

**ATIK SU ARITMA SİSTEMLERİNDE
MİKROBİYAL KOMMUNİTE ANALİZİ
VE BİYODEGRADASYON
POTANSİYELLERİNİN TESPİTİ**

Doktora Tezi

Nilgün POYRAZ

Eskişehir, 2018

**ATIK SU ARITMA SİSTEMLERİNDE MİKROBİYAL KOMMUNİTE
ANALİZİ VE BİYODEGRADASYON POTANSİYELLERİNİN TESPİTİ**

Nilgün POYRAZ

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Burçin MUTLU

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Nisan, 2018

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1504F169 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Nilgün POYRAZ'ın "Atık Su Arıtma Sistemlerinde Mikrobiyal Kommünite Analizi ve Biyodegradasyon Potansiyellerinin Tespiti" başlıklı tezi .../.../2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyoloji Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	:
Üye	:
Üye	:
Üye	:
Üye	:

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

ATIK SU ARITMA SİSTEMLERİNDE MİKROBİYAL KOMMUNİTE ANALİZİ VE BİYODEGRADASYON POTANSİYELLERİNİN TESPİTİ

Nilgün POYRAZ

Biyoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nisan 2018

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Burçin MUTLU

Çalışma kapsamında belediyeye ait ve endüstriyel atık su arıtma tesisleri olmak üzere iki farklı tip atık su arıtma tesisinden mevsimsel olarak örnekleme yapılmış ve farklı operasyonel ünitelerden 40 örnek alınmıştır. Alınan örneklerden pH, biyolojik oksijen ihtiyacı gibi ölçümler, elementel analiz ve mezofilik bakteri sayımı yapılmıştır. Ortamdaki mikrobiyal çeşitliliği belirlemek amacıyla kültür bağımlı ve kültür bağımsız deneyler tasarlanmıştır. Kültür bağımlı çalışmalar kapsamında tesislerdeki fenol degradasyonu yapan mikroorganizmalar araştırılmıştır. Kültür bağımsız yöntemler kapsamında ise ortamın mikrobiyal çeşitliliğini ortaya çıkarmak için fluoresan in situ hibridizasyon (FISH) deneyleri yapılmış ve PCR ile 16S rRNA V₃-V₄ gen bölgeleri çoğaltılmış ve Illumina MiSeq ve ile Roche 454 GS FLX + / Junior platformları ile dizilenmiştir. Elde edilen veriler QIIME ve ChunLab CL Community programları kullanılarak analiz edilmiştir.

Elementel analiz sonuçları, farklı ünitelerden alınan su örneklerinin elemental kompozisyonunun farklı olduğunu ortaya koymuş, pH değerlerinin ise havalandırma ünitelerinde sabit diğer ünitelerde ise değişken olduğu belirlenmiştir. Kültür bağımlı çalışmalar kapsamında izole edilen ve fenol degrade edebilme yeteneği bulunan izolatların genellikle *Pseudomonas* türleri olduğu tanımlanmıştır. Kültür bağımsız çalışmalar kapsamında taksonomik kompozisyonu incelemek için gerçekleştirilen 16S rRNA amplikon dizileme analizleri sonucu tesislerin kompozisyonun örnekleme dönemine göre değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca belediyeye ait ve endüstriyel atık su arıtma tesislerinin taksonomik kompozisyonun da son derece farklı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. FISH analizi sonucu da yoğun olarak tüm örneklerde Bacteria domaini üyeleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Atık su, Fluoresan In Situ Hibridizasyon (FISH), biyodegradasyon, fenol, mikrobiyal çeşitlilik

ABSTRACT

MICROBIAL COMMUNITY ANALYSIS IN WASTE WATER TREATMENT SYSTEM AND DETERMINATION OF BIODEGRADATION POTENTIALS OF THESE COMMUNITIES

Nilgun POYRAZ

Department of Biology Programme

Anadolu University, Graduate School of Science, April 2018

Supervisor: Associate Professor Mehmet Burcin MUTLU

Within the scope of the study, two different types of wastewater treatment plants, namely municipal and industrial wastewater treatment plants, were seasonally sampled and 40 samples were taken from different operational units. Measurements such as pH, biological oxygen demand, elemental analysis and mesophilic bacteria counts were performed on the samples. Culture-dependent and culture-independent experiments were designed to determine the microbial diversity in the wastewater treatment plants. Culture-dependent studies have been carried out to investigate the microorganisms that degrade the phenol in the plants. As culture-independent methods, to elucidate the microbial diversity of the environment in detail, fluorescence in situ hybridization (FISH) experiments were performed and the 16S rRNA V3-V4 gene regions were amplified by PCR and sequenced with Illumina MiSeq and Roche 454 GS FLX + / Junior platforms. The obtained data were analyzed using QIIME and ChunLab CL Community programs.

The results of the elemental analyzes indicated that the elemental values of the different units of the two plants were different and that the pH values are fixed in the aeration tanks and variable in the other units. It has been determined that isolates isolated in culture dependent studies and capable of phenol degrade are generally *Pseudomonas* species. 16S rRNA amplicon sequencing assays performed to study microbial populations within culture-independent studies have determined that the composition of the resulting plants changes with the sampling period. Furthermore, the taxonomic composition of municipal and industrial wastewater treatment plants is also very different. The result of FISH analysis was also extensively determined for Bacteria domain members in all samples.

Keywords: Wastewater, FISH (Fluorescence In Situ Hybridization), biodegradation, phenol, microbial diversity

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak hazırlamış olduğum bu çalışma, atık su arıtma sistemlerindeki farklı operasyonel ünitelerin mikrobiyal çeşitliliğinin mevsimsel olarak değerlendirilmesini kapsamaktadır. Bu çalışma çerçevesinde ayrıca biyodegradasyon üzerine de çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmanın ortaya çıkmasında bana öncülük eden, deneysel çalışmalar sırasında yönlendirmeleriyle bana yol gösteren, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Danışmanım Doç. Dr. Mehmet Burçin MUTLU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında atık su örneklerinin sağlanmasında bana destek olan atık su arıtma tesislerinin yetkililerine sağladıkları yardımlar ve verdikleri bilgiler için teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince ilgi ve desteklerini benden esirgemeyen Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ndeki tüm hocalarıma, desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma teşekkür ederim

Doktora çalışmam süresince desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her an yanımda hissettiğim değerli eşime ve beni bugünlere getiren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nilgün POYRAZ

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Nilgün POYRAZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Atık su Kavramı.....	2
1.1.1. Evsel ve endüstriyel atık su.....	3
1.2. Atık Su Arıtımı Önemi ve Tarihi.....	4
1.3. Atık Su Arıtım Yöntemleri.....	5
1.3.1. Ön arıtım	6
1.3.1.1. Eleme	6
1.3.1.2. Kum tutucu	6
1.3.1.3. Debi ölçümü.....	6
1.3.1.4. Dengeleme/Pompalama	7
1.3.2. Birincil arıtım.....	7
1.3.3. İkincil arıtım	7
1.3.4. Dezenfeksiyon	8
1.3.5. Akış ölçümü.....	8
1.3.6. Katı işlenmesi	8
1.4. Atık Su Arıtımında İş Gören Organizmalar	9
1.4.1. Atık sulardaki ökaryot organizmalar	10
1.4.1.1. Funguslar	10
1.4.1.2. Protozoa	10
1.4.1.3. Rotiferler ve nematodlar	10
1.4.2. Atık su arıtımının mikrobiyal ekolojisi	11

1.4.2.1. Aktif çamur prosesi, önemli abiyotik ve biyotik faktörler	12
1.4.2.2. Anaerobik çürütücü, önemli abiyotik ve biyotik faktörler	12
1.4.2.3. Habitatlar ve nişler	13
1.4.2.4. Rekabet	14
1.4.2.5. Simbiyotik ilişkiler	15
1.4.2.6. Av-avcı ilişkisi	15
1.4.3. Bakteriler	15
1.4.3.1. Bakteri gelişimini etkileyen faktörler	15
1.4.3.2. pH	16
1.4.3.3. Sıcaklık	16
1.4.3.4. Moleküler oksijen için yanıt	17
1.4.3.5. Bakteri grupları	18
1.5. Türkiye’de Atık Su Arıtma Tesislerinin Durumu	25
1.6. Eskişehir’deki Atık Su Arıtma Tesislerinin Durumu	26
1.6.1. Belediye’ye ait atık su arıtma tesisleri	26
1.6.2. Endüstriyel atık su arıtma tesisleri	27
1.7. Biyodegradasyon	28
1.8. Fenol Degradasyonu	29
1.8.1. Aerobik fenol degradasyonu	30
1.8.1.1. Fenol hidroksilaz enzimi	30
1.8.2. Anaerobik fenol degradasyonu	31
1.9. Atık Su Arıtım Sistemlerinde Mikrobiyal Çeşitliliğin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	31
1.9.1. FISH	32
1.9.2. DGGE (Denatüre Edici Gradyent Jel Elektrofrezisi)	33
1.9.3. 16S rDNA’nın klonlanması	33
1.9.4. Yeni nesil dizileme yaklaşımları	34
1.9.4.1. Metagenomik	36
1.10. Literatür Özeti	37
1.10.1. Dünya’da yapılan çalışmalar	37
1.10.2. Ülkemizde yapılan çalışmalar	40

