

84079

T.C.

GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YARIMCA/KÖRFEZ KIRLANGIÇ YAĞ
FABRİKASI ARITMA TESİSİ BİYOLOJİK
ARITMA ÜNİTESİNDEKİ ÇÖKELME
PROBLEMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMA

Meltem ERDOĞAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. İ. Yavuz SEZEN

GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GEBZE

1999

Bu tez çalışması, G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 27.2.1999..... tarih ve 99./25..... sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından Biyoloji..... Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE
(Tez Danışmanı)

Prof Dr I. YAVUZ SEZEN
Veteriner Hekim

Yavuz Sezen

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Aziz TANRISEVEN

Aziz Tanrıseven

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Mehmet KOBYA

Mehmet Kobyay

ONAY

G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 27.2.1999..... tarih ve 99./25..... sayılı kararı.

İmza / Mühür

[Signature]

ÖZET

Atık su arıtma teknolojisinin en fazla kullanım alanı bulan tipi aktif çamur yöntemidir. Dünyanın farklı bölgelerinde aktif çamur ünitelerine rastlamak mümkündür.

Pek çok avantajının yanında havalı atık su arıtma tesislerinde problemler de yaşanmaktadır. Filamentli kabarma (Filamentous bulking) aktif çamur ünitelerinde gözlenen en önemli problemlerden biridir. Filamentli mikroorganizmaların aşırı üremesi ve gelişmesi normalde oluşması gereken aktif çamur yumaklarının zayıf ve cılız oluşmasına neden olur, sonuçta filamentli kabarma olarak bilinen problem açığa çıkar. Çökelme gücü zayıf olduğundan dolayı atık su arıtma tesislerinde filamentli kabarmanın varlığı istenilmeyen bir durumdur.

Filamentli mikroorganizmalar arasında yer alan filamentli sülfür bakterileri, *Thiothrix*, *Beggiatoa* ve Tip O21N'in kabarmış çamura neden olduğu 1970-1980 yılları arasında yapılan titiz ve dikkatli çalışmalar sonucunda bulunmuştur.

Bu çalışmada, Kırilangıç Yağ Fabrikası Atık Su Arıtma Tesisi Biyolojik Arıtma Ünitesinde görülen çökelme (kabarmış çamur) problemi mikrobiyoloji açısından incelenmiştir.

Hedef alınan fabrikanın havalandırma havuzundan grab numuneler alınmış ve numuneler içinde Eikelboom Tip O21N, *Thiothrix* ve *Beggiatoa* bakterileri aranmıştır.

Yapılan mikroskobik çalışmalar ve biyokimyasal testler sonucunda hedef alınan fabrikanın aktif çamurunda Eikelboom Tip O21N, *Thiothrix* ve *Beggiatoa*'ların izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır.

SUMMARY

The activated sludge process presents the most widespread technology for wastewater purification. Activated sludge plants can be found in different place of the world.

There are problems in aerob wastewater treatment plants in spite of its lots of advantage. One of the major problem that observed in activated sludge plants is filamentous bulking. Excessive growth and development of filamentous bacteria may confer upon the normally flocculent activated sludges poor settling and compaction, resulting in a condition known as filamentous bulking. Its presence undesirable in wastewater treatment plants because of its poor separability.

Filamentous sulfur bacteria, including *Thiothrix*, *Beggiatoa* sp and named as Type O21N by Eikelboom has been found that cause bulking sludge at the end of carefully studyings between 1970 - 1980.

In this study, bulking activated sludge problem in the wastewater treatment plant of Kırilangıç Oil Factory has been observed microbiological.

Grab samples of mixed liquor have been taken from aeration basin of the target factory and Type O21N, *Beggiatoa* and *Thiothrix* sp. have been looked for in the grab samples.

As a result of the examination microscopically and biochemical characterization have been isolated and identified Eikelboom Type O21N, *Thiothrix* and *Beggiatoa* bacteria.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince tercübesini ve bilimsel katkılarını benden esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof.Dr. İ. Yavuz SEZEN'e,

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof.Dr. Abdülkadir AKÇİN'e,

Bu çalışmanın tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen Kocaeli Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. Mithat BAKOĞLU'na

Yarımca / Körfez Kırilangıç Yağ Fabrikası Arıtma Tesisi Çalışanlarına,

Sevgili halam Necmiye ÜZÜM ve eşi Arif ÜZÜM'e,

Arkadaşlarım Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kimya Bölümü Arş.Gör. Fatma GÖKMEN'e, Biyoloji Öğretmeni Berrin ÖZCAN'a,

Tüm yaşamım boyunca beni maddi ve manevi her konuda destekleyen, sıkıntılı anlarımda hep yanımda olan Babama, Anneme, Ağabeyim Ertekin Bora'ya teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	SAYFA
ÖZET	IV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
 1. GİRİŞ	 1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.2. Aktif Çamur Yöntemi	4
1.2.1. Havalandırma Havuzlar	6
1.2.2. Çöktürme Havuzları	6
1.3. Aktif Çamurda Mikroorganizmalar	7
1.3.1. Bakteriler	8
1.3.2. Mantarlar	9
1.3.3. <i>Protozoalar</i> (Tek Hücreliler)	10
1.3.4. Mikroorganizmaların Büyüme Hızı, Göreceli Üstünlük	12
Diyagramı	
1.4. Aktif Çamur Ünitelerinde Gözlenen Problemler	16
1.4.1. Flokların Parçalanması	16
1.4.2. Çamur Yükselmesi	16
1.4.3. Toplu İğne Flokları	16
1.4.4. Kütlesel (bulking) Aktif Çamur	16
2. FİLAMENTLİ MİKROORGANİZMALAR VE FİLAMENTLİ	17
KABARMA	
2.1. Filamentli Sülfür Bakterileri	18
2.2. Filamentli Sülfür Oksitleyen Bakteriler	23
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. Materyal	25
3.1.2. Numune Alma İşlemi	25

3.2. Metod	26
3.2.1. Filamentli Sülfür Bakterileri İçin Zenginleştirilmiş Kültürlerin Hazırlanışı	26
3.2.1.1. Mineral- Tuz - Vitamin Solüsyonu (MSV)	27
3.2.1.2. Zenginleştirilmiş Kültür	27
3.2.2. İzolasyon İşlemleri	28
3.2.3. Filamentli Sülfür Bakterileri İçin Uygulanan Boyama Yöntemleri	29
3.2.3.1. Gram Boyama Yöntemi	29
3.2.3.2. Neisser Boyama Yöntemi	31
3.2.4. Petri Kutusunda Mikroorganizmaları Çoğaltma	35
3.2.5. Filamentli Sülfür Bakterileri İçin Uygulanan Biyokimyasal Testler	36
3.2.5.1. Katalaz Testi	36
3.2.5.2. Oksidaz Testi	37
3.2.5.3. Üreaz Deneyi	38
3.2.5.4. Jelatin Erime Deneyi	38
3.2.5.5. Metil Kırmızısı ve Voges - Proskauer Deneyleri	40
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

O ₂	Oksijen
CO ₂	Karbon Dioksit
H ₂ O	Su
Gram (+)	Gram Pozitif
Gram (-)	Gram Negatif
NH ₃	Amonyak
ml	Mililitre
dak	Dakika
sn	Saniye
cm	Santimetre
CH ₄	Metan Gazı
BOİ	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
OAH	Oksijen Alım Hızı
KOI	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
L	Litre
mg	Miligram
µm	Mikrometre
I ₂	İyot
KI	Potasyum İyodür
FF	Biyolojik yumakları oluşturan mikroorganizmalar
FIL	Filamentli mikroorganizmalar
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction)
NaOH	Sodyum Hidroksit
sp	Species
%	Yüzde
GYTE	Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1.1. Klasik Aktif Çamur Sistemi	5
1.2. Biyolojik Arıtma Ünitelerinde Rastlanan <i>Protozoa</i> Tipleri	11
1.3. Mikroorganizmaların Büyüme Eğrisi	12
1.4. Göreceli Üstünlük Diyagramı	13
2.1. <i>Thiothrix</i> Genusunun Morfolojik Özellikleri	23
3.1. Filamentli Sülfür Bakterileri	33
3.2. Üç Haftalık Enkübasyon Süresi Sonunda MSV İçindeki Filamentli Sülfür Bakterilerinin Görünüşü (40 x, Gram Boyama)	34



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
1.1. Aktif Çamurdaki Mikroorganizmaların Metabolik Grupları	8
2.1. Filamentli Kabarma Problemi Görülen Aktif Çamur Ünitelerinin Bazı Ülkelerdeki Oranları	17
2.2. Filamentli Bakteriler Tarafından Tek Karbon Kaynağı Olarak Organik Substratların Kullanımı	21
2.3. Filamentli Bakteriler Tarafından Üre ve İnorganik Azot Bileşiklerinin Kullanımı	22
3.1. Numune Alış tarihleri ve Numune Alınırken Havalandırma Havuzundaki Çamurun Fiziksel Durumu	26
3.2. Gram (-) Filamentli Sülfür Bakterilerinin Karakteristik Özellikleri	42

1. GİRİŞ

Organik kirlilik içeren birçok evsel ve endüstriyel atık suların arıtımında en çok kullanılan arıtma yöntemi Aktif Çamur Yöntemi'dir. Kutuplardan çok sıcak tropik ülkelere, dünyanın farklı iklim şartlarına sahip bölgelerinde aktif çamur ünitelerini bulmak mümkündür.

Pek çok avantajının yanında, aktif çamur ünitelerinde problemler de yaşanmaktadır. Bunlardan biri de kabarma problemidir. Filamentli mikroorganizmaların aşırı üreme ve gelişmesi, biyolojik yumakların zayıf ve cılız oluşmasına, sonuçta filamentli kabarma (filamentous bulking) olarak bilinen durumun ortaya çıkmasına neden olur. Bu ise arıtma verimini düşürür, tesise ek masraflar yaratır.

Kırlangıç Yağ Fabrikası atık su arıtma tesisinde, kimyasal arıtma ile birlikte biyolojik arıtma ünitesi de bulunmaktadır. Fabrikanın tüm atık suları önce kimyasal arıtma işlemine tabi tutulmakta, sonra biyolojik arıtma ünitesine gönderilmektedir.

Bu çalışmada, filamentli mikroorganizmalardan Gram (-) filamentli sülfür bakterileri içinde yer alan Eikelboom Tip O21N, *Thiothrix* ve *Beggiatoa* bakterilerinin, Kırlangıç Yağ Fabrikası havalı biyolojik arıtma ünitesinden getirilen aktif çamur örneklerinde, aranması ve gözlenmesi amaçlanmıştır.

Bu şekilde hedef alınan fabrikanın arıtma tesisi çalışanlarına yol gösterici olmak, tesiste bu tür problemler gözleendiğinde hangi mikroorganizmalarla karşı karşıya olabilecekleri hakkında bilgi vermek hedeflenmiştir.

Numuneler fabrikanın biyolojik arıtma ünitesinde bulunan havalandırma havuzundan alınmış, numune alınırken steril şartlara özen gösterilmiştir. Bunun için kehribar renkli, steril cam şişeler kullanılmıştır.

1.1. Genel Bilgiler

İnsanoğlu yer yüzü sularından çok çeşitli şekillerde faydalanır. Tarlasını sular, balık yetiştirir, göl veya nehir kıyısında dinlenir, içme suyunu temin eder. Zirai, endüstriyel ve evsel atık suların arıtma işlemine tabi tutulmadan alıcı ortamlara verilmesi halinde; bu ortamlarda O₂ tüketimi hızlanmaktadır. Çoğunlukla alıcı ortam nehirler , göller ve denizlerdir. Su ürünlerinin yaşamına elverişli olan sulara verilecek olan söz konusu atık sular, sularla ilgili hayatı tehlikeli duruma getirmektedir.

Bu nedenlerden dolayı zirai, endüstriyel her türlü atık suyun arıtılması, içinde bulundurdıkları çözünebilir organik maddelerin atık sudan uzaklaştırılması çok önemli bir problemidir.

Atık suların çevre sağlığını tehdit etmeyecek şekilde, içinde bulunan çözünebilir organik maddelerin arıtılmasında kullanılan en yaygın sistem BİYOLOJİK ARITMA SİSTEMLERİ' dir. Bu sistem içindeki en yaygın yöntem ise Aktif Çamur'dur [Topacık, 1987].

Atık su arıtım teknolojisi, yalnızca aktif çamur yönteminden ibaret değildir. Fakat dünyada yaygın bir şekilde bulunduğu; şimdilik aktif çamur yöntemi, atık su arıtım teknolojisinin en gözde temsilcisidir. Deniz seviyesinde bir gemiden çok yüksek bir dağda kurulan motelde, tropik ülkelerden kutuplara çok farklı iklim şartlarına sahip bölgelerde dahi, aktif çamur tesislerine rastlamak mümkündür.

Aktif çamur tesisleri, büyük ve kalabalık metropollere hizmet veren devasa tesislerden, küçük bir ailenin ihtiyacını giderebilecek paket üniteler gibi çok farklı kapasite ve büyüklükte de kurulabilmektedir.

