

## Dönen biyolojik disk reaktör kullanarak klorofenol içeren atıksuların arıtılması

Erkan ŞAHİNKAYA, Filiz B. DİLEK\*

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Ankara

### Özet

*Bu çalışmada pepton, 4-klorofenol (4-KF) ve 2,4-Diklorofenol (2,4-DKF) içeren sentetik olarak hazırlanmış, bir numunenin arıtımı, 5 rpm'de çalıştırılan iki kademeli Dönen Biyolojik Disk (DBD) reaktör kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca, biyolojik olarak kolay ayrışabilen bir maddenin (pepton) reaktör performansı üzerine etkileri de araştırılmıştır. Yüksek verimde klorofenol ve KOİ giderimi ancak reaktörün ilave havalandırıcılarla havalandırılması durumunda mümkün olmuştur. Aklimasyon sırasında giriş 4-KF konsantrasyonu 200 mg/L'ye, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 100 mg/L'ye yükseltilmiştir. Reaktörün birinci kademesinde yüksek klorofenol (>%98) ve KOİ (>%94) giderimleri gözlenmiş ve ikinci kademe giderim verimini kısmen artırmıştır. 260 günlük bir işletmeyi takiben, reaktör 3.5 ay boyunca sadece pepton ile beslenerek, biyokütle deaklime edilmiştir. Deaklimasyonu takiben, 16 gün içerisinde giriş 4-KF konsantrasyonu 200 mg/L'ye, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 100 mg/L'ye yükseltilmiştir. Mikroorganizmanın 16 gün içerisinde tekrar yüksek konsantrasyonlarda beslenen klorofenollere aklime olduğu ve reaktör girişinden peptonun ani olarak çekilmesinin performansı üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. 2,4-DKF, 4-KF arıtımını yarışçıl (competitive) olarak inhibe ettiği için, şok 4-KF (822.7±1.4 mg/L) ve 2,4-DKF (424.6±1.9 mg/L) yüklemesi reaktörün hem birinci hem de ikinci kademesinde 4-KF konsantrasyonunun 2,4-DKF konsantrasyonuna kıyasla 4 kat artmasına neden olmuştur. Şok yükleme sırasında reaktörler tek karbon ve enerji kaynağı olarak klorofenoller ile beslenmiş ve reaktörün birinci kademesinde maksimum 4-KF giderim hızı 2305 mg/L·gün (18.3 g/m<sup>2</sup>·gün), 2,4-DKF giderim hızı ise 1202 mg/L·gün (9.5 g/m<sup>2</sup>·gün) olarak gözlenmiştir.*

**Anahtar Kelimeler:** 4-Klorofenol, 2,4-Diklorofenol, dönen biyolojik disk reaktör.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Filiz B. DİLEK. fdilek@metu.edu.tr; Tel: (312) 210 58 78.

Makale metni 06.11.2006 tarihinde dergiye ulaştırılmış, 26.02.2007 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2007 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## Biodegradation of chlorophenol containing wastewater using a rotating biological contactor

### Extended abstract

Chlorophenols are introduced into the environment through various human activities such as waste incineration, uncontrolled use of wood preservatives, pesticides, fungicides and herbicides, as well as via bleaching of pulp with chlorine and the chlorination of drinking water. Despite the recalcitrance of chlorophenols, efforts are still being made to treat them biologically for economic reasons and in expectation of few by-products. Although biofilm reactors are more resistant to high chlorophenols loads, limited information is currently available on biofilm based chlorophenols degradation.

In this view, this study aims at evaluating the performance of a two stage rotating biological contactor (RBC) for the treatment of synthetic wastewater containing peptone, 4-chlorophenol (4-CP) and 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP) at 5 rpm.

The RBC had two equal stages with 9 disks in each stage. The diameter of each disk was 18 cm and the total surface area for biomass attachment was 0.44 m<sup>2</sup> per stage. Around 40% of disks were submerged in water. Total liquid volume in the reactor was 7.0 L. The study consists of four successive steps. In the first part of the study, feed chlorophenols concentrations were gradually increased, while, peptone concentration was kept constant at 400 mg/L. In the second step, peptone concentration was gradually decreased keeping the 4-CP and 2,4-DCP concentrations constant at 220 and 110 mg/L, respectively. In the third step, reactor was fed with 400 mg/L peptone in the absence of chlorophenols for around 3.5 months to deacclimated biomass and then the biomass was reacclimated to chlorophenols mixture. Lastly, the effect of shock chlorophenols loadings, in the absence of peptone was extensively evaluated. The HRT of the reactor was kept at 0.7 d throughout the study. During the experiments, the reactor was sampled regularly and analyzes were done immediately for COD, chlorophenols and 5-chloro-2-hydroxymuconic semialdehyde (CHMS).

During the acclimation, CHMS, which is –meta cleavage product of 4-CP, appeared at the effluent when reactor was fed with 20 mg/L 4-CP and 10

mg/L 2,4-DCP. Although both 4-CP and 2,4-DCP removals were complete, the CHMS appeared at the effluent for around 1 month. Also, low dissolved oxygen concentration (<1mg/L) favored the filamentous growth in the first stage of RBC. On day 60, the liquid phase of the reactor was aerated to have at least 3 mg/L of dissolved oxygen (rotational speed was kept at 5 rpm). Under these conditions, CHMS disappeared within a few days along with complete removal of chlorophenols. Then, the concentrations of 4-CP and 2,4-DCP were increased steadily up to 220 mg/L 4-CP and 110 mg/L 2,4-DCP within the 138 days of operation. Most of the chlorophenols were degraded in the first stage and the concentrations were below detection limit in the second stage. Similarly, the effluent COD concentrations were between 20-40 mg/L and the average COD removal efficiency was 96±2.36%. During this period, *Pseudomonas* sp. and *Pseudomonas stutzeri* (98% similarity) were the dominant species in biofilm. Decreasing the peptone concentration from 400 mg/L to null did not cause any remarkable adverse effect on chlorophenols degradation as the average 4-CP and 2,4-DCP concentrations in the first stage were 1.53±0.27 and 0.27±0.16 mg/L, respectively. On day 260 and the reactor was fed with 400 mg/L of peptone for 3.5 months to deacclimate the microorganisms. After 3.5 months of operation, the reactor directly started with high chlorophenols removal efficiency without experiencing any lag and no further deterioration in the overall performance was observed even the feed 4-CP and 2,4-DCP concentrations were increased to 200 and 100 mg/L, respectively, within 16 days. When the feed was containing 400 mg/L peptone, 200 mg/L 4-CP and 100 mg/L 2,4-DCP (COD = 915±13 mg/L), the second stage COD was 17±2 mg/L. During the shock loading, the concentrations were increased up to 822.7±1.4 mg/L 4-CP and 424.6±1.9 mg/L 2,4-DCP (total CP loading = 1781 mg/L·d), within 7 days. As feed chlorophenols concentrations were increased, the effluent concentrations in both stages increased linearly. For both stages, the effluent 4-CP concentrations were almost 4 times higher than 2,4-DCP, which may be due to strong competitive inhibition of 2,4-DCP on 4-CP degradation. The observed maximum 4-CP and 2,4-DCP removal rates in the first stage were 2305 mg/L·d (18.3 g/m<sup>2</sup>·d) and 1202 mg/L·d (9.5 g/m<sup>2</sup>·d), respectively.

