuştur [Asenjo, 1994].

3.2.3. Akışkan Yataklı Biyoreaktörler

Akışkan yataklı biyoreaktörler tam karışımli reaktörler ile tıpa akışlı reaktörler arasında bir karışım verimine sahiptir. Reaktörde, substrat çözeltisi immobilize hücrelerin bulunduğu yataktan yeterince homojen dağılacak kadar yüksek hızda yukarı doğru hareket eder. Şekil 3.4’de akışkan yataklı biyoreaktör gösterilmiştir.



Şekil.3.4. Akışkan Yataklı Biyoreaktör.

Akışkan yataklı biyoreaktörler, iyi bir karışım, kütle ve ısı transfer özellikleri ve minimum seviyelerde basınç düşmeleri sunar. Bu avantajlara ek olarak, pH ve çözünmüş oksijen gibi parametrelerin ölçümünün kolay olması, partikül seçiminin sınırlı olmaması, çalışma süresi boyunca aktif bölümlerin yer değiştirmesi, yüksek spesifik yüzey alanı sağlayan küçük partiküllerin kullanıma izin vermesi ve sistem kontrolünün kolay olması gibi avantajlara da sahiptir. Yeterli oksijenin sağlanmasının ve karbondioksitin verimli bir şekilde ortamdan uzaklaştırılmasının gerekli olduğu, canlı organizmaların kullanıldığı sistemler için çok kullanılmaktadır.

Bu avantajların yanında akışkan yataklı reaktörlerin kullanımında bazı zorluklarda vardır. Yüksek yatak dağılımı, düşük stabilite seviyeleri, dar bir optimum çalışma aralığı olduğu için modellenmesindeki zorluklar ve prosesin kontrolünün zor olması gibi dezavantajlara sahiptir [Asenjo, 1994].



4. DEMİR ARITIMINDA BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLER

4.1. Demir Bakterileri

Demir bakterileri, normal şartlar altında insan veya hayvanlar üzerinde hastalık yapıcı etkiye sahip değildir. Bu bakteriler, arıtma tesislerinde, içme suyu dağıtım şebekelerinde, su kuyularında ve boru tesisatlarında pas oluşturarak ciddi tıkanmalara ve akış problemlerine neden olurlar. Suyu verdikleri kırmızımsı-turuncu renk ve koku yüzünden suyun kalitesini azaltırlar.

Demir veya sülfür içeren mineralleri oksitleyebilen çok çeşitli kemolitotrofik bakteri vardır. Genelde asidik maden drenaj sularından izole edilen bu bakterilerden en çok karşılaşılanları, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* ve *Thiobacillus caldus*'tur [Rawlings et.al., 1999]. Asidik şartlarda yaşayabilen bu bakterilerin yanında nötral pH'larda yaşayabilen ve Fe^{+2} 'yi oksitleyen demir bakterileri de vardır. Bu bakteriler, *Sphaerotilus natans*, *Leptothrix ochracea*, *Crenothrix*, *Clonothrix* ve *Gallionella ferruginea*'dır [Bitton, 1994].

4.2. *Thiobacillus ferrooxidans* Bakterisi

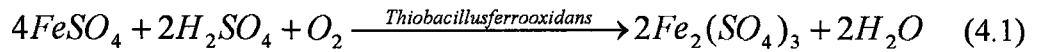
4.2.1. Genel Özellikler

Thiobacillus ferrooxidans 0,5-0,6 μm genişliğinde 1,0-2,0 μm uzunluğunda, sporsuz, gram-negatif, çubuk şeklinde, tek başına veya grup halinde yaşayabilen kısa zincirli bir bakteridir. Bu bakteri bir kemolitotrof olup havadaki karbon di oksiti Kelvin çevrimi aracılığı ile fikse edebilmekte ve enerji kaynağı olarak tiyosülfat, elementel kükürt veya sülfidik kükürt ile Fe^{+2} 'yi kullanabilmektedir. Organizma bu elementlerin oksidasyonu sırasında açığa çıkan enerjiyi ATP'ye dönüştürebilmekte ve biyosentez için kullanabilmektedir [Çetin,1983]. Tek bir kamçıya sahip olan *Thiobacillus ferrooxidans* kendi kendine hareket edebilen bir bakteridir.



Demir ve bitümlü kömür madenlerinin asidik maden drenaj sularında doğal olarak bulunurlar. İlk olarak bakır liçing sularından izole edilmiş ve metal sülfür çözünürlüğüne neden olan dominant bir bakteri olduğuna inanılmıştır [Harahuc et.al., 1999]. Beş özelliği ile karakterize edilirler.

- 1) Kemoliotrofik: Atmosferik oksijen ve karbondioksit varlığında hücresel gelişimi ve enerji ihtiyacı için indirgenmiş inorganik sülfürü ve Fe^{+2} 'yi kullanır,



- 2) Ototrofik: CO_2 'i hücresel karbon kaynağı olarak kullanır. Hücre gelişimi ve sentezi için N ve P gibi nütrientler ile K, Mg, Na, Ca ve Co gibi iz elementlere de ihtiyaç duyar,
- 3) Aerobik: Elektron alıcısı olarak oksijen görev alır,
- 4) Mezofilik: 20-40°C arasındaki sıcaklıkta yaşarlar,
- 5) Asidofilik: 1-4,5 arasındaki pH'larda yaşar ama optimum pH 2-2,3 arasındır. pH 4,5 üstünde 1,0 in altında yaşayamazlar [Smith et.al. 1988].

Thiobacillus ferrooxidans genel bir bakteri ortamında gelişme gösteremez. Bu nedenle izolasyonu zor olan bir bakteridir. Bu bakterinin pek çok suşları organik maddelerde üretilmemektedir. Eser miktarda glikozun bile üremeyi durdurduğu bilinir. Mikroorganizmanın oksitleme kapasitesine karbonhidrat ve peptonun da inhibe etki gösterdiği öne sürülmüştür [Leathen et.al., 1956]. Öte yandan zamanla organik maddelere alışması sağlanan suşların bir daha Fe^{+2} 'yi oksitleyemediği gözlenmiştir. Ancak Tuovinen et.al. *Thiobacillus ferrooxidans*'ın bir suşunu glikozda üretmeyi başarmışlardır. Heterotrofik olarak glikozda üreyen bakterinin DNA baz oranlarının plazmit olasılığına imkan vermeyecek kadar demirli ortamda üreyen bakteriden farklı olduğunu gözlemişlerdir [Çetin,1983].

Yapılan çalışmalarda özellikle düşük molekül ağırlıklı organik asitlerin, organizmanın sitoplazmasına zarar vererek toksik etki gösterdiği bulunmuştur. Pasif taşınma mekanizması ile hücre zarından geçen organik asitler yüksek iç pH nedeniyle çözünürler. Organik asitlerin hücrenin içine pasif taşıma ile taşınmasındaki sürücü kuvvet konsantrasyon gradiyentidir. Zamanla asite doymuş hale gelen

hücrelerin tamponlama kapasiteleri organik asitlerin miktarını karşılamaya yetmez ve iç pH'ın düşmesi nedeniyle hücreler canlılıklarını kaybederler [Mitchell,1993]

Thiobacillus grubunun heterotrofik, asidofilik suşlarının, örneğin *Thiobacillus acidocaldarius* ve *Thiobacillus thioparus*'un *Thiobacillus ferrooxidans*'ı inhibe eden organik maddeleri ortamdan uzaklaştırarak bakteri gelişimine yardımcı oldukları sanılmaktadır. Detz ve Barvinchak, *Thiobacillus acidocaldarius*'un sürekli kaplarda *Thiobacillus ferrooxidans* ile birlikte kültür yapıldığında kömürlerden asit ortama geçen ve *Thiobacillus ferrooxidans*'ı inhibe eden organik maddeleri uzaklaştırmak suretiyle oksidasyon reaksiyonunu hızlandığını gözlemlemişlerdir. Öte yandan Tuttle ve Dugan *Thiobacillus ferrooxidans*'ın üremesi sırasında ortama ototoksik α -ketoasitler salgıladığını ve bu organik maddelerin de *Thiobacillus acidocaldarius* tarafından ortamdan uzaklaştırıldığında üreme fonksiyonlarının hızlanacağını bildirmişlerdir [Çetin,1983].

Thiobacillus ferrooxidans'ın azot gereksinimi konusunda eldeki veriler çelişkilidir. Bu bakterinin en az bir suşunun havadaki serbest azotu tespit ettiği bildirilmektedir. Ancak diğer tüm çalışmalar bu bakterinin amonyum tuzlarına gereksinimini göstermiştir. Öte yandan ortam pH'sının çok asidik olmasının havadaki amonyağın ortamda erimesine sebep olacağı aşıkardır ve hemen her suşun azotsuz besiyerinde en az bir kaç jenerasyon üreyebilmesi bu nedene bağlanabilir. Tsuchiya *Thiobacillus ferrooxidans*'ın bir suşu ile azot fikse edebilen, asidofilik, heterotrof, *Beijerinckia lacticogenes*'i birlikte ürettiğinde *Thiobacillus ferrooxidans*'ın simbiyotik olarak azot gereksiniminin *Beijerinckia lacticogenes* tarafından havadaki azot ile karşılayabileceğini göstermiştir [Çetin,1983].

4.2.2. Kullanım Alanları

Thiobacillus ferrooxidans ile biyolojik demir oksidasyonunun endüstriyel uygulamaları çok sayıdadır ve bu konu üzerine çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmalar, endüstriyel uygulamanın maliyetini etkileyen en önemli faktör olan Fe^{+2} oksidasyon hızını artırmayı amaçlamışlardır. Daha iyi sonuçlar elde edebilmek için,



kesikli ve sürekli akış koşullarında çok değişik deneysel sistemler kullanılmış ve değişik reaktör tipleri dizayn edilmiştir. Biyoreaktör içerisinde yüksek ve stabil hücre konsantrasyonları sağlayan immobilize hücreler kullanmak, reaktör performansını artırıcı yöntemlerden biri olmuştur. Bu nedenle değişik biyoreaktör konfigürasyonları yanında çok sayıda immobilizasyon matrisi de araştırılmıştır [Nemati et.al., 1998].

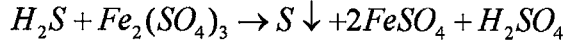
4.2.2.1. Atık Gazların Desülfürizasyonu

Hidrojen sülfid doğal gaz, biyogaz ve çeşitli gaz akışlarında istenmeyen bir bileşiktir. Atık gazlardan H_2S 'in arıtılması taşıma ve dağıtım sırasında oluşacak sağlık, güvenlik ve korozyon nedeniyle ve gazın yanması sırasında oluşacak SO_2 kirliliğini önlemek için gereklidir [Nemati et.al., 1998]. Günümüzde H_2S 'in arıtılmasında çok sayıda fizikokimyasal teknik kullanılmaktadır. Bu teknikler, kuru gaz redoks prosesleri (klasik Klaus, süper Klaus 98,5 ve süper Klaus 99), sıvı redoks prosesleri (Stretford, Unisolf, Sulfoline, LOCAT, Sulferox ve Hyperion prosesleri) ve sıvı adsorpsiyon prosesleri (alkanolamine ve karbonat prosesleri) dir. Bu prosesler yüksek maliyetlidir, büyük enerji girdilerine ihtiyaç duyarlar ve reaksiyon sonunda tehlikeli atıklar çıkarırlar [Malhotra et.al., 2002]. Bu dezavantajlar nedeniyle kömür ve petrolün SO_2 ve H_2S 'ten temizlenmesi için mikrobiyolojik çözeltilerin kullanılması gibi daha ekonomik ve daha az enerji gerektiren prosesler üzerine araştırmalar devam etmektedir. Mikrobiyolojik prosesler ortamın sıcaklığı ve basıncında çalıştırıldıkları için uygun sıcaklık ve basıncın ayarlanması için ilave bir enerjiye ihtiyaç duymaz bu da enerji ihtiyacını minimuma indirir. Klasik proseslerin yüksek kimyasal, katalizör ihtiyacı ve atık maliyetleri biyolojik proseslere göre en büyük dezavantajdır [Nemati et.al., 1998]. Biyolojik yöntemlerin en büyük dezavantajı ise düşük reaksiyon hızlarıdır. Bu yüzden gaz arıtımı için birçok biyolojik metot olmasına rağmen bunların çok azı büyük ölçekte kullanılabilir.

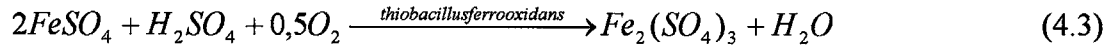
Bu iki prosesin avantajlarının birleştirildiği *Thiobacillus ferrooxidans* bakterisinin kullanıldığı bir yöntem geliştirilmiştir. Bu proses iki aşamada gerçekleşmektedir. Birinci aşamada oksidan olarak Fe^{+3} sülfat içeren bir çözelti ile absorber içindeki H_2S içeren gaz temas ettirilir. Çözelti H_2S 'i içine çeker ve H_2S seçici bir şekilde elementel sülfüre okside edilir, bu sırada Fe^{+3} sülfat Fe^{+2} sülfata



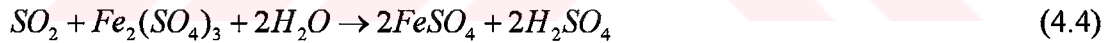
indirgenir [Malhotra et.al., 2002].



Fe^{+3} sülfat ile H_2S 'in reaksiyonu çok hızlıdır ve reaksiyon sonunda çevreye zararlı toksik atık gazlar çıkmaz. Elementel sülfürde kolaylıkla arıtılabilir. Katı sıvı ayırma prosesi ile elementel sülfürün arıtılmasından sonra ikinci aşamada Fe^{+2} sülfat çözeltisi *Thiobacillus ferrooxidans* içeren aerobik biyoreaktöre Fe^{+3} 'e okside edilmek üzere gönderilir. Fe^{+3} çözeltisi prosese tekrar verilir [Nemati et.al., 1998]. Burada birinci aşamada ki reaksiyonun verimi ikinci aşamadaki biyolojik reaksiyonun verimine bağlıdır [Malhotra et.al., 2002].



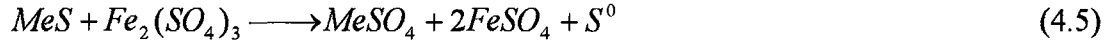
Baca gazından sülfürdioksitin biyolojik arıtımı Fe^{+3} sülfat çözeltisi ile gaz akışının ıslak yıkanmasını içerir. Oluşan Fe^{+2} sülfat çözeltisi *Thiobacillus ferrooxidans* ile Fe^{+3} 'e tekrar okside olur. Böylece Fe^{+3} 'ün proseste tekrar kullanılabilirliği sağlanmış olur [Nemati et.al., 1998].



4.2.2.2. Metal Biyofiltreleme (biyoliçing)

Hidrometalurji, metallerin cevherlerden ve minerallerden ayrılıp, çoğunlukla su olan, sıvı bir fazla erimelerini sağlayarak istenen metalin elde edilmesini amaçlayan bilim dalıdır. Hidrometalurjinin ve özellikle bakteriyel liç işlevinin başlıca uygulama alanını düşük tenörlü cevherlerin zenginleştirilmesi oluşturmaktadır. Bu prosesin günümüzde giderek önem kazanmasında ana neden yüksek tenörlü cevherlerin günümüze dek kullanılıp bitirilmiş olması ve sıranın düşük tenörlü cevherlere gelmiş olmasıdır. Ergitme gibi klasik yöntemlerin yükselen maliyetleri karşısında düşük tenörlü cevherlerin kullanımı için en uygun yöntem olarak bakteriyel liç yöntemi görülmektedir. Ayrıca bu işlevin çevreyi daha az kirletmesi ve düşük yatırım maliyeti, ekonomik açıdan onu çekici kılmaktadır [Çetin,1983].

Mikrobiyal filtreleme, genellikle az asidik sulu sülfat çözeltisi içindeki uranyum cevheri ve metal sülfidlere uygulanabilmektedir. Metal süfitlerin çözünmesi doğrudan ve dolaylı etki mekanizmalarını içeren bir seri reaksiyon ile gerçekleşmektedir. (4.5) reaksiyonu, asidik Fe^{+3} sülfat ortamı içinde metal süfit (MeS) cevherinin çözünmesini gösteren önemli bir reaksiyon olarak tanımlanmaktadır.



Bu reaksiyon literatürde dolaylı etki mekanizmasının ilk reaksiyonu olarak adlandırılır. Bu mekanizma bir metal süfitin Fe^{+3} tarafından kimyasal oksidasyonunu içerir. Metal süfit cevheri, cevherin biyolojik oksidasyonunu içeren doğrudan etki mekanizmasının sonucu olarak da çözünür hale gelebilir. Bu mekanizmada bakterinin metal süfitlerin üzerine pilileri veya lipopolisakkarit kılıfı ile yapışarak substratı oksitlediği ileri sürülür. Gerçekten de bakterilerin seçici olarak pirit ve kalkopirit gibi sülfidik mineral yüzeylerine yapıştığı elektron mikrograflarında gözlenmiştir. Bakterilerin yapıştığı bu bölgedeki kristal yüzeylerin daha sonra bozuldukları, yine elektron mikrograflarında saptanmıştır [Çetin,1983].



Metal süfitin çözülmesi için önemli olan iki biyolojik reaksiyon Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e oksidasyonu ve S^0 'ın SO_4^{-2} 'ye oksidasyonudur.



Bu reaksiyonlar liçing prosesinin doğal çevrimini göstermektedir. Bakteriyel liçing klasik metotlarla kıyaslandığında hem ekonomiktir hem de çevresel riski azdır [Nemati et.al., 1998].



4.2.2.3. Asidik Maden Sularının Arıtılması

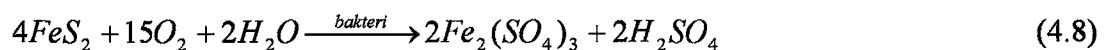
Metal sülfidlerin metal sülfatlara kontrol edilemeyen biyolojik dönüşümü sonucunda ortaya çıkan asidik maden suları özellikle bu asidik sulara maruz kalan alanlarda çok önemli bir problemdir. Eğer bu metallerce zengin asidik sular doğal su sistemlerine karışırlar ise, bu suların ekosistemlerine, balık endüstrisine ve içme suyu kaynaklarına tahrip edici etki yaparlar [Dopson et al. 2003]. Asidik maden drenaj sularını kontrol etmek için birçok yöntem geliştirilmiştir fakat çok başarılı olunmamıştır. Fe^{+2} içeren asidik maden drenaj suyunun arıtım prosesi oksidasyon ve sonrasında nötral pH'da demirin çökmesini sağlamaktır. Bunun için asidik maden suyunun pH'sı Fe^{+2} çökeltilene kadar yükseltilir, pH 9,5'a getirilmeden bütün Fe^{+2} 'lerin çökmesi sağlanamaz. Kalsiyum karbonat ile asidik maden drenaj suyunun nötralizasyondan önce Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e oksidasyonu gerekir. Çünkü Fe^{+2} içeren asidik su kalsiyum karbonat ile verimli bir şekilde reaksiyona giremez. Diğer bir deyişle, Fe^{+3} kalsiyum karbonat ile asidik koşullarda çok hızlı reaksiyona girer ve Fe^{+3} hidroksit şeklinde çöker.