Yöntemin keşfi 19. yüzyılın sonlarında Amerikalı ve İngiliz Mühendislerin gayretleriyle gerçekleşmiştir. Bilim adamları atık suların havalandırılması üzerine çalışıyor, fakat ümit edilen sonuçlara ulaşamıyorlardı. Nihayet, 1914 yılında Manchester'de Arden ve Lockett bilim

dünyasına aktif çamur olarak adlandırdıkları bir teknolojiyi sundu [Muslu, 1994].

Yöntemin tüm safhalarında, günümüze kadar çok fazla değişiklik olmuştur. Fakat çağdaş aktif çamur prosesinin temeli Ardern ve Lockett'in çalışmalarına dayanır.

Havalı (aerobik) biyolojik arıtma sistemlerinde atık su içindeki çözünebilen organik maddelerin stabilizasyonu, heterotrofik mikroorganizmaların metabolizma faaliyetleri sonucu oluşur. Burada organik maddenin bir bölümü, enerji üreten süreç ile oksitlenerek CO₂ ve H₂O'ya dönüşürken, bir bölümü de yeni hücrelerin çoğalmasında besin kaynağı olarak kullanılır. Bu işlem, içsel solunumdur [Timur vd., 1982].

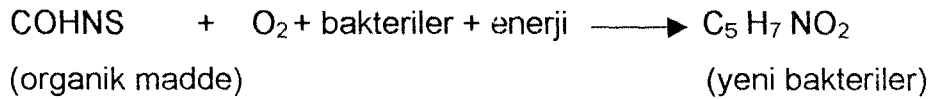
Dönüşüm formülüne edilerek aşağıda verilmektedir;

Oksidasyon



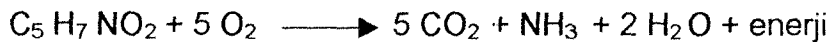
Organik maddenin bir kısmı yanarak CO₂ haline gelir (ıslak yanma).

Sentez



Organik maddenin diğer kısmı hücre teşekkülünde kullanılır.

İçsel Solunum



1.2. Aktif Çamur Yöntemi

Aktif çamur yöntemi, atık sulardaki kolloidal ve çözünmüş halde bulunan, biyolojik kıymeti olan ve çökelemeyen maddeleri mikroorganizmalar yardımıyla çökebiyen biyolojik yumaklara dönüştürme işlemidir [Topacık, 1987].

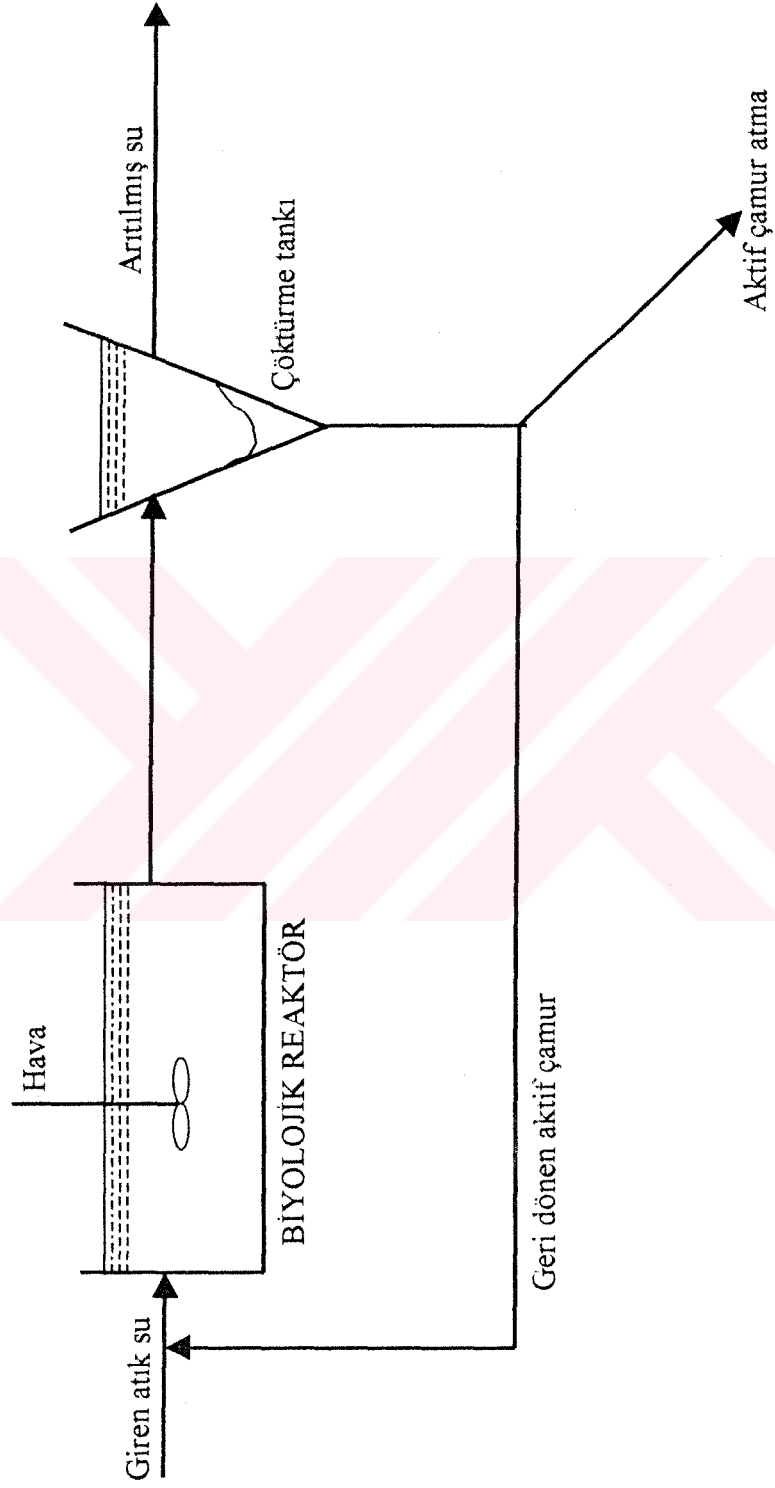
Yöntem atık suyun içinde bulunan organik kirleticilerin CO_2 , H_2O ve yeni mikroorganizmalara dönüştürülerek zararsız hale getirme esasına dayanır. Atık suyun ve mikroorganizmaların bulunduğu havuz havalandırılmakta, bu esnada mikroorganizmalar kısmen çözünmüş kısmen asılı haldeki organik kirleticileri hücrelerini kurmak ve enerji elde etmek için kullanmaktadır. Sonuçta hızla çoğalırlar. Çoğalan hücreler, suda asılı maddelere veya birbirlerine tutunarak biyolojik yumakları (floc) meydana getirirler. Çökelen biyolojik yumaklara “aktif çamur” adı verilir. Yani aktif çamur, canlı mikroorganizmalardan ve onlara yapışmış asılı ve ipliksi maddelerden meydana gelir.

Biyolojik yumaklar havalandırma havuzunda oluşur. Havalandırma havuzunu takip eden çökeltme havuzunda ise çamurun çökmesi sağlanmaktadır. Çöktürülen çamurun bir kısmı, havalandırma havuzuna geri gönderilerek sistemi aşılama yoluna gidilir. Bu işlemin amacı havalandırma havuzunda belli bir mikroorganizma konsantrasyonunu muhafaza etmektir. Bu geri devir çamurudur.

Geri devir ve dolaşım kesintisiz olarak devam edip gidemez. Aksi halde havalandırma havuzunda katı madde konsantrasyonu çok artar. Buna engel olmak için fazla çamur sistemden çekilir. Bu çamur ise artık çamurdur.

Havalandırma havuzu ve bunu takip eden çökeltme havuzundan oluşan sistem klasik aktif çamur sistemidir. Bu yöntemde, havalandırma havuzunda bekletme süresi 2-4 saat civarında olmaktadır.

Bu ön bilgilerin ışığında klasik aktif çamur sisteminin şematik görünüşü Şekil 1.1’ de görülmektedir.



Şekil 1.1. Klasik Aktif Çamur Sistemi

Gerek artık çamur gerekse ön çökeltme havuzundan alınan çamurlar; havasız bir tankta anaerobik çürümeye maruz bırakılırsa, yanıcı bir gaz olan CH_4 gazı açığa çıkar. Geriye gübre özelliğinde zararsız ve çürümüş maddeler kalır. Bu maddeler ziraatte gübre olarak kullanılır, dolgu maddesi yapılır.

Son çökeltme havuzundan çıkan sıvı, istenilen derecede temizlenmiş olduğundan alıcı ortama verilebilir.

1.2.1. Havalandırma Havuzları

Havalandırma havuzları aktif çamur sisteminin kalbidir. Atık su içindeki organik maddelerin giderilmesi bu havuzda gerçekleşir. Atık sudaki kompleks maddeler, bakteriler tarafından daha basit bileşiklere dönüştürülür. Aktif çamur içindeki mikroorganizmaların ihtiyacını karşılamak üzere, havuza O_2 verilir. Gerekli O_2 , iki yolla temin edilir. Birinci yol; basınçlı havanın havuz tabanından difüzörler yardımıyla, habbeler yaparak verilmesi, ikinci yol da mekanik havalandırıcılar ile O_2 'nin sıvıya geçmesidir [Topacık, 1987].

Aktif çamurda mevcut mikroorganizmaların aerobik ortama ihtiyaçları vardır. Bu nedenle havalandırma havuzunun her yerinde en az 0,5 mg/l çözülmüş O_2 gereklidir.

1.2.2. Çöktürme Havuzları

Atık su içindeki çökebilir ve yüzebilen maddeler çöktürme havuzlarında sudan ayrılırlar. Çöktürme havuzları, ön çöktürme ve son çöktürme havuzları olarak 2 (iki) ye ayrılabilir. Ön çöktürme havuzları, sürekli akıma göre projelendirilir. Çok nadir olarak doldur – boşalt sistemine göre çalıştırılır. Granular (kum, silt vb.) malzemeler ön çökeltme havuzunda çöktürülür.

Havalandırma havuzunda aktif çamurla birlikte, havalandırılan atık su son çökeltme havuzuna alınır. Burada yumakların çökmesi sağlanır. Çökeltme tankında çöktürülen çamur, havalandırma tankına geri pompalanır. Böylece hem su çamurdan arındırılmış hem de arıtımı gerçekleştiren organizmalar geri kazandırılmış olur. Çökeltme sırasında şekil, boy ve yoğunlukları artar. Biyolojik yumakların büyüklüğü ve yoğunluğu arttıkça çökeltme hızı da artar.

1.3. Aktif Çamurda Mikroorganizmalar

Aktif çamur, biyotik ve abiyotik şartlar altında olan yapay bir ekosistem olarak tanımlanabilir. Çünkü, organik bileşikler ve inorganik tuzlar dışarıdan verilmekte, aktif çamurdaki mikroorganizmalar bu şekilde kültüre edilmektedir. Bu durum mikroorganizmalar arasında güçlü bir rekabetin doğmasına neden olur. Hayatta kalma yarışını, kendilerini her duruma en iyi adapte edebilen mikroplar kazanır. Atık su arıtma tesislerine, her gün aynı oranda atık su girmemekte, bu nedenle popülasyonda her zaman için tek bir tür baskın olamamaktadır. Aktif çamur içindeki mikroorganizmaların sayısı sabit değildir. Bu durum aktif çamur sisteminin karşı karşıya geldiği tüm etkileri yansıtmaktadır [Wanner, 1994].

Aktif çamur mikroorganizmaları 2 (iki) ana gruba ayrılır.

1-) Ayrıştırıcılar : Atık su içindeki kirleticilerin, biyokimyasal işlemlerle atık sudan uzaklaştırılmasından sorumludur. Bu grup başlıca bakteriler, mantarlar ve renksiz siyanofitalar tarafından temsil edilir. Protozoalar da, çözülebilir organik maddeleri tüketebilir. Ancak bu tür maddelerin atık su içindeki düşük konsantrasyonlarında, besini tüketmek konusunda bakterilerle mücadele edemez.

2-) Tüketiciler : Substratlardan yararlanır. Bu grup fagotrof protozoa ve mikroskobik metazoalardan meydana gelen aktif çamur mikrofaunasına aittir.

Aktif çamuru meydana getiren mikroorganizma popülasyonunun aşağı yukarı % 95'lere varan bölümü ayrıştırıcılardan, özellikle de bakterilerden meydana gelir. Bu durum da gösteriyor ki, atık su içindeki organik kirleticilerin atık sudan uzaklaştırılması işleminde mikrofaunanın katkısı çok düşüktür.

1.3.1. Bakteriler

Aktif çamur içinde çok çeşitli bakteri formları bulunur. Bunları farklı şekillerde sınıflandırmak mümkündür. Ancak aktif çamur içindeki bakterileri metabolik özelliklerine göre sınıflandırmak daha iyi sonuç verecektir. Tablo 1.1' de aktif çamurdaki metabolik grupların ayırt edici özellikleri verilmektedir.