**Keywords:** 4-Chlorophenol, 2,4-Dichlorophenol, rotating biological contactor.

## **Giriş**

Klorofenoller; atık yakılması, tarım ilaçlarının kontrolsüz olarak kullanılması, içme sularının dezenfeksiyon amacıyla klorlanması, kağıt endüstrisinde ağartma işlemlerinde klor kullanılması ve bazı endüstriyel aktivitelerden dolayı üretilmektedir (Mangat ve Elefsiniotis, 1999; Contrerasa vd., 2003; Tarighian vd., 2003). Bazı atık sularda gözlenen fenolik madde konsantrasyonlarına örnek verilecek olunur ise; fenolik resin üretimi sırasında 400 mg/L, rafinerilerde 50 mg/L ve naftalik asit üretimi sırasında 12 mg/L'dir (Chen vd., 1997). Fenolik maddelerin toksisitesi ve kanserojen etkilerinden dolayı, arıtılmadan doğaya deşarj edilmeleri oldukça tehlikeli olup, deşarjdan önce uygun yöntemlerle arıtılmaları gerekmektedir.

Mikroorganizmalar üzerindeki zehirli etkilerine rağmen, ucuz olması ve ara ürün oluşturmadan tam bir oksidasyon olasılığından dolayı klorofenollerin biyolojik yollarla arıtımı üzerine oldukça yoğun bir şekilde çalışmalar yapılmaktadır. Klorofenollerin arıtımı üzerine yapılan çalışmaların çoğu; askıda büyüyen saf (Wang ve Loh, 1999, 2000, 2001; Hill vd., 1996; Saéz ve Rittmann, 1991, 1993, Kim ve Hao, 1999; Hao vd., 2002) ya da karışık kültürler (Bali ve Şengül, 2002; Sahinkaya ve Dilek, 2002, 2005, 2006; Kargi ve Eker, 2006ab; Eker ve Kargi, 2006) ile gerçekleştirilmiştir. Yüksek mikroorganizma konsantrasyonundan ve biyofilm içindeki difüzyon bariyerinden dolayı biyofilm reaktörlerin daha yüksek klorofenol konsantrasyonlarına tolerans gösterebilmelerine rağmen (Eker ve Kargi, 2006), literatürde biyofilm reaktörler ile klorofenol arıtımı üzerine sınırlı çalışma mevcuttur (Eker ve Kargi, 2006; Shieh vd., 1990; Puhakka ve Jarvinen, 1992; Swaminathan ve Ramanujam, 1997 ve 1999).

Bir atıksu arıtma tesisine karışım halinde birçok toksik ve kolay arıtılabilen madde gelmesine rağmen, literatürde yapılan çalışmalarda genellikle kolay ayrışabilen madde varlığında veya yokluğunda tek bir klorofenol kullanılmıştır. Bu şartlarda elde edilen deneysel verilerin birden fazla klorofenol içeren gerçek atık suların arıtımında kullanılması oldukça zor olabilmektedir. Ayrıca, yarışçıl inhibisyon ve farklı besin mad-

deleri arasındaki etkileşimden dolayı, bir maddenin varlığı, diğer bir maddenin arıtımını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Hu vd., 2005). Daha önce yapılan çalışmalarda, mikroorganizmaların askıda büyüdüğü tam karışımli reaktörlerde 2,4-DKF arıtım performansının 150 mg/L'nin üzerinde önemli derecede düştüğü vurgulanmıştır (Sahinkaya ve Dilek, 2002; Uysal vd., 2005; Kargi ve Eker, 2006a). Dolayısıyla, birden fazla klorofenolün ortamda bulunması durumunda 2,4-DKF'ün toksik etkisinin daha da artması beklenmektedir. Bu bağlamda, bu çalışmada dönen biyolojik disk (DBD) reaktör kullanarak yüksek konsantrasyonlarda 4-KF ve 2,4-DKF arıtımı çalışılmıştır. Ayrıca kolay parçalanabilen bir organik maddenin (pepton) klorofenol arıtımını nasıl etkilediği detaylı olarak incelenmiştir.