Asidik maden sularının arıtılması için denenen farklı prosesler arasında *Thiobacillus ferrooxidans* ile Fe^{+2} 'nin oksidasyonunun en uygulanabilir ve verimli olduğu bulunmuştur [Nemati et.al., 1998].

4.2.2.4. Kömürün Desülfürizasyonu

Mikrobiyal kömür desülfürizasyonu, kömürde bulunan inorganik sülfidin arıtılmasında biyolojik ve biyolojik olmayan oksidasyonların kompleks bir birleşimini temel alır. Bu kompleks reaksiyonlardan sonra düşük sülfür içerikli kömür elde edilir.

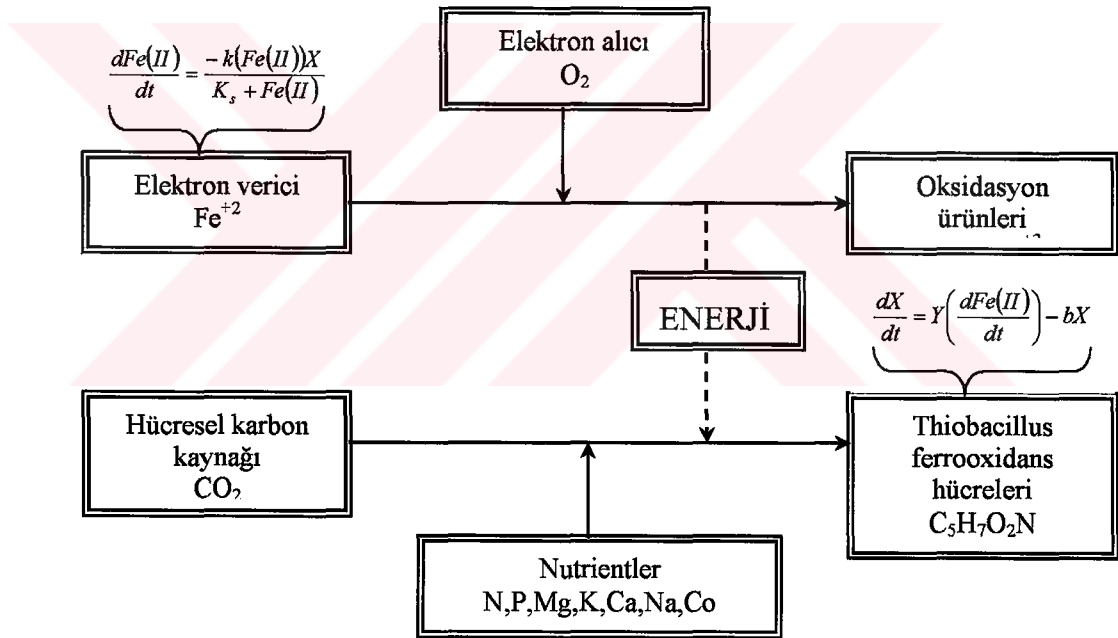
Kömürdeki en genel sülfid mineral formu olan piritin mikrobiyal oksidasyonu aşağıdaki reaksiyona göre olmaktadır ;





Pirit oksidasyonunda bakterinin ilk görevinin Fe^{+3} iyonu üretmek olduğu ve üretilen bu Fe^{+3} iyonları ile daha çok pirit okside edildiği ortaya atılmıştır [Nemati et.al., 1998]. Sodyum azid ve N-ethylmaleimide (NEM)'in *Thiobacillus ferrooxidans* ile pirit oksidasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Prosesin avantajları; biyodesülfürizasyonda bakteri kömürün karbon iskeletine zarar vermediğinden ısı değerinde büyük değişimler olmaz ve düşük pH nedeniyle kömürdeki mineraller çözünür bu da kömürün kül içeriğini azaltır. Prosesin dezavantajları ise; reaksiyonun hızı yavaştır, organik bağlı sülfürün arıtımında kullanılamaz ve proses sonunda yüksek Fe^{+3} konsantrasyonlu ve asidik atık sular çıkar [Mitchell,1993].

4.2.3. Fe^{+2} Oksidasyon Mekanizması

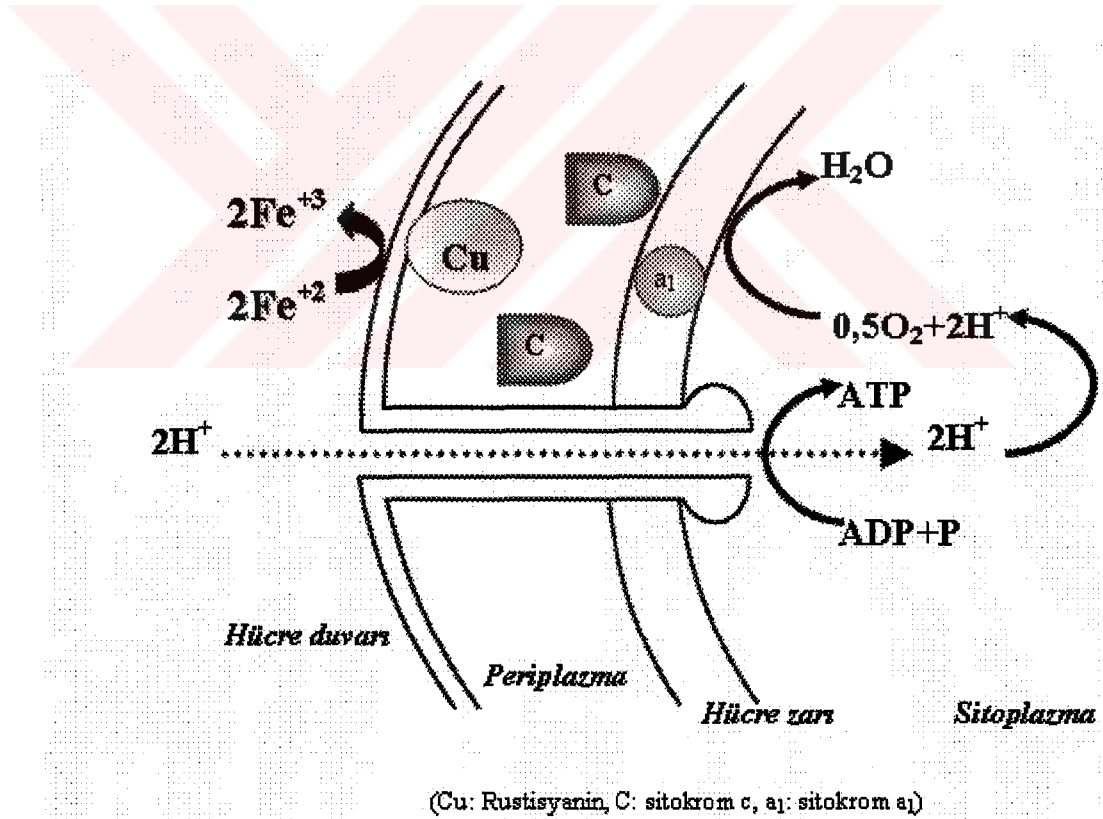


Şekil.4.1. Bakteriyel Demir Oksidasyonunun Şematik Gösterimi
[Smith et.al.,1988]

Thiobacillus'un bütün türleri ihtiyaçları olan enerjiyi indirgenmiş sülfür bileşiklerinin oksidasyonundan elde ederler. Bu türlerden farklı olarak *Thiobacillus ferrooxidans* elektron verici olarak Fe^{+2} 'yi kullanır. Bakteri bazı inorganik bileşiklerin oksidasyonundan elde ettiği enerjiyi indirgeme ajanı NADPH ve hücre için gerekli ATP'yi üretmek için kullanır. Şekil 4.1'de şematik olarak gösterilmiş

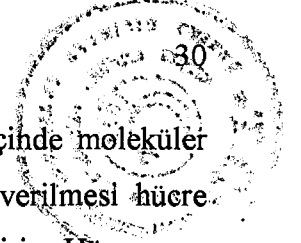


olan, bakteride demir oksidasyon mekanizması iki aşamada olur; asidik pH'da (2,0) hücre membranının dışında Fe^{+2} oksidasyonu ve pH 6,5'te hücre içinde oksijenin kullanılmasıdır. *Thiobacillus ferrooxidans*'ın oksidasyon sisteminin şu andaki modeli üç elektron taşıyıcısının yer aldığı kısa zincirli reaksiyonları kapsar [Nemati et.al., 1998]. Şekil 4.2'de gösterildiği gibi elektronlar hücrenin dışındaki Fe^{+2} 'den sitoplazmik sitokrom c'ye bir protein olan rustisiyanin ile taşınır. Bilinmeyen enzimatik bileşen (X)'in elektronları Fe^{+2} 'den rustisiyanine taşıdığı düşünülmektedir. Rustisiyanin, hücrenin periplazmasında çözünür halde bulunan, pH 1,5'da (besiyerinin pH'sı) oldukça stabil olan bakır içeren bir proteindir. Rustisiyanin, ilk elektron alıcısıdır. Hücreler Fe^{+2} 'ye maruz bırakıldığında rustisiyanin indirgenir [Blake and Shute,1987]. İndirgenmiş sitokrom c, elektronların sitokrom a_1 'e transfer edildiği yer olan hücre zarının dış yüzeyi ile birleşir. Bunun sonrasında indirgenmiş sitokrom a_1 suyla gelen moleküler oksijene elektronlarını verir [Nemati et.al., 1998].



Şekil.4.2. *Thiobacillus ferrooxidans*'ın Fe^{+2} Oksidasyon Zinciri.

[Nemati et.al., 1998]



Elektronlar hücre yüzeyindeki Fe^{+2} oksidasyonundan hücre içinde moleküler oksijene geçerler, protonlar hücre dışına atılır. Protonların dışarı verilmesi hücre dışındaki Fe^{+3} 'ün hidrolizi ile birleşerek proton gradyentini geliştirir. Hücre zarı proton kanallarının bulunduğu bölgeler dışındaki yerlere protonları geçirmez, protonların bu kanallara hareketi sırasında ATPaz ile ADP ve inorganik fosfattan ATP sentezleyecek enerji ortaya çıkar. Baas Becking ve Parks demir oksidasyonu için gereken ΔG 'yi 41,8 kJ/mol hesaplamışlardır. Lees et al.'un son çalışmalarında reaksiyonun serbest enerjisinin 27,2 kJ/mol olduğunu bulmuştur. Bu bilgilere dayanarak, bakterinin 1 mol karbonu özümsemesi için 18,5 mol Fe^{+2} 'yi okside etmesi gerekir, bu kadar karbonu %100 verimle kullanabilmesi için 500,2 kJ enerjiye ihtiyacı vardır. Bu verilerden yola çıkarak bakteri demir oksidasyonundan elde ettiği enerjiyi %100 verimle kullanamaz. Literatürde verim değerlerinin en düşük %3,2, en yüksekte %30 olduğu tespit edilmiştir. Buradan açıkça görülmektedir ki *Thiobacillus ferrooxidans*'ın gelişimi için gerekli olan enerjiyi sağlamak için büyük miktarda demiri okside etmesi gerekir.

Thiobacillus ferrooxidans'ın ATP sentezini ve demir oksidasyonunu bir arada yapması kimyasal osmoz teorisi ile açıklanmaktadır. Kimyasal osmoz hücre zarının iki tarafındaki yüklerin ayrılığının direkt bir sonucu olan proton hareket kuvvetini içerir. Daha spesifik olarak, proton hareket kuvveti iki nedenle olur:

- 1) pH değişimi (asidik periplazma – nötrale yakın sitozol)
- 2) Elektrik potansiyeli (pozitif yüklü periplazma – negatif yüklü sitozol)

Demir okside edilen sistemlerin sülfat iyonlarına da ihtiyaçları vardır. Sülfat iyonları demir okside eden enzim sisteminin direkt substratı olan altı sulu Fe^{+2} kompleksinin anyonik stabilizeri olarak rol oynamaktadır [Nemati et.al., 1998]. Lazaroff sülfatın Fe^{+2} 'nin hücreye girişini kontrol ettiğini ve demir oksidaz sistemi için gerekli olduğunu öne sürmüştür. Brierley iki değerlikli sülfat iyonunun (SO_4^{-2}) bakteri hücresinde pozitif yüklü bölgeleri depolarize ettiği ve böylece Fe^{+2} 'nin hücre tarafından kullanıldığını öne sürmüştür. Schnaitman et al. sülfat konsantrasyonunu 0,2'den 2,8 g/L'ye artırmanın Fe^{+2} oksidasyon hızını iki katına çıkardığını bulmuştur [Smith et.al.1988].



4.2.4. Gelişme Kinetiği ve Fizikokimyasal Parametrelerin Etkisi

4.2.4.1. pH

Farklı çalışmalardan elde edilen verilere göre enerji kaynağı olarak Fe^{+2} 'yi kullanan *Thiobacillus ferrooxidans*'ın 1,0-6,0 arasındaki pH değerlerinde yaşayabildiği bulunmuştur. Bunun yanında 1,5-3,5 arasındaki pH değerlerinin bakterinin gelişimine etki etmediği fakat pH 1,5'dan az ve 3,5'dan fazla olduğunda bakteri gelişiminin azaldığı bulunmuştur. Deneysel çalışmalarda bakterinin verimli kullanılabilirliği için sitoplazmik pH'sının sistem içindeki dalgalı pH değerlerinden korunması şarttır ve sabit bir değerde tutulması gerekir. *Thiobacillus ferrooxidans*'ın hücre zarının ve sitoplazmik membranının yapısal özelliklerinin asidik pH'ya karşı direnci araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda bakterinin hücre zarının sertliğini artıran, geçirgenliğini azaltan büyük miktarda siklopropan yağ asidi içerdiği bulunmuştur. Çizelge 4.1'de farklı çalışmalarda kullanılan pH aralıkları gösterilmiştir [Nemati et.al., 1998].

Çizelge.4.1.Farklı Çalışmalarda Kullanılan pH Aralıkları.

Referans	pH aralığı
MacDonald ve Clark (1970)	2,5-3,5
Buchanan ve Gibbons (1974)	2,5-5,8
Torma (1977)	2,3
Ingledew ve Houston (1986)	2,0
Karamanev ve Nikolov (1988)	2,0-2,3
Drobner et.al.(1990)	2,0

4.2.4.2. Sıcaklık

Thiobacillus ferrooxidans 30⁰C ile 40⁰C arasında yaşayan mezofilik bir bakteridir. Optimum sıcaklığın pH'ya bağlı olduğu söylenir, düşen pH'larda optimum sıcaklığın da düştüğü gözlenmiştir. Bakterinin yaşayabildiği maksimum sıcaklık pH'ya bağlı olarak pH 2,5-3,5'da 45⁰C ve pH 1,5'da 35⁰C'dir. Farklı araştırmacılar tarafından bulunan Fe^{+2} oksidasyonu ve bakteri gelişimi için optimum

sıcaklıklar tabloda gösterilmiştir. Çizelge 4.2’de literatürde ‘çalışılan sıcaklık aralıkları ve pH’ya bağlı olarak bulunan optimum sıcaklıklar gösterilmiştir.



Çizelge.4.2. Farklı Çalışmalarda Kullanılan Sıcaklık Değerleri.

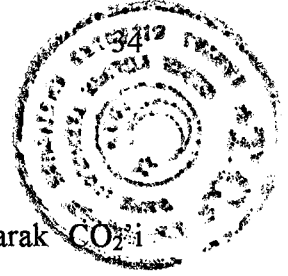
Referans	pH aralığı	Sıcaklık aralığı	Optimum sıcaklık
Lacey ve Lawson (1970)	2,0-2,3	20-31	31
MacDonald and Clark (1970)	2,5-3,5	20-40	33
Ahonen and Tuovinen (1989)	1,5	4-46	28
Smith et.al.(1988)	1,9-2,4	20-35	25-30
Okerek and Stevens (1991)	2,4	10-30	30
Nemati (1996)	35	20-40	1,5-3,5

4.2.4.3. Fe⁺² konsantrasyonu

Thiobacillus ferrooxidans gelişimi ve Fe⁺² oksitleme kapasitesi Fe⁺² konsantrasyonundan önemli oranda etkilenir. Silvermann ve Lundgren [Silverman, Lundgren, 1959] substrattaki Fe⁺²’nin azalması nedeniyle bakterinin gelişiminin de azaldığını bulmuşlardır. Baron ve Luecking *Thiobacillus ferrooxidans*’ın maksimum gelişiminin 2-3 kg/m³ Fe⁺² varlığında olduğunu bulmuşlardır. Okereke ve Stevens Fe⁺² konsantrasyonunu 2,2-6,3 kg/m³ aralığında çalışarak sabit bir Fe⁺² oksidasyon hızı elde etmişlerdir. Yine Pesic de Fe⁺² oksidasyon hızı ile 0,0056-0,056 kg/m³ aralığındaki Fe⁺² konsantrasyonları arasında lineer bir ilişki olduğunu göstermiştir. Monod eşitliği, Fe⁺² konsantrasyonunun fonksiyonu olarak *Thiobacillus ferrooxidans*’ın gelişimini doğrulamak için yaygın bir şekilde kullanılır. Farklı çalışma koşulları literatürdeki farklı temel büyüme kinetik parametrelerinin bulunmasına neden olmuştur. Çizelge 4.3’te maksimum spesifik büyüme hızları değerleri (μ_{max}) ve substrat doygunluk katsayısı (K_s : spesifik büyüme hızının yarı değerindeki substrat konsantrasyonu) için farklı araştırmacılar tarafından bulunan değerler gösterilmiştir [Nemati et.al., 1998].