Tablo 1.1. Aktif Çamurdaki Mikroorganizmaların Metabolik Grupları
[Wanner, 1994].

METABOLİK GRUP	KARBON İHTİYAÇLARI	BÜYÜME ŞEKİLLERİ
Karbona ihtiyaç duyanlar	Organik	FF, FIL
Anaerobik Fermantasyon Yapanlar	Organik	FF
Denitrifikasyon Yapanlar	Organik	FF, FIL
Nitrifikasyon Yapanlar	İnorganik	Bağlı
Sülfid/Sülfür Oksitleyenler	İnorganik	FIL, FF
Sülfat İndirgeyenler	Organik	FF

Endo ve ekzo enzimleri ile atık su içinde bulunan ve zor ayrışabilen uzun zincirli alifatik ve aromatik hidrokarbonlar, fenoller, heterosiklik organik bileşikler gibi kompleks organik substratları daha küçük moleküllere ayırtıranlar organotrofik bakterilerdir. Bu grup içinde *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Moraxella* ve *Flavobacterium* genusları sayılabilir.

Oksijenli ortamda, organik substratların ayrıştırılmasında, bakterilerin yanı sıra sakkarit ve polisakkarit metabolizmasında olduğu gibi mikroskobik mantarlar (*micromycetes*) ve renksiz siyanofitalar da bulunur.

Bazı bakteriler nitratları; nitritlere, amonyağa ve azot gazına indirgeyebilirler. Nitratların indirgenmesi atık suyun tasfiyesinde önemlidir. *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella* ve *Pseudomonas* aktif çamurun tipik organotrofik denitrifikasyon bakterileridir [Stensal et al., 1992 and Painter., 1970]. Genelde filamentöz mikroorganizmalar denitrifikasyonun ilk adımı olan nitratın nitrite indirgenmesini yapabilmektedir.

1970'li yılların sonlarından günümüze kadar yapılan titiz çalışmalar sonucunda, aktif çamur içindeki mikroorganizmaların atık su içindeki fosfatın uzaklaştırılmasında etkili olduğu anlaşılmıştır. [Hart et al., 1982 and Latter, 1989]. Fosfatın uzaklaşması konusu ele alındığında, ilk akla gelen mikroorganizma *Acinobacter*' dir. Bunun yanında biyolojik fosfat uzaklaşmasına katkıda bulunan diğer mikroorganizmalar *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Klebsiella*, *Moraxella* ve *Pseudomonas* genuslarıdır.

Sülfat indirgeyen bakterilerden *Desulfovibrio* sp., *Desulfobacter* sp. ile sülfat ve sülfür oksitleyen mikroorganizmalardan *Thiobacillus*, *Beggiatoa*, *Thiothrix* genusları aktif çamur içinde bulunabilir.

1.3.2. Mantarlar

Mantarlar; klorofilsiz, absorpsiyonla beslenen sporlanarak üreyen, kamçısız canlılardır. Yapıları bakımından küf ve mayalar olmak üzere 2 (iki) ye ayrılır. Küflerin vücudu hif (hyphae) adı verilen ve bir takım kollara ayrılan ipliklerden meydana gelir. Hiflerin dallanması, birbirlerine sarılması ve bazen birbirleriyle birleşmesi *miseliyum* ları meydana getirir. Mantarların tüm vücuduna *tallus* denir.

Mayaların vücudu toparlak veya toparlağımsı hücrelerden meydana gelir. Tomurcuklanma ile ürerler.

Mantarlar, enerjilerini organik maddelerin oksitlenmesinden çıkaran tam heterotrofik organizmalardır. Nişasta , şeker, sellüloz, yüksek derecede alkoller ve yağlar gibi karbonhidratları enerji ve karbon kaynağı olarak kullanırlar. Proteinleri çok iyi ayrıştırabilirler. Çoğunluğu aerobiktir. Optimum 20 °C – 30 °C arasında gelişirler.

Düşük rutubet ve alçak pH değerlerinde yaşayabilmeleri mantarların karakteristik özelliklerindendir. Mantarların, bakterilere nazaran asit ortama tahammülleri yüksektir. Girdikleri reaksiyonların optimum pH değeri 2-9 arasında değişir. Organik asitler çıkararak, organik asitlerden yararlanarak veya proteinlerden NH_3 teşekkül ettirerek ortamdaki reaksiyonları ayarlayabilirler.

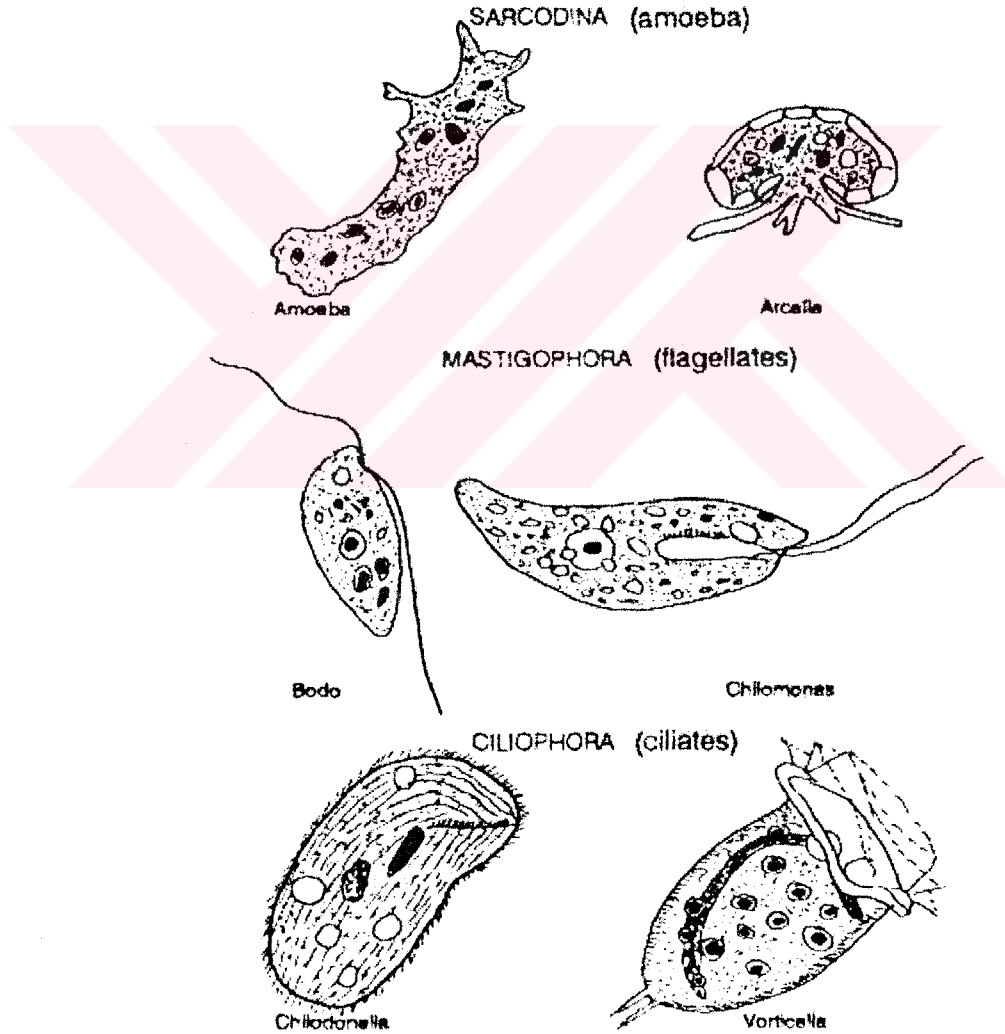
1.3.3. *Protozoalar* (Tek Hücreliler)

Protozoa, tek hücreli canlılardır (Şekil 1.2). Bazıları çıplak gözle görülebildiği halde, bazıları son derece küçüktür ve ancak mikroskop altında görülebilir. Bakterilerden farklı olarak belirli çekirdekleri vardır. Bazen bu çekirdeklerin sayısı birden fazla olabilir. Bazı protozoalarda besin maddesinin alınması için belli bir ağız mevcuttur. Hareket organeli olarak siller bulunur. Bunlar ritmik hareketlerle ileri geri dalgalanırlar. Siller daha uzun olur ve ritmik hareket göstermezse bunlara *flagella* (kamçı) denir. Bazen hareket amiplerde olduğu gibi protoplazmanın kayması şeklinde olabilir. Çoğunda klorofil yoktur.

Tek hücreliler, atık sularda ve atık su arıtma işlemlerinde oynadıkları rol açısından bakterilerden sonra en önemli organizma grubudur. Tek hücreliler, atık suları stabil hale getirmede bakterilere yardımcı olurlar. Bir kısım organik maddeleri parçalayarak atık suyu tasfiye edebilirler. Bakterilerle beslenen

protozoanları bunlar arasında sayabiliriz. Atık su içinde bulunan bakterilerin ortamdan uzaklaştırılması dahi, suyun arıtılmasına yardım eder. Ayrıca bakterilerle beslenen protozoalar atık su içine dağılmış bakterileri ortadan kaldırarak, havalandırma havuzunda bakteri sayısının maksimum değere ulaşmasını önler.

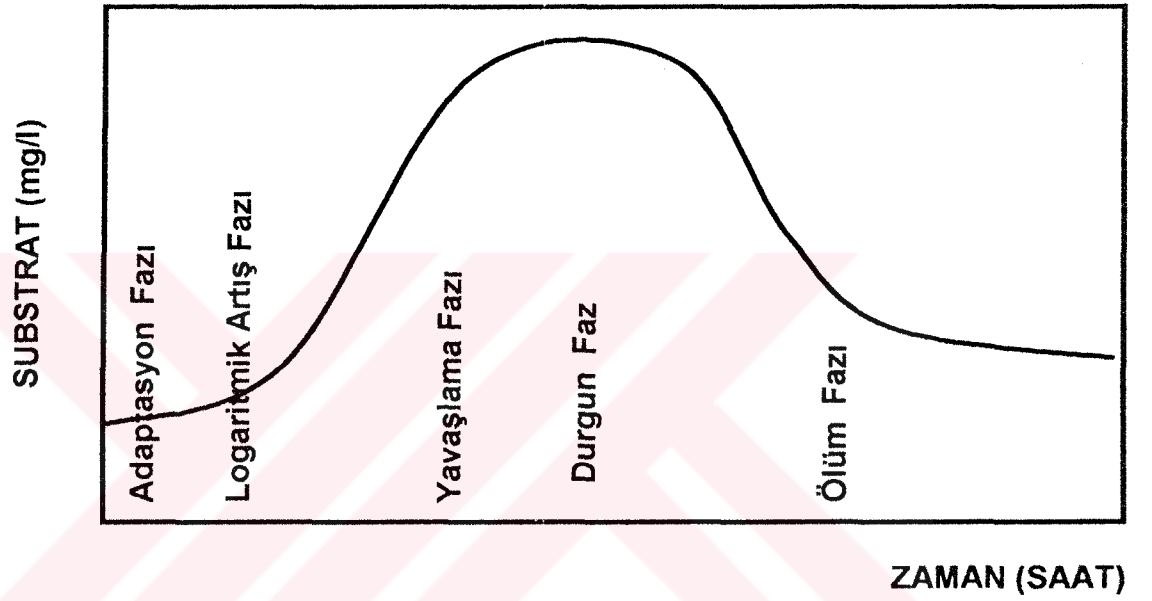
Aktif çamur mikrofaunasını kamçılılar (*flagellata*), kök ayaklılar (*rhizopoda*) ve ciliate'ler oluşturur.



Şekil 1.2. Biyolojik Arıtma Ünitelerinde Rastlanan Protozoa Tipleri

1.3.4. Mikroorganizmaların Büyüme Hızı, Göreceli Üstünlük Diyagramı

Mikroorganizmaların büyümesi dolayısıyla aktif çamurdaki artış birim zamanda biyokütle miktarındaki artışı ifade eder. Şekil 1.3 mikroorganizmaların büyüme ve ayrışma hızlarını ifade eden eğri görülmektedir.



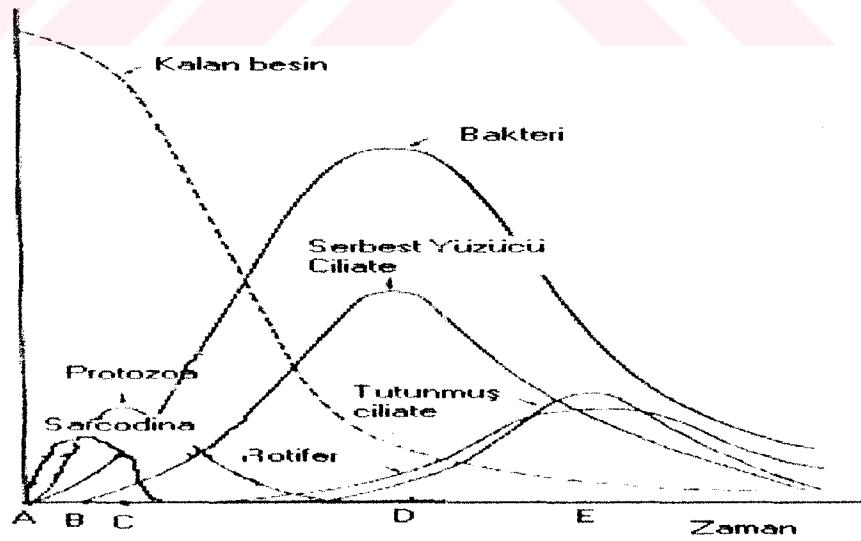
Şekil 1.3. Mikroorganizmaların Büyüme Eğrisi[Gaudy et al., 1985].