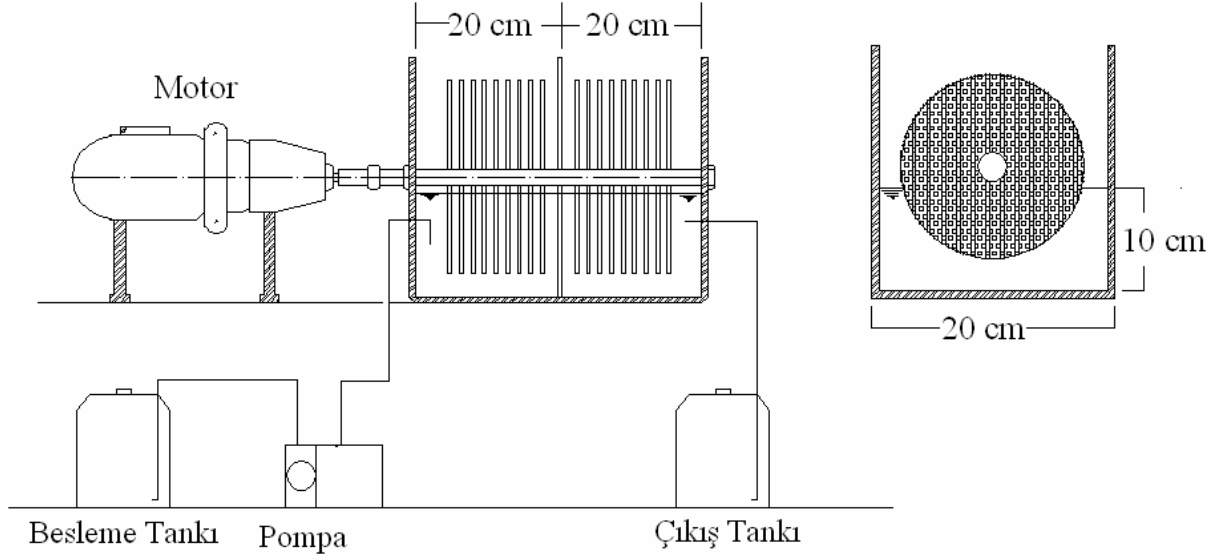
## **Materyal ve metot**

### **Dönen Biyodisk (DBD) reaktör**

Bu çalışmada kullanılan DBD reaktör her birinde dokuz adet disk bulunan eşit hacimli iki kademedeki oluşmuştur (Şekil 1). Her bir disk 18 cm çapında olup, mikroorganizmanın tutunabileceği toplam yüzey alanı her bir kademe için 0.44 m<sup>2</sup> dir. Disklerin yaklaşık olarak % 40'ı suya batık olarak işletilmiştir. Reaktörde toplam su hacmi 7.0 L olup, birim hacim başına disk yüzey alanı 126 m<sup>2</sup> dir. Diskler, bakteri yapışması kolay olduğu için alüminyum örgülerden yapılmıştır. Reaktör paslanmaz çelikten imal edilmiş olup, diskler paslanmaz çelikten yapılan bir mil sayesinde istenilen hızda döndürülmüştür. Reaktör peristaltik bir pompa yardımı ile sentetik olarak hazırlanmış numune ile beslenmiş ve hidrolik bekleme zamanı (HRT) 0.7 günde sabit tutulmuştur. Reaktör oda sıcaklığında işletilmiş ve su sıcaklığı 25±3°C'de kalmıştır. Diskler 5 rpm hızda döndürülmüştür. İşletmenin 60. gününde, reaktör sıvı fazı havalandırılarak çözünmüş oksijen konsantrasyonu en az 3 mg/L'de tutulmuştur.

### **Atık su kompozisyonu**

Denyde kullanılan numune, 0-400 mg/L pepton; 0-1000 mg/L 4-CP; 0-500 mg/L 2,4-DCP; 46-526 mg/L NH<sub>4</sub>Cl; 30 mg/L NaCl; 44.6 mg/L MgSO<sub>4</sub>; 400 mg/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 200 mg/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 3.7 mg/L MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O ve



Şekil 1. Dönen biyolojik disk reaktör

$\text{FeCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0.057 mg/L  $\text{MnSO}_4$ ; 0.046 mg/L  $\text{ZnSO}_4$ ; 0.049 mg/L  $\text{CoSO}_4$ ; 0.076 mg/L  $\text{CuSO}_4$  içerecek şekilde musluk suyu kullanılarak hazırlanmıştır.

0.02 M NaOH çözelti içinde hazırlanan stok 4-KF ve 2,4-DKF çözeltileri besleme suyundaki farklı klorofenol konsantrasyonlarını ayarlamak için kullanılmıştır. Sentetik atık suyun hazırlanmasında musluk suyu kullanılmıştır. Giriş atıksu pH değeri  $7.2 \pm 0.2$ , çıkış pH değeri ise 7.5 ile 6.8 arasında değişmiştir. Deneylerde, giriş atıksuyuna  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ilave edilerek KOİ/N oranı yaklaşık olarak 16'da tutulmuştur.

### Reaktör işletimi

Biyofilm oluşumu için reaktör 7.0 L çöktürülmüş evsel atıksu ile doldurulmuş ve dört gün boyunca kesikli olarak işletilmiştir. Daha sonra, diskler üzerinde bakteri oluşumu gözlenene kadar, reaktör 400 mg/L pepton içeren numune ile kesikli olarak beslenmiştir. Biyofilm oluşumunu takiben reaktör sürekli olarak işletilmiştir.

Çalışma birbirini izleyen dört aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada; klorofenol giriş konsantrasyonları kademeli olarak artırılarak, mikroorganizmalar klorofenole aklime edilmiştir (Şekil 2a). Bu aşamada pepton konsantrasyonu 400 mg/L'de sabit tutulmuştur. Daha önce yapılan

çalışmalarda (Şahinkaya ve Dilek, 2002 ve 2005), 2,4-DKF'ün 4-KF'e kıyasla iki kat daha toksik bulunduğu gözlemlendiği için, reaktör giriş atık suyunda 2,4-DKF konsantrasyonu 4-KF konsantrasyonunun yarısında tutulmuştur. İkinci aşamada ise; giriş pepton konsantrasyonu kademeli olarak düşürülerek, peptonun klorofenol arıtımı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Klorofenol içeren endüstriyel atıksular her zaman klorofenol içermeyebilmekte ve uzun bir süre klorofenolsüz atık su ile beslenen reaktördeki mikroorganizmalar klorofenol arıtım kabiliyetlerini kaybedebilmektedir. Biyofilm reaktörde bu sürecin klorofenol arıtım verimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla üçüncü aşamada; klorofenole aklime edilmiş bakteriler tekrar sadece 400 mg/L pepton ile 3.5 ay beslenerek deaklime edilmeye çalışılmış ve bu süre sonunda tekrar klorofenol ile beslenerek kültürün klorofenollere tekrar aklimasyon hızı araştırılmıştır. Son olarak; pepton yokluğunda klorofenoller tek karbon ve enerji kaynağı olarak beslenmiş ve şok klorofenol yüklemesinin klorofenol arıtım verimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma boyunca hidrolik bekletme süresi (HRT) 0.7 gün (hidrolik yükleme hızı =  $0.01136 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{gün}$ )'de sabit tutulmuştur. Reaktörden düzenli olarak numune alınarak; bekletilmeden KOİ, klorofenol ve 5-kloro-2-hidroksimukonik-semialdehit (CHMS) ölçümleri yapılmıştır.

### Saf kültürlerin izolasyonu

Mikroorganizmaların 220 mg/L 4-KF, 110 mg/L 2,4-DKF ve 400 mg/L pepton içeren numuneye aklimasyonundan sonra, işletmenin 160. gününde reaktörden çamur numunesi alınarak katı besi yeri üzerine 30 koloni düşecek şekilde seyreltilerek katı besiyerine ekim yapılmıştır. Katı besiyeri; 400 mg/L pepton, 50 mg/L 4-KF, 25 mg/L 2,4-DKF ve yukarıda verilen inorganik maddeleri içeren besin çözeltisinin katılaştırılmasıyla elde edilmiştir. Ekim yapılan agarlar 30°C'de inkübe edilmiş ve gözlenen dört farklı koloni seçilerek yeni agarlara ekilmiştir. Kültürlerin saf olduğundan emin olmak için seçilen koloniler en az beş defa yeni agarlara ekilmiştir. İzole edilen kültürlerin tanımlanması API 20 NE (bioMerieux, Fransa) kitleri kullanılarak yapılmıştır.