2. MATERYAL ve METOT	42
2.1. Materyal	42
2.1.1. Kullanılan kimyasallar	42
2.1.2. Kullanılan besiyerleri	43
2.1.2.1. MSM (Mineral Salt Medium)besiyeri (1 litre için)	43
2.1.2.2. Plate count agar (PCA) besiyeri	43
2.1.3. Kullanılan çözeltiler	43
2.1.3.1. TAE 50X (1 litre için)	43
2.1.3.2. TBE 5X (1 litre için)	44
2.1.3.3. Elektroforez için yükleme boyası (6X)	44
2.1.3.4. Total nükleik asit ekstraksiyonu için ekstraksiyon tamponu	44
2.1.3.5. %10 SDS solüsyonu	44
2.1.3.6. PBS 10X	44
2.1.3.7. In situ hibridizasyon tamponu	45
2.1.3.8. FISH için yıkama tamponu	45
2.1.4. Kullanılan primerler ve probalar	45
2.2. Metot	45
2.2.1. Örneklerin toplanması	45
2.2.2. Örneklerin BOİ, pH değerleri ile elementel içeriklerinin belirlenmesi	50
2.2.3. Mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi	51
2.2.3.1. Kültür bağımlı yöntemler	51
2.2.3.2. Kültür bağımsız yöntemler	54
2.2.3.3. Metagenomik analizler	57
3. BULGULAR	58
3.1. Örneklerin pH Değerlerinin Belirlenmesi	58
3.2. Örneklerin BOİs Değerlerinin Belirlenmesi	58
3.3. Örneklerin ICP Sonuçları	59
3.4. Toplam Mezofilik Bakteri Sayımı	61
3.5. Kültür Bağımlı Yöntemler	62
3.5.1. Örneklerin kültüre alınması	62
3.5.2. İzolatlardan DNA ekstraksiyonu	64

3.5.3.	16S rRNA geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonu	64
3.5.4.	Fenol degrade eden bakterilerin belirlenmesi	70
3.5.5.	16S rRNA geni amplifikasyonu ürünlerinin enzimatik kesimi (ARDRA).....	76
3.5.6.	Dizi analizi sonuçları	79
3.5.7.	Dizilenen izolatların dizilerinin NCBI GenBank sistemine yüklenmesi ve numara alınması.....	82
3.5.8.	Dizi analizi sonucu tanımlanan izolatların tür dağılımlarının mevsim ve tesis tipine göre değerlendirilmesi	83
3.6.	Kültür Bağımsız Yöntemler	87
3.6.1.	Örneklerden toplam DNA ekstraksiyonu	87
3.6.2.	Total DNA'dan 16S rRNA geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonu.....	88
3.6.3.	Fonksiyonel genlerin belirlenmesi.....	93
3.6.3.1.	Total DNA'dan fenol degradasyon genlerinin belirlenmesi için PZR kurulması.....	93
3.6.4.	Metagenomik analizler.....	94
3.6.4.1.	<i>Aerobik atık su arıtma sistemlerinde mikrobiyal çeşitlilik analizi</i>	<i>97</i>
3.6.4.2.	<i>Anaerobik atık su arıtma sistemlerinde mikrobiyal çeşitlilik analizi</i>	<i>142</i>
3.6.5.	Floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve DAPI (4',6'-diamidino-2-fenilindol-dihidroklorur) boyama	146
4.	TARTIŞMA SONUÇ VE ÖNERİLER.....	158
4.1.	Atık sularda pH, BOD, Bazı Elementler ve Toplam Mezofilik Bakteri Sayısı Parametrelerinin Değerlendirilmesi	158
4.2.	Kültür Bağımlı Çalışmalar.....	164
4.3.	Kültür Bağımsız Çalışmalar	169
4.3.1.	Aerobik arıtım yapan sistemlerdeki mikrobiyal çeşitliliğin değerlendirilmesi.....	169
4.3.2.	Anaerobik çürütücüdeki mikrobiyal çeşitliliğin değerlendirilmesi.....	180

4.3.3. FISH sonuçlarının yorumlanması.....	184
KAYNAKÇA	195
ÖZGEÇMİŞ	

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Kullanılan kimyasallar	42
Tablo 2.2. Mineral Salt Medium hazırlanışı	43
Tablo 2.3. TAE 50X hazırlanışı	43
Tablo 2.4. TBE 5X hazırlanışı	44
Tablo 2.5. Elektroforez için yükleme boyası hazırlanışı.....	44
Tablo 2.6. Total nükleik asit ekstraksiyonu için ekstraksiyon tamponu hazırlanışı	44
Tablo 2.7. %10 SDS solüsyonu hazırlanışı	44
Tablo 2.8. PBS 10X hazırlanışı.....	44
Tablo 2.9. In situ hibridizasyon tamponu hazırlanışı.....	45
Tablo 2.10. FISH için yıkama tamponu hazırlanışı	45
Tablo 2.11. Kullanılan primerler ve problara ait özellikler	45
Tablo 2.12. Örnekleme noktaları ve örnek alım tarihleri.....	46
Tablo 2.13. PZR karışımının hazırlanması	52
Tablo 2.14. Bacter 50 reaksiyon koşulları	52
Tablo 2.15. Fenol hidroksilaz geni spesifik PZR reaksiyon koşulları	53
Tablo 3.1. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları ve pH değerleri.....	58
Tablo 3.2. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları ve pH değerleri.....	58
Tablo 3.3. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi BOİ değerleri.....	58
Tablo 3.4. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi BOİ değerleri.....	59
Tablo 3.5. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi 4 mevsim için ICP verileri.....	59
Tablo 3.6. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi 4 mevsim için ICP verileri	60
Tablo 3.7. 37°C inkübasyon sonrası Belediye Atık Su Arıtma tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları	61
Tablo 3.8. 22°C inkübasyon sonrası Belediye Atık su Arıtma Tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları	62
Tablo 3.9. 37°C inkübasyon sonrası Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları.....	62
Tablo 3.10. 22°C inkübasyon sonrası Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları.....	62
Tablo 3.11. Fenollü besiyerinden saflaştırılan izolatlarla ait profillerinden elde edilen dizi analizi sonuçları	80

Tablo 3.12. NCBI GenBank veritabanına yüklenen izolatlar ve atanan GenBank numaraları	82
Tablo 3.13. Metagenomik analiz için yaz mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları.....	95
Tablo 3.14. Metagenomik analiz için sonbahar mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları.....	95
Tablo 3.15. Metagenomik analiz için kış mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları.....	96
Tablo 3.16. Metagenomik analiz için ilkbahar mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları.....	96
Tablo 3.17. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	151
Tablo 3.18. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	152
Tablo 3.19. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	152
Tablo 3.20. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları.....	153
Tablo 3.21. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	153
Tablo 3.22. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik ünite DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları.....	154
Tablo 3.23. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	154
Tablo 3.24. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	155
Tablo 3.25. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	155
Tablo 3.26. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları	156
Tablo 4.1. Karışık endüstriyel atıksuların deşarj limitleri.....	162
Tablo 4.2. Farklı çalışmalardan fenol degrade eden bakteriler	166

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Tipik bir evsel atık suyun yaklaşık kompozisyonu	2
Şekil 1.2. Atık su arıtım basamakları	9
Şekil 1.3. Aktif bir çamur besin ağı yoluyla karbon ve enerjinin transferi	12
Şekil 1.4. Anaerobik bir çürütücüde asetojenik(asetat oluşturan) bakterilerin rolü	19
Şekil 2.1. Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi.....	46
Şekil 2.2. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları	47
Şekil 2.3. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları	47
Şekil 2.4. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi giriş ve kum yağ tutucu ünitesi	48
Şekil 2.5. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ve havalandırma ünitesi	48
Şekil 2.6. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir çamur ve son çökeltim ünitesi	49
Şekil 2.7. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü.....	49
Şekil 2.8. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ve ön çökeltim ünitesi.....	49
Şekil 2.9. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ve son çökeltim ünitesi.....	50
Şekil 2.10. Oxitop BOİ ölçüm şişeleri.....	50
Şekil 3.1. Eskişehir Atıksu Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden saflaştırılan izolatlar	63
Şekil 3.2. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü.....	64
Şekil 3.3. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü	65
Şekil 3.4. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü	65
Şekil 3.5. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü (1-23 arası).....	66
Şekil 3.6. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü (24-39 arası).....	66
Şekil 3.7. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü	67
Şekil 3.8. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü (1-9 arası)	67