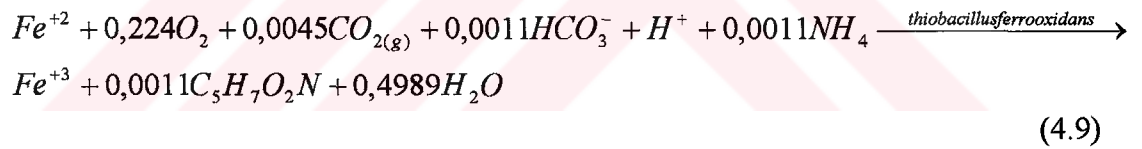
Çizelge.4.3.Literatürdeki Çalışmalarda Elde Edilen Farklı Kinetik Katsayılar

Referans	μ_m (h ⁻¹)	K _s (kg/m ³)	Gözlenen parametre	Sistem
Lacey ve Lawson (1970)	0,12-0,25	1,0-2,0	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kesikli pH 2,0-2,3 sıcaklık 20-31°C
Mac Donald ve Clark (1970)	0,14	0,4	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kesikli pH 2,3 sıcaklık 32°C
Mac Donald ve Clark (1970)	0,16	0,21	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kemostat pH 2,3 sıcaklık 32°C
Kelly ve Jones (1978)	0,14	2,02	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kesikli pH 1,6 sıcaklık 30°C
Kelly ve Jones (1978)	850 µL O ₂ /h	0,54	Oksijen konsantrasyonu	Warburg manometre pH 1,6 sıcaklık 30°C
Kelly ve Jones (1978)	8,33x10 ⁻⁴ gO ₂ /h mg protein	0,02-0,05	Oksijen konsantrasyonu	Oksijen elektrodu pH 1,6 sıcaklık 30 °C
Jones ve Kelly (1983)	1,2-1,8	0,04-0,13	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kemostat pH 1,6 sıcaklık 30°C
Braddock et.al. (1984)	0,09	-	Hücre konsantrasyonu	Kesikli pH 1,9 sıcaklık 22°C
Braddock et.al. (1984)	0,07	0,044	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kemostat pH 1,9 sıcaklık 22°C
Smith et.al. (1988)	0,06-0,12	0,55-0,11	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kemostat pH 2,0 sıcaklık 20-30°C
Shrihari ve Gandhi (1990)	0,18	5,4	Hücre konsantrasyonu	Kesikli pH 2,2 sıcaklık 30°C
Chavarie et.al. (1993)	0,14-0,15	0,34-0,48	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kemostat pH 2,0 sıcaklık 30,5°C
Halfmeier et.al. (1993)	0,12	-	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kemostat pH 1,3 sıcaklık 30°C
Pagella et.al. (1996)	0,06-0,09	-	Fe ⁺² konsantrasyonu	Kesikli pH 2,5 sıcaklık 30°C



4.2.4.4. Karbondioksit ve Oksijen

Thiobacillus ferrooxidans bir kemototroftur, karbon kaynağı olarak CO₂'i kullandığı için, mutlak CO₂ ihtiyacı nedeniyle de zorunlu aerobtur. CO₂'i Kelvin Bensen dönüşümü ile bağlar. *Thiobacillus ferrooxidans*'ın optimum gelişme gösterdiği pH'da CO₂'in sınırlı çözünürlüğü göz önüne alındığında kültürlerin CO₂ kullanılabilirliğinin sınırlanacağı öngörülebilir. *Thiobacillus ferrooxidans* kültürlerinin gelişiminde CO₂'in sınırlanması, Fe⁺² oksidasyonunun üstel kinetiklerini lineer bir ilişkiye doğru öter, bunun nedeni yaşayan bakteri popülasyonu tarafından yapılan oksidasyon ile bakteri gelişiminin birbirinden ayıramaz olmasıdır. CO₂'in *Thiobacillus ferrooxidans*'ın gelişimine etkisi Barron ve Luecking tarafından çalışılmıştır [Barron, Luecking, 1990]. Maksimum gelişim hızındaki CO₂ seviyesini %7-8 arasında bulmuşlardır. CO₂ seviyesi %8'in üstündeki değerlere yükseltince yüksek hücresel ürünler elde edilmesine rağmen kültürlerin gelişiminde inhibitör etki yaptığını da göstermişlerdir. Smith et.al [1988] pH 2.0'de ve mikrobiyal elektron transfer veriminin %30 olduğunda Fe⁺²'nin bakteriyel oksidasyonunun ve hücre sentezinin ayrıntılı olarak stokiyometrisini hesaplamıştır.



Hesaplama elektron denge temeli ile klasik termodinamik üzerine dayandırılmıştır. (4.9) eşitliği *Thiobacillus ferrooxidans*'ın aerobik doğasını da gösterir. Oksijen ihtiyacı bir çok çalışmada doğrulanmıştır. *Thiobacillus ferrooxidans* ile demir oksidasyon hızı eğer oksijen transfer hızı kritik değerden düşük ise oksijen transferinden etkilenir. Kritik oksijen transfer hızı *Thiobacillus ferrooxidans*'ın fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır ve bakterinin oksijen ihtiyacı arttıkça artar [Savic et.al.1998]. Shrihari ve Gandhi [Shrihari and Gandhi, 1990] 30⁰C'de 240 rpm'de çalkalayıcı da yaptıkları deneylerde O₂'nin bakteriyel gelişim için sınırlayıcı olmadığını fakat çözünmüş oksijen konsantrasyonunun 0,26 mg/L'nin altına düştüğü durumda O₂'nin sınırlayıcı olacağını ve *Thiobacillus ferrooxidans*'ın 0,2 mg/L'nin altındaki çözünmüş oksijen konsantrasyonlarında gelişmediğini bulmuşlardır.



Silvermann ve Rogoff yüksek erimiş oksijen konsantrasyonlarında hücrelerin kok şeklini aldıklarını bildirmektedir. Bu sırada Fe^{+2} oksitleme hızlarında da yüzey/hacim oranının küçülmesinden dolayı bir düşüş gözlenmiştir [Çetin, 1983].

4.2.5. İnhibisyon

Literatürde Fe^{+2} oksidasyonunda bakteri aktivitesine ürün, substrat ve çeşitli anyonların sebep olduğu inhibisyonun etkisi üzerine yapılmış bir çok çalışma vardır.

Harahuc et.al. hücre gelişimi ve Fe^{+2} oksidasyonuna 0,2 M klorun, 1-94 mM sodyum nitratin inhibitör etki yaptığını, hücre bölünmesinde önemli bir yere sahip olan fosfatın ortamda en az 10 mM bulunması gerektiğini fakat 0,1 M fosfatın ise demir oksidasyonunu şiddetli bir şekilde azalttığını bulmuşlardır [Harahuc et.al., 1999].

Barron ve Luecking substrat inhibisyonunun 2-3 kg/m^3 'ün üstündeki Fe^{+2} konsantrasyonlarında olduğunu ve maksimum inhibisyonun 20 kg/m^3 değerinde gerçekleştiğini bulmuşlardır [Barron ve Luecking, 1990].

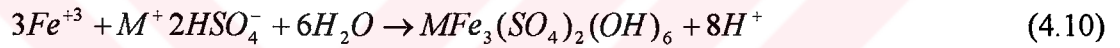
Curutchet et.al. Fe^{+3} konsantrasyonunun 2 kg/m^3 'den fazla olmasının bakteriyel gelişimde inhibisyona neden olduğu göstermişlerdir. Fe^{+3} 'ün 15,6 kg/m^3 konsantrasyonunda hemen hemen hiç Fe^{+2} 'nin oksitlenmediğini gözlemişlerdir [Curutchet et.al., 1992].

Yüksek bakteri hücre konsantrasyonlarında (izole edilmiş *Thiobacillus ferrooxidans* türlerinde) Fe^{+2} oksidasyonunun yarışmalı inhibisyonu konusunu Suzuki et.al.tarafından incelenmiştir. *Thiobacillus ferrooxidans* hücrelerinin komşu hücrelerin bağlanma bölgeleri için Fe^{+2} ile rekabet ettiğini öne sürmüşlerdir [Suzuki et.al., 1989]. Bu *Thiobacillus ferrooxidans*'ın alışılmadık yüzey özellikleri ile ilgilidir. Laboratuvarda yüksek Fe^{+2} konsantrasyonlarında gelişmeye adapte edilmiş türlerde bu inhibisyon etkisi görülmemiştir.

İzole edilmiş *Thiobacillus ferrooxidans* ile Lizama ve Suzuki'nin yaptığı bir çalışmada yüksek Fe^{+3} ve hücre konsantrasyonlarının Fe^{+2} oksidasyonuna sinerjistik yarışmalı inhibisyon etkisi gösterdiğini bulmuşlardır [Lizama ve Suzuki, 1989]. Bu tür inhibisyon da birinci inhibitörün bağlanması ikinci inhibitörün bağlanmasına izin vermediği yani ikinci inhibitörün bağlanmasının birinci inhibitör tarafından inhibe edildiği belirtilmiştir.

4.2.6. Fe^{+3} Bileşenlerinin Çökmesi

Jarosit, düşük pH'larda Fe^{+3} 'ün oluşturduğu Fe^{+3} hidroksisülfat ($MFe_3(SO_4)_2(OH)_6$) formudur. Burada M; K^+ , Na^+ , NH_4^+ veya H_3O^+ olabilir. Jarosit çökmesi asit üreten bir reaksiyonla meydana gelir.



Besi ortamındaki katyonlar, özellikle K^+ 'nin miktarının azaltılmasıyla istenmeyen demir çöküntülerinin oluşması engellenebilir. Birçok araştırmacı *Thiobacillus ferrooxidans* için en çok kullanılan besiyeri olan 9K besiyerindeki K^+ ve Fe^{+2} oranlarını değiştirerek kendi çalışmaları için uygun hale getirmişlerdir.

Jarositler asidik maden drenajlarının sedimentlerinde bulunabilir. Jarosit çökmesi pH, iyonik bileşim ve ortamın konsantrasyonuna bağlıdır.

Fe^{+3} çöküntüleri biyolojik demir oksidasyon prosesi üzerinde birçok etkiye sahiptir. İmmobilizasyon matrislerindeki Fe^{+3} çöküntülerinin matristeki boşlukları tıkaması nedeniyle biyokütlenin kalış miktarı sınırlanır. Bunun yanı sıra çöküntüler, immobilizasyon bölgesi boyunca reaktantların ve ürünlerin yavaş difüzyonuna neden olarak kinetik sınır yaratır. Fe^{+3} çöküntüleri pompaları, boruları ve valfleri tıkayabilir.

Lazaroff et al. [1982] asidik sülfat çözeltisinde jarositlerin çözülmemesi ve yavaşça çökmesi sırasında meydana gelen bakteriyel oksidasyonun olması



gerekenden 30 kez daha yavaş olduğunu öne sürmüştür.

Fe^{+3} çöküntülerinin pH'nın yanı sıra sıcaklığa da bağlı olduğunu gösteren çok sayıda araştırma vardır. Leduc et.al. [1993] 10^0C 'den düşük sıcaklıkta jarosit formundaki Fe^{+3} miktarının daha yüksek sıcaklıktaki çöküntülerden daha az olduğunu bulmuştur. 2^0C 'de 110 günlük *Thiobacillus ferrooxidans* kültür inkübasyonunda Fe^{+2} 'nin %90'nının kullanılmasına rağmen hiç jarositin oluşmadığı gözlenmiş ve çöküntülerin oluşmamasının daha az oksidasyon olmasından değil sıcaklığın düşük olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Jarositler çoğu deney sisteminde istenmeyen bir yapı olarak tanımlanmasına rağmen bazı bilim adamları tarafından biyofilm oluşumuna önemli bir etki gösterdikleri öne sürülmüştür. Karamanev, jarositlerin immobilizasyon desteğine yapıştıklarını ve bunun da bakterinin yüzeydeki porlarda adsorpsiyonunu arttırdığını öne sürmüştür. Pogliani ve Donati [2000], cam tanelerinde *Thiobacillus ferrooxidans* biyofilminin oluşmasına jarositin etkisini incelemişler ve pH 1,6'da Fe^{+3} çöküntülerinin oluşmaması nedeniyle biyofilmin oluşmadığını ve yüksek pH'larda Fe^{+3} üretim hızlarının arttığını ve biyofilmin oluştuğunu bulmuşlardır [Pogliani and Donati, 2000].

Jarosit oluşumunun bakteriyel oksidasyon verimini kötü yönde etkilememesi için yapılan çok sayıda çalışma vardır. Bu konudaki çalışmalar deney sistemine ve deney koşullarına göre değişiklik göstermektedir.

4.3. Demir Arıtımında Kullanılan Biyoreaktör Tipleri

Thiobacillus ferrooxidans ile Fe^{+2} oksidasyonunun endüstriyel uygulaması için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların amacı, ilk önce Fe^{+2} oksidasyon hızını artırmaktır. *Thiobacillus ferrooxidans*'ın yüzeylerde gelişmeye yönelik doğal yeteneği ve farklı çevre koşullarına çok kolay adapte olması onu immobilizasyon için ideal bir organizma yapmaktadır [Mesa et.al., 2000]. Bu yetenekten Fe^{+2} oksidasyon hızını artırmaya yönelik farklı çalışmalarda faydalanılmaktadır. Bu amaca yönelik



farklı biyoreaktör sistemlerinin kullanılmasının yanısıra çok çeşitli immobilizasyon matrisleri de kullanılır.

Biyokütle miktarı, bakteri sorpsiyonu, taşıyıcı matrisin fiziksel özellikleri ve hidrodinamik çalışma koşulları arasında kompleks bir ilişki vardır [Grishin and Tuovinen, 1988].

4.3.1. *Thiobacillus ferrooxidans* Biyofilm Yapısı

Biyofilm terimi genelde, mikroorganizmaları ve mikroorganizmaların birbirlerine ve bir yüzeye tutunmalarını sağlayan ekstraselüler polisakkarid materyalini içeren mikrobiyal bir küme olarak tanımlanır. Biyofilm oluşumunun ilk aşamasında hücreler ile adsorpsiyonun olacağı katı yüzeyin arasında etkileşim olur. Bakteri yüzeye ve birbirlerine bağlanmak için ekstraselüler polisakkarid materyal ile köprüler oluşturur. Stabil bağların oluşumundan sonra bağlanmış ve bağlanmamış hücreler arasındaki etkileşim azalır. Hücrelerin yüzeylere adsorpsiyonu azalır ve bağlanmış hücreleri ayırmak ancak mekanik kuvvetler uygulandığında mümkün olabilir. Böylece, biyofilmin iskeletini oluşturan hücreler ve ekstraselüler polimerik materyal köprüleri ile klasik biyofilm yapısı meydana gelir.

Mikroskobik çalışmalar *Thiobacillus ferrooxidans*'ın gelişiminin bakteri yüzeye yapıştıktan sonra başladığını göstermiştir. Bu hücreler yüzey tamamen kaplanana kadar çoğalırlar ve hücre tabakası yapıyı birbirine bağlayan Fe^{+3} bileşenlerinin çöküntüleri ile birleşerek oluşur [Nemati and Webb, 1999]. *Thiobacillus ferrooxidans*'ın klasik biyofilm yapısı Karamanov [1991] tarafından açıklanmıştır. Karamanov, *Thiobacillus ferrooxidans* hücrelerinin kendi kendilerine biyofilmin mekanik direncini sağlayamadıklarını öne sürmüştür. Karamanov'e göre, hücreler biyofilmin iskeletinde jarositler tarafından oluşturulmuş tabakaya adsorbe edilmiştir. Taşıyıcının yüzeylerindeki Fe^{+3} bileşenlerinin varlığı biyofilmin yapısı için şart değildir, fakat onların bulunması serbest hücrelerin taşıyıcının yüzeylerine adsorbe edilmesine ve biyofilmin oluşmasına yardım eder. Bakteri porozlu yüzeyi tamamen kapladığında, bakterinin çoğalması bölünen bir hücrenin yüzeyde kalması

ve diğerinin sıvı ortama geçmesi ile sonuçlanır.

4.3.2. Dolgu Yataklı Biyoreaktörler

Dolgu yataklı reaktörler kurması ve işletmesi basit ve ekonomik olması nedeniyle tercih edilirler. Reaktöre suyun girişi hem reaktörün altından hem de üstünden yapılabilir. Çözeltinin reaktöre üstünden verilmesi ölü bölgelerin oluşmasına neden olabilir. Bu reaktörlerde sınırlı nutrient girişine ve metabolik ürünlerin inhibisyon seviyelerinde birikmesine neden olan sıvı akışının çok az olduğu bölgeler veya bakteri metabolizması için oldukça önemli olan CO_2 ve O_2 'in nüfuz etmesini önleyen su akışının çok olduğu bölgeler olabilir. Bu sistemlerin en büyük dezavantajı düşük kalış süresi özelliği nedeniyle Fe^{+3} üretim veriminin düşük olmasıdır. Çözeltinin reaktörün altından verilmesi durumunda yatak boyunca yüksek sıvı akışı nedeniyle ölü bölgeler oluşmaz böylece Fe^{+3} üretim verimi artar [Mazuelos et.al., 2001].

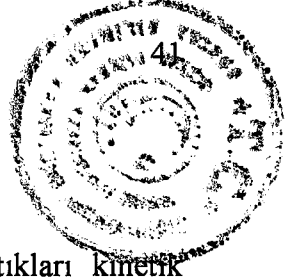
Thiobacillus ferrooxidans'ın immobilizasyonu için kullanılan taşıyıcılar iki gruba ayrılırlar; kum, cam taneleri, poliüretan köpük biyokütle destek partikülü gibi inert materyaller ve aktif karbon, iyon değiştirici reçine ve aktif karbon ile kaplanmış poliüretan köpük biyokütle destek partikülü gibi aktif materyallerdir. Taşıyıcının aktivitesi, oksidasyona katalitik etki yapmasının yanı sıra biyofilm oluşmasına ve bakteri adsorpsiyonunu hızlandıran özel yüzey özelliklerini iyi yönde etkileyebilir. Aktif destek materyalleri arasında aktif karbon en iyi performans gösterendir fakat yüksek maliyeti büyük ölçekte uygulanmasına engel olmaktadır. İnert destek materyalleri arasında da en iyi performans poliüretan köpüğe aittir. Poliüretan köpük biyokütle destek partikülü bakterilerin tutulmasını sağlayan makroporozlu yapısı ve geniş yüzey alanı nedeniyle *Thiobacillus ferrooxidans* immobilizasyonu için ideal bir destektir [Nemati and Webb, 1999]. Bunun yanında substrat transferine düşük difüzyon direnci sunması, maliyetinin az olması nedeniyle endüstriyel uygulamalarda tercih edilir [Mesa et.al.,2002].