### Analitik metotlar

4-KF'ün meta bağının kırılmasıyla oluşan bir ara ürün olan CHMS konsantrasyonu, süzülen suyun 380 nm dalga boyundaki absorbans ölçümü ile izlenmiştir (Hill vd., 1996; Farrell ve Quilty, 1999). KOİ ölçümlerinde ise Hach marka hazır KOİ kitleri kullanılmıştır (Hach, 1992). 4-KF ve 2,4-DKF ölçümleri yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC; Shimadzu, LC-10AT) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografi, Nucleosil C18 (4.6mm x 250 mm) kolon, LC-10Atpv solvent dağıtım modülü, SC/L0Avp sistem kontrol ve 280 nm dalga boyuna ayarlı SPD-10Avp UV-vis detektör ile donatılmıştır. HPLC'de mobil faz olarak %60 metanol, %38 su ve %2 asetik asit kullanılmıştır. Sıvı debisi 0.75 mL/dakika da tutulmuş ve her bir ölçüm için numune enjeksiyon hacmi 20 µL olarak uygulanmıştır. 4-KF ve 2,4-DKF kolon çıkış zamanları sırasıyla 7.5 ve 12 dakika olarak gözlenmiştir. Klorofenoller için minimum ölçüm sınırı 0.05 mg/L dir.

### Deneysel sonuçlar ve tartışma

#### Klorofenollere aklimasyon

DBD reaktörde giriş 4-KF 20 mg/L, 2,4-DKF 10 mg/L'ye yükseltildiği zaman reaktör çıkışında sarımsı bir renk gözlenmiştir. Gözlenen bu rengin 4-KF bağının –meta bağının kırılmasıyla oluşan CHMS oluşumu nedeniyle olduğu litera-

türde belirtilmektedir (Hill vd., 1996; Farrell ve Quilty, 1999). 4-KF ve 2,4-DKF'ün tamamen giderilmesine rağmen reaktör çıkış akımındaki CHMS'in bir ay boyunca arıtılmadan kaldığı gözlenmiştir. Ayrıca, özellikle reaktörün 1. kademesinde düşük oksijen konsantrasyonu (<1 mg/L) nedeniyle oldukça yoğun ipliksi bakteri oluşumu gözlenmiştir. DBD reaktörlerin özellikle birinci kademelerinde hızlı KOİ giderimi nedeniyle gözlenen düşük oksijen konsantrasyonu nedeniyle *Beggiatoa* gibi ipliksi bakterin gelişimi oldukça yaygın görünen bir problemdir (Surampalli ve Baumann, 1997; Metcalf ve Eddy, 1991). İşletmenin 60. gününde, reaktöre hava verilerek sıvı fazda oksijen konsantrasyonunun en az 3 mg/L olması sağlanmıştır. Reaktördeki oksijen konsantrasyonunun artırılmasını takiben, bir kaç gün içerisinde CHMS'in tamamen giderildiği gözlenmiştir. Dolayısıyla, reaktörde CHMS birikim nedeninin düşük oksijen konsantrasyonu olduğu kanaatine varılmıştır. Sıvı fazın havalandırılması reaktörün tamamen karışmasına da yardımcı olarak reaktör içerisinde biyokütlenin çökerek birikimini de engellemiştir. DBD reaktöre ilave hava verilmesinin reaktör verimini olumlu yönde etkilediği daha önce yapılan çalışmalarda da (Surampalli ve Baumann, 1997; Kargi ve Uygur, 1997) vurgulanmıştır. CHMS'in tamamen giderilmesini takiben, giriş klorofenol konsantrasyonu kademeli olarak artırılmış ve 138 gün sonunda 4-KF konsantrasyonu 220 mg/L'ye, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 110 mg/L'ye yükseltilmiştir (Şekil 2a). Girişteki klorofenollerin büyük kısmı reaktörün birinci kademesinde giderilmiş, reaktörün ikinci kademesi ise kalan az miktardaki klorofenolün giderilmesini sağlayarak, reaktör çıkışında klorofenol konsantrasyonlarını ölçüm sınırının (0.05 mg/L) altına indirmiştir (Şekil 2b). Dolayısıyla %100'e varan giderme verimlerinin elde edilmesi nedeniyle DBD reaktörünün klorofenol arıtımında oldukça etkin olduğu görüşüne varılmıştır. Benzer olarak, reaktör çıkışında KOİ konsantrasyonlarının 20 ile 40 mg/L arasında kaldığı ve ortalama KOİ giderim veriminin %96±2.36 olduğu tespit edilmiştir. Reaktöre hava verildikten sonra çıkışta hiç bir zaman CHMS gözlenmemiş olması ve düşük çıkış KOİ konsantrasyonlarının elde edilmesi klorofenollerin tamamen giderildiğinin bir işaretidir.

Aklime edilen kültürden izole edilen bakteriler API 20 NE kullanılarak belirlenmiş ve *Pseudomonas sp.* (%96 benzerlik) ve *Pseudomonas stutzeri*'nin (%98 benzerlik) baskın türler olduğu saptanmıştır.

### Kolay parçalanabilen organik madde (pepton) konsantrasyonunun DBD reaktör performansına etkisi

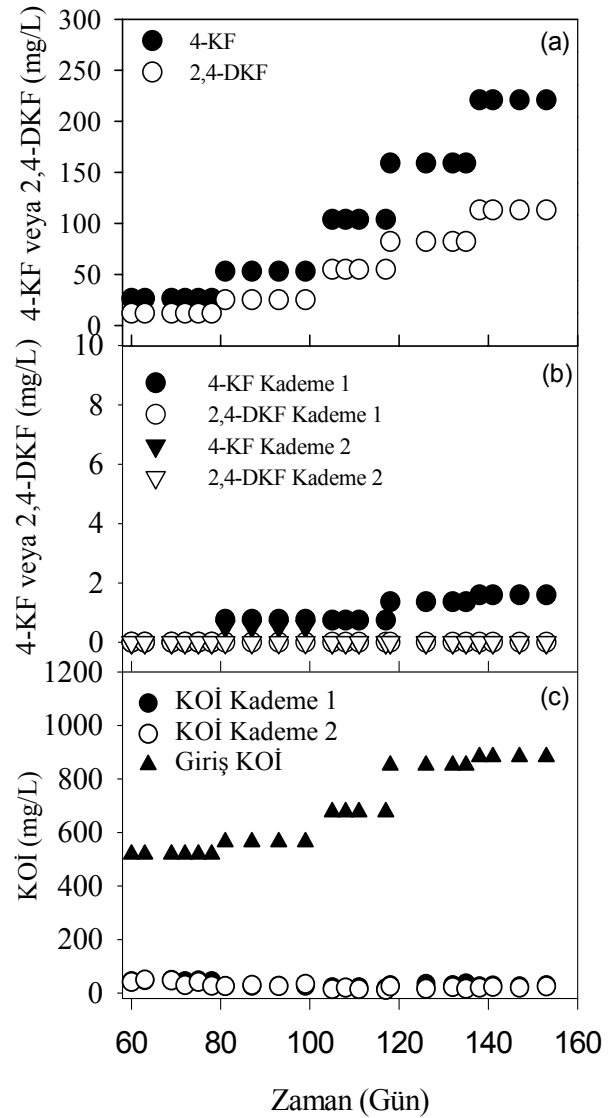
Yapılan çalışmada kolay parçalanabilir organik madde olarak pepton kullanılmıştır. Pepton konsantrasyonunun klorofenol giderimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla, 4-KF konsantrasyonu 220 mg/L'de 2,4-DKF konsantrasyonu ise 110 mg/L'de sabit tutularak giriş pepton konsantrasyonu 400 mg/L'den kademeli olarak düşürülmüş ve son aşamada ise klorofenoller tek karbon ve enerji kaynağı olarak reaktöre beslenmiştir.