Şekil 3.9. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü (10-28) arası	68
Şekil 3.10. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel Görüntüsü (29-36) arası	68
Şekil 3.11. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR Jel görüntüsü	68
Şekil 3.12. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi(İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden izolatlar 16 S PZR Jel Görüntüsü.....	69
Şekil 3.13. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların Fenol Hidroksilaz Geni PZR Jel Görüntüsü	70
Şekil 3.14. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü.....	71
Şekil 3.15. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü.....	72
Şekil 3.16. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü.....	73
Şekil 3.17. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü	73
Şekil 3.18. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi(Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü.....	74
Şekil 3.19. Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü	74
Şekil 3.20. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü.....	75
Şekil 3.21. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden izole edilen izolatlara ilişkin PZR verileri.....	75
Şekil 3.22. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden izole edilen izolatlara ilişkin PZR verileri.....	76
Şekil 3.23. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü	77
Şekil 3.24. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü.....	77

Şekil 3.25. Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü.....	78
Şekil 3.26. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü	78
Şekil 3.27. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü.....	79
Şekil 3.28. Fenollü besiyerinden dizilenen izolatlar (Tesis tipi ve mevsime göre).....	84
Şekil 3.29. Her iki tesisten elde edilen ve fenol degrade eden türlerin dağılımı	85
Şekil 3.30. Taksonomik olarak fenol degrade eden bakterilerin dağılımı.....	85
Şekil 3.31. Fenol degrade eden bakteriler filogenetik ağaç.....	86
Şekil 3.32. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (1.Örnekleme) 2-4-6-8 ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) 1-2-3-4-5-6 numaralı örneklemelerden, Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) 4-5-6 ve 7 numaralı örneklemelerden total DNA ekstraksiyonu.....	87
Şekil 3.33. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu jel görüntüsü.....	87
Şekil 3.34. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu jel görüntüsü	88
Şekil 3.35. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu jel görüntüsü	88
Şekil 3.36. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi örnekleme) 2-4-6 ve 8 numaralı örneklemelerden total DNA'dan 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü.....	89
Şekil 3.37. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi örnekleme) 1-3-5-7-8 ve 9 numaralı örneklemelerden total DNA'dan 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü.....	89
Şekil 3.38. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi(Yaz mevsimi örnekleme) 1-2-3-4-5 ve 6 numaralı örneklemelerden total DNA'dan 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü.....	89
Şekil 3.39. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü	90

Şekil 3.40. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü	90
Şekil 3.41. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü	91
Şekil 3.42. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü	91
Şekil 3.43. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü	92
Şekil 3.44. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi) 1-2-3-4-5-6-7-8 ve 9 numaralı örnekleme noktalarından ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (yaz mevsimi) 1-2-3-4-5 ve 6 numaralı örnekleme noktalarından total DNA'dan fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü	93
Şekil 3.45. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi) 1-2-3-4-5-6 numaralı örnekleme noktalarından ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi) 1-2-3 ve 4 numaralı örnekleme noktalarından total DNA'dan fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü	93
Şekil 3.46. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik.....	98
Şekil 3.47. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik.....	99
Şekil 3.48. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	102
Şekil 3.49. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	103
Şekil 3.50. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik.....	105
Şekil 3.51. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik.....	106

Şekil 3.52. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	108
Şekil 3.53. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	109
Şekil 3.54. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi	111
Şekil 3.55. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi.....	112
Şekil 3.56. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	113
Şekil 3.57. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	114
Şekil 3.58. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	115
Şekil 3.59. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	116
Şekil 3.60. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	117
Şekil 3.61. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	118
Şekil 3.62. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	119
Şekil 3.63. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	120
Şekil 3.64. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	122
Şekil 3.65. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	123
Şekil 3.66. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	126
Şekil 3.67. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	126

Şekil 3.68. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	127
Şekil 3.69. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik.....	128
Şekil 3.70. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	130
Şekil 3.71. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik	130
Şekil 3.72. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi	131
Şekil 3.73. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi.....	132
Şekil 3.74. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi	133
Şekil 3.75. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi.....	134
Şekil 3.76. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi	135
Şekil 3.77. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi.....	136
Şekil 3.78. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi	137
Şekil 3.79. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi.....	138
Şekil 3.80. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nin havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde karşılaştırılması	139
Şekil 3.81. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi	144
Şekil 3.82. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi.....	145
Şekil 3.83. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Kum Tutucu EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	146

Şekil 3.84. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Kum Tutucu EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	147
Şekil 3.85. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Ön çökeltim EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	147
Şekil 3.86. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Ön çökeltim EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	148
Şekil 3.87. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Havalandırma EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	148
Şekil 3.88. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Havalandırma EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	149
Şekil 3.89. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Geri Devir EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	149
Şekil 3.90. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Son çökeltim EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	150
Şekil 3.91. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Son çökeltim EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	150
Şekil 3.92. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Anaerobik EUB-338 probu ve DAPİ boyama.....	151
Şekil 3.93. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi EUB-338 probu ve DAPİ boyama sonucu gözlemlenen çeşitli morfolojilerde hücreler	156

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

(NH₄)₂SO₄	: Amonyum sülfat
16S rRNA	: 16S ribosomal Ribo Nükleik Asit
ARDRA	: Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
BOİ₅	: Biyolojik Oksijen İhtiyacı
Ca⁺²	: Kalsiyum
CaCl₂	: Kalsiyum klorid
cfu/ml	: colony forming unit/milliliter
CH₃COO⁻	: Asetat
CH₄	: Metan
CO₃²⁻	: Karbonat
CTAB	: Cetil Trimetil Ammonyum Bromid
DAPI	: 4', 6'-diamidino-2-fenilindol-dihidroklorür
DGGE	: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
FISH	: Floresan In Situ Hibridizasyon
g	: gram
HCO₃⁻	: Bikarbonat
HRT	: Hidrolik Tutma Süresi
ICP	: Inductively Coupled Plasma
K⁺	: Potasyum
K₂HPO₄	: Dipotasyum Fosfat
KH₂PO₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
mg/L	: miligram/litre
Mg⁺²	: Magnezyum
MgCl₂	: Magnezyum klorid
ml	: mililitre
MSM	: Mineral Salt Medium
Na⁺	:Sodyum
NaCl	:Tuz (sodyum klorür)
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
ng/µl	: nanogram/microliter
NH₄⁺	: Amonyak

NO₂⁻	: Nitrit
NO₃⁻	: Nitrat
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PCA	: Plate Count Agar
ppm	: parts per million
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QIIME	: Quantitative Insights Into Microbial Ecology
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SO₄²⁻	: Sülfat
SS	: Standart Sapma
TAE	: Tris-Asetik asit-EDTA
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA
µl	: mikrolitre

1. GİRİŞ

Hızlı nüfus artışı ve sanayileşmenin etkisiyle atık su miktarı oldukça artmış durumdadır. Bu durum ekolojik dengeyi olumsuz etkileyeceğinden atık su arıtma ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Bu yüzden atık su arıtma yöntem ve sistemleri kritik öneme sahiptir. Organik kirleticilerin uzaklaştırılması için en etkin yöntemin “biyolojik arıtma” olduğu söylenebilir. Biyolojik arıtma atık suyun içinde bulunan askıda veya çözünmüş organik maddelerin bakterilerce parçalanması ve çökebilen biyolojik floklarla sıvının içinde kalan veya gaz olarak atmosfere kaçan sabit inorganik bileşiklere dönüşmesidir. Bu proseste mikroorganizmaların rolü oldukça büyüktür. Buradaki mikroorganizmalar ve sahip oldukları özelliklerin (biyodegradasyon yapabilme gibi) belirlenmesi oldukça önem taşımaktadır.

Ancak ülkemizde yapılan çalışmalara baktığımızda aerobik ve anaerobik arıtma tesislerinde çeşitliğin belirlenmesine yönelik özellikle kültür bağımsız tekniklerle detaylı bir çalışma yapılmadığı belirlenmiştir. Arıtma tesislerindeki biyodegradasyon genleri ve bunu gerçekleştiren mikroorganizmalar bu derece önemli olmasına rağmen bu konulara yönelik detaylı çalışmalara rastlanmamıştır. Yapılan çalışma ile kültür bağımsız yöntemlerle hem aerobik hemde anaerobik arıtma yapan tesislerdeki mikrobiyal çeşitlilik mevsimsel olarak ortaya konmuştur.