Adaptasyon fazında, mikroorganizmalar arasında üreme olmadığından sayıca bir artış olmaz. Buna karşılık yeni enzimler, metabolik araçlar ve gerekli maddelerin sentezlendiği için metabolizma artmıştır. Ortama adapte olamayanların ölmeleri nedeniyle de mikroorganizmalarda sayıca azalmada görülebilir. Yeterince ve gerekli maddeleri alan, sentezleyen ve adaptasyon fazını geçiren mikroorganizmalar kendi türlerine özgü bir jenerasyon süresi içinde ve belli aralıklar içinde üremeye başlarlar (logaritmik faz). Bu artış zamanla orantılıdır. Üreme dönemi uzun süre devam etmez. Bir süre sonra

mikrobiyal artışta azalma başlar. Ortamın sınırlı olması, substratların kullanılarak azalması, metabolizma artıklarının ve toksik maddelerin birikmesi, ortamda bulunan karbonhidratların ayrışması sonucu oluşan çeşitli organik asitlerin, ortamın pH'ını düşürmesi gibi faktörler, olumsuz yönde etki yaparak üremenin yavaşlamasına neden olur. Mikroorganizmaların ürediği ortamdaki bozulan koşullar değişmediği sürece, üreme giderek yavaşlar. Mikroorganizma popülasyonu, bir süre sayısı değişmeden kalır (durgun faz). Bu dönemin uzunluğu veya kısalığı ortamdaki substratların yoğunluğuna, çevre şartlarına, mikroorganizmaların türlerine göre değişir.

Durgunluk fazına bir müdahale olmadığı zaman, mikroorganizmalar uygun olmayan bu koşullarda ölmeye başlar (ölüm fazı). Biyokütledeki mikroorganizma sayısında azalma görülür, ancak hiçbir zaman canlılık eğrisi sıfır noktasına inmez.

Göreceli üstünlük diyagramı yardımıyla; aktif çamur sistemindeki değişik faktörlerin birbirleriyle ilişkisi daha kolay anlatılabilir. Şekil 1.4' de aktif çamur sistemi için bir göreceli üstünlük diyagramı verilmiştir.



Şekil 1.4. Göreceli Üstünlük Diyagramı

Yatay eksen havalandırma süresini, bununla birlikte artan çamur yaşını, dikey eksen ise mikroorganizma sayısını göstermektedir. Kesikli çizgi kalan organik maddeyi, başka bir deyişle BOİ değerini gösterir. Dikey eksen de kesikli çizginin en üst kısmı başlangıçta verilen organik madde miktarını veya atık suyun giriş BOİ değerini gösterir. Sistem ilerledikçe organik maddenin yani BOİ'nin azaldığı görülmektedir.

Sistem çalışmaya başladığında, çok az olan mikroorganizma sayısı sistem ilerledikçe artmakta ve bir noktada maksimuma ulaşmaktadır. Bu noktaya kadar atık sudaki çözünebilir organik maddeler mikroorganizmalara yetmektedir. Bu noktadan sonra mikroorganizmaların içsel solunum fazına girmeleri ve ölmeye başlamaları nedeniyle, sayılarında azalma olmaktadır.

Şekil 1.4' deki "A" noktası kesikli tip aktif çamur sisteminin başlamasını temsil etmektedir. İçi atık su ve aktif çamur dolu bir tank ile işleme başlanır. Arıtma için gerekli mikroorganizmalar aktif çamurda mevcuttur. Aktif çamur içinde çeşitli tipte mikroorganizma faaliyet göstermekte ancak ideal şartlarda hiçbiri sistem üzerinde belirli bir etki yapacak sayıda çoğalmamaktadır. İdeal şartlar ile kastedilen; sıcaklık 20 °C, pH 6,5-8,5, çözülmüş O₂ konsantrasyonunun en az 0,2 mg/l olması, yeterli besin maddesinin bulunup toksit maddelerin bulunmamasıdır. İdeal şartlar sağlanmaz ise bazı istenmeyen türler büyük sayılara ulaşarak sistemi etkileyebilirler.

"B" noktasında sarcodina tipi organizmalar en yüksek sayıya ulaşırlar. Sarcodina çok ilkel bir organizmadır, yavaş hareket eder ancak besin miktarı çok fazla ise varlık gösterebilir.

"C" noktası ptotozoa tipi organizmaların sayıca en yüksek değere ulaştığı noktadır. Protozoa, sarcodinaya nazaran daha karmaşık bir yapıya sahip olup daha aktiftir. Bu noktada besinler büyük bir hızla tüketilir. Aktif çamur oluşumunda ilk belirgin nokta budur. Eğer bu anda havalandırma tankına bakılırsa beyaz veya çok açık kahverengi köpüğün oluştuğu görülür.

Protozoalar çok çabuk oalrlar ve çok hareketlidirler. BOİ uzaklaştırma hızı "C" noktasında çok fazladır.

"D" noktasında yüzücü ciliateler ve bakteriler sayıca en çok oldukları değere ulaşrlar. Bakteriler basit hücreli olmalarına rağmen, besin miktarı azaldığı halde kalan besini parçalamada oldukça başarılıdırlar. Bakteriler absorbsiyon ve adsorbsiyon olmak üzere iki şekilde organik maddeleri parçalar ve beslenirler. Birinci işlemde, özünmüş BOİ (besin) hücre zarı arasından doğrudan emilir. İkinci işlemde ise bakterilerin yapışkan dış yüzeylerinde tutulan çok ufak askıdaki maddeler, bakterilerin ürettikleri enzimler yardımıyla parçalanarak özünür. Daha sonra hücre zarı arasından emilir. Bakteriler protozoalara nazaran daha az hareket eder ve daha düşük OAH'na sahiptirler.

Yüzücü ciliateler, hücre zarının dışındaki saa benzeyen sillerinin hareketi ile yer değıştirirler. Daha az oksijen kullanrlar ve kalan besinle rahatlıkla idare edebilirler.

"D" noktasında tanka bakılacak olursa, kahverengi bir köpüğün oluştuğu gözlenir. Karışımından biraz alınıp bir mezüre konulursa, çamurun iyi çöktüğü ve üstte temiz bir su kaldığı görülecektir. Organizmaların hareketliliklerindeki azalma, daha yüksek bir çökelme hızına sebep olur. İnce yapışkan dış yüzeyleri bakterilerin birbirleriyle birleşip daha büyük ve kolay çökebilen yumaklar meydana getirmelerini kolaylaştırır.

Diyagramdaki "E" noktası ağır ciliatelerin ve rotiferlerin en yüksek değere ulaştığı noktayı belirtmektedir. Bu nokta havalandırmanın sonudur. Bu fazda mikroorganizmalara yetecek kadar besin kalmamıştır. Mikroorganizmalar aktivitelerini azaltır, bazıları ölür.

1.4.Aktif Çamur Ünitelerinde Gözlenen Problemler

1.4.1. Flokların Parçalanması

Bu hali ile çamur çok küçük parçalar ayrılır, çökelme kötüleşir. Çıkış suyundaki bulanıklığın nedeni mikroorganizmalardır. Zehirli atıklardan asit artıklarından, havalandırma havuzunun fazla yüklenmesinden, havalandırma havuzundaki azot ve fosfor eksikliğinden dolayı floklar parçalanır. Flokların parçalanma olayı kabarma olayından tamamen farklıdır. Bununla birlikte flokların parçalanması geçici bir olay olup, sistem kendini birkaç günde düzeltir.

1.4.2. Çamur Yükselmesi

Havalandırma havuzunda nitratlar meydana geliyorsa çöktürme havuzunda bazı problemler gözlenir. Çöktürme havuzunda çok fazla çamur var ise nitratlardan oksijen uzaklaşır, azot gazı açığa çıkarır ve su yüzeyine yükselir. Bu sırada beraberinde bir miktar katı maddeyi yükselterek yüzdürür. Bu durum çamurun yükselmesine neden olur.

1.4.3. Toplu İğne Flokları

Çöktürme tankında orta derecede bulanıklık ve çok küçük çaplı kompakt toplu iğne yumaklarına rastlanır. Bu durum çamur yaşının çok fazla olduğunu veya havalandırma havuzunda çok fazla türbalansın olduğunu gösterir.

1.4.4. Kütlesel (bulking) Aktif Çamur

Flokların iyi çökelişip sıkışmadığı bir çamur türüdür. Kütlesellik normal olarak filamentli mikroorganizmaların varlığından ileri gelir. Filamentli bulking çamur yumağının içinde tüylü bakterilerin çok sayıda bulunması ile belirlenir.

2. FİLAMENTLİ MİKROORGANİZMALAR VE FİLAMENTLİ KABARMA

Havalı biyolojik arıtma tesislerinde yaşanan problemler çok çeşitlidir. Havalandırma havuzu üzerindeki köpüğün büyüklüğü, tipi, rengi, su yüzeyinde kir tabakasının bulunup bulunmadığı, son çökeltme havuzunda biyolojik yumakların yükselmesi gibi özellikler gözlenerek problemler tespit edilebilir.

Kabarmış (bulking) aktif çamur, karışım sıvının iyi çökeliş sıkışmadığı bir çamur türüdür. Bu halde, havalandırma havuzundan alınan bir miktar karışım sıvı imhoff hunisine konarak bir saat beklendiğinde çamurun iyi çökmediği ve çok fazla yer kapladığı gözlenir [Topacık, 1987].

Kabarmış çamur normal olarak filamentli mikroorganizmaların mevcudiyetinden ileri gelir. Filamentli mikroorganizmalar aşırı ürer ve gelişirlerse normalde oluşması gereken biyolojik yumaklar oluşmaz ve aktif çamur iyi çökmez.

Tablo 2.1' de filamentli kabarma problemi görülen aktif çamur ünitelerinin bazı ülkelerdeki oranları verilmektedir.

Tablo 2.1. Filamentli Kabarma Problemi Görülen Aktif Çamur Ünitelerinin Bazı Ülkelerdeki Oranları

ÜLKE	YIL	KABARMA PROBLEMİ GÖRÜLEN AKTİF ÇAMUR ÜNİTELERİNİN ORANI (%)
İngiltere	1976	63
Almanya	1982	45
Kuzey Afrika	1986	32
Fransa	1989	25

Kabarma problemine pek çok faktör sebep olmaktadır. Bunların arasında ani yükleme, etkili olmayan havalandırma, havalandırma havuzuna verilen dengesiz besi sayılabilir.

Ciddi bir kabarma varsa bunu yok etmek oldukça zordur. Fakat mikroskopik muayene yapılarak probleme neden olan mikroorganizmalar tespit edilirse, filamentli kabarma ciddi bir problem olmadan önlenabilir.

2.1. Filamentli Sülfür Bakterileri

Filamentli mikroorganizmalar ile ilgili çalışmalar 1960'lı yılların sonlarına kadar uzanır. Aktif çamur içinde yaşayan bu tür mikroorganizmaların, mikroskop altında gözlenmesi konusunda ilk kapsamlı çalışma Eikelboom [1975;1977] tarafından Hollanda'da yapılmıştır. Eikelboom bu çalışmasıyla, aktif çamurdaki filamentli mikroorganizmaları birbirlerinden ayırt etmeye yarayan bir identifikasyon cetveli oluşturmuş böylelikle kendisinden sonra gelen bilim adamlarına yol gösterici olmuştur.

1970-1980 yılları arasında filamentli mikroorganizmalar üzerine yapılan çalışmalarda, filamentli sülfür bakterilerinden *Thiothrix*, *Beggiatoa* ve Eikelboom tarafından isimlendirilen Tip O21N adlı bakterilerin havalı biyolojik arıtma tesisleri aktif çamurunda gözleendiği rapor edilmiştir [Farguhar et al.,1971 and Merkel., 1975 and Strom et al., 1984].

Morfolojilerinin birbirlerine çok fazla benzemesi kinetik ve metabolik özelliklerinden dolayı Tip O21N ve *Thiothrix sp.* genellikle beraber incelenmiştir.

1970' li yılların başlarında Cyrus [1970], Sladka ve Ottova [1973] yaptıkları araştırmalarda aktif çamur içinde taksanomatik yeri henüz bilinmeyen filamentli bir mikroorganizma tespit ederler (Tip O21N). Onlar bu bakteriyi *Leucothrix* genusuna dahil ederler.