Giriş pepton konsantrasyonunun kademeli olarak 400 mg/L den 0 mg/L'ye düşürülmesinin olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Farklı giriş pepton konsantrasyonlarında yürütülen deneylerde çıkış akımındaki ortalama 4-KF ve 2,4-DKF konsantrasyonları sırasıyla  $1.53 \pm 0.27$  ve  $0.27 \pm 0.16$  mg/L olarak bulunmuştur (Şekil 3). Ayrıca, aklime edilmiş bakterilerin klorofenolü tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabildiği gözlenmiştir. Reaktörün birinci ve ikinci kademelerinde ortalama KOİ konsantrasyonları sırasıyla  $25 \pm 7$  (%96 giderim) ve  $21 \pm 6$  mg/L (%97 giderim) olarak bulunmuştur (Şekil 3d).

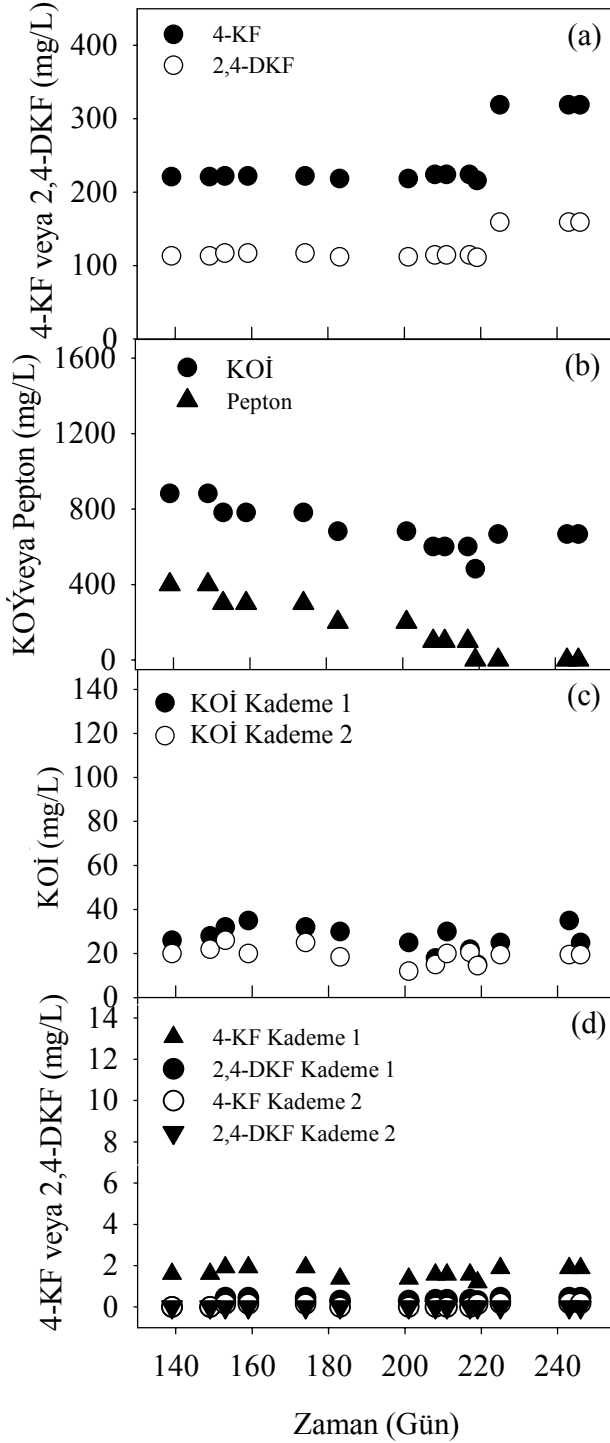
### Aklimasyon ve deaklimasyon

Bazı endüstriyel tesisler, mevsimsel çalışmaları için ya da üretimindeki çeşitli nedenlerden dolayı, oluşan atıksu debi ve kompozisyon bakımından oldukça değişkendir. Bu neden ile gerçek ölçekli arıtma tesislerinde, arıtmak istenen toksik madde uzun bir zaman atıksu akımında bulunmayabilmektedir. Dolayısıyla, söz konusu toksik maddenin arıtımından sorumlu olan bakteriler kaybedilebilmekte veya bakteriler bu toksik maddeyi arıtma kabiliyetlerini yitirebilmektedir (Grady vd., 1999). Bu bağlamda, mevcut çalışmada bakterilerin deaklimasyondan sonra klorofenollere tekrar adaptasyonu için ihtiyaç duydukları süre araştırılmıştır. Klorofenol-

lere aklime edilmiş reaktör 260. günden itibaren 3.5 ay boyunca sadece pepton ile beslenmiş ve bakteriler deaklime edilmiştir. Bu süre boyunca, reaktördeki KOİ gideriminin oldukça iyi olduğu ve girişteki KOİ konsantrasyonunun 400 mg/L den, çıkışta 12 mg/L'ye (%97 giderim) düştüğü saptanmıştır. Pepton ile 3.5 ay beslemeyi takiben, reaktör tekrar klorofenoller ile beslenmeye başlanmış ve 16 günde giriş 4-KF konsantrasyonu 200, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 100 mg/L'ye yükseltilmiştir (Şekil 4). Reaktör direk olarak yüksek performansta klorofenol giderimine başlamış ve giriş klorofenol konsantrasyonlarının çok kısa zamanda çok yüksek