Yapılan çalışma oldukça detaylı ve kapsamlı bir çalışma olması nedeniyle büyük bir öneme sahiptir. Atık su arıtma sistemlerinin barındırdığı zengin mikroorganizma ve bu mikroorganizmaların sahip olduğu özellikler biyoteknolojik alanda kullanılabilirliğe yön verecek bir ön çalışma niteliği taşımaktadır.

Yapılan çalışma ile evsel ve endüstriyel atıksu arıtma tesislerindeki mikrobiyal çeşitliliğin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

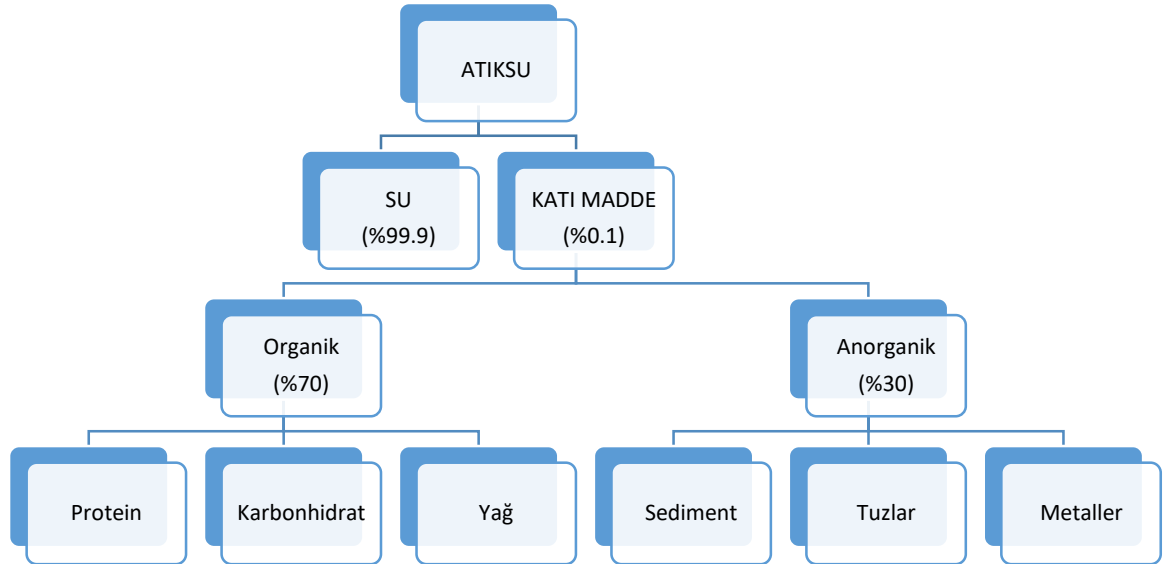
Ayrıca fenol biyodegradasyon genlerinin tespitine yönelik moleküler çalışmaların uygulanması ve bu genlere sahip mikroorganizmaların tanımlanması amaçlanmıştır. Biyodegradasyon genlerinin belirlenmesi çeşitli kimyasal kirleticileri kaldırma veya gidermede önemli bir rol oynadığı için biyoteknolojik olarak kullanım yaygınlaştırılmasına olanak verecektir.

1.1. Atık su Kavramı

Su iyi bir çözücü olması ve partikülleri taşıma kapasitesi gibi özellikleri dışında su kalitesini de karakterize eden çeşitli safsızlıkları içermektedir. Su kalitesi kavramı doğal olayların ve insan aktivitelerinin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Von Sperling, 2007).

İnsan faaliyetlerinden kaynaklanan atıkların üretimi kaçınılmazdır ve bu atıkların önemli bir bölümü atıksu olarak sonlanacaktır (Henze ve Comeau, 2008). Evsel atık sular Şekil 1.1.' de görüldüğü gibi % 99,9 oranında su içermektedir. Atık sudaki diğer kontaminantlar ise askıda katı maddeler, biyolojik olarak parçalanabilir çözülmüş organik bileşikler, anorganik maddeler, besinler, metaller ve mikroorganizmalardır. Atıksulardaki askıda katı maddeler feçes (dışkı), gıda atıkları ve tuvalet kağıdı atıklarından oluşan organik partiküllerdir. İnorganik maddeler ise yüzey sedimentleri ve toprağın yanı sıra tuzları ve metalleri de içermektedir.

Atık sulardaki biyolojik olarak parçalanabilir maddeler proteinler (aminoasitler), karbonhidratlar (şekerler, nişasta, selüloz) ve yağlardan oluşmaktadır. Bunların tümü karbon içermektedir ve biyolojik olarak karbondioksite dönüştürülebilir. Ayrıca proteinler azot içermektedir. Bu organik maddelerin atıksudan uzaklaştırılması gerekmektedir. Aksi takdirde oksijen tüketimine sebep olacaklardır (Templeton ve Butler, 2011).



Şekil 1.1. Tipik bir evsel atık suyun yaklaşık kompozisyonu (Templeton ve Butler, 2011)

Atık sulardaki organik madde miktarı ya Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ) yada Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) olarak ölçülür. BOİ atıksuyun organik kirliliğinin ölçülmesinde en yaygın kullanılan parametredir. BOİ organik materyalin biyokimyasal oksidasyonu sırasında mikroorganizmalar tarafından kullanılan çözünmüş oksijen miktarıdır.



1.1.1. Evsel ve endüstriyel atık su

Evsel atık sular, konut, ofis, ticari işletmeler, fabrikalar ve çeşitli kurumsal özellikleri olan ortamlardan deşarj edilen atıksulardır. Organik ve inorganik bileşenler ile birlikte yaklaşık % 99 su içeren bir karışımdır. Bu bileşenler veya kirleticiler, koloidal, çözünmüş ve askıda maddeleri kapsamaktadır. Evsel atıklar insan atıkları içerdiğinden aynı zamanda çok sayıda mikroorganizma içerir ve bunlardan bazıları patojenik olabilir. Kanalizasyon atıklarında kolera, tifo ve tüberküloz gibi su kaynaklı bakteriyel hastalık etmenleri bulunabilir. Viral hastalıklardan ise bulaşıcı hepatit içerebilir. İnorganik bileşikler klorürler ve sülfatlar, azot ve fosforun çeşitli formlarını ve aynı zamanda karbonatlar ve bikarbonatları içermektedir. Proteinler ve karbonhidratlar ise evsel atıksulardaki organik maddenin yaklaşık % 90'ını oluşturmaktadır. Bunlar banyo, dışkı, idrar, gıda atıkları ve çamaşır yıkamalardan kaynaklanmaktadır. Diğer sebepler arasında ise sabun, deterjan ve diğer temizlik ürünleri de bulunabilir (Jern ve Wei, 2006).

Evsel atık suların, sabah çalışma saatleri başlamadan önce ve akşam iş dönüşü olmak üzere tipik iki pik gösteren bir akış modeli vardır. Bu tipik hidrolik pikler daha küçük nüfus ve dolayısıyla daha küçük kanalizasyon şebekeleri olduğunda daha belirgin olmaktadır. Evsel atık suyun bileşimi, karbonlu bileşenleri ve besin ile ilgili denge açısından, biyolojik arıtım için oldukça rahat olacak şekildedir. Atık suyun biyodegrade edilebilirlik özelliği kimyasal oksijen ihtiyacı, biyolojik oksijen ihtiyacı, azot ve fosfor oranları belirlenerek tahmin edilebilir. Azot tipik olarak organik azot ve amonyum nitrat formunda bulunur. Fosfor (P) organik ve fosfat (PO₄) formlarının bir kombinasyonu olabilir. Evsel atıksuların pH değeri 6-9 aralığında olabilir ve bu, genel olarak, biyolojik işlemler için uygun olarak kabul edilir. Fakat sonuç olarak atığın karakteri komüniteler arasında varyasyonlar göstermektedir (Jern ve Wei, 2006).

Tarımsal sanayi de dahil olmak üzere endüstriyel atık suların kompozisyonları ise endüstri tipine ve işlenen malzeme türüne bağlı olarak değişir. Bu atıksuların bazıları,

kolayca biyolojik olarak parçalanabilen, organik yükü yüksek, büyük ölçüde inorganik veya potansiyel inhibitör içerikli olabilir. Eysel atıksuların aksine, 6-9 aralığının dışında pH değerlerine de sıkça rastlanır. Bu gibi atık sular çözünmüş metal tuzlarının yüksek konsantrasyonları ile ilişkilidir. Endüstriyel atık suların akış karakterleri evsel atıksulardan farklıdır. Bunun sebebi bir fabrikadaki işlemlerin farklı basamakları ve yapılan iş tipleridir. Akış paternini etkileyen bir önemli bir faktör de fabrikalarda işin vardiya şeklinde yapılmasıdır. Bu değişimler 8 saat veya 12 saatlik vardiyalar şeklinde olabildiği gibi günde üç vardiyaya kadar olabilir. Fabrikalar haftada 5-7 gün arasında çalışmaktadır. Dolayısıyla fabrika çalışmadığında hiç akış olmayabilir.