Poliüretan köpüğün *Thiobacillus ferrooxidans*'ın pasif immobilizasyonu için kullanılması ilk Armentia ve Webb tarafından denenmiştir [Nemati et.al., 1998]. Armenti ve Webb döngülü yatak biyoreaktöründe Fe^{+2} 'nin sürekli oksidasyonunu çalışmışlardır. Poliüretan köpüğün içine hücreleri immobilize etmek için birbirini takip eden kesikli sistemlerde aralarda aşılama yapılmadan doldur boşalt prensibi kullanılmıştır. Kesikli deneylerin kinetik sonuçlarından Armentia ve Webb, hücrelerin her bir tekrar da biyokütle destek partiküllerinin içinde birikmeye devam ettiğini o yüzden biyokütlenin tutunması ve oksidasyon hızının normal seviyesinin üstüne çıktığını gözlemlemişlerdir. Ek olarak partiküller içinde kalan bakteri yıkanmaya karşı dirençli olmuştur ve maksimum üretime ulaşılmıştır.

Jensen ve Webb [1994] poliüretan köpük içinde immobilize edilmiş *Thiobacillus ferrooxidans* kullanılan damlatmalı yatak biyoreaktörlerinde oksidasyon hızını $4,4 \text{ kg/m}^3\text{h}$ bulmuşlardır. Bu oksidasyon hızı Armentia ve Webb tarafından immobilize hücrelerin geri döngülü yatak biyoreaktörde kullanıldığı sistemde elde edilen $1,56 \text{ kg/m}^3\text{h}$ 'lik maksimum oksidasyon hızından hemen hemen üç kat daha fazladır [Nemati et.al., 1998].

Thiobacillus ferrooxidans immobilizasyonu için poliüretan köpük biyokütle destek partikülleri taşıyıcı olarak Nemati ve Webb tarafından dolgu yataklı biyoreaktörde Fe^{+2} 'nin sürekli oksidasyonu için kullanılmıştır. Fe^{+2} konsantrasyonu ve hacimsel yüklemesinin reaksiyon kinetikleri üzerine olan etkileri aynı araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Fe^{+2} 'nin ilk konsantrasyonu 5 ve $10 \text{ kg/m}^3\text{h}$ seçilmiş ve 6 h^{-1} 'lik dilüsyon hızında maksimum oksidasyon hızını $34 \text{ kg/m}^3\text{h}$ bulmuşlardır. Fe^{+2} 'nin konsantrasyonunu $20 \text{ kg/m}^3\text{h}$ 'e çıkardıklarında oksidasyon hızının düştüğünü ve maksimum değerin $10 \text{ kg/m}^3\text{h}$ olduğunu bulmuşlardır. Bu veriden yola çıkarak Fe^{+2} 'nin immobilize *Thiobacillus ferrooxidans*'ın aktivitesi ve gelişimi üzerine inhibitör etkisine dikkat çekmişlerdir. Reaksiyonun hızını artırmak ve Fe^{+2} 'nin oksidasyonuna kimyasal ve biyolojik katalizörlerin etkilerini açıklamak için Nemati ve Webb [1999] *Thiobacillus ferrooxidans*'ın immobilizasyonu için aktif karbon ile kaplı poliüretan köpük biyokütle destek partikülü kullanmışlardır. Yüksek konsantrasyonda ($20 \text{ kg/m}^3\text{h}$) Fe^{+2} 'nin oksidasyonunda biyolojik ve kimyasal katalizörlerin beraber kullanılması reaksiyonun hızını artırmış fakat düşük



konsantrasyonlarda (5-10 kg/m³h) önemli bir avantaj sağlamamıştır.

Grishin ve Tuovinen [1988]'in dolgu yataklı reaktörde yaptıkları kinetik çalışmalarda denge durumuna ulaşmak için gereken sürenin taşıyıcı matrise de bağlı olduğunu bulmuşlardır. Aktif karbon ve iyon değiştirici reçine doldurulmuş reaktörlerde 2 h⁻¹'in altındaki dilüsyon hızlarında denge durumuna 12 h'te ulaşıldığını, cam taneleri ile dolu reaktörün bu süreye 0,5 h⁻¹ dilüsyon hızında ulaştığını bulmuşlardır. Fe⁺² oksidasyon hızının dilüsyon hızı göz önüne alınarak birbirini izleyen farklı fazlardaki biyoreaktör performansları Grishin ve Tuovinen tarafından çalışılmıştır:

- ◆ Gevşek ve sıkı bağlı biyokütle ile Fe⁺² oksidasyon hızı,
- ◆ Gevşek bağlı biyokütlenin yıkanmasından önceki en iyi performans,
- ◆ Sıkıca bağlanmış biyokütle ile Fe⁺² oksidasyonu,
- ◆ Sıkıca bağlı biyokütlenin yıkanması nedeniyle oksidasyon hızındaki azalış.

Bu çalışmalardan sıkı bağlanmış biyokütlenin geri yıkandığı kritik dilüsyon hızının taşıyıcı matrisine bağlı olduğu görülmüştür. 710-1180 µm boyutlarındaki cam taneleri için kritik dilüsyon hızları 0,6-1,2 h⁻¹, 400-1100 µm iyon değiştirici reçine de 2 h⁻¹, 701-841 µm aktif karbon için 6 h⁻¹ bulunmuştur. Cam tanelerin aktif karbondan 1,5 kez daha büyük yüzey alana sahip olmasına rağmen maksimum biyokütle tutunması aktif karbonda meydana gelmiştir. Aktif karbonda immobilize edilmiş *Thiobacillus ferrooxidans* ile en yüksek Fe⁺² oksidasyon hızı 52,6 kg/m³h bulunmuştur. 710-1180 µm boyutlarındaki cam tanelerinde immobilizasyonda en yüksek Fe⁺² oksidasyon hızı 3,3 kg/m³h, 425-600 µm boyutlarındaki cam tanelerinde immobilizasyonda en yüksek Fe⁺² oksidasyon hızı 7,9 kg/m³h, iyon değiştirici reçine de immobilizasyonda en yüksek Fe⁺² oksidasyon hızı 29,4 kg/m³h bulunmuştur. Bu çalışmalarda aktif karbonun Fe⁺² oksidasyonuna katalitik etkisi gösterilmemiş, kimyasal ve biyolojik katalizörün oksidasyona etkisi ayrı ayrı değerlendirilmemiştir [Grishin and Tuovinen, 1988].

Lancy ve Tuovinen [1984] tarafından kalsiyum alginate de immobilize edilmiş *Thiobacillus ferrooxidans*, dolgu yataklı reaktörde sürekli olarak Fe⁺² oksidasyonu



için kullanılmıştır. $0,18 \text{ h}^{-1}$ dilüsyon hızında oksidasyon hızını $0,54 \text{ kg/m}^3 \text{ h}$ bulmuşlardır. Dilüsyon hızını $0,42 \text{ h}^{-1}$ 'e arttırdıklarında Fe^{+2} dönüşümünün ilk önce %50 azaldığını, 5 günlük çalışma süresi sonunda Fe^{+2} dönüşümünün tekrar %96'ya ulaştığını gözlemlemişlerdir. Bu dilüsyon hızında maksimum oksidasyon hızını $1,22 \text{ kg/m}^3 \text{ h}$ bulmuşlardır. Biyoreaktörün çalışma süresi boyunca tanelerin büyüklüğü azalmış, tane yapısı bozulmuş fakat matris bütünlüğünü korumuştur [Nemati et.al., 1998].

Pekdemir et.al. [2003] tarafından *Thiobacillus ferrooxidans* immobilizasyonu için destek malzemesi olarak doğal bir sünger olan *Luffa Cylindrica*'nın kullanıldığı dolgu yataklı bir reaktörde yapılan çalışmada 19 h^{-1} gerçek dilüsyon hızında, en yüksek Fe^{+2} oksidasyon hızı $40 \text{ g Fe}^{+2}/\text{Lh}$ bulunmuştur.

Thiobacillus ferrooxidans biyofilmleri tarafından yüksek Fe^{+2} konsantrasyonlarının kesikli oksidasyonu Nikolov et.al [1988] tarafından çalışılmıştır. $6-30 \text{ kg/m}^3 \text{ h}$ arasındaki Fe^{+2} konsantrasyonlarında oksidasyon hızının arttığını, $30-40 \text{ kg/m}^3 \text{ h}$ arasındaki Fe^{+2} konsantrasyonlarının oksidasyon hızını çok az etkilediğini ve konsantrasyonun $50 \text{ kg/m}^3 \text{ h}$ 'e yükseltmenin oksidasyon hızını etkili bir şekilde düşürdüğünü bulmuştur. $0,44-1,2 \text{ vvm}$ arasındaki havalandırma hızlarının $30 \text{ kg/m}^3 \text{ Fe}^{+2}$ konsantrasyonuna kadar oksidasyon hızını etkilemediğini fakat yüksek konsantrasyonlarda reaksiyon kinetiğinin havalandırma hızına bağlı olduğunu bulmuşlardır [Nemati et.al., 1998].

Farklı çalışmalarda etkili ve ekonomik taşıyıcı olan kum kullanılmasına rağmen Halfmeier et.al. kumun bakteri üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğunu ve immobilizasyon için uygun taşıyıcı olmadığını öne sürmüştür [Nemati et.al., 1998].

4.3.3. Akışkan Yataklı Biyoreaktörler

Karamanev ve Nikolov [1988] akışkan yataklı biyoreaktörde *Thiobacillus ferrooxidans* biyofilmi ile Fe^{+2} oksidasyonunun kinetiğine sıcaklık, pH, Fe^{+2} ve Fe^{+3} konsantrasyonu etkisini araştırmışlardır. $13-38^\circ\text{C}$ arasındaki sıcaklıklar, $1,3-2,2$

arasındaki pH, Fe^{+3} ilk konsantrasyonunun 14 kg/m^3 ve $4\text{-}13 \text{ kg/m}^3$ aralığındaki Fe^{+2} konsantrasyonlarının oksidasyon hızını etkilemediğini bulmuşlardır [Karamanev ve Nikolov , 1988].

Grishin ve Tuovinen [1988] akışkan yataklı ve dolgu yataklı biyoreaktördeki Fe^{+2} oksidasyon hızını karşılaştırmışlardır. Dolgu yataklıda kullanılan daha küçük boyutta, $212\text{-}300 \text{ }\mu\text{m}$ boyutlarında aktif karbon ile çalışmışlardır. Akışkan yataklı biyoreaktördeki güçlü kesme etkisi nedeniyle akışkan yataktaki partiküllerde biyokütlenin sorpsiyonu dolgu yataklı biyoreaktöre göre daha dezavantajlı konuma düşmüştür. Akışkan yataklı biyoreaktörde Fe^{+2} oksidasyon hızının taşıyıcı matrisi miktarına da bağlı olduğunu bulmuşlardır. Aktif karbonun pulp yoğunluğu 66 kg/m^3 'den 200 kg/m^3 'e artırıldığında oksidasyon hızının $0,9 \text{ kg/m}^3$ 'den $1,58 \text{ kg/m}^3$ 'e lineer bir artış gösterdiğini tespit etmişlerdir [Grishin and Tuovinen 1988].

4.3.4. Döner Biyolojik Diskler

İmmobilize *Thiobacillus ferrooxidans* ile ilgili ilk çalışmalar döner biyolojik diskleri geliştirmek ile ilgili olmuştur. Özellikle asidik maden drenaj sularının arıtılmasında döner biyolojik disklerin kullanılması konusunda yoğun bir şekilde çalışılmıştır.

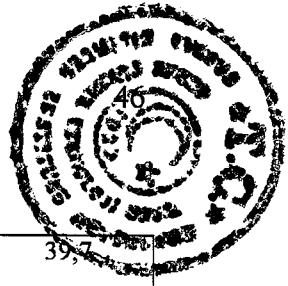
Olme ve Unz [1977] döner biyolojik diskleri asidik maden drenaj sularındaki Fe^{+2} 'nin arıtılmasında kullanmışlardır. Öncesinde hiç bakteri ve nütrient eklemesi yapılmadan çalışmışlardır. Yarisına kadar akan maden suyuna daldırılan döner diskte muhtemelen *Thiobacillus ferrooxidans* olan 7×10^4 hücre/ cm^2 'lik bakteri konsantrasyonu koloni oluşturmuştur. Kısa bir lag fazından sonra kullanılan döner biyolojik diskte Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e dönüşmesinde %91'lik verim elde etmişlerdir. $0,0067 \text{ m}^3/\text{h-m}^2$ 'lik hidrolik yüklemede çember diskin hızı 10 m/dak. 'dan 19 m/dak. 'ya çıkarıldığında yüksek oksidasyon hızlarına ulaşılmış, hidrolik yük $0,018 \text{ m}^3/\text{hm}^2$ 'ye yükseltildiğinde çıkıştaki Fe^{+2} konsantrasyonunun arttığını tespit etmişlerdir [Nemati et.al., 1998].

Nikolov [1986] 0,5-14 kg/m³ aralığındaki yüksek Fe⁺² konsantrasyonlarının döner biyolojik diskte arıtımını yapmıştır. Sabit Fe⁺² hacimsel yüklemesinde dönme hızını 14 rpm'den 26 rpm'e çıkarınca oksidasyon hızının arttığını bulmuştur. Bunun nedeni çözünmüş oksijen seviyesinin artmasındandır. Fakat çok yüksek dönme hızlarının oksijen konsantrasyonunu veya oksidasyon hızını etkilemediğini gözlemlemiştir. Bu çalışmada, 2,8 kg/m³h (0,0146 kg/m²h)'lik hacimsel yükleme de maksimum oksidasyon hızı 1,4 kg/m³h (0,0067 kg/m²h) bulunmuştur [Nemati et.al., 1998].

Çizelge 4.4'de serbest ve immobilize *Thiobacillus ferrooxidans* hücrelerinin farklı biyoreaktör konfigürasyonlarında elde edilmiş Fe⁺² oksidasyon hızları gösterilmiştir. Serbest hücrelerin kullanıldığı sistemlerde elde edilen kinetik data ile karşılaştırıldığında immobilize edilmiş *Thiobacillus ferrooxidans*'ın kullanıldığı biyoreaktörler Fe⁺²'in biyolojik oksidasyon hızını artıran önemli sistemler olduğu anlaşılmıştır. Oksidasyon hızının artması, immobilize hücre biyoreaktörü içindeki biyokütlenin konsantrasyonunun yüksek olması nedeniyledir. Immobilize edilmiş bakteri yıkanmalara karşı dirençlidir ve onların kullanıldığı biyoreaktörler yüksek dilüsyon hızlarında çalıştırılabilirler. Çizelgede görüldüğü gibi çeşitli biyoreaktör konfigürasyonları içinde en üstün olan reaktör dolgu yataklı olanlardır. Akışkan yataklı reaktörler ve döner biyolojik disklerdeki güçlü kesme etkileri *Thiobacillus ferrooxidans* biyofilminin oluşmasına karşı kuvvet yaratır ve bu da biyoreaktörün içinde biyokütlenin düşük tutunmasına neden olur. Bundan dolayı bu reaktörlerin genellikle Fe⁺² oksidasyon verimleri düşüktür.

Çizelge.4.4. Farklı Biyoreaktör Konfigürasyonlarında Fe⁺² Oksidasyon Hızları

Referans	Biyoreaktör	pH	Sıcaklık (C°)	Matris	Hacimsel Yükleme (kg/m ³ h)	Oksidasyon hızı (kg/m ³ h)
Smith et.al (1988)	Kemostat	1,8-2,1	30	-	0,23	0,21
Lancy and Tuovinen (1984)	Dolgu yatak	1,5	25	Kalsiyum alginate	1,29	1,22
Grishin and Tuovinen (1988)	Dolgu yatak	1,3-1,5	23	Aktif karbon 701-841 (µm)	59,1	52,6
Grishin and Tuovinen (1988)	Dolgu yatak	1,3-1,5	23	Cam 710-1180 (µm)	8,2	3,3
Carranza and Garcia (1990)	Dolgu yatak	1,25	31	Kum	28,7	12,9
Carranza and Garcia (1990)	Dolgu yatak	1,25	31	Düşük dereceli bakır cevheri	24,4	12,5
Carranza and Garcia (1990)	Dolgu yatak	1,25	31	Aktif karbon	58,1	41,6
Nemati and Webb (1998)	Dolgu yatak	1,8-2,0	30	Aktif karbon ile kaplanmış poliüretan köpük destek partikülü	55,0	36,7
Nemati and Webb (1997)	Dolgu yatak	1,8-2,0	30	Poliüretan köpük biyokütle destek partikülü	60,0	34,2
Karamanev and Nikolov (1988)	Ters akışkan yatak	1,3-2,2	13-38	Polistiren	4,3	1,68
Jensen and Webb (1994)	Damlatmalı yatak	2,3	28-30	Poliüretan köpük biyokütle destek partikülü	8,0	4,4
Grishin and Tuovinen (1988)	Akışkan yatak	1,3-1,5	23	Aktif karbon 212-300 (µm)	2,69	1,58
Armentia and Webb (1992)	Geri devirli yatak	2,3	28	Poliüretan köpük biyokütle destek partikülü	2,76	1,56
Olem and Unz (1977)	Döner biyolojik disk	2,6-3,2	9-12	Polietilen	0,35 (0,002kg/m ² h)	0,34 (0,0021kg/m ² h)



Çizelge 4.4'ün devamı

Pekdemir T., Keskinler B., Yildiz., and Akay G.	Dolgu yatak	2,3		Luffa cylindrica	92,32	39,7
Grishin and Tuovinen (1988)	Dolgu yatak	1,3-1,5	23	İyon değiştirici reçine 400-1100 (µm)	40,3	29,4





5. MATERİYAL – METOT

5.1. Materyal

5.1.1. Bakteri

Demir oksitleyici bakteri, *Thiobacillus ferrooxidans*, Murgul (Artvin) Bakır İşletmesi'nin drenaj sularından izole edilmiştir.