Şekil 2. Giriş klorofenol (a), çıkış klorofenol (b), giriş ve çıkış KOİ konsantrasyonlarının DBD reaktör aklimasyon sürecince değişimi



Şekil 3. Pepton konsantrasyonunun DBD reaktör performansına etkisi. Giriş klorofenol konsantrasyonu (a), giriş KOİ ve pepton konsantrasyonları (b), çıkış KOİ (c) ve çıkış klorofenol konsantrasyonları (d)

konsantrasyonlara yükseltilmesine rağmen arıtım gideriminde bir değişiklik olmayarak %100'e varan klorofenol giderimlerine ulaşılmıştır. Re-

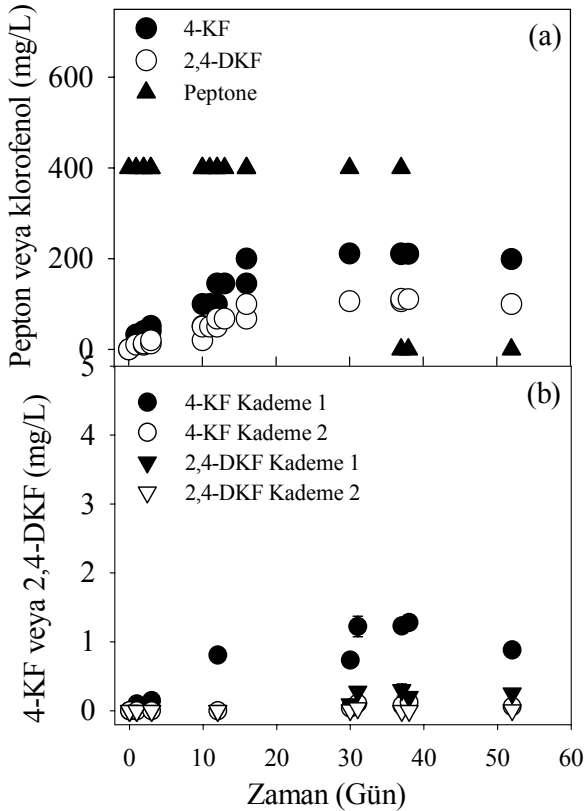
aktör 400 mg/L pepton, 200mg/L 4-KF ve 100 mg/L 2,4-DKF ile beslendiği durumda giriş KOİ konsantrasyonu 915±13 mg/L, çıkış KOİ konsantrasyonu ise 17±2 mg/L olarak ölçülmüştür. Kısa zamanda reaktörün tekrar aklime olarak, yüksek klorofenol ve KOİ gideriminin gözlenmesi reaktörün 3.5 ay boyunca pepton ile beslenmesine rağmen aklime olmuş bakterilerin sistemden atılmayarak biyofilm şeklinde tutulmuş olduğunu göstermektedir. Tekrar aklimesasyon sürecinde, reaktör işletmesinin 37. gününde pepton konsantrasyonunun ani olarak 400 mg/L'den 0 mg/L'ye indirilmesinin reaktör performansı üzerine olumsuz bir etkisi gözlememiştir (Şekil 4). İşletmenin 52. gününde giriş KOİ konsantrasyonu 473±5 mg/L iken, reaktörün birinci ve ikinci kademesindeki KOİ çıkış konsantrasyonları sırasıyla 10 ve 7 mg/L olarak bulunmuştur.

Mikroorganizmaların sistemden atılarak yok olması direkt olarak sistemin çamur bekletme zamanı (SRT) ile ilişkili olup; ilgilenilen toksik organik maddenin giriş atık suyunda olmadığı durumda bu maddenin arıtılmasından sorumlu yararlı mikroorganizmaların yaklaşık %95'i üç SRT zamanında sistemden atılmaktadır (Grady vd., 1999). Dolayısıyla, klasik bir aktif çamur sisteminde ilgilenilen toksik maddenin giriş suyunda olmadığı durumda, bu maddenin arıtımından sorumlu yararlı mikroorganizmalar bir kaç hafta içinde kaybedilebilmekte ve söz konusu toksik maddenin ani olarak sistem girişinde belirmesi durumunda mikroorganizmaların yeniden aklimesasyonu gerekebilmektedir. Mevcut çalışmada; reaktörün 3.5 ay boyunca klorofenolsüz beslenmesine rağmen, sisteme klorofenol verilir verilmez arıtım başlamış ve çok kısa zamanda yüksek konsantrasyonlarda klorofenol giderilebilmiştir. Sistemin uzun bir süre pepton ile beslenmesine rağmen yararlı bakterilerin sistemden atılmayarak tutulmasının nedeni biyofilm reaktördeki yüksek SRT'den dolayı olduğu düşünülmektedir.

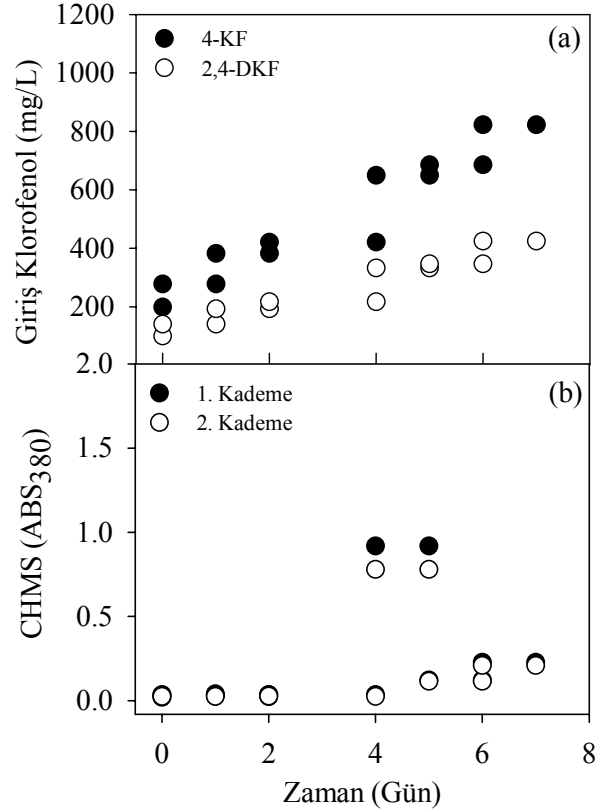
#### Şok klorofenol yüklemesinin DBD reaktör verimi üzerine etkisi