Eysel atıkların dar varyasyon oranının aksine endüstriyel atıksuların pek çok farklı özelliği olabilir. Hatta tek bir endüstri tipinin farklı lokasyonlardan gelen atık tipi bile farklılık gösterebilir. Bu farklılıkların nedeni burada kullanılan çalışma şekli ve hammadde tipleridir. Ayrıca atıksu tipi üretim yapılan zamanlar, atıksu deşarj edilen zamanlar ve normal deşarjları dışında deşarjlar gibi sebepler dolayısıyla değişiklik göstermektedir.

Sonuç olarak ön arıtım ve arıtım işlemleri için endüstriyel atıksuları değerlendirmek önemli bir basamağı oluşturmaktadır. Bazı durumlarda endüstriyel atık sular, ticari binalar ve konutlara hizmet veren bir kanalizasyon sistemine deşarj edilmektedir. Atıksuların bu kombinasyonu belediye atıksuları olarak bilinir ve bu atıksuların kalitesi karışan endüstriyel atıksuyun oranına ve endüstri tipine göre değişiklik gösterir (Jern ve Wei, 2006).

1.2. Atık Su Arıtımı Önemi ve Tarihi

Su bilinen tüm yaşam formları için hayati öneme sahiptir. Ancak kirlilik ve ekosistemin bozulması artarak devam etmektedir. Su kirliliği küreselleşme, artan savurgan yaşam şekli, nüfus artışı ve kentleşme sebebiyle küresel bir sorun haline gelmiştir. Biyolojik su arıtımı su kaynaklarının iyileşmesi yönünde büyük öneme sahiptir.

Atık su arıtımının tarihine baktığımızda Dünya'da ilk modern atık su tesisi, 1842 yılında Hamburg'da inşa edilmiş ve 12 yıl sonra da, 1855'de, Chicago'da, ilk kanalizasyonun yapımı gerçekleştirilmiştir. Tasfiye tesislerinin inşası ise 1870 yılından sonra yapılmıştır. 20. yüzyılın ortalarına doğru ise düzenlemeler ve devlet teşvikleri yönünde bir artış gerçekleşmiş ve 1948 yılında Amerika'da Federal Su Kirliliği ve Kontrol Yasası çıkarılmıştır (Yıldız ve ark., 2013).

19. yüzyılın ortalarında Avrupa’da kolera ve tifo gibi su kaynaklı hastalıklar ortaya çıkmıştır. Bu hastalıkların yayılması bazı şehirlerde kanalizasyon sistemlerinin yapılmasıyla sonuçlanmıştır. 19. yüzyıl sonlarında ise kentleşmiş bölgelerdeki fazla nüfus artışı nehirler ve göllerde ciddi kirliliğe yol açtığından atıksu arıtımı için bir talep ortaya çıkmıştır. Avrupa’da kullanılan ilk arıtma tesisleri basit ön arıtım sisteminden oluşmaktadır. Yaygın olarak büyük ölçekli biyolojik arıtma ve ikincil arıtma Avrupa’da 20. yüzyılın ikinci yarısında kurulmuştur. Atık su arıtımında hastalık önlemekten ötrifikasyonu önlemeye geçiş 1950’li yıllarda olmuştur. Azot, fosfor gibi besinler dikkat çekmeye başlamıştır. Fakat 1970’lere kadar dördüncül arıtım, besin giderimi gibi üniteler hala arıtma sistemlerine entegre edilmemiştir. Biyolojik azot giderimi ile birlikte fosfor presipitasyonu önde gelen bir teknik olmuştur. Biyolojik arıtma sistemlerinin kurulumuyla ilgili çalışmalar 20 yıl kadar daha sürdükten sonra 1980’lerde geliştirilmiş fosfor giderim işleminin (EBPR) bulunmasıyla sonuçlanmıştır (Anderson, 2009).

Artan miktarlarda atık su, daha sıkı deşarj düzenlemeleri ve modernize toplumda kentleşmiş bölgelerde alan eksikliği, biyolojik atık su arıtımı için alternatif yöntemlerin geliştirilmesini hızlandırmıştır. 80’li yıllarda biyofilm sistemleri üzerinde araştırmaların artması hem sabit hem de hareketli yataklı biyofilm reaktörler gibi çeşitli tasarımlar da dahil olmak üzere yenilikçi ve esnek süreçlerin geliştirilmesine yol açmıştır.

Son yirmi yılda, gelişmiş analitik araçlar yeni bir tür mikrokirleticilerin keşfine yol açmıştır. Bugün geniş ölçüde kullanılan aktif çamur sistemleri ve bu sistemlerin çeşitli versiyonları bu bileşiklerin gideriminde yeterli olamamaktadır. Mikrokirletici giderimi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler değerlendirilmekte ve geliştirilmektedir (Anderson, 2009).

Dünyanın çeşitli bölgelerinde standartlar ve atık su arıtma yöntemleri geliştirilmeye çalışılırken diğer taraftan alan yetersizliği ve daha kompleks atık sular ortaya çıkmaya başlamıştır. Su kaynaklı hastalık salgınları, ötrifikasyon ve mikrokirleticiler, gelişmemiş altyapı ve zayıf ekonomi ile birlikte küresel olan bu toplumsal sorunu çözmek için engel oluşturmaktadır. Bu yüzden verimli, düşük maliyetli ve az bakım gerektiren sistemler için eş zamanlı araştırmalar gerçekleştirilmelidir (Anderson, 2009).

1.3. Atık Su Arıtım Yöntemleri

Modern bir atık su arıtma tesisinde kullanılan işlemler çöken katı ve kolloidal partiküller halindeki maddeleri gidermek için tasarlanmıştır. Buna ek olarak, organik

çözünmüş katılar, yüksek oranda giderilir. Son olarak, patojen mikroorganizmaların sayısı su kaynaklı hastalıkların yayılmasını önlemek için azaltılır. Arıtma tesisi içindeki ayrı birimler patojen mikroorganizmaların sayısını azalttığı gibi farklı katı maddelerin giderilmesini de sağlar. Bütün atık su arıtma tesislerinde aynı üniteler bulunmamaktadır. Hangi tip arıtım metodunun kullanılacağını yer, ekonomi ve tarihsel durum etkilemektedir. Atık su arıtım yöntemleri aşağıda ve Şekil 1.2' de özetlenmiştir.

1.3.1. Ön arıtım

Atıksu arıtma tesisinde ön arıtım işlemi atık su tesise girerken yapılan işlemdir. Ön arıtım işlemleri eleme, kum giderimi, akış (debi) ölçümü ve pompalama işlemlerini içermektedir.

1.3.1.1. Eleme

Eleme işleminde çubuk ızgaralarda iri maddeler tutulur ve taranarak atıksudan uzaklaştırılır. Bu maddeler taranmadığı takdirde mekanik parçalara zarar verebilir ve tıkanıklık oluşturabilirler.

1.3.1.2. Kum tutucu

Kum tutma işlemi farklı yollarla gerçekleştirilebilmektedir. Kum ile kastedilen inorganik çöken kum, kayalar, yumurta kabukları gibi katılardır. Bu basamak son derece önemlidir. Eğer kum giderimi yapılmazsa büyük parçacıklar atıksu arıtımının ileri basamaklarında sorunlara yol açmakta, pompa ve vanalarda aşırı aşınmaya sebep olmaktadır. Bu yüzden kum tutucu kullanılması gerekmektedir. Genellikle kaba ızgaradan sonra kullanılırlar ve farklı tiplerde olabilirler.

1.3.1.3. Debi ölçümü

Atık su arıtma sistemlerinde debi ölçümü önemli bir işlemdir. Hidrolik yükün belirlenmesi açısından sadece saatlik değil yüksek ve düşük akışları da belirlemek gereklidir. Bu, sistemin düzgün çalışmasını ve işletmenin neler yapacağını belirlemesine yardımcı olur. Çünkü atık su arıtma sistemlerinin debisi sabit değildir, yükseliş ve düşüşler yaşanabilmektedir. Debi sabah saatlerinde yükselirken, öğle ve akşam yemeklerinden sonra azalmaktadır.

1.3.1.4. Dengeleme/Pompalama

Bazı atık suların akış oranı pompa ihtiyacını ortadan kaldırırsa da tesislerde su seviyesi farklılıklarını dengelemek açısından yine de gereklidir (Kerri, 1988).