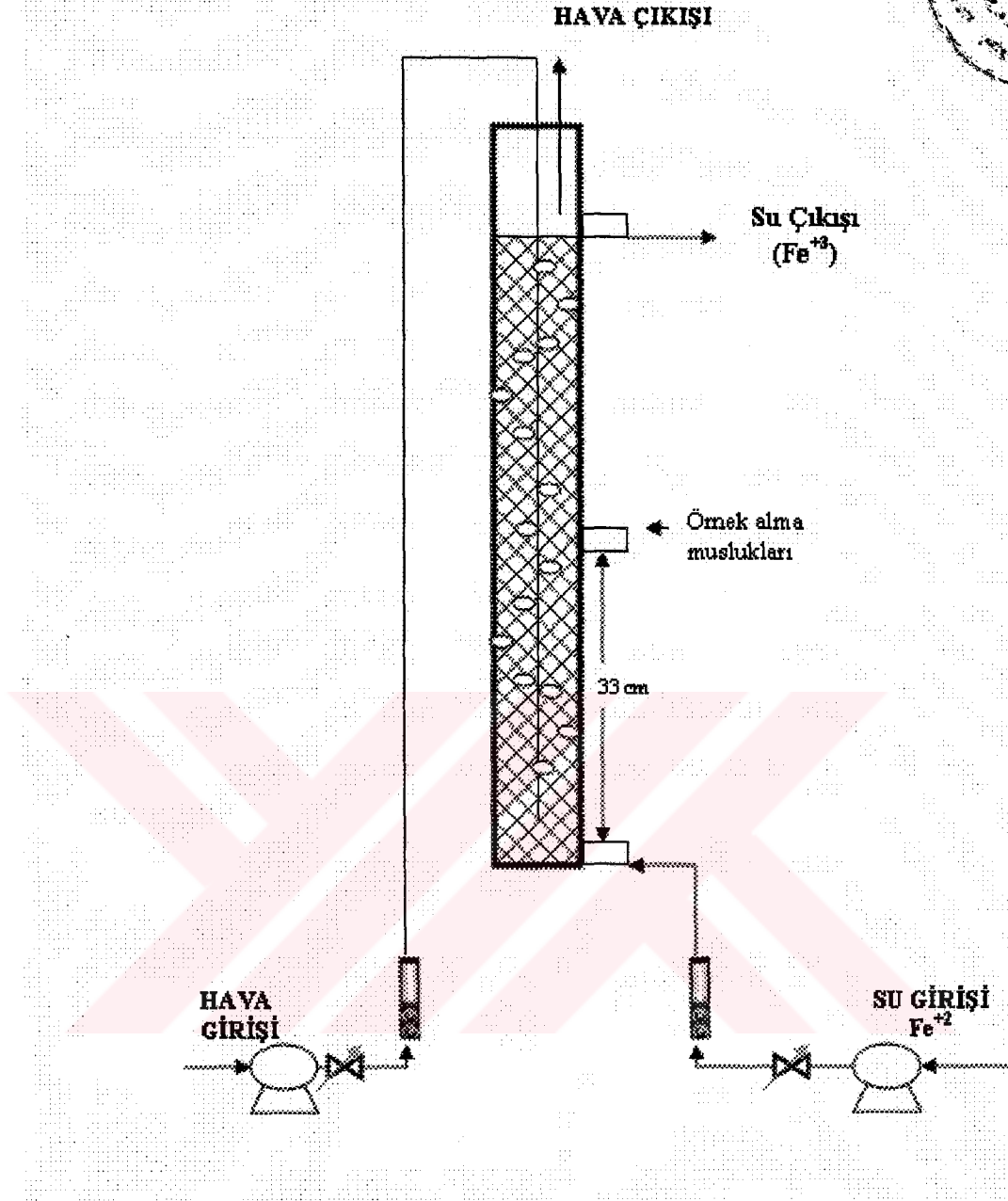
5.1.2. Kimyasal Maddeler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan kimyasallardan, demir sülfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), amonyum sülfat, potasyumdihidrojen fosfat, potasyum klorid, kalsiyum nitrat, H_2SO_4 (%95-98), 1-10 fenantrolin monohidrat, amonyum asetat ve saf agar Merck'den temin edilmiştir.

5.1.3. Deney Düzenegi

Thiobacillus ferrooxidans ile demir oksidasyonu için kullanılan kolon reaktör, 81 cm uzunluğunda, 4,5 cm çapındadır. Kolon çalışma yüksekliği 66 cm ve çalışma hacmi 1050 cm^3 'dür. Ara sıvı hacmi ise poliüretan köpük için 495 cm^3 ve modifiye edilmiş polimerik malzeme için 365 cm^3 olarak bulunmuştur. Kolon boyunca 33 cm aralıklarla 2 adet numune alma musluğu vardır. Atıksu kolona alttan, hava girişi kolonun içine uzatılan boru yardımıyla verilmiştir. Reaktöre gönderilen havanın debisi flowmetre yardımıyla bütün denemelerde 300 mL/dak olarak sabit tutulmuştur.

Sistem, 10 litre su kapasiteli bir besleme tankı, bu suyu istenilen debilerde reaktöre gönderen peristaltik pompa ve hava girişinin sağlandığı hava pompasından oluşmaktadır. Çalışmanın gerçekleştiği düzeneğin şekli Şekil 5.1'de gösterilmiştir.



Şekil.5.1. Çalışmada Kullanılan Deney Düzenekinin Şematik Gösterimi.



5.2. Metot

5.2.1. Bakteri Üretimi

Murgul Bakır İşletmeleri drenaj suyundan izole edilmiş olan bakteri için besiyeri olarak, literatürde *Thiobacillus ferrooxidans* bakterisinin gelişiminin en iyi olduğu bulunan 9K besiyeri seçilmiştir. 9K besiyerinin bileşimi ; 3 g/L $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, 0,5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/L KH_2PO_4 , 0,1 g/L KCl, 0,01 g/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 'dir. Drenaj suyu %10 oranında 9K besiyerine ekilmiş ve hazırlanan örneklerin pH'sı 1,8'e ayarlanmış ve Edmünd Bühler marka inkübatörlü çalkalayıcıda 35 °C ve 200 rpm'de inkübasyona bırakılmıştır. Günlük olarak Fe^{+2} konsantrasyonundaki azalma ve renk değişimi izlenmiştir. Örneklerin sarı renkleri 3-4 gün sonra kırmızı-kahverengi renge dönüşmüş ve ortamdaki Fe^{+2} miktarının da azalmış olduğu gözlenmiştir. Üremiş olan bakteriler sıvı ortamdan alınıp ISP katı vasatına ekilmiştir. ISP steril edilmiş üç ayrı çözeltinin birleştirilmesiyle hazırlanmıştır [Manning, 1975]. A çözeltisi; 33,4 g/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 'dan 300 mL alınıp, 6M H_2SO_4 ile pH 2,5'e ayarlanmış, çözelti renksiz olana kadar karıştırılmış ve steril 0,2 μm 'lik membrandan süzülerek hazırlanmıştır. B çözeltisi temel tuz çözeltisidir, bu çözelti için 6 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g/L KCl, 1 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,02 g/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 'den 550 mL alınmış, pH 3,0'a ayarlanmış, 1 L'lik erlende 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. C çözeltisi; 150 mL distile suya 7 g saf agar eklenmiş, 15 dakika karıştırılıp ve ısıtılmış, daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. B ve C otoklavdan alındıktan sonra 5 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. C çözeltisi katılaşmadan B çözeltisi C'ye eklenmiş daha sonra A çözeltisi eklenmiş ve elde edilen homojen karışım steril koşullarda petrilere dökülmüştür. Petriler steril kabin içerisinde soğumaya bırakılmıştır.

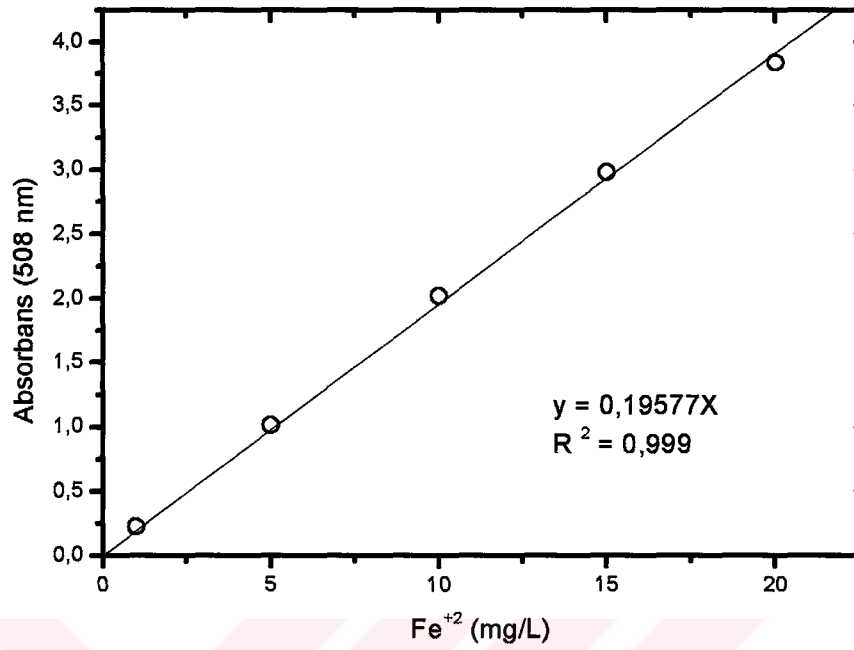
Katı vasata ekilmiş bakteriler ihtiyaç duyuldukça 9K sıvı besiyerinde tekrar zenginleştirilerek kullanılmıştır.

5.2.2. Demir Analizi

Demir tayininde en çok tercih edilen standart yöntem olan Fenantrolin metodu kullanılmıştır [Standart Metotlar, 1995]. Bu yöntemde 1,10 fenantrolin adı verilen madde, Fe^{+2} iyonu ile turuncu-kırmızı renkte kompleks iyon teşkil eder. Bu rengin koyu ya da açık oluşu sudaki Fe^{+2} iyonlarına bağlı olduğu için kolorimetrik yöntemle niceliksel olarak tayin olanağı sağlar. Renk yoğunluğu pH 3-9 arasında pH'a bağımlı değildir.

Analizler için 100 mg 1,10 fenantrolin monohidrat ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$) 100 mL distile suda karıştırılmış, çözülmesi için 2 damla derişik HCl eklenmiştir. Amonyum asetat tamponunun hazırlanmasında 250 g amonyum asetat ($\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$), 150 mL distile suda çözülmüş, 700 mL derişik asetik asit yavaş yavaş ilave edilmiş ve 1 L'ye tamamlanmıştır. Bu analiz metodu sadece Fe^{+2} konsantrasyonunun tespitinde kullanılmış, toplam demir veya Fe^{+3} konsantrasyonu için kullanılmamıştır.

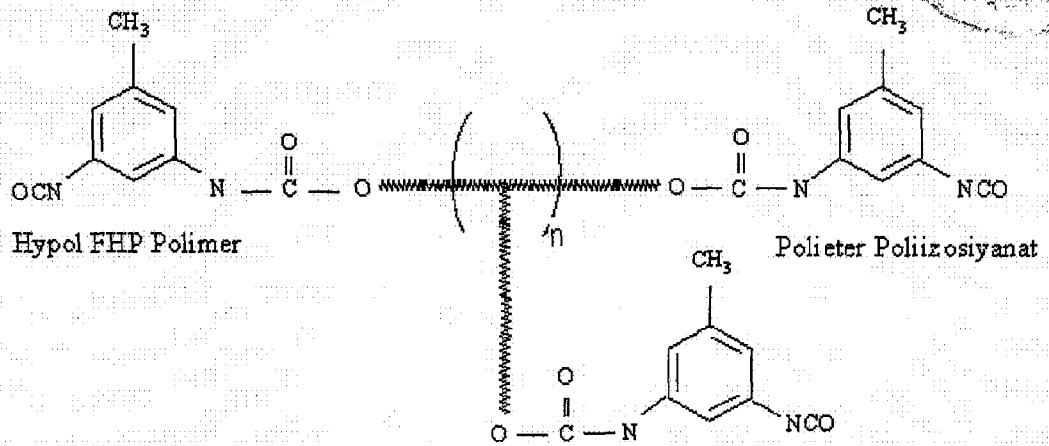
Kalibrasyon aralığı çalışmalarda kullanılan Fe^{+2} konsantrasyonlarına göre yapılmıştır. Kalibrasyon için $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kimyasalı kullanılmıştır. 1-20 mg/L Fe^{+2} konsantrasyon aralığı için kalibrasyon yapılmıştır. 200 mg/L Fe^{+2} içeren stok $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinden 0,5, 2,5, 5, 7,5, 10 mL alınmış ve 100 mL'lik balon jojelere konulmuştur. Her bir kaba son hacim 50 mL olana kadar distile su eklenmiştir. Daha sonra 20 mL 1,10 fenantrolin monohidrat, 10 mL amonyum asetat çözeltisi şiddetle karıştırılarak ilave edilmiştir. Bu şekilde işlem görmüş çözeltiler 100 mL'ye tamamlanmış ve 5-10 dakika içinde 508 nm'ye ayarlanmış GBC marka UV-Spektrofotometrede distile su ile ve tüm reaktiflerin ilavesi ile hazırlanmış şahide karşı okunmuştur. Fe^{+2} konsantrasyonlarına karşı okunan absorbens değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Fe^{+2} kalibrasyon eğrisi Şekil 5.2'de gösterilmektedir.



Şekil.5.2. Fe⁺² Kalibrasyon Eğrisi.

5.2.3. Poliüretan Köpüğün Hazırlanması

Bilinen en yaygın poliüretan üretim yöntemi, aktif hidrojen ihtiva eden glikol, poliglikol, poliester poliol ve polieter poliol bileşiklerinin di-, tri- izosiyanat ile sonlandırılması şeklindedir. Bu reaksiyon izosiyanat ile sonlandırılmış poliüretan elde edilmesini sağlar. Şekil 5.3’de poliüretan köpüğün kimyasal yapısı gösterilmektedir.

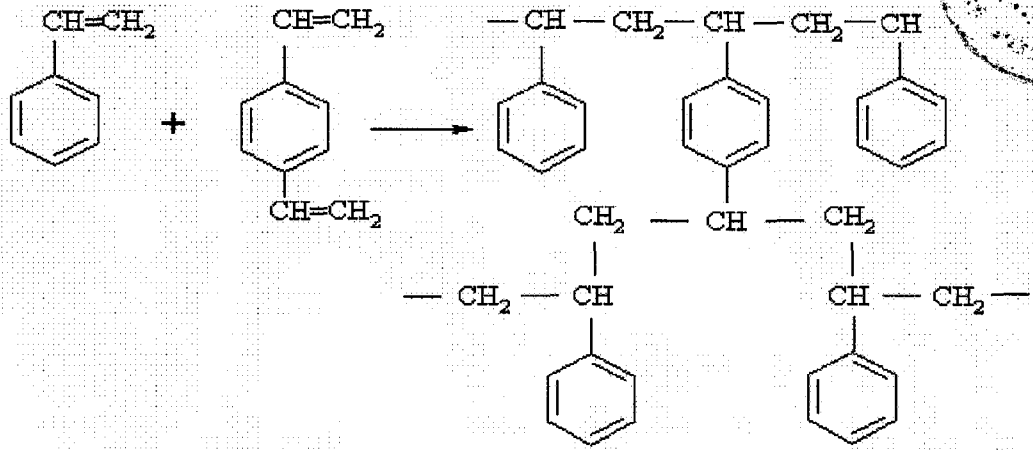


Şekil.5.3. Poliüretan Köpüğün Kimyasal Yapısı

Laboratuvarda poliüretan köpüğün hazırlanması için Dow marka Hypol 2002'den 83,3 g alınmış ve 100 mL saf su eklenmiş ve hızlı bir şekilde karıştırılmıştır. Köpük oluşmaya başladığında karıştırma durdurulmuş ve 24 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Homojen parçalara ayrılan köpük kolona yerleştirilmeden ilk önce destile su ile daha sonra 9K besiyeri ile yıkanmıştır.

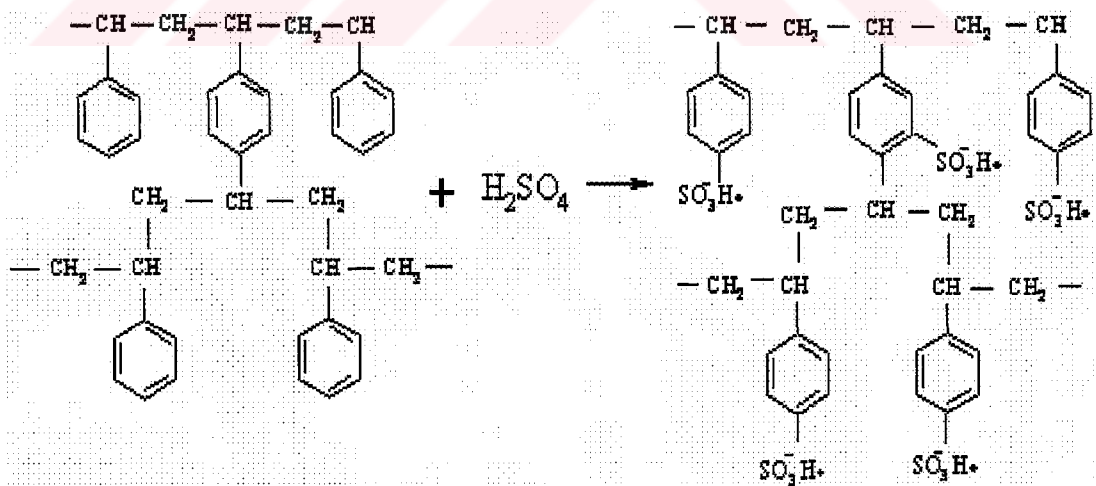
5.2.4. Polimer Disklerin Hazırlanması

Hazırlanan polimer diskler %10 yağ fazı, %90 su fazından oluşmaktadır. Saf polimer için; 50 mL'lik hazırlama hacmine 45 mL su fazı, 5 mL yağ fazı konulmuştur. Su fazına radikalik polimerizasyon reaksiyonunu başlatmak için kullanılan başlatıcı potasyum peroksidosülfattan 0,7 g konularak çözülmüştür. % 59 stiren, % 26 divinil benzen ve %15 span 80'den oluşan 5 mL yağ fazının üzerine aktif karbonlu ve magnetitli hazırlanan saf polimerlerde 0,5 g aktif karbon ve 0,5 g magnetit karıştırılmıştır. Hazırlanan su fazı bu karışıma eklenmiş ve hızlı bir şekile çalkalanmıştır. Şekil 5.4'de gösterilen polimerizasyon reaksiyonu 80°C'de etüvde gerçekleştirilmiştir. 80°C'de 3 saat etüvde kuruduktan sonra polimer tüpten çıkarılmış ve 60-65°C'de bir gün süre ile kurumaya bırakılmıştır.



Şekil.5.4. Divinil Benzen ile Stiren Arasındaki Polimerizasyon.