Reaktör giriş akımındaki 4-KF ve 2,4-DKF konsantrasyonları bir hafta içerisinde sırasıyla 822.7±1.4 mg/L ve 424.6±1.9 mg/L'ye yüksel-

tilmiştir (Şekil 5). Giriş klorofenol konsantrasyonları yükseltildikçe, çıkış klorofenol konsantrasyonları da doğrusal olarak artmıştır (Şekil 6). 2,4-DKF'ün 4-KF arıtımı üzerine yarışçıl inhibisyon etkisinden dolayı (Şahinkaya ve Dilek, 2006), her iki kademedeki 4-CP çıkış konsantrasyonları 2,4-DKF çıkış konsantrasyonlarından dört kat daha yüksektir. Giriş 4-KF 1000 mg/L'ye, 2,4-DKF 500 mg/L'ye yükseltildiğinde, klorofenol giderimi aniden düşmüş ve bakteriler tamamen inhibe edilerek klorofenol arıtımı tamamen durmuştur. Reaktörün birinci kademesinde gözlenen maksimum 4-KF giderim verimi 2305 mg/L.gün (18.3 g/m<sup>2</sup>.gün), maksimum 2,4-DKF giderim verimi ise 1202 mg/L.gün (9.5 g/m<sup>2</sup>.gün) olarak bulunmuştur. Reaktör eşit hacimli iki kademededen oluşup; toplam HRT 0.7 gün olduğundan, birinci kademedeki maksimum arıtım verimlerinin hesaplanmasında HRT 0.35 gün olarak alınmıştır.



Şekil 4. Giriş (a) ve çıkış (b) klorofenol konsantrasyonlarının DBD reaktörünün reaktimasyon süresince değişimi (sıfırinci gün; reaktörün 3.5 ay sadece pepton ile beslenmesinin ardından tekrar klorofenol ile beslenmeye başladığı zamanı göstermektedir)



Şekil 5. Şok yükleme süresince giriş klorofenol (a) ve çıkış CHMS konsantrasyonlarının (b) değişimi

Klorofenol konsantrasyonları artırıldıkça, reaktör çıkışında CHMS birikiminden dolayı sarımsı bir renk gözlenmiştir. Özellikle 4. ve 5. günlerde giriş klorofenol konsantrasyonları 650 mg/L 4-KF ve 333 mg/L 2,4-DKF iken, çıkış CHMS konsantrasyonunda bir artış gözlenmiş ve 380 nm'deki absorpsiyon değeri (ABS<sub>380</sub>) 1'e yaklaşmıştır (Şekil 5). Farrel ve Quilty (1999) tarafından verilen katsayı kullanılarak, 1'e karşılık gelen CHMS konsantrasyonu 3.8 mg/L olarak hesaplanmıştır. 650 mg/L 4-KF'ün hiç bir mineralizasyona uğramadan tamamen CHMS'e dönüştüğü durum için teorik CHMS konsantrasyonu 813 mg/L olarak hesaplanmıştır.

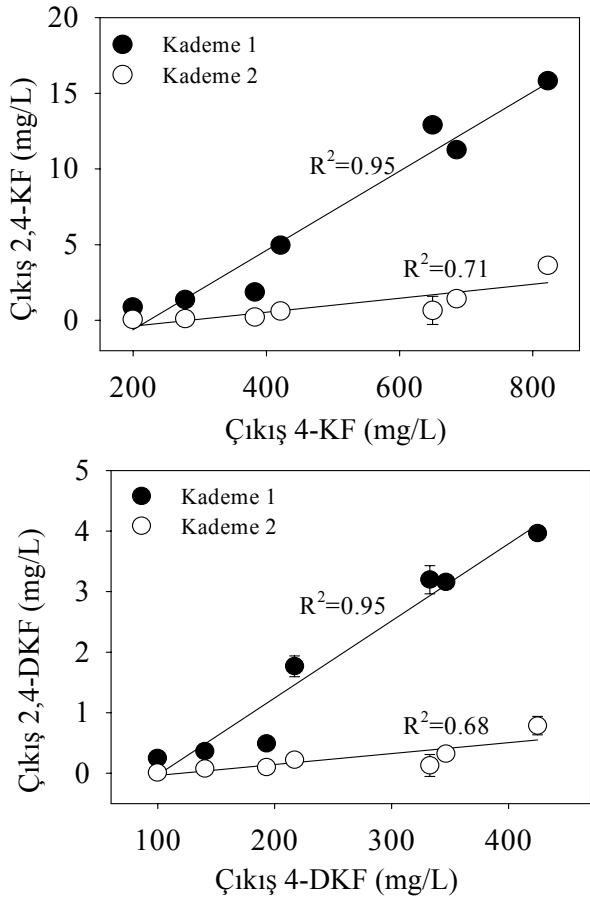
Dolayısıyla, teorik olarak hesaplanan CHMS'in önemli bir kısmı giderilmiş olup sadece %0.47'si reaktör çıkışında kalmıştır.

## Sonuçlar

Pepton, 4-KF ve 2,4-DKF içeren sentetik olarak hazırlanmış bir numunenin arıtımı, 5 rpm de iş-



letilen iki kademeli bir DBD reaktör ile araştırılmıştır. Ayrıca, pepton konsantrasyonunun klorofenol arıtımına hiç bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Reaktör işletimi boyunca, birinci kademede yüksek klorofenol (>% 98) ve KOİ (>% 94) giderimleri elde edilmiş olup, reaktörün ikinci kademesi, kalan az miktardaki KOİ ve klorofenol arıtımı için kullanılmıştır. Aklimasyon periyodundan sonra yapılan izolasyon ve belirleme çalışmaları, karışık kültürde *Pseudomonas sp.* ve *Pseudomonas stutzeri*'nin baskın olduğunu göstermiştir. Reaktörün 260 gün boyunca klorofenol içeren sentetik numune ile beslenmesini takiben 3.5 ay boyunca klorofenolsüz olarak sadece pepton ile beslenmesine rağmen, kısa zamanda (16 gün) 200 mg/L 4-KF ve 100 mg/L 2,4-DKF içeren numuneye aklime olmuştur. Ayrıca, reaktör giriş akımından peptonun aniden çekilmesi de reaktör performansını olumsuz yönde etkilememiştir.



Şekil 6. Şok klorofenol yüklemesi süresince DBD reaktör çıkışında klorofenol konsantrasyonlarının değişimi

Şok 4-KF ve 2,4-DKF yüklemesi sırasında, giriş konsantrasyonları bir hafta içinde sırasıyla  $822.7 \pm 1.4$  ve  $424.6 \pm 1.9$  mg/L'ye kadar yükseltilmiş ve sistem performansında olumsuz bir değişiklik gözlenmemiştir. Reaktörün birinci kademesinde ölçülen maksimum klorofenol giderim hızları ise; 2305 mg 4-KF/L.gün ( $18.3$  g 4-KF/m<sup>2</sup>.gün) ve 1202 mg 2,4-DKF/L.gün ( $9.5$  g 2,4-DKF/m<sup>2</sup>.gün) olarak belirlenmiştir.