Cyrus, Sladka ve Ottova'dan dokuz yıl sonra Poffie ve arkadaşları [1979], petrokimya atık su arıtma tesisleri aktif çamurunda, filamentli kabarmaya neden olan *Leucothrix* - tip bir filamentli bakteriyi tespit ettiklerini rapor etmişlerdir.

Bununla birlikte Eikelboom bu mikroorganizmanın *Leucothrix* genusuna dahil edilmesine karşı çıkmış, Tip O21N nin ne *Leucothrix* ne de *Thiothrix* genuslarına dahil edilemeyeceğini iddia etmiştir. Araştırmacının bu iddiasının temel nedeni ise yaptığı çalışmalarda havalı biyolojik atık su arıtma tesisleri aktif çamurundaki filamentli mikroorganizmalar arasında *Leucothrix* genusunun olmayışı ayrıca bu genusun halofilik ve okyanus kökenli oluşudur [Brock, 1966].

Shimizu [1985], Richard ve arkadaşları [1985], Williams ve Unz [1985] Nielsen [1984], Williams ve arkadaşları [1987] Ziegler ve arkadaşları [1990]da havalı biyolojik arıtma tesisleri aktif çamur içindeki filamentli mikroorganizmalar üzerine çalışmışlar ve araştırmacılar bu çalışmalarıyla Eikelboom'un iddiasında haklı olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Günümüz taksonomisinde Eikelboom Tip O21N genusu, *Leucothrix* genusu gibi, *Leucotrichaceae* familyası içinde yer alır.

Araştırmacıların Eikelboom Tip O21N genusu hakkında çok fazla araştırma yapmalarının nedeni; aktif çamur ünitelerinde gözlenen kabarmış çamura neden olan filamentli mikroorganizmalar arasında Tip O21N' nin dominant tür olmasından dolayıdır.

Strom ve Jenkins [1984] 78 havalı biyolojik arıtma tesisinden aldıkları 226 aktif çamur numunesi içinde Tip O21N, *Thiothrix sp.* ve *Beggiatoa sp.* yi sırasıyla % 33, % 7 ve % 2 oranında gözlemlediklerini rapor etmişlerdir.

Williams ve Unz [1985; 1989] Gram (-) filamentli sülfür bakterilerinin mikroskop altında gözlemlerinin yanısıra laboratuvar şartlarında üretilmeleri ve tanımlanmaları konusunda da çalışmalar yapmışlardır.

Araştırmacılar Pensilvanya'da bulunan 17 aktif çamur arıtma tesisi havalandırma havuzundan aldıkları 20 grab numuneden filamentli sülfür bakterilerini izole etmeyi başardılar.

Eikelboom'un filamentli mikroorganizmalar konusunda yaptığı çalışmalardan faydalanan Williams ve Unz ; filamentli sülfür bakterilerinin üremek ve gelişmek için kullandığı substratlar, hücrelerin enkübasyon süreleri, besiyerlerinin içeriği, hücrelerin en iyi üredikleri sıcaklık ve pH aralığı, koloni morfolojileri hakkında çalışmalar, biyokimyasal ve fizyolojik deneylerle *Thiothrix*, *Beggiatoa* ve Tip O21N bakterilerini birbirlerinden ayırmaya yarayan son derece önemli bilgiler elde etmişlerdir.

Araştırmacılar bu çalışmalarında Eikelboom Tip O21N'yi % 30, *Thiothrix*' i % 20 ve *Beggiatoa*' yı % 1 oranında gözlemlediklerini rapor etmişlerdir.

Tablo 2.1 ve 2.2' de filamentli sülfür bakterilerinin üremek ve gelişmek için kullandıkları substratlar ayrıntılı olarak görülmektedir.

Tablo 2.2. Filamentli Bakteriler Tarafından Tek Karbon Kaynağı Olarak Organik Substratların Kullanımı [Williams and Unz, 1989].

BİLEŞİKLER (*)	BAKTERİLERİN BÜYÜME ORANLARI (%)		
	Tip O21N (9)	<i>Thiothrix</i> (6)	<i>Beggiatoa</i> (1)
Monosakkaritler			
Fruktoz	100	50	0
Glukoz	100	17	0
Galaktoz	44	0	0
Mannoz	33	0	0
Riboz	0	17	0
Sorboz	0	0	0
Arabinoz	0	0	0
Mannoheptuloz	0	0	0
Gliseraldehit	0	0	0
Disakkaritler			
Sukroz	100	50	0
Trehaloz	100	17	0
Maltoz	100	17	0
Melibioz	11	0	0
Laktoz	0	0	0
Sellobioz	0	0	0
Polisakkaritler			
Melezitoz	100	50	0
Salicin	22	0	0
Raffinoz	11	0	0
Nişasta	0	0	0
İnulin	0	0	0
Eskulin	0	0	0
Şeker alkoller			
Mannitol	89	17	0
Inositol	44	17	0
Sorbitol	11	0	0
Gliserol	11	0	0
Yağlar			
Tributirin	33	0	100
Tween 80	0	0	0
Alkoller			
Metanol	0	0	0
Etanol	22	33	100
n- Propanol	11	33	100
n- Butanol	22	17	100
n- Amyl	0	0	0
Iso- amyl	0	0	0
Organik asitler			
Format	0	0	0
Glikolat	0	0	0
Asetat	100	100	100
Laktat	100	100	100
Propionat	100	100	100
Oksalasetat	100	100	100

* Bileşikler 0,5 g/l, pH 7,1-7,4, 20 °C' de Test Edilmiştir.

Tablo 2.3. Filamentli Bakteriler Tarafından Üre ve İnorganik Azot Bileşiklerinin Kullanımı [Williams and Unz, 1989].

SUBSTRATLAR (*)	BAKTERİLERİN BÜYÜME ORANLARI (%)		
	Tip O21N (9)	<i>Thiothrix</i> (6)	<i>Beggiatoa</i> (1)
Amonyum	100	100	100
Nitrat	22	83	100
Nitrit	22	17	0
Üre	78	100	0

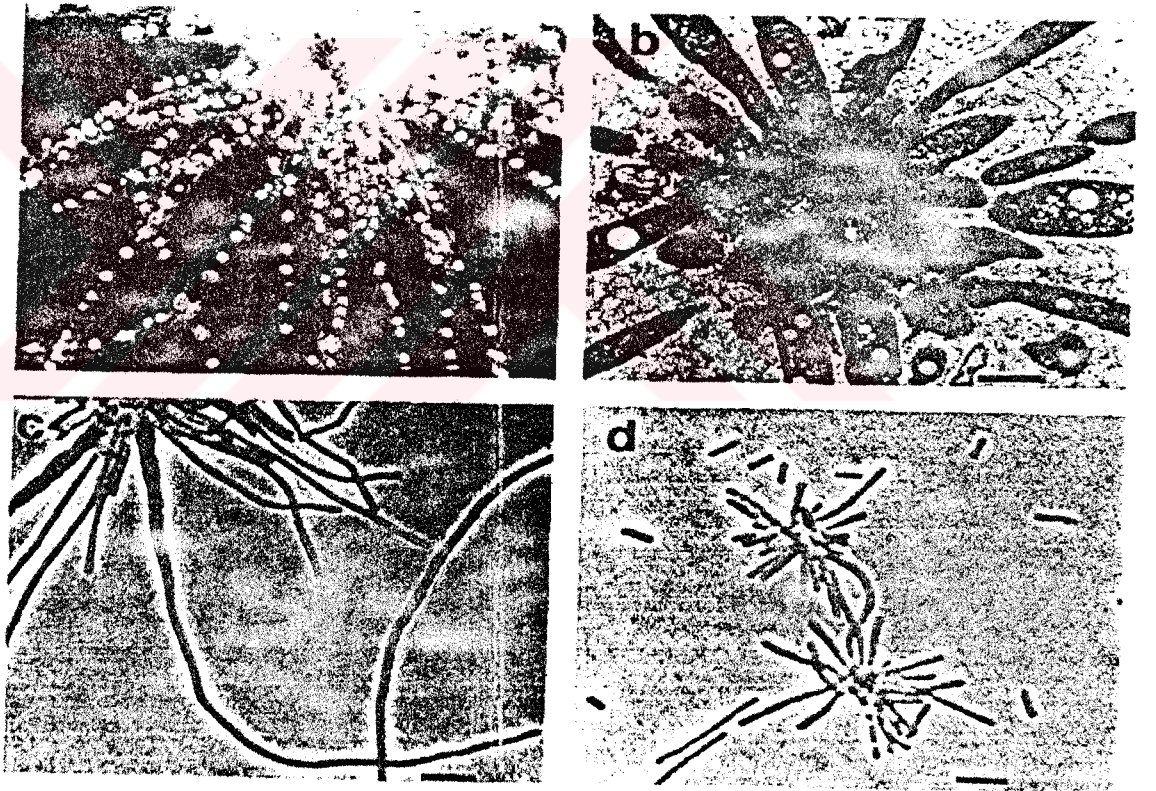
* Substratlar 0,05 g/l, pH 7,2-7,4, 20 °C' de Test Edilmiştir.

Gelişen teknoloji ile birlikte mikroorganizmaların tanımlanması konusunda da çok önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Günümüzde bir mikroorganizmanın en iyi tanımlama tekniği PCR' dir. Bu teknik çok önemli fakat az sayıdaki klinik suşlar için kullanılır. Son yıllarda araştırmacılar microautoradiography tekniğini kullanarak filamentli mikroorganizmaları özellikle de Eikelboom Tip O21N ve *Thiothrix* sp.' nin identifikasyonunu yapmayı başarmışlardır [Nielsen et al, 1995 and Waarde et al., 1998].

Bu teknikte filamentli bakterilerin kullandıkları substratlar radyo aktif olarak işaretlenir ([^{14}C] asetat, [^3H] glukoz, [^{14}C] etanol, [^3H] oleik asit). İşaretlenen substratlar ile birlikte bakteriler enkübe edilir.. Böylece filamentli bakterilerin işaretlenmiş substratları hücrelerine almaları sağlanır. Son aşamada hücreler Zeis LSM 410 lazer mikroskobu yardımıyla incelenir. Böylece Gram (-) filamentli sülfür bakterilerinin identifikasyonu yapılabilir.

2..2. Filamentli Sülfür Oksitleyen Bakteriler

Thiotrix genusundaki hücreler yaklaşık 1,0 - 1,5 μm çapında ve 50- 100 μm uzunluğundadır. Hücrelerin şekli düz ve muntazamdır. Flamentler bir kılıf ile çevrilidir. Dallanma yapmazlar. Gonidialar kayma hareketi yapar. Böylelikle tek tek gonidialar bir araya gelerek rozetleri meydana getirirler (Şekil 1.6). Aerobik şartlarda üreyen bu bakteriler için en uygun üreme ortamı 25 – 30 $^{\circ}\text{C}$ ' ler arasındır. Gram (-) ve oksidaz pozitifdir. Sodyum sülfid veya sodyum tiyosülfat bulunan besi yerinde üreyebilir. Hücre içinde sülfür depo edebilir. Optimum pH 6,5 - 8,0 arasındır, daha yüksek pH'larda üremezler [Holt et al.,1994].



Şekil 2.1. *Thiothrix* Genusunun Morfolojik Özellikleri[Williams and Unz, 1985].

- (a) Rozet Formu ve Hücre İçi Sülfür Granülleri
- (b) Rozet Formunda Bir Araya Gelen Hücrelerin Bağlanma Noktası
- (c) (d) Tek Tek Veya Küme Halinde Gonidialar

Tip 021 N'nin morfolojik özellikleri ile *Thiothrix* sp.' ye çok benzer. Filamentler ince ve uzundur. Gram (-). Çapları 1,2 – 2 μm arasında değişir. Filamentler bir kılıf ile çevrili değildir. Dallanma yapmazlar. Bazı durumlarda önemsiz kavis ve kıvrılmalar yaparlar. Glikoz'dan yararlanır. Oksidaz pozitifdir. Jelatini hidroliz edebilir fakat üre ve kazeini hidroliz edemez. Aerobik şartlarda üreyen bu bakteriler için optimum sıcaklık 25 – 30 °C, pH 6,5 - 8,0 arasındadır [Williams- Unz., 1985 and Strom - Jenkins, 1984].

Beggiatoa genusundaki hücreler aşağı yukarı 1,0 μm çapında 2 – 10 μm uzunluğundadır. 50 yada daha fazla tek tek hücre bir araya gelerek filamentleri oluşturur. Kemoorganotrofiktir. Hücreler sülfür veya tiyosülfat bulunan ortamlarda sülfür depo edebilirler. Gram (-)' dir Hücrelerin etrafı bir kılıfla çevrili değildir. Aerobiktir. En iyi gelişme gösterdiği sıcaklık 0 – 40 °C 'ler arasındadır.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

Kırlangıç Yağ Fabrikası Kocaeli ili Körfez ilçesi sınırlarında yer alan Türkiye'mizin önemli yağ fabrikalarından biridir. Fabrikanın hemen yanında PETKİM Petrokimya İzmit Tesisleri bulunur. Fabrikada çok çeşitli ürünler işlenmektedir. Bu ürünler arasında zeytin, ayçiçeği, mısır yer almaktadır.