Şekil 5.5’de polimerizasyonu gösterilen %10 sülfonlu polimer için; 45 mL’lik su fazı, 4,5 mL H_2SO_4 , 40,5 mL destile su olacak şekilde hazırlanmıştır. % 59 stiren, % 26 divinil benzen ve %15 span 80’den oluşan 5 mL yağ fazının üzerine bu çözelti ilave edilmiş ve çalkalanmıştır. Aktif karbonlu hazırlanan sülfonlu polimerde 0,5 g aktif karbon hazırlanan yağ fazına eklenmiştir. $80^\circ C$ ’de 3 saat etüvde kuruduktan sonra polimer tüpten çıkarılmış ve $120^\circ C$ ’de bir gün süre ile sülfonlanmaya bırakılmıştır.



Şekil.5.5. Divinil Benzen ile Stiren Arasındaki Sülfonlu Polimerizasyon.



5.2.5. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

Bu çalışmada kinetik parametrelerin hesaplanmasında aşağıdaki bağıntılar kullanılmıştır.

$$D = \frac{F}{V_t}$$

D: Dilüsyon hızı (h^{-1})

F: Akış hızı (mL/h)

V_t : Toplam reaktör hacmi (mL)

$$D_t = \frac{F}{V_s}$$

D_t : Gerçek dilüsyon hızı (h^{-1})

F: Akış hızı (mL/h)

V_s : Ara sıvı hacmi (mL)

$$R = D_t(S_0 - S_t)$$

R: Fe^{+2} oksidasyon hızı (g/Lh)

D_t : Gerçek dilüsyon hızı (h^{-1})

S_0 : Kolona girişteki Fe^{+2} konsantrasyonu (g/L)

S_t : Kolon çıkışındaki Fe^{+2} konsantrasyonu (g/L)

$$\tau = \frac{1}{D_t}$$

τ : Reaktörde kalış süresi (h)

D_t : Gerçek dilüsyon hızı (h^{-1})



$$L = S_0 \cdot D_t$$

L: Fe⁺² yükleme hızı (g/Lh)

S₀: Kolona girişteki Fe⁺² konsantrasyonu (g/L)

D_t: Gerçek dilisyon hızı (h⁻¹)

$$X = 100 \left[\frac{(S_0 - S_t)}{S_0} \right]$$

X: Dönüşüm (%)

S₀: Kolona girişteki Fe⁺² konsantrasyonu (g/L)

S_t: Kolon çıkışındaki Fe⁺² konsantrasyonu (g/L)

$$V_t = V_s + V_m + V_h$$

V_t: Toplam hacim (mL)

V_s: Ara sıvı hacmi (mL)

V_m: Matriks hacmi (mL)

V_h: Hava kabarcıklarının hacmi (mL)

5.2.6. Deneylerin Yapılışı

5.2.6.1. Kesikli ve Sürekli Denemeler

Poliüretan köpük ile yapılan denemelerde kolon, 56,09 g ortalama 0,8 cm boyutunda poliüretan köpük parçalarıyla ve aktif karbonlu sülfonlu polimer ile yapılan denemelerde kolon, 114,23 g ortalama 0,7 cm boyutunda polimerik malzeme ile doldurulmuştur. Çalkalayıcıda 200 rpm, 35°C sıcaklıkta 3-4 günde üremeleri sağlanan bakteri ortamından %30 oranında aşılama yapılan 8910 mg/L Fe⁺² içeren 9K besiyeri kolona gönderilmiştir. Hava debisi 300 mL/dak.'ya ayarlanmıştır. Kolondan günlük olarak alınan numunelerde Fe⁺² analizi yapılmıştır. %95-100 oksidasyon verimine ulaşıncaya kadar kesikli modda çalıştırılmıştır. Bu dönüşüm

değerlerine ulaşıldıktan sonra sürekli çalışma moduna geçilerek kolona belirli debide 2-8 g/L Fe^{+2} içeren 9K çözeltisi gönderilmiştir. Çalışmanın devamında, konsantrasyon sabit tutularak farklı debilerde Fe^{+2} içeren 9K çözeltisi gönderilerek kolon sürekli modda çalıştırılmış ve kararlı hal şartlarına ulaşılmca bir diğer debi denemesine geçilmiştir. İki malzeme içinde çalışılan debiler 139,8 mL/h, 522 mL/h, 900,6 mL/h'tır. İncelenen Fe^{+2} konsantrasyonları poliüretan köpük ve aktif karbonlu sülfonlu polimer ile doldurulmuş kolonda 8 g/L, 4 g/L ve 2 g/L'dir. Kolondaki oksidasyon verimini bulmak için, kolon üzerindeki musluklardan alınan numunelerde Fe^{+2} analizi, fenantrolin metodu ile yapılmıştır.

5.2.6.2. Kesikli Ortamda Farklı Malzemelerin Denenmesi

Burada 3 farklı deneyde çeşitli malzemeler incelenmiştir. 250 mL'lik erlenlerde hazırlanan deneysel ortamlar pH 1,8'de 35°C sıcaklıkta ve 200 rpm'de Edmünd Bühler marka inkübatörlü çalkalayıcıya yerleştirilmişlerdir. Her bir deneyde aynı ortamdan alınan bakteriler kullanılmıştır.

Birinci deneyde;

- Saf polimer,
- Aktif karbonlu saf polimer
- Magnetitli saf polimer
- Sülfonlu polimer
- Aktif karbonlu sülfonlu polimer
- Poliüretan köpük

malzemeleri incelenmiştir. 5000 mg/L Fe^{+2} konsantrasyonunda deneysel ortam %10 (v/v) oranında bakteriyle aşılanmış ve malzemelerden 1 g eklenmiştir.

İkinci deneyde;

- Sülfolu polimer
- Aktif karbonlu sülfolu polimer
- Aktif karbon toz
- Bakteri kontrol (malzemesiz)

malzemeleri incelenmiştir. 8000 mg/L Fe^{+2} konsantrasyonunda deneysel ortam %20 (v/v) oranında bakteriyle aşılanmış ve malzemelerden 1 g eklenmiştir.

Üçüncü deneyde;

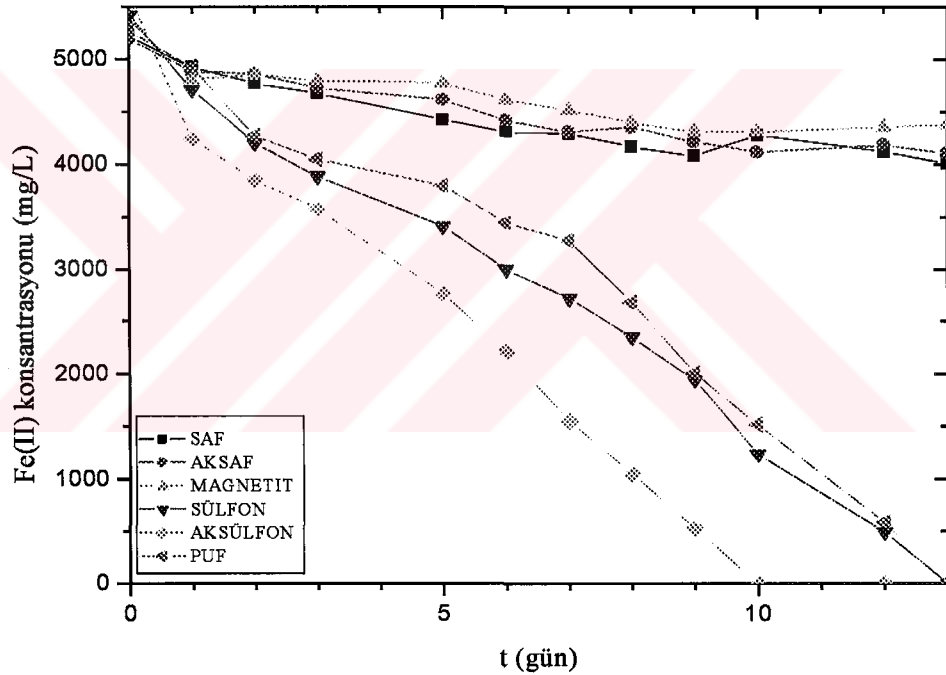
- Aktif karbonlu sülfolu (2.deneydeki) polimer
- Sülfolu (2.deneydeki) polimer
- Aktif karbonlu sülfolu polimer
- Sülfolu

malzemeleri incelenmiştir. 8000 mg/L Fe^{+2} konsantrasyonunda deneysel ortam %20 (v/v) oranında bakteriyle aşılanmış ve malzemelerden 1 g eklenmiştir.

6. BULGULAR VE TARTIŞMA

6.1. Kesikli Ortamda Yapılan Malzeme Deneyinden Elde Edilen Veriler

Bu denemelerde laboratuvarıda hazırlanmış olan bazı malzemelerin bulunduğu kesikli ortamda Fe^{+2} oksidasyon verimleri incelenmiştir. Birinci deneyde saf, aktif karbonlu saf (AKSAF), magnetitli, sülfonlu, aktif karbonlu sülfonlu (AKSÜLFON) polimerik malzemeler ve poliüretan köpük (PUF) denenmiştir.



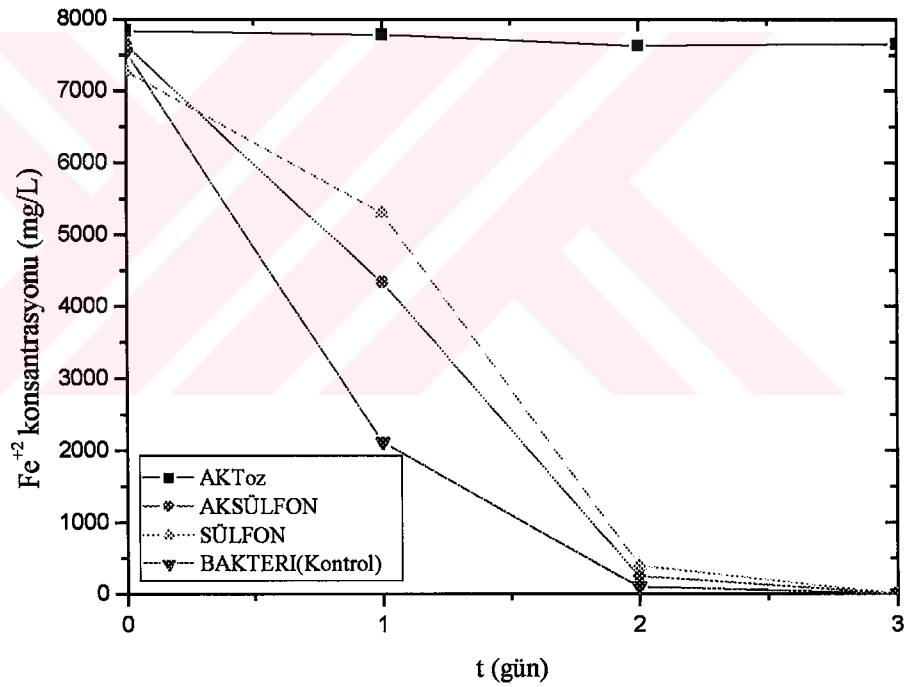
Şekil.6.1. Birinci Malzeme Deneyinde Fe^{+2} Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi

Şekil 6.1’de görüleceği gibi birinci deneyde kullanılan malzemelerden saf, aktif karbonlu saf ve magnetitli polimerlerin bulunduğu ortamda Fe^{+2} oksidasyonu verimi sülfonlu, aktif karbonlu sülfonlu polimer ve poliüretan köpüğün bulunduğu ortamdaki Fe^{+2} oksidasyon veriminden oldukça düşüktür. Fe^{+2} oksidasyon veriminin iyi olduğu malzemeler arasında da en iyi performansı aktif karbonlu sülfonlu polimer



göstermiştir. Aktif karbonlu sülfonlu polimerin bulunduğu ortamda Fe^{+2} miktarı 10 günde 0 mg/L'ye düşmüştür. Sülfonlu polimerin ve poliüretan köpüğün bulunduğu ortamlarda Fe^{+2} konsantrasyonundaki değişim birbirine yakın olmakla beraber sülfonlu polimer poliüretan köpükten daha iyi bir performans göstermiştir.

İkinci deneyde ilk deneyde verimin en iyi olduğu iki malzeme (aktif karbonlu sülfonlu ve sülfonlu polimer) ve serbest halde aktif karbon toz denenmiştir. Toz halindeki aktif karbondan ortama 0,5 g eklenmiştir. Bu malzemelerin yanında kontrol amacıyla malzemesiz bir bakteri ortamı hazırlanmıştır. Yapılan deneyin sonucu grafiksel olarak Şekil 6.2'de gösterilmiştir.



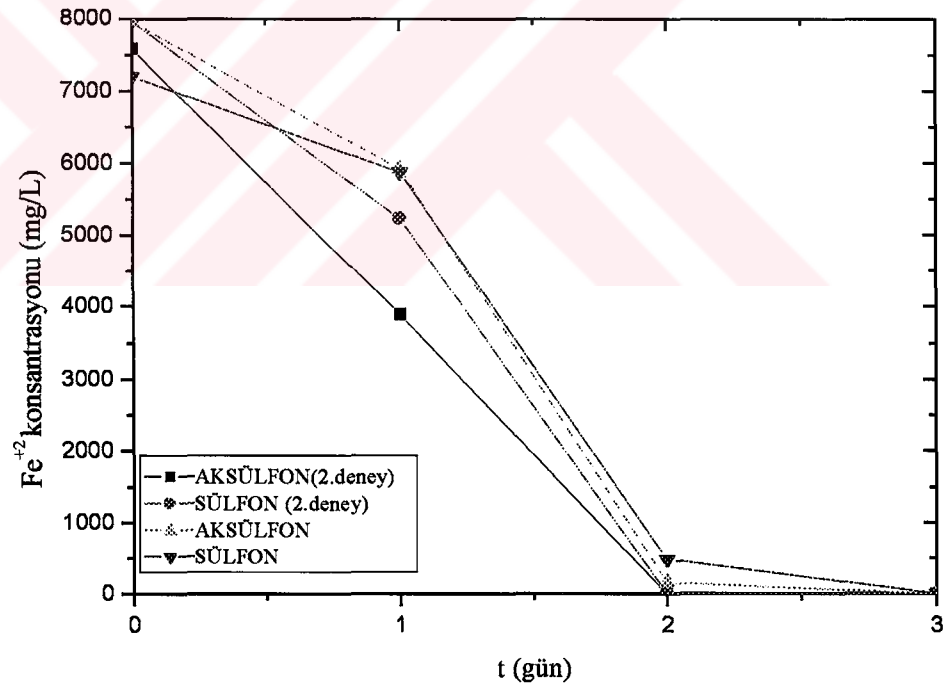
Şekil.6.2. İkinci Malzeme Deneyinde Fe^{+2} Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi.

Şekil 6.2'den ikinci malzeme deneyinde malzemeler arasında en iyi sonucu aktif karbonlu sülfonlu polimerin verdiği görülebilir. Aktif karbonlu sülfonlu ve sülfonlu polimerlerin bulunduğu ortamlardaki Fe^{+2} miktarı kontrol için hazırlanmış olan sadece bakterinin bulunduğu ortamdaki Fe^{+2} miktarı ile aynı zamanda 0'a düşmüştür. Toz halinde aktif karbonun kullanıldığı ortamdaki Fe^{+2} miktarı deneyin



3.gününe kadar sadece 600 mg/L azalmıştır. Birinci deneyde aktif karbonlu sülfonlu ve sülfonlu polimerlerin bulunduğu ortamda Fe^{+2} miktarı 10.günde 0'a düşerken ikinci deneyde 3.günde 0'a düşmüştür. Bunun nedeni ikinci deneyde bakteri aşılama oranının ve ortamdaki Fe^{+2} konsantrasyonunun artırılmasıdır.

Üçüncü deneyde aktif karbonlu sülfonlu (2.deneydeki), sülfonlu (2.deneydeki), aktif karbonlu sülfonlu ve sülfonlu polimerler denenmiştir. Bu deneyde ikinci deneyde kullanılmış olan aktif karbonlu sülfonlu ve sülfonlu polimerik malzemeler besiyeri ile yıkandıktan sonra, herhangi bir bakteri ilavesi olmadan temiz bir ortama alınmıştır. Burada, yıkamadan sonra malzemelerin üzerinde kalmış olan bakterilerin yeni bir ortamda Fe^{+2} kullanma kapasitelerini ölçmek amaçlanmıştır. Deneyin sonucu grafiksel olarak Şekil 6.3'de gösterilmiştir.



Şekil.6.3. Üçüncü Malzeme Deneyinde Fe^{+2} Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi.

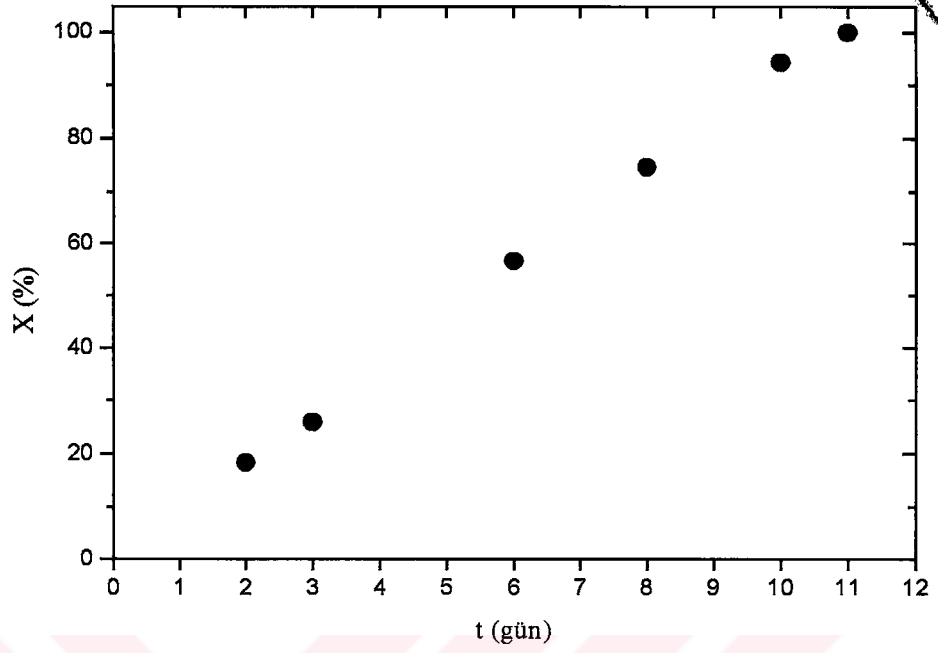
Bu deneyde, grafikten de görülebileceği gibi ikinci deneyde kullanılmış olan aktif karbonlu sülfonlu ve sülfonlu polimerlerin yeni bir ortama bakteri ilavesi

olmadan eklendiğinde Fe^{+2} oksidasyon verimleri oldukça yüksek olmuştur. Aktif karbonlu sülfonlu ve sülfonlu polimerin olduğu ortamdaki Fe^{+2} miktarındaki azalmalar 2.deneydeki sonuçlar ile tutarlıdır. Bunun nedeni ikinci ve üçüncü deney için kullanılan bakterilerin aynı ortamdan alınmış olmasıdır.