1.3.2. Birincil arıtım

Birincil arıtım sedimentasyon ve yüzdürme işlemlerini kapsamaktadır. Modern arıtma tesislerinde ön çökeltme ile bu işlem gerçekleştirilmektedir. Tanklarda sıvılar katılardan, katının çökmesiyle ayrılır. Bu işlemin avantajı askıda katı madde ve bir miktar BOİ₅ (Biyolojik oksijen ihtiyacı) gideriminin yapılmasıdır. Dezavantajı ise uzaklaştırılan çamur vs. maddelerin sürekli kaldırılması gerekliliğidir.

1.3.3. İkincil arıtım

İkincil arıtım fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçleri içermektedir. İkincil arıtım temel olarak biyolojik bir süreçtir. Mikroorganizmalar organik kirleticileri besin ve enerji kaynağı olarak kullanır. Organik maddelerin bir kısmı biyokütle, bir kısmı enerji haline dönüşür. En yaygın yöntem aktif çamur sistemidir. Kirlilik heterotrofik mikroorganizmaların askıda tutulmasıyla giderilir (Kerri, 1988).

Biyolojik arıtımın aerobik, anerobik ve anoksik olmak üzere 3 temel kategorisi bulunmaktadır. Aerobik arıtımda gelişim ve biyokütle verimliliğini optimize etmek için reaktör, oksijen ve mikroorganizma bulunan atık su içermektedir. Mikroorganizmalar örneğin, karbondioksit, su ve fazla biyokütle (çamur) gibi zararsız yan ürünler üreten, biyolojik olarak parçalanabilir organik ve amonyak gibi diğer kirleticilerin oksitlenmesini katalize etmektedir.

Anaerobik ve anoksik arıtım yöntemleri de aerobik yönteme benzemektedir. Buradaki mikroorganizmalar ilave olarak oksijene ihtiyaç duymazlar. Bu organizmalar oksijen dışındaki bileşikleri biyolojik olarak parçalanabilen organik maddeler ve diğer kirleticilerin oksidasyonu için kullanırlar. Biyolojik atık su arıtım sistemindeki biyokütlenin sürdürülebilmesi iki yoldan biri ile mümkün olabilir. Bunlardan bir tanesi sabit film işlemi diğeri ise askıda büyüme işlemidir. Sabit film sisteminde mikroorganizmalar bir yüzeyde sabit tutulur. Akan su yüzeyi veya besiyerinden geçer. Bu işlem ihtiyaç duyulduğunda biyofilmin atık su ve oksijen ile temasını sağlamak için tasarlanmıştır. Askıda büyüme işleminde ise biyokütle atık suda serbesttir ve karıştırılır.

Biyoreaktöre oksijen transferi yapabilen çeşitli ekipmanlarla havalandırılması da mümkündür (Schultz, 2005).

1.3.4. Dezenfeksiyon

Atık su berraklaştırıldıktan sonra patojenik mikroorganizmaların sayısını azaltmak amacıyla dezenfekte edilmektedir. Dezenfeksiyon işlemi klorlama, ozonlama, ultraviyole ışığa maruz bırakma ve lagün hücrelerinde uzun tutukluluk süresi gibi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Klorlama dezenfeksiyon yöntemleri içerisinde en yaygın olanıdır. Bununla birlikte dezenfeksiyon için klor kullanıldığında yüzey sularına deşarj edileceğinden ve bu da organizmalara zarar vereceğinden kloru giderim işlemi de uygulanmalıdır. Bu işlem genellikle klor ile tepkimeye girdiğinde etkisiz tuzlar oluşturan kükürt bileşikleriyle gerçekleştirilmektedir (Kerri, 1988).

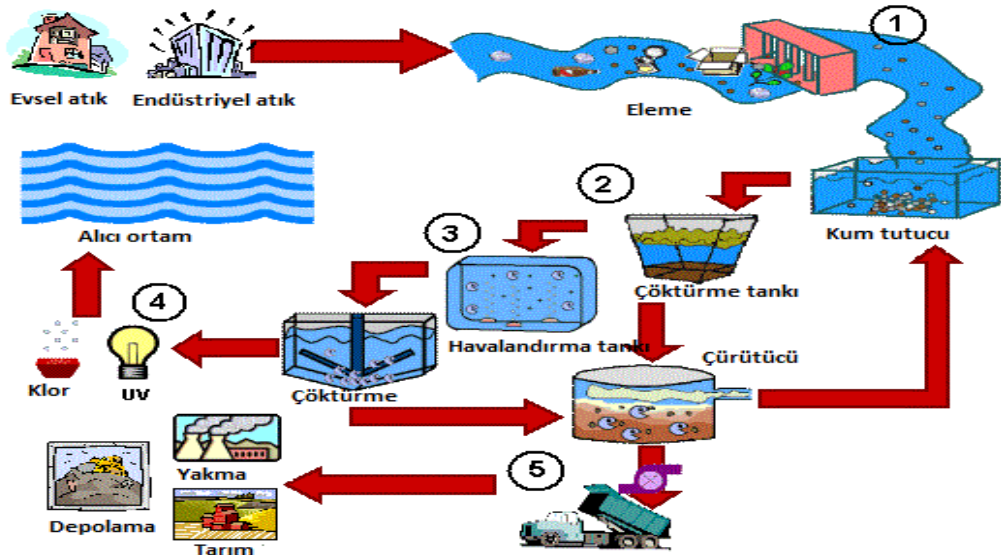
1.3.5. Akış ölçümü

Deşarj izni ve limitleri için debi ölçümü büyük bir gerekliliktir. Çünkü çevreye hesaplanan limitler içerisinde uygun kirlilik yükünün sağlanabilmesi için deşarj hacminin bilinmesi gerekmektedir.

1.3.6. Katı işlenmesi

Eğer bir atık su arıtma tesisi büyük oranda askıda katı madde ve çözünmemiş organik maddelerle performans gösteriyorsa deşarj işlemi gerçekleştirilmeden, bu maddelerin uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Bu katı maddeler arıtılmış su tesisten ayrılırken günlük oluşmaktadır ve arıtma tesisinin bu yönü su arıtım işleminden ayrılmaktadır. Kalınlaştırma, parçalama, susuzlaştırma ve çamur uzaklaştırma veya yeniden kullanım olmak üzere dört aşama içerir.

Kalınlaştırma çamurun hacmini azaltmak için yapılır. Bu işlem graviteli yoğunlaştırıcılar, flotasyon yoğunlaştırıcılar, belt yoğunlaştırıcılar ve santrifüjler ile yapılmaktadır. Çamur stabilizasyonu anaerobik çürütme, aerobik çürütme, alkali işlemler ile yapılır. Çamur susuzlaştırma çamurun su içeriğinin azaltılması için uygulanan fiziksel bir işlemdir. Çamurun bertarafı ve yeniden kullanımında ise arıtma çamuru sahip olduğu kaliteye bağlı olarak enerji eldesi, tarımsal amaçlı kullanım, yapı malzemesi olarak kullanım gibi pek çok yararlı kullanım alternatifine sahiptir (Kerri, 1988).



Şekil 1.2. Atık su arıtım basamakları (http-1)

1.4. Atık su Arıtımında İş Gören Organizmalar

Atık su arıtımının iki temel hedefi vardır: Birincisi organik atıkları, alıcı suların üzerine önemli olmadıkları, çözülmüş oksijen talebinde bulunmadıkları bir seviyeye düşürme, ikincisi besin maddelerini (azot ve fosfor), alıcı sulardaki fotosentetik organizmalarının büyümelerini sınırlandıran seviyeye kadar düşürmektir. Bu hedeflere ulaşmak için arıtma tesisi operatörleri, atık su arıtımında yer alan biyolojik süreçleri ve organizmaları anlamalı ve her işlemde yeterli, aktif ve uygun bakteri popülasyonunun varlığını güvence altına almalıdır. Atıksudaki bakteriler monokültür değildir. Bunun yerine, farklı rolleri yerine getiren ve optimum etkinlik ve büyümeleri için farklı optimum koşullara sahip olan çeşitli organizmalar mevcuttur. Bakterilerin geniş çeşitliliği ve atık sularda yaptıkları roller iki biyolojik arıtma ünitesinde, yani aktif çamur prosesi ve anaerobik çürütücü ünitelerinde bulunmaktadır.

Aktif çamur prosesi belediye atık su arıtma tesislerinde en yaygın kullanılan aerobik biyolojik arıtma ünitesidir. Buradaki organizmalar prokaryot (bakteri) ve ökaryotlardan (Protozoa ve metazoa) oluşmaktadır. Anaerobik çürütücü de en çok belediye atık su arıtma tesislerinde yaygın olarak kullanılan anaerobik biyolojik arıtma ünitesidir. Bu üniteye organizmalar sadece prokaryotlardan oluşur.