## Kaynaklar

- Bali, U. ve Şengül, F. (2002). Performance of a fed-batch reactor treating a wastewater containing 4-chlorophenol, *Process Biochemistry*, **37**, 1317-1323.
- Chen, J., Rulkens, W.H. ve Bruning, H. (1997). Photochemical elimination of phenols and COD in industrial wastewaters, *Water Science and Technology*, **35**, 231-238.
- Contrerasa, S., Rodriguez, M., Al Momania, F., Sansa, C. ve Esplugasa, S. (2003). Contribution of the ozonation pre-treatment to the biodegradation of aqueous solutions of 2,4-dichlorophenol, *Water Research*, **37**, 3164-3171.
- Eker, S. ve Kargi, F. (2006). Impacts of COD and DCP loading rates on biological treatment of 2,4-dichlorophenol (DCP) containing wastewater in a perforated tubes biofilm reactor, *Chemosphere*, **64**, 1609-1617.
- Farrell, A. ve Quilty, B. (1999). Degradation of mono-chlorophenols by a mixed community via a meta-cleavage pathway, *Biodegradation*, **10**, 353-362.
- Grady, C.P.L. Jr., Daigger, G.T. ve Lim, H.C. (1999). *Biological Wastewater Treatment*, 2<sup>nd</sup> Edition, Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- HACH, (1992). *Water Analysis Handbook*, 2<sup>nd</sup> ed., Loveland, HACH Company.
- Hao, O.J., Kim, M.H., Seagren, E.A, Kim, H. (2002). Kinetics of phenol and chlorophenol utilization by *Acinetobacter* species, *Chemosphere*, **46**, 797-807.
- Hill, G.A., Milne, B.J. ve Nawrocki, P.A. (1996). Cometabolic degradation of 4-chlorophenol by *Alcaligenes eutrophus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **46**, 163-168.
- Hu, Z., Ferraina, R.A., Ericson, J.F. ve Smets, B.F. (2005). Effect of long-term exposure, biogenic substrate presence, and electron acceptor conditions on the biodegradation of multiple substituted benzoates and phenolates, *Water Research*, **39**, 3501-3510.

- Kargi, F. ve Eker, S. (2006a). Effect of sludge age on performance of an activated sludge unit treating 2,4 dichlorophenol-containing synthetic wastewater, *Enzyme and Microbial Technology*, **38**, 60-64.
- Kargi, F. ve Eker, S. (2006b). COD, par-chlorophenol and toxicity removal from par-chlorophenol containing synthetic wastewater in an activated sludge unit, *Journal of Hazardous Materials*, **132**, 226-231.
- Kargi, F. ve Uygur, A. (1997). Biological treatment of saline wastewater in a rotating biodisc contactor by using halophilic organisms, *Bioprocess Engineering*, **17**, 81-85.
- Kim, M.H. ve Hao, O.J. (1999). Cometabolic degradation of chlorophenols by *Acinetobacter* species, *Water Research*, **33**, 562-574.
- Mangat, S. ve Elefsiniotis, P. (1999). Biodegradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in sequencing batch reactors, *Water Research*, **33**, 861-867.
- Metcalf and Eddy (1991). *Wastewater engineering*, New York: McGraw-Hill.
- Puhakka, J.A. ve Jarvinen, K. (1992). Aerobic Fluidized-Bed Treatment of Polychlorinated Phenolic Wood Preservative Constituents, *Water Research*, **26**, 765-770.
- Radwan, K.H. ve Ramanujam, T.K. (1997). Studies on organic removal of 2,4-dichlorophenol wastewaters using modified RBC, *Bioprocess Engineering*, **16**, 219-223.
- Saéz, P.B. ve Rittmann, B.E. (1991). Biodegradation kinetics of 4-chlorophenol, an inhibitory cometabolite, *Research Journal of Water Pollution Control Federation*, **63**, 838-847.
- Saéz, P.B. ve Rittmann, B.E. (1993). Biodegradation kinetics of a mixture containing a primary substrate (phenol) and an inhibitory co-metabolite (4-chlorophenol), *Biodegradation*, **4**, 3-21.
- Sahinkaya, E. ve Dilek, F.B. (2002). Effects of 2,4-Dichlorophenol on activated sludge, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **59**, 361-367.
- Sahinkaya, E. ve Dilek, F.B. (2005). Biodegradation of 4-chlorophenol by acclimated and unacclimated activated sludge-evaluation of biokinetic coefficients, *Environmental Research*, **99**, 243-252.
- Sahinkaya, E. ve Dilek, F.B. (2006). Effect of biogenic substrate concentration on the performance of sequencing batch reactor treating 4-CP and 2,4-DCP mixture, *Journal of Hazardous Materials*, **128**, 258-264.
- Shieh, B.W.K., Puhakka, J.A., Melin, E. ve Tuhkanen, T. (1990). Immobilized-cell degradation of chlorophenols, *Journal of Environmental Engineering*, **116**, 683-697.
- Surampalli, R.Y. ve Baumann, E.R. (1997). Role of supplemental aeration in improving overloaded first-stage RBC performance, *Water, Air, and Soil Pollution*, **98**, 1-15.
- Swaminathan G. ve Ramanujam T.K. (1999). Effect of substrate concentration on biodegradation of 2,4-dichlorophenol using modified rotating biological contactors, *Bioprocess Engineering*, **21**, 169-173.
- Tarighian, A., Hill, G., Headley, J. ve Pedras, S. (2003). Enhancement of 4-chlorophenol biodegradation using glucose, *Clean Techn. Environmental Policy*, **5**, 61-65.
- Uysal, A. ve Turkman, A. (2005). Effect of biosurfactant on 2,4-dichlorophenol biodegradation in an activated sludge bioreactor, *Process Biochemistry*, **40**, 2745-2749.
- Wang, S.J. ve Loh, K.C. (1999). Facilitation of cometabolic degradation of 4-chlorophenol using glucose as an added growth substrate, *Biodegradation*, **10**, 261-269.
- Wang, S.J. ve Loh, K.C. (2000). New cell growth pattern on mixed substrates and substrate utilization in cometabolic transformation of 4-chlorophenol, *Water Research*, **34**, 3786-3794.
- Wang, S.J. ve Loh, K.C. (2001). Biotransformation kinetics of *Pseudomonas putida* for cometabolism of phenol and 4-chlorophenol in the presence of sodium glutamate, *Biodegradation*, **12**, 189-199.