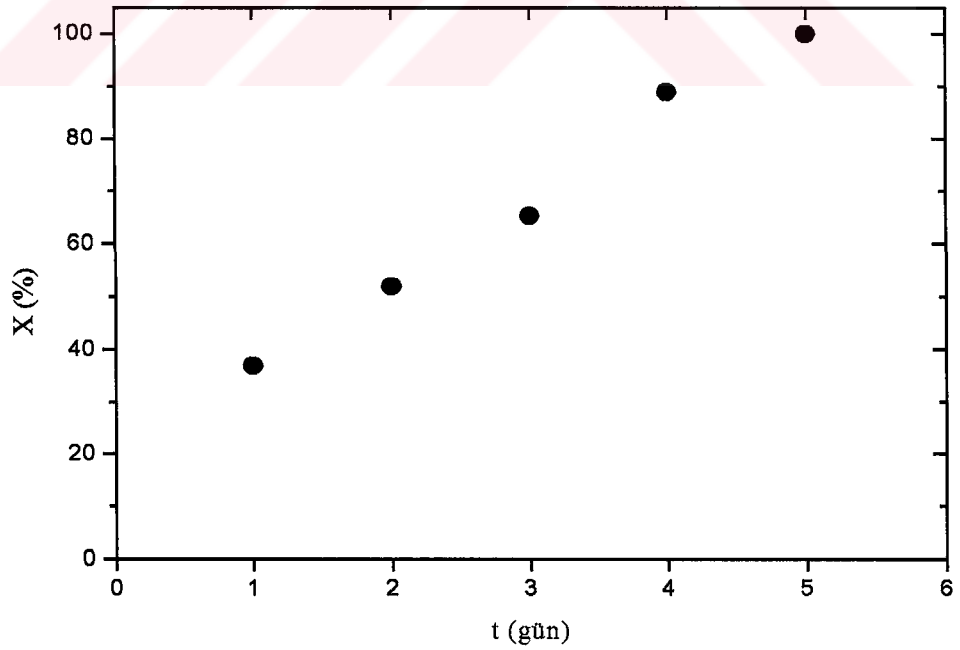
Bu kesikli ortamda yapılan üç malzeme deneyinin sonuçlarına göre sürekli çalışmada kullanılacak olan kolon poliüretan köpük ve aktif karbonlu sülfonlu polimerik malzeme ile doldurulmuş ve iki kolon denemelerin kinetik sonuçlarına göre Fe^{+2} oksidasyon verimleri karşılaştırılmıştır.

6.2. Kesikli Denemelerde Elde Edilen Veriler

Poliüretan köpük ve aktif karbon sülfonlu polimer ile doldurulmuş reaktör 300 ml/dak hava verildikten sonra %30 (v/v) oranında bakteriyle aşılınmış ana çözelti ile (8 gr/L Fe^{+2}) doldurulmuş ve kesikli modda çalıştırılmıştır. Fe^{+2} 'nin %95-100 dönüşümü gerçekleştikten sonra sürekli moda geçilmiştir. Her iki malzeme içinde reaktörün çıkışından alınan numunelerde yapılan Fe^{+2} analizlerine göre çizilen kesikli modun işletilmesine ait grafik Şekil 6.4 ve Şekil 6.5'de gösterilmiştir. Bu grafiklere göre kolon poliüretan köpük ile doldurulduğunda %100'lük verime 11.günde, aktif karbonlu sülfonlu polimer ile doldurulduğunda %100'lük verime 5. günde ulaşmıştır. Bu süre sonunda yeterli bakteri filminin oluştuğu kabul edilmiştir.



Şekil.6.4. Poliüretan Köpükte Kesikli Çalışmada Oksidasyon Verimi ve Zaman İlişkisi.



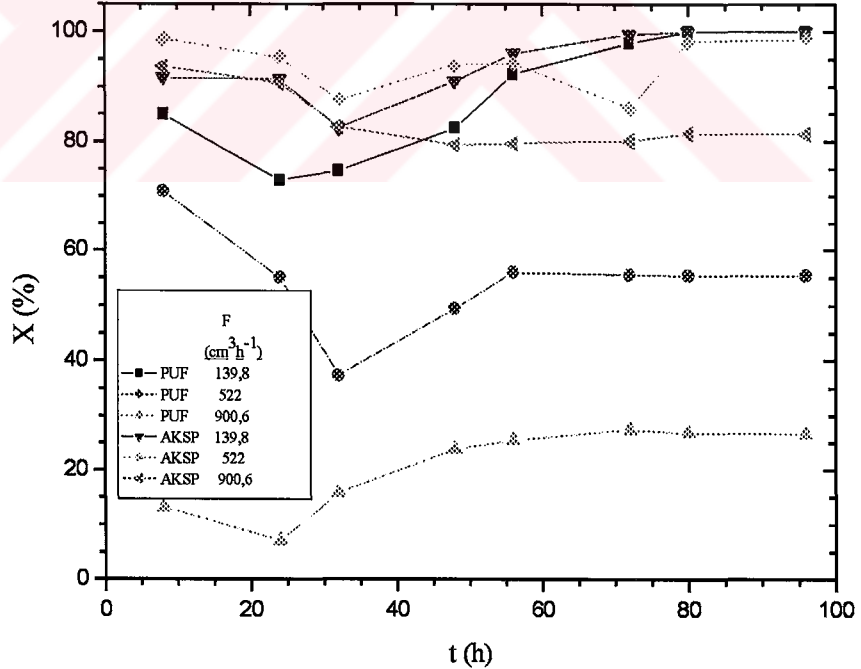
Şekil.6.5. Aktif Karbon Sülfonlu Polimerde Kesikli Çalışmada Oksidasyon Verimi ve Zaman İlişkisi.



6.3. Sürekli Denemelerde Elde Edilen Veriler Yardımıyla Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

Kesikli modda immobilizasyonun yapıldığı kolona ana sıvı istenilen debide farklı konsantrasyonlarda verilmeye başlanmıştır. Konsantrasyon denemelerinden sonra debi denemeleri yapılmıştır. Kinetik bağıntıların hesaplanabilmesi için her bir debide kararlı hal şartları kullanılmış ve bu şartlara ulaşıldıktan sonra bir diğer deneme başlatılmıştır.

Çeşitli debilerde kolonda elde edilen dönüşümlere ait grafik Şekil 6.6'da gösterilmiştir. Bu grafikte kolonda kullanılan iki malzeme (poliüretan köpük ve aktif karbonlu sülfolu polimer) için elde edilen değerler karşılaştırma yapılması amacıyla birlikte gösterilmiştir.



Şekil.6.6. Kolon Çıkışında Farklı Su Debilerine Göre Zamanla Fe⁺² Dönüşüm Verimi.

Şekil 6.6'da gösterilen Fe⁺² dönüşüm veriminin zamanla değişmesi grafiğinden görülebileceği gibi ilk 24 saat içerisinde kolonda yıkanma nedeniyle verim düşmüş

daha sonra hızlı bir şekilde yükselip belli bir değerden sonra sabit kalmıştır. Burada 139,8 mL/h, 522 mL/h ve 900,6 mL/h debiler için yükleme hızları poliüretan köpükte sırasıyla 0,565 g/Lh, 2,1 g/Lh ve 3,64 g/Lh, aktif karbonlu sülfonlu da sırasıyla 0,77 g/Lh, 2,86 g/Lh ve 4,93 g/Lh bulunmuştur. Şekil 6.6 incelendiğinde düşük debi için dönüşüm verimi her iki malzemedede de %100'e kadar çıkmıştır. Debinin artırılması ile verimler düşmüştür. Debi 139,8 mL/h'ten 522 mL/h'a çıkarıldığında dönüşüm verimi poliüretan köpük için %55,4, aktif karbonlu sülfonlu polimer için %98,7'e kadar çıkmıştır. Aktif karbonlu sülfonlu polimer poliüretan köpükten yaklaşık iki kat daha iyi bir performans göstermiştir. Debi 900,6 mL/h'e çıkarıldığında verimler poliüretan köpükte %26,7'e aktif karbonlu sülfonlu polimerde %81,4'e düşmüştür. Bu debide de aktif karbonlu sülfonlu polimerde poliüretan köpüğe göre oldukça yüksek verim değeri elde edilmiştir.

Kolondaki debi değişimine göre meydana gelen bu olayların tipik sabit yatak biyolojik reaktörlerin davranışı olduğu belirtilmektedir. Literatürde belirtildiği gibi denge şartlarına ulaşma zamanı debiye bağlıdır. Debi veya seyrelme oranı arttıkça denge şartlarına ulaşma süresi artmaktadır [Saatçioğlu, 1998].

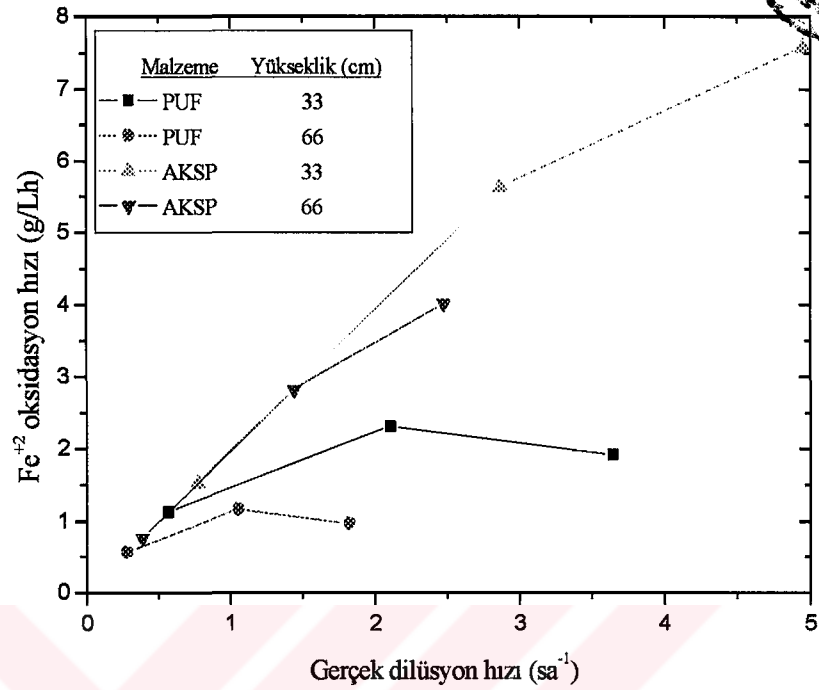
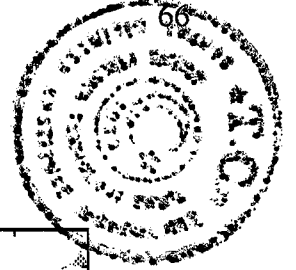
Çeşitli besleme hızları için kolon yüksekliği boyunca, Fe^{+2} oksidasyon verimleri, dilisyon hızları, oksidasyon hızı, kalış süreleri ve yükleme hızı poliüretan köpük için Çizelge 6.1'de, aktif karbonlu sülfonlu polimer için Çizelge 6.2'de gösterilmiştir.

Çizelge.6.1. Poliüretan Köpük İçin Çeşitli Besleme Hızlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları.

Kolon yüksekliği (cm)	33			66		
S_0 (g/L)	2	2	2	2	2	2
F (mL/h)	139,8	522	900,6	139,8	522	900,6
X (%)	100	55,1	26,5	100	55,4	26,7
D (h^{-1})	0,27	0,99	1,715	0,13	0,497	0,86
D_t (h^{-1})	0,565	2,1	3,64	0,28	1,055	1,82
R (g/Lh)	1,13	2,32	1,93	0,565	1,17	0,97
R (mmol/Lh)	20,2	41,5	34,4	10	20,86	17,3
τ (h)	1,77	0,47	0,275	3,54	0,95	0,55
τ (dak)	106,2	28,4	16,5	212,45	56,9	33
L (g/Lh)	1,13	4,22	7,27	0,565	2,1	3,64

Çizelge.6.2. Aktif Karbonlu Sülfonlu Polimer İçin Çeşitli Besleme Hızlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları.

Kolon yüksekliği (cm)	33			66		
S_0 (g/L)	2	2	2	2	2	2
F (mL/h)	139,8	522	900,6	139,8	522	900,6
X (%)	100	98,4	76,8	100	98,7	81,4
D (h^{-1})	0,27	1	1,72	0,135	0,5	0,86
D_t (h^{-1})	0,77	2,86	4,93	0,385	1,43	2,47
R (g/Lh)	1,53	5,63	7,58	0,77	2,82	4,02
R (mmol/Lh)	27,4	100,5	135,2	13,7	50,4	71,7
τ (h)	3,76	0,35	0,2	2,6	0,7	0,4
τ (dak)	225,3	20,1	12	156,7	40,2	24
L (g/Lh)	1,53	5,72	9,87	0,77	2,86	4,93

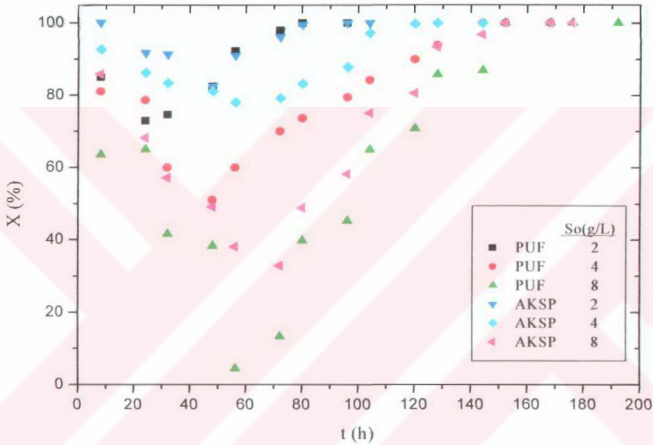


Şekil.6.7. Oksidasyon Hızı ve Dilüsyon Hızı Arasındaki İlişki

Şekil 6.7’de gösterilen grafikten iki malzeme içinde dilüsyon hızına göre oksidasyon hızının değişimi yorumlanabilir. Poliüretan köpük için maksimum oksidasyon hızları; 33 cm kolon yüksekliği için 2,32 g/Lh, 66 cm kolon yüksekliği için 1,17 g/Lh bulunmuştur. Bu değerler için kalış süreleri ve Dt değerleri sırasıyla; 28,4 dak., 56,9 dak. ve 2,1 h⁻¹, 1,05 h⁻¹ şeklindedir. Buradan görülebileceği gibi, dilüsyon hızı arttıkça ters orantılı olarak reaktörde kalış süresi azalır, dolayısıyla poliüretan köpükte belli bir dilüsyon hızından (33 cm için 2,1 h⁻¹, 66 cm için 1,05 h⁻¹) sonra kalış süresi azaldığı için Fe⁺² oksidasyon hızında azalma olmuştur. Aktif karbonlu sülfonlu polimer için maksimum oksidasyon hızları; 33 cm yükseklik için 7,58 g/Lh, 66 cm yükseklik için 4,02 g/Lh bulunmuştur. Bu değerler için kalış süreleri ve Dt değerleri sırasıyla; 12,16 dak., 24,32 dak. ve 4,94 ha⁻¹, 2,47 h⁻¹ şeklindedir. Aktif karbonlu sülfonlu polimer de poliüretan köpükten farklı olarak çalışılan aynı debiler için elde edilen dilüsyon hızları arttıkça Fe⁺² oksidasyon hızı artmıştır, oksidasyon hızında düşüş gözlenmemiştir.

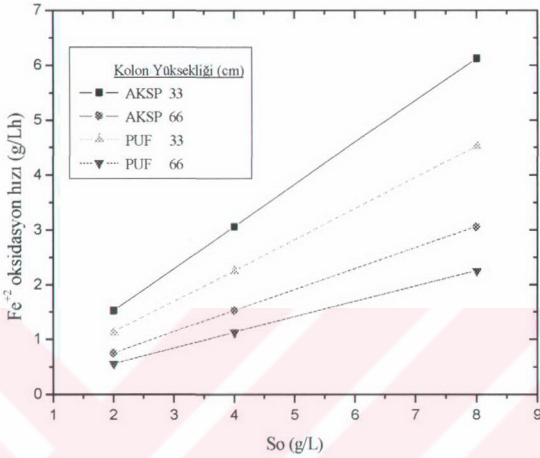
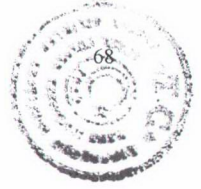


Sürekli çalışmada sabit debide farklı konsantrasyon çalışmaları yapılmıştır. Her bir denemede farklı Fe^{+2} konsantrasyonları 139,8 mL/h'lik sabit debide gönderilmiştir. Her bir konsantrasyon denemesinde sabit durum ulaşıldıktan sonra diğer deneme başlatılmıştır. Çeşitli Fe^{+2} konsantrasyonlarında her iki malzeme içinde kolonda elde edilen dönüşümlere ait grafik Şekil 6.8'de gösterilmiştir.



Şekil.6.8. Kolon Çıkışında Çeşitli Konsantrasyonlarda Dönüşüm Zaman İlişkisi.

Grafikten görüleceği üzere çalışılan konsantrasyon değerlerinde yüksek Fe^{+2} konsantrasyonlarında (4 g/L, 8 g/L) aktif karbonlu sülfonlu polimerdeki dönüşüm verimleri poliüretan köpükteki verimlerden daha yüksek bulunmuştur. Düşük konsantrasyon da (2 g/L) verim değerleri birbirine çok yakın çıkmıştır. Her iki malzeme için de daha yüksek konsantrasyonlarda kolondaki verim düşüşleri yüksek olmuştur fakat kısa sürede reaktör kararlı hale ulaşmıştır. İki malzemede de kararlı halde reaktörde Fe^{+2} dönüşüm verimi iki örnek alma noktasında da çalışılan debide %100'e ulaşmıştır.



Şekil 6.9. Oksidasyon Hızı ile Fe^{+2} Konsantrasyonu Arasındaki İlişki.