1.4.1. Atık sulardaki ökaryot organizmalar

Aktif çamur sürecinde dört önemli ökaryot organizma vardır. Bu organizmalar funguslar, protozoa, rotiferler ve nematodlardır.

1.4.1.1. Funguslar

Aktif çamur prosesinde filamentli funguslar çoğalabilir ve son çökeltimde çöktürme sorunlarına katkıda bulunur. Filamentli fungusların çoğalması düşük pH ve besin ile ilişkilidir. Filamentli funguslar aktif çamur sürecinde çöktürme problemleri yaratsa da bazı endüstriyel atıksuların ve organik atıkların kompostlaştırılması için fazla sayı ve çeşitlilikte fungus popülasyonu varlığı arzu edilmektedir (Gerardi, 2006).

1.4.1.2. Protozoa

Protozoanın başlangıçta aktif çamur prosesine zararlı olduğu düşünülmüştür. Ancak, bazı bilim insanları bu organizmaların rolünü değerlendirebilmişler ve atık su kalitesi üzerine etkilerinin büyüklüğünü ölçebilmişlerdir. Çalışmalar, karışık çözelti içinde hiçbir protozoa bulunmadığında, atık suyun BOD₅'inin ve diğer parametrelerin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Aktif çamurdaki protozoanın karbon mineralizasyonu üzerindeki olumlu etkileri de bulunmaktadır. Protozoa tarafından mineral besinlerin atılımı, karbon kaynağı olarak bakteriler tarafından hızlandırılmış kullanımıyla sonuçlanır. Ayrıca, protozoa bakteri aktivitesini artırabilir büyüme uyarıcı bileşikler de salgılamaktadır (Madoni, 2011).

Aktif çamur prosesinde, protozoonlar genel olarak beş gruba ayrılır. Hareket şekillerine göre bu gruplar amipler, kamçılılar, serbest yüzen silliler, kayan silliler, saplı sillilerdir. Silliler aktif çamur sürecinde protozoonların en önemli gruplarıdır. Silli protozoalar aktif çamur sürecinde flok parçacıklarında ağırlaştırma ve çökmeyi iyileştirme, serbest hücreleri tüketme ve atık akışını temizleme, besin maddelerini (azot ve fosfor) atıklarıyla geri dönüştürme gibi faydalar sağlar.

1.4.1.3. Rotiferler ve nematodlar

Rotiferler ve nematodlar, aktif çamur sürecine çok sayıda fayda sağlayan çok hücreli mikroskobik hayvanlardır (metazoa). Metazoa flok parçacıklarına girer. Bu giriş, çözülmüş oksijen, nitrat (NO₃⁻), substratlar ve besleyicilerin nüfuz etmesine izin vererek

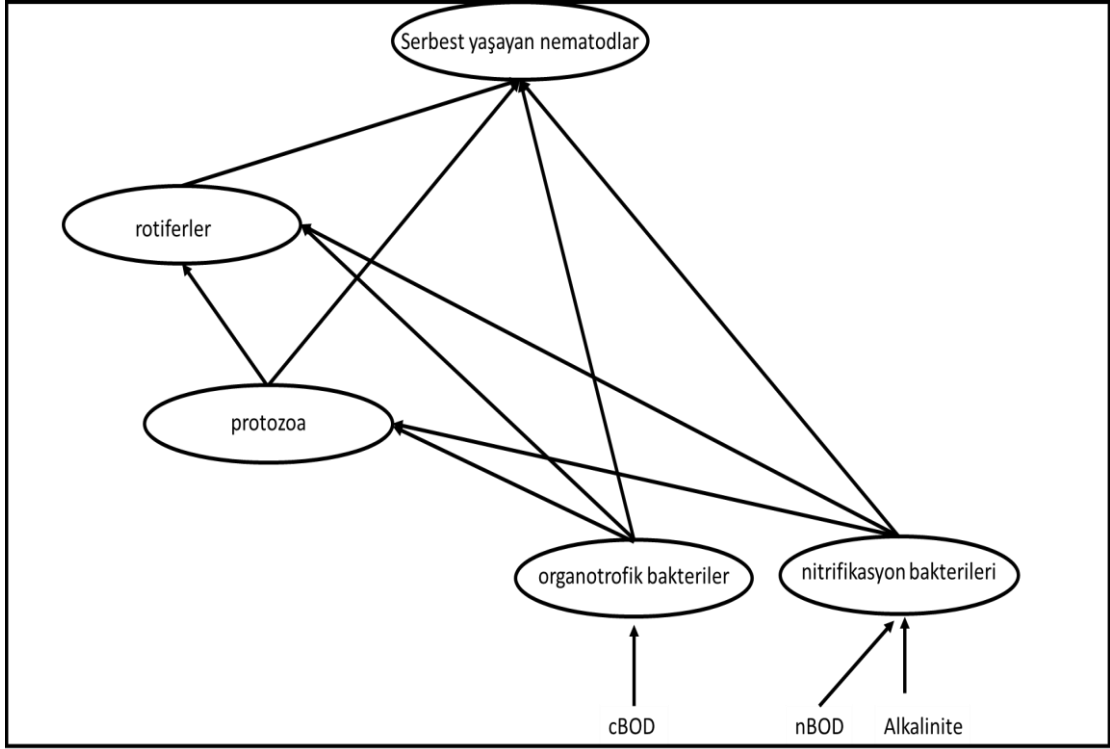
flok parçacığının çekirdeğindeki substratların degradasyonu için bakteri aktivitesini artırır (Gerardi, 2006).

1.4.2. Atık su arıtımının mikrobiyal ekolojisi

Abiyotik faktörler, biyokütlenin faaliyetini ve büyümesini etkileyen canlı olmayan bileşenler veya işletme koşullarıdır. Örneğin, aktif çamur sürecinde pH'da bir düşüş filamentli fungusların çoğalmasını desteklemekte ve bakterilerin büyümesini olumsuz etkilemektedir. Anaerobik çürütücüde ise pH'da bir düşüş fermentatif bakterilerin büyümesini destekler ve metan oluşturan bakterilerin büyümesini engeller. Biyotik faktörler ise biyolojik arıtım birimindeki canlı bileşenler veya organizmalardır. Her organizmanın diğer organizmalar üzerinde (avcı avı ve simbiyotik ilişkiler) ve biyolojik arıtma ünitesindeki abiyotik faktörlere etkisi vardır. Örneğin, Şekil 1.3'de görüldüğü gibi serbest yüzen silli protozoonlarda artış çok sayıdaki dağınık bakteri hücrelerinin varlığında gerçekleşir. Bununla birlikte, flok oluşumu sırasında, dağınık bakteri hücrelerinin sayısı azalır ve sonuç olarak serbest yüzen silli protozoonların sayısı azalır. Aktif çamur prosesinde nitrifikasyon yapan bakteriler alkalinite ve pH'yı azaltırken denitrifikasyon yapan bakteriler alkalinite ve pH'ı artırır.

Anaerobik çürütücüde dört farklı bakteri grubu simbiyotik ilişki içerisindedir. Fermantasyon bakterileri karbon dioksit ve hidrojen miktarlarını arttırırken, hidrojenotrofik metan oluşturan bakteriler karbondioksit ve hidrojen miktarlarını azaltır. Hidrojenotrofik metan oluşturan bakteriler karbondioksit ve hidrojeni birleştirerek metan oluştururlar. Metan üretmek için üretimi için hidrojenin kullanılması, anaerobik çürütücünün hidrojen basıncı azalır. Hidrojen basıncındaki bu azalma asetojenik bakterilerin asetat (CH_3COO^-) üretmesini sağlar. Asetoklastik metan oluşturan bakteriler metan ve karbon dioksit üretmek için asetat kullanır. Hidrojenotrofik metan oluşturan bakteriler aynı zamanda metan oluşturmak üzere asetojenik bakteriler tarafından üretilen karbondioksiti hidrojen ile birleştirirler.

Bununla birlikte, hidrojenotrofik metan oluşturan bakteriler inhibe edildiğinde, anaerobik çürütücüde hidrojen basıncı artar. Hidrojen basıncındaki artış asetojenik bakterileri inhibe eder. Bu, asetat üretiminde bir düşüşe ve sonuç olarak da asetoklastik metan oluşturan bakteriler tarafından metan üretiminde bir düşüşe yol açar (Gerardi, 2006).