Ürünlerin işlenmesi sonucunda KOİ değeri yüksek oldukça konsantre atık sular açığa çıkar. Çok kirli atık suların yalnızca aerobik sistemlerle arıtılması aşırı biyolojik çamur oluşumu nedeniyle uygun olmamaktadır. Bu nedenle fabrikanın atık suları önce kimyasal arıtmaya tabi tutulmakta sonra havalı biyolojik arıtma ünitesine gönderilmektedir.

3.1.2. Numune Alma İşlemi

Numuneler Kırlangıç Yağ Fabrikası Atıksu Arıtma Tesisi Biyolojik Arıtma ünitesinde bulunan havalandırma havuzundan alındı. Numune alma işleminde aseptik koşulların sağlanmasına dikkat edildi. Numuneler için 121°C'de 20 dak. süreyle otoklavda steril edilmiş ve mikroplarından arındırılmış, 500 ml hacimli, kehribar renkli şişeler kullanılmıştır.

Numuneler havalandırma havuzunun yüzeyinden 30 cm derinliğinden alınmıştır [Williams and Unz., 1985].

Alınan grab numuneler buz kovası içinde muhafaza edilerek incelenmek üzere vakit geçirmeden G.Y.T.E Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiştir. Tablo 3.1' de numune alış tarihleri ve fabrikada numune alırken işlenen ürün verilmektedir.

Tablo 3.1. Numune Alış tarihleri ve Numune Alınırken Havalandırma Havuzundaki Çamurun Fiziksel Durumu

NUMUNE	TARİH	FABRİKADA İŞLENEN ÜRÜN	ÇAMURUN RENGİ	HAVUZ SUYUNUN DURUMU
1	18.11.98	Ayçiçeği	Koyu kahverengi	Köpükleşme görüldü
2	07.12.98	Ayçiçeği	Açık kahverengi	Köpükleşme görüldü
3	13.03.99	----	Koyu siyah	Aerobik ortam yerini anaerobik ortama bıraktığı görüldü
4	02.06.99	Ayçiçeği	Açık kahverengi	Köpükleşme görüldü

3.2. Metod

3.2.1. Filamentli Sülfür Bakterileri İçin Zenginleştirilmiş Kültürlerin Hazırlanışı

Karışım sıvı içindeki filamentli sülfür bakterilerinin direkt olarak petri kutularına ekim yapılarak üretmeye çalışmanın, çoğu zaman başarısızlıkla sonuçlandığı bilim adamları tarafından rapor edilmiştir [Williams and Unz, 1985]. Bu nedenle filamentli sülfür bakterileri için zenginleştirilmiş kültür hazırlanmış, buyyonda sayıları artan bakterilerin agar üzerine inokule edilmesi yoluna gidilmiştir.

3.2.1.1. Mineral – Tuz – Vitamin Solüsyonu (MSV)

Ammonium sulphate ((NH ₄) ₂ SO ₄)	0,5 g
Magnesium sulphate (Mg SO ₄ , 7H ₂ O)	0,1 g
Calcium chlorid (Ca Cl ₂ , 2H ₂ O)	0,05 g
Dipotassium hydrogen phosphate (K ₂ HPO ₄)	0,11 g
Potassium dihydrogen phosphate (KH ₂ PO ₄)	0,085 g
Fe Cl ₃ , 6H ₂ O	0,002 g
EDTA (Ethylenedinitrilo Tetracetic acid)	0,003 g
Vitamin Solüsyonu	1 ml
Damıtık su	1000 ml

Yukarıda verilen değerlerde tartılan maddeler distile suda çözündürüldü. NaOH ile pH 7,2' ye ayarlandı. Vitamin solusyonu 0,2 µm por genişliğine sahip membran filtrede siteril edildi. Diğer maddeler ise 121 °C' de 15 dak. otoklavlanarak steril edildi.

3.2.1.2. Zenginleştirilmiş Kültür

AcS Buyyon

Sodium acetate	0,15 g
Sodium sulfid (Na ₂ S, 9H ₂ O)	0,187 g
MSV	1000 ml

S Buyyon

Sodium sulfid (Na ₂ S, 9H ₂ O)	0,187 g
MSV	1000 ml

I Buyyon

Glucose	0,15 g
MSV	1000 ml

GS Buyyon

Glucose	0,15 g
Sodium sulfid (Na_2S , $9\text{H}_2\text{O}$)	0,187 g
MSV	1000 ml

Maddeler yukarıda verilen değerlerde tartılır, distile suda çözünmeleri sağlanır NaOH ile pH 7,2'ye ayarlandı. Na_2S , $9\text{H}_2\text{O}$ hariç diğer maddeler $121\text{ }^\circ\text{C}$ ' de 15 dak. otoklavda steril edildi. Na_2S , $9\text{H}_2\text{O}$ ise por genişliği $0,2\text{ }\mu\text{m}$ olan membran filtre yardımıyla steril edilir. Sonra kültürler eklenir. Kültürler 5 ml olarak steril test tüplerine dağıtıldı.

3.2.2. İzolasyon İşlemleri

Karışım sıvı içinde pek çok mikroorganizma bulunmaktadır. Normal şartlar altında mayalar ve küfler aktif çamur popülasyonunda dominant canlılardır. Karışık bir kültürden tek bir genusu izole etmek oldukça güç ve zahmetli bir işlemdir.

İlk etapta getirilen numune içindeki mayaların ve küflerin öldürülerek ortamdan uzaklaştırma yoluna gidilmiştir.

İşlem: İçinde S, GS, I, AcS buyyon bulunan test tüplerine, aseptik koşullarda steril bir cam pipet yardımıyla aktif çamur numunesinden 1 ml ilave edilir. Ortamdaki mayaların ve küflerin üremelerine engel olmak ve ölmelerini sağlamak için her test tüpüne, aktif maddesi [2 (2 – 4 – Difluorofeni) – 1, 3 – bis (1H, 1,2,4 – triazol - 1 – il) propan – 2 – ol)] olan 150 mg flukanazol ilave edildi. Geniş spektrumlu bir antifungal ajan olan flukanazol etkisini fungal enzimleri spesifik bir şekilde inhibe ederek gösterir. Böylece numune içinde var olan mantarların üremelerine engel olur.

Bu şekilde hazırlanmış kültürler 4 hafta süreyle 24 °C' de enkübasyona bırakıldı.

Üç - dört hafta enkübasyon süresinin sonunda içinde mineral-tuz-vitamin solüsyonu (MSV) bulunan test tüpleri içinde, filamentli sülfür bakterilerinin sayılarının arttığı boyalı preparatlar hazırlanarak mikroskopik çalışmalar sonucunda gözlemlendi (Bkz. Şekil 3.2.).

3.2.3. Filamentli Sülfür Bakterileri İçin Uygulanan Boyama Yöntemleri

3.2.3.1. Gram Boyama Yöntemi

Bakteriler yapıları itibariyle ışık mikroskopunda görülmeleri oldukça zordur. Bu mikroorganizmalar ancak boyalanarak ve bulundukları yerde olan kontrastları artırılarak daha belirgin hale getirilebilirler. Gram boyama yöntemi ilk defa 1884' de Danimarkalı hekim Hans Christian Joachim Gram (1853-1837) tarafından yapılmıştır [Arda, 1997].

Bakteriler hücre duvarlarının gerek fiziksel olarak kalınlığı ve gerekse kimyasal özelliği bakımından Gram (+) ve Gram (-) olarak ikiye ayrılır.

Tüm filamentli sülfür bakterileri Gram (-) özelliktedir.

Boyaların Hazırlanması :

* Füksin Boyası;

Stok solüsyon

Bazik fuksin.....3 g

Alkol (% 95) 100 ml

Bazik fuksin havanda alkolle ezilip eritildikten sonra bir şişe içerisinde 4-5 saat çalkalanır ve 24 saat bekletildikten sonra filitre kağıdından süzülür, kehribar renkli şişelerde saklanır.

* Sulu Füksin Solüsyonu

Bazik füksin (Stok) 10 ml
Distile su 100 ml

Füksin distile su ile iyice karıştırılır ve filtre kağıdından süzülür.

* Kristal - viyole boyası;

Stok solüsyon

Kristal - viyole 5 g
Etil alkol % 95' lik 100 ml

* Kristal – viyole Solisyonu

Kristal - viyole (Stok).....10 ml
Distile su 100 ml

Boya tartılır, içine alkol ilave edilir. Boyanın alkolde iyice çözünmesi sağlanır.

* Lugol's solüsyonu

- I₂ 1 gr
- KI 2 gr
- Damıtık su 300 ml

Potasyum iyodür ve iyot kristalleri bir havan içinde öğütülür, üzerine bir miktar damıtık su ilave edilir. Kristaller damıtık su içinde tamamıyla çözüldükten sonra solüsyon hazır hale gelir. Kehribar renkli bir cam şişe içine dökülen solüsyon üzerine bir miktar damıtık su eklendikten sonra (son kontrasyonun 300 ml olması istenir) çalkalanır.

İşlem;

1-) Temiz bir lam alınır ve alevden geçirilir,

2-) Sağ elle tutulan öze, bek alevinin mavi soğuk kısmına sonra daha yukarı kısmına tutulur. Böylece özedeki materyal birden kuruyup sıçramaz, özeye yapışarak yanar,

3-) Buyyon tüpü sol elle tutulur, sağ elin küçük parmağı ile el ayası arasında sıkıştırılarak tüpün pamuğu çıkarılır. Öze ile bir damla su alınır,

4-) Öze ile alınan damla lam üzerine sürülür,

5-)Üzerinde bir öze kültür bulunan lam bek alevinden 3 kez geçirilerek bakterilerin ölmesi sağlanır,

6-) Lam üzerine kristal viyole eriyiği dökülür 2 dak. beklenir,

7-) Boya dökülür. Preparat damıtık su ile yıkandıktan sonra üzerine lügol solüsyonu dökülür 2 dak. beklenir,

8-) Lamdaki lügol dökülür. Preparat üzerine % 95'lik etil alkol dökülerek boyanın açılması sağlanır. İşlem 1 - 2 defa alkol açık pembe akana kadar tekrarlanır,

9-) Preparat üzerine sulu fuksin eriyiği dökülür ve 20 sn beklenir, su ile yıkanır,

10-) Kurutma kağıdı arasında kurulanır.

Yukarıdaki işlemler tamamlandıktan sonra gram boyama yöntemi ile boyanan preparat, immersiyon objektifine sahip bir mikroskop yardımıyla incelendi. Filamentli sülfür bakterileri pembe renkli Gram (-) görüldü (Bkz. Şekil 3.2.).

3.2.2.2. Neisser Boyama Yöntemi

Hücre içi metakromatik cisimcikleri veya volutin taneciklerini özgül boyama için Neisser boyama yöntemi uygulanır [Unat, 1997].

Boyaların Hazırlanması;

Neisser boyası aşağıda A ve B olarak bildirilen iki eriyikten oluşur.

A- Çözeltisi

- Metilen mavisi 1 gr
- Etil alkol % 95' lik 20 ml
- Sirke asiti 50 ml
- Damıtık su 950 ml

Metilen mavisi tartılarak alkolde çözdürölür ve damıtık su ile karıştırılır. İçine sirke asiti ilave edilir.

B- Çözeltisi

- Kristal viyole 1 gr
- Etil alkol 10 ml
- Damıtık su 200 ml

Kristal viyole etil alkolde eritilir ve damıtık suyla karıştırılır. Boyama yapılacağı zaman 2 bölüm A ile 1 bölüm B karıştırılarak Neisser kullanma boyası yapılır.

* Krizoidin çözeltisi

- Krizoidin 2 gr
- Damıtık su 300 ml

Boya kaynayan damıtık su içinde çözdürölerek krizoidin çözeltisi hazırlanır.

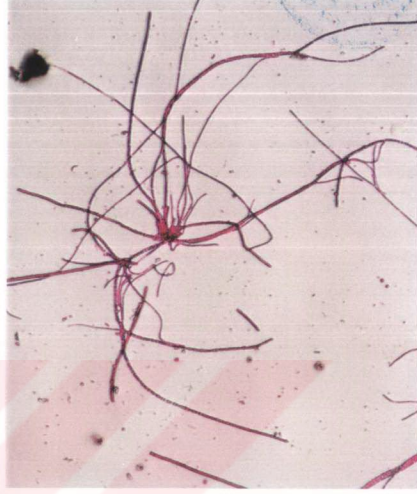
İşlem;

- 1-) Havada kurutulan ve alevden geçirilerek tespit edilen preparat üzerine Neisser boyası dökölür ve 11 saniye beklenir,
- 2-) Boya dökölür yıkanmadan kurutma kağıtları arasında kurulanır,
- 3-) Preparat üzerine krizoidin boyası dökölerek 3 sn boyanır.