Şekil 6.9'da görüleceği gibi besleme çözeltisindeki Fe^{+2} konsantrasyonu yükseldikçe Fe^{+2} hızı da yükselmiştir. Ancak kolon yüksekliğinin artması halinde Fe^{+2} oksidasyon hızında bir azalma göze çarpmaktadır. Bu kolon yüksekliği boyunca Fe^{+2} konsantrasyonunun azalmasındandır. Bunun sonucunda maksimum oksidasyon hızına her iki malzeme için de Fe^{+2} konsantrasyonunun 8 g/L olması halinde ulaşılmaktadır.

Çeşitli besleme konsantrasyonları için kolon yüksekliği boyunca, Fe^{+2} oksidasyon verimleri, dilisyon hızları, oksidasyon hızı, kalış süreleri ve yükleme hızı poliüretan köpük için Çizelge 6.3'de, aktif karbonlu sülfonlu polimer için Çizelge 6.4'de gösterilmiştir.

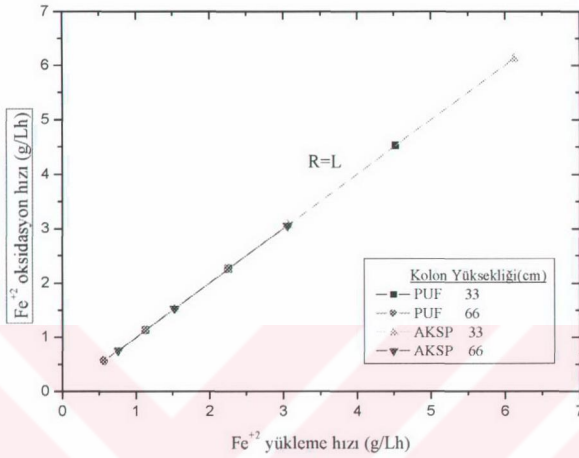
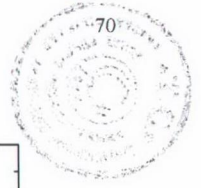


Çizelge 6.3. Poliüretan Köpük İçin Çeşitli Besleme Konsantrasyonlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları.

Kolon yüksekliği (cm)	33			66		
S_0 (g/L)	2	4	8	2	4	8
F (mL/h)	139,8	139,8	139,8	139,8	139,8	139,8
X (%)	100	100	100	100	100	100
D (h^{-1})	0,26	0,26	0,26	0,13	0,13	0,13
D_t (h^{-1})	0,56	0,56	0,56	0,28	0,28	0,28
R (g/Lh)	1,13	2,26	4,52	0,56	1,12	2,24
R (mmol/Lh)	20,2	40,4	80,8	10,1	20,2	40,4
τ (h)	1,77	1,77	1,77	3,54	3,54	3,54
τ (dak)	106	106	106	212	212	212
L (g/Lh)	1,13	2,26	4,52	0,56	1,12	2,24

Çizelge 6.4. Aktif Karbonlu Sülfonlu Polimer İçin Çeşitli Besleme Konsantrasyonlarında Oksidasyon Verimi, Dilisyon Hızları, Oksidasyon Hızı, Kalış Süreleri ve Yükleme Hızları.

Kolon yüksekliği (cm)	33			66		
S_0 (g/L)	2	4	8	2	4	8
F (mL/h)	139,8	139,8	139,8	139,8	139,8	139,8
X (%)	100	100	100	100	100	100
D (h^{-1})	0,26	0,26	0,26	0,13	0,13	0,13
D_t (h^{-1})	0,76	0,76	0,76	0,38	0,38	0,38
R (g/Lh)	1,53	3,06	6,12	0,76	1,53	3,06
R (mmol/Lh)	27,4	54,7	109,4	13,7	27,4	54,7
τ (h)	3,8	3,8	3,8	2,6	2,6	2,6
τ (dak)	225,3	225,3	225,3	156,7	156,7	156,7
L (g/Lh)	1,53	3,06	6,12	0,76	1,53	3,06



Şekil.6.10. Fe²⁺ Oksidasyon Hızı ile Fe²⁺ Yükleme Hızı Arasındaki İlişki.

Şekil 6.10'dan görüleceği gibi oksidasyon hızı yükleme hızının fonksiyonu olarak yazıldığında; $R=L$ eşitliği çıkmaktadır. Bu eşitlikten de görüleceği gibi 139,8 mL/h su debisinde, 300 mL/dak hava debisinde kolona gönderilen bütün Fe²⁺ konsantrasyonlarında her iki malzeme ve her iki kolon yüksekliği için Fe²⁺'nin Fe³⁺'e dönüşüm verimi %100 bulunmuştur.

7. SONUÇ

Bu çalışmada demirin biyooksidasyonu için dolgu yataklı biyoreaktörde iki farklı malzeme denenmiştir. Laboratuvarında hazırlanmış modifiye edilmiş polimerik bir malzeme ile literatürde en çok çalışılan poliüretan köpük kıyaslanmıştır. Yapılan deneyler sonucunda, hem yüksek atıksu debilerinde hem de yüksek Fe^{+2} konsantrasyonlarında, Fe^{+2} oksidasyon verimi polimerik malzemenin kullanıldığı dolgu yataklı biyoreaktörde daha yüksek bulunmuştur. Düşük Fe^{+2} konsantrasyonlarında iki malzeme arasında çok büyük bir fark olmadığı görülmüştür.

Literatürde dolgu yataklı biyoreaktörde yapılan çoğu çalışmada yüksek yükleme hızları kullanılmıştır. Bizim çalışmamız, bu çalışmalar ile kıyaslandığında daha düşük yükleme hızında yapılmıştır. Nematı ve Webb [1996] 1,8-2,0 aralığındaki pH ve 30°C sıcaklıkta, poliüretan köpük biyokütle destek partikülünde Fe^{+2} biyooksidasyonunu çalışmışlar ve 60 g/Lh hacimsel yükleme hızında 34,2 g/Lh'lik bir oksidasyon hızına ulaşmışlardır. Bu değer %57'lik bir dönüşüm verimini ifade etmektedir. Yine Nematı ve Webb [1999] tarafından aynı pH ve sıcaklık aralığında aktif karbon ile kaplanmış poliüretan köpük destek partikülünde yapılmış olan çalışmada 55 g/Lh hacimsel yükleme hızında 36,7 g/Lh'lik bir oksidasyon hızı elde edilmiştir. Bu değer %66,7'lik bir Fe^{+2} dönüşüm verimini ifade etmektedir. Grishin ve Tuovinen [1988] tarafından 1,3-1,5 pH aralığında ve 23°C sıcaklıkta aktif karbon ve cam tanelerinin kullanıldığı dolgu yatakta yapılmış olan iki çalışmada, 701-841 μm boyutlarındaki aktif karbonun kullanıldığı reaktörde 59,1 g/Lh'lik hacimsel yükleme hızında 52,6 g/Lh'lik oksidasyon hızı, 710-1180 μm boyutlarındaki cam tanelerinin kullanıldığı reaktörde 8,2 g/Lh hacimsel yükleme hızında 3,3 g/Lh oksidasyon hızı elde edilmiştir. Bu değerler aktif karbonlu reaktörde %89'luk, cam tanelerinin kullanıldığı reaktörde %40,4'lik dönüşüm verimini ifade etmektedir. Dolgu yataklı biyoreaktörler için literatürdeki en iyi Fe^{+2} oksidasyon verimlerinin elde edildiği bu çalışmalar ile bizim çalışmamız kıyaslandığında poliüretan köpük ile sürekli modda yapmış olduğumuz reaktör denemelerinde en yüksek oksidasyon hızı, 4,52 g/Lh'lik yükleme hızında 4,52 g/Lh olarak bulunmuştur. Bu, çalışılan yükleme hızı için %100'lük bir Fe^{+2} oksidasyon veriminin elde edildiği anlamına gelir. Bu verimin elde edildiği debi ve giriş Fe^{+2}



konsantrasyonunda, aktif karbonlu sülfonlu polimerik malzemenin kullanıldığı reaktör de %100'lük bir Fe^{+2} oksidasyon verimine ulaşmıştır. Aktif karbonlu sülfonlu polimerik malzeme ile yapmış olduğumuz çalışmada ulaşılan en yüksek oksidasyon hızı, 9,87 g/Lh'lik yükleme hızında 7,58 g/Lh'dir. Bu, çalışılan yükleme hızı için %76,8'lik bir Fe^{+2} oksidasyon verimini ifade eder. Bu verimin elde edildiği debi ve giriş Fe^{+2} konsantrasyonunda, poliüretan köpüğün kullanıldığı reaktör için %26,5'lük bir Fe^{+2} oksidasyon verimine ulaşılmıştır. Yüksek Fe^{+2} yükleme hızında, aktif karbonlu sülfonlu polimerin kullanıldığı reaktörde poliüretan köpüğün kullanıldığı reaktöre göre daha yüksek bir Fe^{+2} oksidasyon verimi elde edilmiştir. Literatür araştırmasında, Fe^{+2} 'nin biyooksidasyonu için poliüretan köpüğün kullanıldığı birçok reaktör çalışmasına rastlanmıştır, fakat aktif karbonlu sülfonlu polimerin kullanıldığı bir reaktör çalışması bulunamamıştır.

Son yıllarda *Thiobacillus ferrooxidans* bakterisi ile Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e biyooksidasyonu birçok alanda kullanılmaktadır. Bu amaçla, demirce zengin pH'ı düşük atık suların arıtımında veya başka arıtım proseslerine yardımcı proses olarak Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} oksidasyonu için kimyasal oksidasyona alternatif olabilecek biyooksidasyon üzerinde fazlaca çalışılmaktadır. Biyooksidasyonun verimini artırmak için çeşitli reaktör konfigürasyonları yanında farklı immobilize malzemelerde araştırılmaktadır. Bu çalışmada denenmiş olan aktif karbonlu sülfonlu polimerik malzeme literatürde kullanılan diğer malzemelere alternatif olabilecek kadar iyi bir performans göstermiştir. Elde edilmiş olan yüksek performansın nedeni, polimerik malzemenin yüzey özellikleri konusunda yapılacak olan ayrıntılı çalışmalar ile bulunacaktır.

KAYNAKLAR

Asenjo J.A., Merchuk J.C., Bioreactor System Desing, Marcel Dekker, 1994.

Barron J. L., Luecking D. R., Growth and Maintenance of *Thiobacillus Ferrooxidans* cells. Applied Environmental Microbiology. 56(9), 2801-2806, 1990.

Bitton G., Wastewater Microbiology, Wiley-Liss, pp. 44, 1994.

Blake R. C., Shute E. A., Respiratory Enzymes of *Thiobacillus Ferrooxidans*: a Kinetic Study of Electron Transfer. Journal of Biological Chemistry. 262, 14983-14989, 1987.

Cassidy M. B., Lee H. and Trevors J. T., Environmental Applications of Immobilized Microbial Cells:a review. Journal of Industrial Microbiology. 16, 79-101, 1996.

Çetin E., Endüstriyel Mikrobiyoloji, syf. 381-394, İstanbul, 1983.

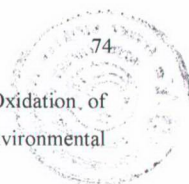
Çevre Mühendisliğinde Kimyasal Prosesler Ders Kitabı, İstanbul Üniversitesi, 2000.

Curutchet G., Pogliani C., Donati E., Tedesco P., Effect of Iron (III) and Its Hydrolysis Products (jarosites) on *Thiobacillus Ferrooxidans* Growth and on Bacterial Leaching. Biotechnology Letters. 14(4), 329-334, 1992.

Dopson M., Baker-Austin C., Koppineedi P. and Bond P.L., Growth in Sulfidic Mineral Environments: Metal Resistance Mechanisms in Acidophilic Microorganisms. Microbiology, 149, 1959-1970, 2003.

Eroğlu V., Su Tasfiyesi, İstanbul, 1995.

Grishin S. I., Tuovinen O. H., Fast Kinetics of Fe^{+2} Oxidation in Packed Bed Reactors. Applied and Environmental Microbiology. 54(12) ,3092-3100, 1988.



Harahuc L., Lizama H.M., Suzuki I., Selective Inhibition of the Oxidation of Ferrous Iron or Sulfur in *Thiobacillus Ferrooxidans*. Applied and Environmental Microbiology. 66 (3), 1031-1037, 1999.

http://www.encyclopedia.com/html/section/iron_Properties.asp

Jensen A., Webb C., A Trickle-bed Reactor for Ferrous Sulphate Oxidation Using *Thiobacillus Ferrooxidans*. Biotech. Tech. 8(2), 87-92, 1994.

Karamanev D. G., Model of the Biofilm Structure of *Thiobacillus Ferrooxidans*, J.Biotechnol.20(1), 51-64, 1991.

Karamanev D. G., Nikolov L. N., Influence of Some Physicochemical Parameters on Bacterial Activity of Biofilm: Ferrous Iron Oxidation by *Thiobacillus Ferrooxidans*. Biotechnology and Bioengineering 31,295-299, 1988.

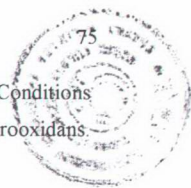
Kobyas M., Su ve Atıksu Arıtımında Proses Kimyası, GYTE, Gebze, 2001.

Lazaroff N., Sigal W., Wasserman A., Iron Oxidation and Precipitation of Ferric Hydroxysulphates by Resting *Thiobacillus Ferrooxidans* Cells. Applied and Environmental Microbiology, 43(4), 924-938, 1982.

Leathen W. W., Kinsel N. A., Braley S. A., *Ferrobacillus Ferrooxidans*: a Chemosynthetic Autotrophic Bacterium, 1956.

Leduc L. G., Trevors J. T., Ferroni G. D., Thermal Characterization of Different Isolates of *Thiobacillus Ferrooxidans*. FEMS Microbiol.Lett.108, 189-194, 1993.

Lizama H. M., Suzuki I., Synergistic Competitive Inhibition of Ferrous Iron Oxidation by *Thiobacillus Ferrooxidans* by Increasing Concentrations of Ferric Iron and Cells. Appl.Environ.Microbiol.55(10), 2588-2591, 1989.



Malhotra S., Tankhiwale A. S., Rajvaidya A. S., Pandey R.A., Optimal Conditions for Bio-oxidation of Ferrous Ions to Ferric Ions Using *Thiobacillus Ferrooxidans*. *Bioresource Technology*, 85, 225-234, 2002.

Manning H. L., New Medium for Isolating Iron-Oxidizing and Heterotrophic Acidophilic Bacteria from Acid Mine Drainage. *Applied Microbiology*, 30(6), 1010-1016, 1975.

Mazuelos A., Palencia I., Romero R., Rodriguez G., Carranza F., Ferric Iron Production in Packed Bed Bioreactors: Influence of pH, Temperature, Particle size, Bacterial Support Material and Type of Air Distributor. *Minerals Engineering*, 14(5), 507-514, 2001.

Mesa M. M., Macias M. and Cantero D., Biological Iron Oxidation by *Acidithiobacillus Ferrooxidans* in a Packed Bed Bioreactor. *Chem.Biochem. Ang. Q*, 16(2), 69-73, 2002.

Mesa M. M., Macias M., Cantero D., A Simplification of the Protein Assay Method Ramsay et al. for the Quantification of *Thiobacillus Ferrooxidans* in the Presence of Ferric Precipitates. *Appl.Microbiol.Biotechnology*, 53, 722-725, 2000.

Mitchell R., *Environmental Microbiology*, Wiley-Liss, pp 380, 1993.

Nemati M., Harrison S. T. L., Hansford G. S., Webb C., Biological Oxidation of Ferrous Sulphate by *Thiobacillus Ferrooxidans*: a Review on The Kinetic Aspects. *Biochemical Engineering Journal*, 1, 171-190, 1998.

Nemati M., Webb C., Effect of ferrous iron concentration on the catalytic activity of immobilized *Thiobacillus Ferrooxidans*, *Appl.Microbiol.Biotechnol.* 46 (1996) 250-255.

Nemati M., Webb C., Combined Biological and Chemical Oxidation of Ferrous Sulfate Using Immobilised *Thiobacillus Ferrooxidans*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74, 562-570, 1999.



Pekdemir T., Keskinler B., Yıldız E., and Akay G., Process Intensification in wastewater treatment: ferrous iron removal by a sustainable membrane bioreactors system. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 78, 773-780, 2003.

Pogliani C., Donati E., Immobilisation of *Thiobacillus ferrooxidans* : Importance of Jarosite Precipitation. Process Biochemistry, 35, 997-1004, 2000.

Rawlings D.E., Tributsch H. And Hansford G.S., Reason why “Leptospirillum”-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores. Microbiology, 145, 5-13, 1999.

Saatçioğlu N., Membran Biyoreaktörlerde Atıksulardan Demir Arıtımı Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 1998.

Samsunlu A., Çevre Mühendisliği Kimyası, İstanbul, 1999.

Savic D. S., Veijkovic V. B., Lazic M. L., Vrvic M. M., and Vucetic J. I., Effects of the Oxygen Transfer Rate on Ferrous Iron Oxidation by *Thiobacillus Ferrooxidans*. Enzyme and Microbial Technology, 23, 427-431, 1998.

Shrihari R. K., Gandhi K. S., Modelling of Fe^{+2} Oxidation by *Thiobacillus Ferrooxidans*. Appl.Microbiol.Biotechnol. 33,524-528, 1990.

Silverman M. P., Lundgren D. G., Studies on the Chemoautotrophic Iron Bacterium *Ferrobacillus Ferrooxidans*: II.Manometric Studies. J.Bacteriology 78, 326-331, 1959.

Smith J. R., Luthy R. G., Middleton A. C., Microbial Ferrous Iron Oxidation in Acidic Solution. Journal Water Pollution Control Federation 60(4), 518-530,1988.

Straub K., Benz M. and Schink B., Iron metabolism in anoxic environments at near neutral pH. FEMS Microbiology Ecology, 34,181-186, 2001.



Standart Methods, pp 3-68, 1995.

Suzuki I., Lizama H. M., Tackaberry P. D., Copmetitive Inhibition of Ferrous Iron
Oxidation by Thiobacillus Ferroxidans by Increasing Concentration of Cells.
Appl.Environ.Microbiol. 55(5), 1117-1121, 1989.

ÖZGEÇMİŞ



1980 yılında Osmaniye’de doğan Derya Yüksel Köseoğlu, ilköğrenimini Osmaniye Atatürk İlkokulunda, orta öğrenimini Osmaniye Merkez Ortaokulunda ve lise öğrenimini İstanbul Erenköy Kız Lisesinde tamamladı. 1997 yılında İstanbul Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümünde üniversite eğitime başladı. 2001 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Çevre Mühendisliği Bölümü’nde yüksek lisans eğitime başladı. 2004 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Çevre Mühendisliği Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. Halen bu görevini sürdürmektedir.