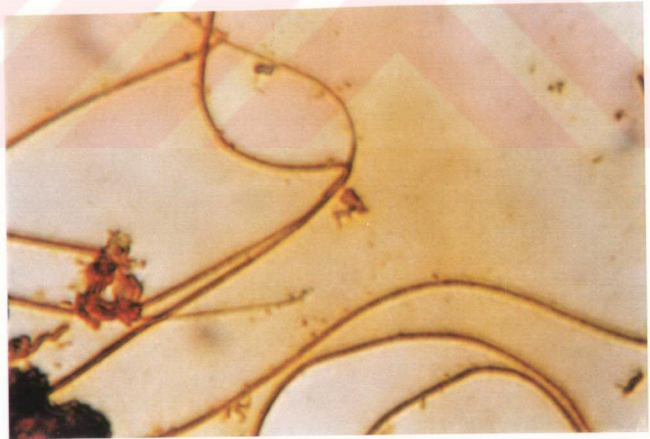
Bu yöntemle metakromatik cisimcikler mora, bakteri vücutları sarıya boyanır (Bkz. Şekil 3.1.).



a



b



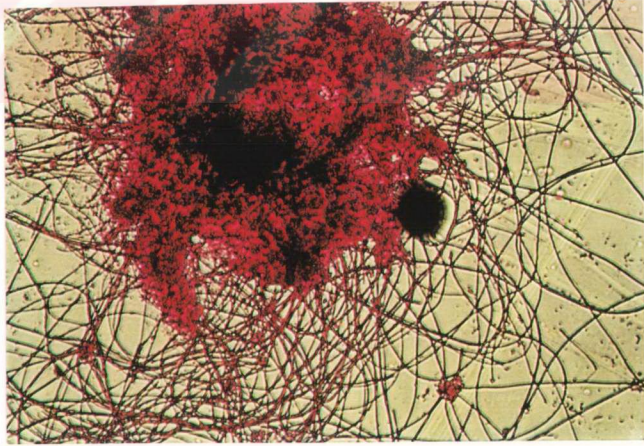
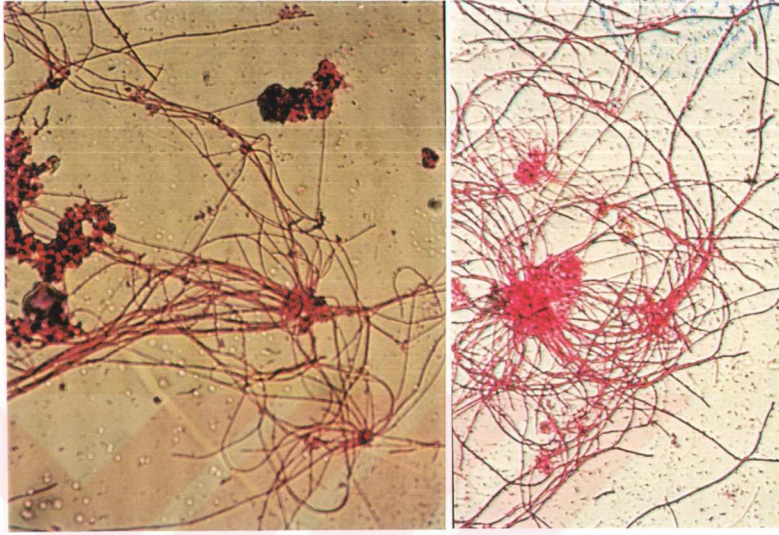
c

Şekil 3.1. Filamentli Sülfür Bakterileri

(a) Tip O21N tipik katlanma formu (100 x, gram boyama)

(b) Thiobacillus rozet formu (40 x, gram boyama)

(c) Tip O21N (40 x, Neisser boyama)



Şekil 3.2. Üç Haftalık Enkübasyon Süresi Sonunda MSV İçindeki Filamentli Sülfür Bakterilerinin Görünüşü (40 x, Gram Boyama)

3.2.4. Petri Kutusunda Mikroorganizmaları Çoğaltma

Geniş bir yüzey üzerinde mikroorganizmaların üretilmesi ve üreyenlerin kolayca incelenmesi istendiğinde, katı besiyeri petri kutusunda ince bir tabaka halinde hazırlanır. 9- 10 cm çapındaki petri kutusuna 16 cm³ besiyeri dökmek yeterlidir.

AcS Agar

- Sodium acetate 0,15 g
- Na₂ S. 9 H₂ O 0,187 g
- Damıtık su 1000 ml

S Agar

- Na₂ S. 9 H₂ O 0,187 g
- Bacto - Agar 12 g
- Damıtık su 1000 ml

GS Agar

- Glucose 0,15 g
- Na₂ S. 9 H₂ O 0,187 g
- Bacto - Agar 12 g
- Damıtık su 1000 ml

I Agar

- Glucose 0,15 g
- Bacto - Agar 12 g
- Damıtık su 1000 ml

Maddeler yukarıda verilen değerlerde tartılır, damıtık su içinde iyice çözünmeleri sağlanır. NaOH ile pH 7,2' ye ayarlanır. Na₂ S. 9 H₂ O hariç diğer maddeler 121 °C' de 15 dak. otoklavlanarak steril edilir. Na₂ S. 9 H₂ O ise 0,2 µm por genişliğine sahip membran filtre yardımıyla steril edilir. Sterilizasyon tamamlandıktan sonra besiyerinin bulunduğu tüpün 45 - 50 °C' ye (elle tutulduğunda yakmayacak derecede) soğuması beklenir ve Na₂ S. 9 H₂ O besiyerine eklenir. Tüpün ağzı alevden geçirilerek yakılır. Bunun nedeni; tüpün ağzında bulunabilen ya da havadan düşebilecek mikropları

öldürmektir. Alevden uzaklaşmadan tüpün içindeki besiyeri aralanmış petri kutusuna dökülür, derhal kutunun kapağı kapatılır. Agarın donması için 15 - 20 dak. beklenir.

Ekim İşlemi: Üç - dört haftalık enkübasyon süresinin sonunda MSV tüpleri içindeki filamentli sülfür bakterileri kendileri için uygun ortam bulduğundan dolayı sayıları artmıştır. Bu haliyle hücrelerin katı besiyerine aktarilmaları uygun olur.

MSV içindeki kültürlerden aseptik koşullar altında, steril bir cam pipet yardımıyla 1 ml alınarak içinde AcS agar bulunan petri kutusuna inokule edilir. Yine aseptik koşullarda, bek alevinden fazla uzaklaşmadan petri kutusunun kapağı açılır ve steril bir baget yardımıyla sıvının agarın her tarafına eşit şekilde emdirilmesi sağlanır. İşlem S, GS ve I agar için tekrarlanır.

Sonuçların Alınması: Tüm petri kutuları iki - üç hafta boyunca 25 °C' de enkübe edildi. Bu süre zarfında her gün petrilerde üreme olup olmadığı konusunda kontrol edildi. Üçüncü haftanın sonunda petri kutuları içindeki agarın üzerinde kolonilerin oluştuğu gözlemlendi.

3.2.5. Filamentli Sülfür Bakterileri İçin Uygulanan Biyokimyasal Testler

3.2.5.1. Katalaz Testi

Prensip: Bazı bakterilerin dehidrojenaz adı verilen solunum enzimleri vardır. Bu enzimlerin etkisi ile ilgili olarak O_2 ' nin bir hidrojen akseptörü gibi iş görmesi ile $H_2 O_2$ teşekkül eder. $H_2 O_2$ bakteriler için toksiktir. Katalaz bu toksik maddeyi parçalayan bir enzimdir.

Enzim varlığı bakteri kültürüne H_2O_2 çözeltisi ilave edilerek gösterilir. Enzim olmadığında H_2O_2 parçalanmaz.

Testin Yapılışı: Öze, alevde tutularak kızarıncaya kadar yakılır. Bu şekilde steril edilmiş öze kullanılarak şüpheli koloniden alınır ve lam üzerine aktarılır. Üzerine % 3' lük H_2O_2 çözeltisi damlatılır ve bakteriler bu çözelti içinde süspansiyon yapılır. Pozitif durumda köpürme şeklinde gaz oluşumu gözlenir.

3.2.5.2. Oksidaz Testi

Prensip: Bir çok bakteri ve fungi bir oksidaz sistemine sahiptir. Bu sistem içinde oksidazlar vardır. Bu enzimler bakteri ve redoks boyadaki (Tetrametil - para fenilendiamin dihidroksit) elektron donörleri arasında elektronların naklini katalize ederler. Anaerob bakterilerde stokrom yoktur. Bu test aerob bakterilere uygulanır.

Testin Yapılışı:

*** Ayıraç**

- Tetrametil - para - fenilendiamin 0,1 g
- Damıtık su 10 mg

Boya tartılır ve distile suda çözülür. Boya suya ilave edildikten 15 dak. sonra çözelti kullanılabilir. Her defasında taze çözelti hazırlanmalıdır. Çünkü boya aktivitesini ancak 2 saat muhafaza edebilir.

Temiz bir petri kutusu içinde bulunan filitre kağıdına (Whatman No: 1) taze hazırlanmış ayıraçtan 2 - 3 damla damlatılır. Şüpheli koloni steril bir öze yardımıyla besi yerinden alınır ve ayıraçlı kağıdın üzerine sürülür. Pozitif reaksiyonda 5 sn içinde koyu mavi renk gözlemlenir.

3.2.5.3. Üreaz Deneyi

Bazı bakteriler üreyi azot kaynağı olarak kullanabilir. Ürenin parçalanması ile meydana gelen amonyak besiyerinde yüksek derecede alkali (pH 8,1 ve daha yukarı) reaksiyon meydana getirir.

Besiyerinin Hazırlanışı:

- Maya özeti 0,1 g
- KH_2PO_4 9,1 g
- K_2HPO_4 9,5 g
- Üre 20 g
- Phenol red 0,01 g
- Damıtık su 975 ml

Maddeler damıtık suda eritilir, arzu edildiği miktarda steril test tüplerine veya burgu kapaklı şişelere bölünür ve 115°C ' de 15 dak. otoklavlanarak sterilize edilir. Besiyerinin reaksiyonu sterilizasyondan önce pH 4,8 olmalıdır. Sterilizasyondan sonra bu pH 6,8 olur.

Deneyin Yapılışı: Şüpheli kültürden steril bir öze yardımıyla üre besiyerine bol miktarda inokule edilir. Kültürler 28°C ' de enkübe edilir. Ürenin parçalanması sonucu meydana gelen alkali reaksiyon (amonyak oluşumundan ötürü) indikatörün rengini kırmızıya çevirir. Bu durum ürenin hidroliz olduğunu gösterir.

3.2.5.4. Jelatin Erime Deneyi

Jelatin; hayvanların deri, konnektif doku ve kemiklerinden çıkarılan kollejenin hidrolizi ile elde edilen bir proteindir. Protein olmasından dolayı bazı proteolitik bakteriler jelatinaz denilen ekstrasellüler enzimleri ile jelatini eritebilir.

Besi Yerinin Hazırlanışı:

Et özeti buyyon

- Meat extract 3 g
- Peptone 10 g
- NaCl 5 g
- Damıtık su..... 1000 ml

Et özeti balmumlu bir kağıtta tartılır ve diğer maddelerle suda hafifçe ısıtmakla eritilir. Soğuduktan sonra besiyeri reaksiyonu NaOH ile pH 8,4' e ayarlanır. Fosfatları çöktürmek için 100 °C' de 30 dak. buhar kazanında tutulur, kağıt süzgeçten süzülür. Reaksiyon tekrar 7,2' ye ayarlanır. 121°C' de 20 dak. otoklavlanarak steril edilir.

Jelatin Besiyeri

- Et özeti buyyon 1000 ml
- Gelatin 150 g

Jelatin, buyyona konur iyice karıştırılır ve bir gece 4 °C' de buzdolabında bırakılır. Jelatini eritmek için 100 °C' de buhar kazanında ısıtılır ve reaksiyon pH 8,4' e ayarlanır. Buhar kazanında tekrar 10 dak. ısıtılır ve çabucak 45 °C' ye soğutulur. Bir yumurtanın çalkalanmış beyazı katılır, iyice karıştırılır ve buhar kazanında 30 dak. ısıtılır. Süzgeç kağıdından süzülür. Besiyerinin reaksiyonu kontrol edilir; pH 7,6 olmalıdır. 10 ml miktarında burgu kapaklı test tüplerine bölünür. 121 °C' de 15 dak. otoklavlanarak steril edilir.

Jelatin besiyeri; tamamıyla berrak, oldukça yoğun ve sıkı olmalıdır.

Deneyin Yapılışı: Steril bir iğne öze yardımıyla şüpheli koloni, tüp içindeki jelatin buyyona batırmak suretiyle ekilir. Optimal sıcaklıkta 3 gün enkübasyona bırakılır. Üçüncü günün sonunda tüpler buzdolabında 2 saat bekletilir. Bu süre içinde besiyeri katılaşmaz ise ekilen bakterilerin jelatinazlı olduğu anlaşılır.

3.2.5.5. Metil Kırmızısı ve Voges - Proskauer Deneyleri

Metil kırmızısı ve Voges - proskauer testleri arasında sıkı bir ilişki vardır. Zira her iki test aynı besiyerinde yapılır ve bu testler ile ilgili kurallar birlikte tartışılır.

Metil kırmızı testi, bakteriler tarafından glikozun kullanılmasına bağlıdır. Bazı bakteriler glikozu fermente ederek büyük miktarlarda organik asitler oluştururlar. Bu asitler besiyerinin pH' sını 4,2 ve daha aşağı düşürür. Metil kırmızısı solüsyonu pH 4,4 ve daha aşağı bir değerde kiraz kırmızısı renktedir. PH 6,3' de sarı renk verir.

Besiyeri ve Solüsyonun Hazırlanışı;

Glikoz - Fosfat Buyyon

- Peptone 5 g
- K₂ HPO₄..... 5 g
- Glucose 5 g
- Damıtık su 1000 ml

Pepton ve dipotasyum hidrojen fosfat ılık suda eritilir, 1000 ml' ye tamamlanır. Reaksiyon pH 7,5' e ayarlanır. 5 ml miktarında test tüplerine bölünür 115 °C' de 10 dak. otoklavlanarak steril edilir.

Metil Kırmızısı solüsyonu

- Metil kırmızısı 0,1 g
- Etil alkol % 95' lik..... 300 ml
- Damıtık su 200 ml

Boya alkolde eritilir sonra damıtık su ile 500 ml' ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı: Kültürler Glikoz - Fosfat buyyonuna steril bir öze yardımıyla inokule edilir. Bir tüp besiyeri kontrol olarak bırakılır. Kültürler optimal sıcaklıkta 2 gün enkübe edilir. Enkübasyondan sonra kültürlere ve

kontrol tüpüne 5 - 6 damla metil kırmızısı solusyonu katılır. Tüpler çalkalanır ve hemen yoklanır. Pozitif testler parlak kırmızı, negatif testler sarıdır.

İkinci test Voges - Proskauer testidir. Bu testte asetilmetil karbonil oluşumu testi de denir. Bazı bakteriler glukozu fermente ederek büyük miktarlarda nötral maddeler oluştururlar.

Solüsyonların Hazırlanışı ;

Alfa - naftol solüsyonu

- α - naphthol 5 g
- Etil alkol 100 ml

Solüsyon saman renginden daha koyu olmamalıdır. Gerekirse alfa naftol tekrar damıtılmalıdır.

KOH solüsyonu

- KOH 40 g
- Damıtık su 100 ml

Damıtık suda KOH eritilir.

Deneyin Yapılışı: Kültürler Glikoz - Fosfat buyyonuna inokule edilir. Bir tüp besiyeri kontrol olarak bırakılır. Optimal sıcaklıkta 48 saatlik enkübasyondan sonra test tüplerine 0,6 ml alfa naftol solüsyonu katılır iyice çalkalanır. Kültürlere 0,2 ml KOH solüsyonu eklenir yine çalkalanır. Pozitif sonuçlar 5 dak. içinde parlak kiraz kırmızısı bir renk oluşturur.

Yapılan çalışmalar neticesinde Gram (-) filamentli sülfür bakterileri hakkında bulunan sonuçlar Tablo 3.1.' de verilmektedir.

Tablo 3.2. Gram (-) Filamentli Sülfür Bakterilerinin Karakteristik Özellikleri



KARAKTERİSTİKLER	BAKTERİLERİN BÜYÜME ORANLARI (%)		
	Thiothrix	Tip O21N	Beggiatoa
Gram Boyama	(-)	(-)	(-)
Oksidaz Mevcudiyeti	(+)	(+)	(-)
Katalaz Mevcudiyeti	(+)	(+)	(-)
Üre Hidrolizi	(+)	(-)	(-)
Jelatin Hidrolizi	(+)	(+)	(-)
Glikozu Kullanma	(+)	(+)	(-)
Sülfüre Olan İhtiyaç	(+)	(-)	(-)



4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma kapsamında Kırlangıç Yağ Fabrikası Atık Su Arıtma Tesisleri Biyolojik Arıtma Ünitesinde gözlenen kabarma problemi (bulking sludge) mikrobiyolojik yönden ele alınmış ve probleme sebep olan mikroorganizmalarla çalışmalar yapılmıştır.

Literatür araştırması neticesinde havalı biyolojik arıtma tesislerinde kabarmış çamura neden olan mikroorganizmaların filamentli mikroorganizmalar olduğu görülmüştür. Filamentli bakteriler normalde aktif çamur mikroflorasında bulunur. Fakat aktif çamuru oluşturan mikroorganizma popülasyonunda meydana gelen dengesizlik ve değişiklikler filamentli bakterilerin aşırı şekilde üremesi ve biyokütlede sayılarının artmasına neden olmaktadır.

Biyolojik yumakları meydana getiren bakterilerin sayılarının azalması fakat filamentli mikroorganizmaların sayılarının artması ile çökeltme gücü zayıf olan çamur oluşur. İşte bu kabarmış çamurdur.

Filamentli mikroorganizmalar arasında havalı biyolojik arıtma tesislerinde en yaygın olarak gözlemlenen Gram (-) filamentli sülfür bakterilerinden *Thiothrix*, Eikelboom Tip O21N ve *Beggiatoa*' larıdır. Bu nedenden dolayı hedef alınan fabrikanın havalandırma havuzundan getirilen numuneler içinde bu tür bakteriler aranmıştır.

Yapılan mikroskobik çalışmalar, boyamalar, biyokimyasal testler gibi laboratuvar çalışmaları sonucunda; Gram (-) filamentli sülfür bakterilerinden *Thiothrix*, Eikelboom Tip O21N ve *Beggiatoa* genuslarına dahil bakteriler Kırlangıç Yağ Fabrikası Biyolojik Arıtma Ünitesinden getirilen numune içinde bulunmuştur.

Sonuçta, hedef alınan fabrikanın atık su arıtma tesisinde çalışan mühendis ve teknisyenlere kabarmış çamur problemi meydana geldiğinde hangi mikroorganizmalarla karşı karşıya oldukları söylenebilir.

Bununla birlikte; *Thiothrix*, Eikelboom Tip O21N *Beggiatoa* genuslarına ait bakterilerinin laboratuvar koşullarında üretme şartları, optimal ısıları, besin ihtiyaçları, bakterileri birbirlerinden ayırmaya yarayan spesifik özellikler hakkında bilgi edinilmiştir.



KAYNAKLAR

- 1- Arda, M., (1997), Temel Mikrobiyoloji, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Yay. I. Baskı, Isparta.
- 2- Beşe, M., (1974), Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal testler ve Besiyerleri, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Yay. No:298, Ankara.
- 3- Brock, T.D., (1966), The Habitat of *Leucothrix mucor*, a Widespread Marine Microorganisms. Limnol, Oceanogr, 11; p.303.
- 4- Cyrus, Z. and Sladka, A., (1970) Several Interesting Organisms Present in Activated Sludge, Hydrobiologia, 35 (3/4); p. 383 – 396.
- 5- Eikelboom, D.H., (1975), Filamentous Organisms Observed Activated Sludge Water Res., 9: p. 365 – 388.
- 6- Eikelboom, D.H., (1977), Identification Of Filamentous Organisms In Bulking Activated Sludge, Prog. Water Tech., 8: p. 152 – 161.
- 7- Farguhar, G.J. And Boyle, W.C., (1971), Occurrence Of Filamentous Microorganisms In Activated Sludge, J. Water Pollut. Control Fed., 43: p. 779 – 798.
- 8- Gaudy, A.F. Jr. and Rozich, A.F., (1988), Desing And Operation Of Activated Sludge Processes Using Respinometry. Lewis Publ., Chelsea, Michigan.
- 9- Hart, M.A. And Melmed, L.N., (1982), Microbiology Of Nutrient Removing Activated Sludge. Water Sci. Technol. 14 (9/11) : p. 1501 – 1502.
- 10-Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P., Staley, T.J. and Williams, S.T., (1994), Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology, 9th Ed. The Williams & Willkins Co., Baltimore.
- 11-Latter, L.H., (1989), Two – Year Study On The Enhancement Of Biological Phosphate Removal Bu Altering Process Feed Composition (Metabolic Control Mechanisms), Water Research Commission Report No: 137 / 3189, Pretoria, SA.
- 12-Merkel, G.J., (1975), Observation On The Attachment Of *Thiothrix* To Biological Surfaces In Activated Sludge. Water Res. 9 : p. 881 – 885.

- 13-Muslu, Y., (1994), Atıksuların Arıtılması. İ.T.Ü. İnşaat Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Yayın No ; 1535 ;İstabil.
- 14-Nielsen, P.H. and Wagner, M., (1998), Variability Of Type O21N In Activated Sludge As Determined By *IN SITU* Substrate Uptake Pattern And *IN SITU* Hybridization With Fluorescent Rna Targeted Probes. Wat. Sci. Tech., 37 (4) 5 : 423 – 430.
- 15-Nielsen, P.H., (1984), Oxidation Of Sulfide And Thiosulfate and Storage Of Sulfur Granules In *Thiothrix* From Activated Sludge, Water Sci. Technol., 17: p.167 – 181.
- 16-Painter, H.A., (1970), A Review Of Literature On Inorganic Nitrogen Metabolism In Microorganisms. Water Res., 4 (5) : p.393 – 450.
- 17-Poffe, R. Vanderleyden, J. and Verachtert, H., (1979), Characterization Of a *Leucothrix* - Type Bacterium Causing Sludge Bulking During Petrochemical Waste Water Treatment, Eur.J. Appl. Microbiol. 8: p. 229 – 235.
- 18-Richard, M.G. Shimizu G.P. and Jenkins, D., (1985), The Growth Physiology Of The Filamentous Organisms Type O21N and Its Significance To Activated Sludge Bulking, J. Water Pollut. Control F., 57 (12): p. 1152 – 1162.
- 19-Shimizu, G.P., (1985), The Growth and Nutrient Uptake Kinetics Of Type O21N, A Novel *Thiothrix* – Like Bacterium Responsible For Activated Sludge Bulking, Ph.D. Dissertation University Of California, Berkeley
- 20-Sladka, A. and Ottova, V., (1973), Filamentous Organisms In Activated Sludge Hydrobiologia, 43 (3/4): p. 285 – 289.
- 21-Stensel, H. and Barnad J.L., (1992), Principles Of Biological Nutrient Removal, In Design and Retrofit Of Wastewater Treatment Plants For Biological Nutrient Removal, C.W. Randall Et Al., Eds., Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc., Pp. 25 – 84.
- 22-Strom, P.F. and Jenkins, D., (1984), Identification and Significance Of Filamentous Microorganisms In Activated Sludge, J. Water Pollut. Control Fed. 56: p. 449 – 459.
- 23-Timur, H., ve Mutlu, H.,(1982),Pakmaya Arıtma Tesisi Projesi Sonuç Raporu. TÜBİTAK Marmara Araştırma Enstitüsü Yayını, Kimya Yayın No; 89

- 24-Topacık, D., (1987), Atıksu Arıtma Tesisleri İşletilmesi. İ.T.Ü. İnşaat Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Yayın No ; 42 ;İstabil.
- 25-Unat E. K., (1997), Temel Mikrobiyoloji, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yay. İstanbul.
- 26-Waarde, J.J., Geurkink B., Henssen, M. and Heijnen, G., (1998), Decettion Of Filamentous and Nitrifying Bacteria In Activated Sludge with 16S Rrna Probes. Wat. Sci. Tech. 37 (4/5) :p.475 – 479.
- 27-Wanner, J., (1994), Activated Sludge Bulking And Foaming Control. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pa.
- 28-Williams, T.M. and Unz R.F., (1985), Filamentous Sulfur Bacteria Of Activated Sludge: Characterization Of *Thiothrix*, *Beggiatoa* And Eikelboom Type O21N Strains. Appl. Environ. Microbiol., 49 (4): p. 887 – 898.
- 29-Williams, T.M. and Unz, R.F., (1989), The Nutritioon Of *Thiothrix*, Type O21N, *Beggiatoa* and *Leucothrix* Strains. Water Res., 23 (1) : p. 15 – 22.
- 30-Williams, T.M., Unz R.F., and Doman, J.T., (1987), Ulstrastructure Of *Thiothrix* spp. and Type O21N Bacteria. Environ. Microbiol., 53 (7) : p. 1560 – 1570.
- 31-Ziegler, M., Lange, M. and Dott, W., (1990), Isolation and Morphological and Cytological Characterization Of Filamentous Bacteria From Bulking Sludge.Water Res., 24 (12) : p. 1437 – 1451.



ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Kırklareli'nde doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Kocaeli ilinin Gölcük ilçesinde tamamladı. 1990 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sinop Su Ürünleri Fakültesinde lisans eğitime başladı. 1994 yılında Su Ürünleri Mühendisi ünvanı ile fakülteden mezun oldu. 1996 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoloji Bölümünde yüksek lisans eğitime başladı. 1997-98 eğitim-öğretim döneminde Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Eğitim Bilimleri Bölümünde öğretmenlik Formasyonu programına devam ederek Pedagojik Formasyon belgesi aldı.