Şekil 1.3. Aktif bir çamur besin ağı yoluyla karbon ve enerjinin transferi (Gerardi, 2006)

1.4.2.1. Aktif çamur prosesi, önemli abiyotik ve biyotik faktörler

Aktif çamur sürecinde önemli abiyotik faktörler alkalinite, iyonize olmuş amonyak (NH_4^+), çözülmüş oksijen, hidrolik tutma süresi (HRT), besinler, pH, substratların miktarı ve çeşitleri, geri devir çamur oranı (RAS) oranı, sıcaklık, toksik atıklar ve türbülanstır. Önemli biyotik faktörler arasında denitrifikasyon yapan bakteriler, filamentöz organizmalar, flok oluşturucu bakteriler, ortalama hücre kalış süresi (MCRT) veya çamur yaşı, karışık sıvı askıda katı madde (MLVSS) konsantrasyonu, nitrifikasyon yapan bakteriler ve nispi bolluk ve baskın protozoon grupları yer alır (Gerardi,2006).

1.4.2.2. Anaerobik çürütücü, önemli abiyotik ve biyotik faktörler

Anaerobik çürütücünün önemli abiyotik faktörleri, iyonize amonyak (NH_4^+), alkalilik, karbondioksit, hidrojen, nitrat, besinler, pH, substrat miktarı ve türleri, sülfat (SO_4^{2-}), sıcaklık, toksik atıklar ve uçucu asitlerdir. Önemli biyotik faktörler arasında ise asetojenik bakteriler, fermantatif (asit oluşturan) bakteriler, hidrolitik bakteriler, metan oluşturan bakteriler, katı tutma süresi (SRT), kükürt indirgeyici bakteriler ve uçucu askıda katı maddeler (VSS) bulunur.

Her bir biyolojik arıtma ünitesi içerisinde farklı organizmalar karbon ve enerjiyi bir trofik (besin) seviyeden bir sonraki trofik seviyeye transfer eder. Aktif çamur prosesinde karbon ve enerji, proseste, canlı olmayan substratlar veya BOİ olarak girmektedir. Çözünür formda BOİ, çoğunlukla bakteriler gibi çeşitli organizmalar tarafından absorbe edilir. Absorblanan BOİ'nin bir kısmı yeni bakteri hücrelerine (çamur) veya canlı BOİ'ye dönüşür. Besin zincirindeki veya besin ağındaki her organizma BOİ'yi temsil eder, çünkü canlılar tüketilir: Örneğin, bakteriler protozoa ve metazoa tarafından tüketilir ve ölen organizmalar canlılar tarafından parçalanır.

Karbon ve enerjinin bir organizma grubundan diğerine aktarılması, bir besin zinciri kadar basit değildir, çünkü birkaç organizma grubu sıklıkla aynı substratı kullanabilir. Burada karbon ve enerjinin aktarımı veya hareketi bir besin ağı olarak adlandırılır. Besin ağı, aktif çamur sürecini besin zincirinden daha iyi gösterir; çünkü organizmalar burada çoğunlukla yan yana çalışırlar. Çürütücünün içindeki bakteriler metan üretmek için adım adım çalıştığından, besin zinciri anaerobik çürütücüyü besin ağından daha iyi gösterir. (Gerardi,2006).

1.4.2.3. Habitatlar ve nişler

Biyolojik arıtım ünitesindeki her organizma grubu kendi habitatı ve nişine sahiptir. Çalışma koşullarındaki değişiklikler niş sayısını azaltabilir veya artırabilir. Habitat, organizmanın yaşadığı yer, niş ise, organizmanın biyolojik arıtma biriminde yaptığı roldür. Aktif çamur prosesinde ve anaerobik çürütücüde habitat ve niş örnekleri çok sayıdadır.

Aktif çamur sürecinde habitatların ve nişlerin örnekleri aşağıda verilmiştir:

-Zorunlu aerobik nitrifikasyon bakterileri genellikle çözülmüş oksijen konsantrasyonunun yüksek olduğu yerde flok partikülün çevresinde yaşar ve iyonize amonyak ve nitriti (NO_2^-) oksitlemektedir (niş).

-Flok oluşturan bakteriler, flok partikülü boyunca yaşar (habitat) ve bakterileri çöktürür, atık akışından ince katıları ve ağır metalleri uzaklaştırır (niş). Flok oluşturan bakteriler ayrıca çözünür cBOD'u oksitleyebilir (niş).

-Pseudomonadlar (*Pseudomonas* cinsi üyeleri) flok partikülü boyunca bulunur (yaşama ortamı) ve serbest moleküler oksijen varlığında veya yokluğunda çözünür cBOD'u oksitler (niş). Pseudomonadlar ayrıca toksik fenol ve fenolik bileşiklerin oksitlenmesinde (niş) özel benzersiz kabiliyete sahiptir ve çok çeşitli substratları indirgeme yeteneğine

sahiptir bu nedenle atıksu arıtma tesislerinde oldukça çok sayıda bulunmaktadır. *Alcaligenes* ve *Flavobacterium* gibi diğer bakteriler çoğunlukla proteinleri degrade etmektedirler ve büyük oranda proteinli atık bulunan atık su arıtma tesislerinde çok sayıda bulunurlar. Bu yüzden çok çeşitli substratları parçalayabilme kabiliyeti nedeniyle, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* ve *Flavobacterium*'dan daha fazla sayıda nişe sahip olabilir. Benzer şekilde, daha büyük yüzey hacim oranlarına sahip oldukları için, bakteriler çözünebilir substratlar için protozoa ile daha iyi rekabet edebilir ve protozoonlardan daha fazla sayıda nişe sahip olabilirler.

Aktif çamur prosesinde niş sayısı anoksik dönemlerin kullanımı, atık suların yapısı, günlük, haftalık ve mevsimsel değişimlere bağlı hidrolitik tutma süreleri ve geri devir aktif çamur oranlarına bağlı olarak azalabilir veya artabilir. Anaerobik çürütücüde de habitat ve niş örnekleri çok sayıdadır:

-Anaerobik hidrolitik bakteriler, redoks potansiyeli $<100\text{mV}$ olduğu ortamlarda yaşarlar (yaşam alanı) ve kompleks organik bileşiklerin çözünebilir hale getirilmesinde görev alırlar (niş).

-Sülfat indirgeyen bakteriler -100 mV 'lık bir redoks ortamında yaşarlar (yaşama ortamı) ve sülfatları sülfidlere indirger (niş) ve anaerobik bakterilere kükürtü besin olarak kullanılabılır hale getirirler (niş).

-Fermentatif (asit oluşturan) bakteriler, $<-200\text{mV}$ bir redoks ortamında yaşar (habitat) ve metan oluşturan bakteriler tarafından kullanılabilen substratlar üretirler (niş).

-Metan üreten arkeler $<300\text{mV}$ redoks ortamında yaşarlar (yaşam alanı) ve karbondioksit, hidrojen ve asetatı çevreden uzaklaştırırlar (niş).

-Anaerobik çürütücüdeki niş sayısı da anaerobik çürütücüye aktarılan substratların bileşimi, sıcaklık, pH, toksik atıklar ve hidrojen basıncına bağlı olarak azalabilir veya artabilir (Gerardi, 2006).

1.4.2.4. Rekabet

Bir niş için rekabet biyolojik arıtımın başarısında sürekli ve kritik bir faktördür. Bu durum, yalnızca bir türün herhangi bir zamanda herhangi bir nişin yerini alabileceğini belirtmektedir. Nişe yerleşen türler, çevrenin kaynaklarını en etkin biçimde kullanabilen türlerdir.

Aktif çamur prosesinde tip 1701 ve tip 021N gibi ipliksi organizmalar besin maddesinin az olduğu koşullarda azot veya fosfor için çoğalır, çünkü besin maddeleriyle

çoğu flok bakterisinden daha iyi rekabet edebilirler. Benzer şekilde, *Sphaerotilus natans* ve *Haliscomenobacter hydrossis* gibi iplikli organizmalar, düşük çözünmüş oksijen konsantrasyonu altında çoğalırlar çünkü çoğu flok bakterisi ile sınırlı miktarda çözünmüş oksijen için rekabet edebilirler.

Anaerobik çürütücüde ise artan sülfat konsantrasyonu, sülfat indirgeyen bakteriler, bazı aynı substratlar için metan oluşturan arkeler ile rekabet eder. Sülfat indirgeyen bakteriler metan oluşturuvcu arkelerden daha aktiftirler ve metan oluşturan arkelerin ihtiyaç duyduğu substratlar için daha iyi rekabet edebilirler. Bu rekabet, metan oluşturan bakterilerin aktivitesinde ve büyümesinde bir azalmaya ve metan üretiminde bir düşüşe neden olur (Gerardi, 2006).

1.4.2.5. Simbiyotik ilişkiler

Simbiyotik ilişkiler, atıksuların arıtımında aktif çamur sürecinde ve anaerobik çürütücü için önemlidir. Aktif çamur sürecinde simbiyotik bir ilişki örneği, iyonize amonyağın *Nitrosomonas* tarafından nitrite oksidasyonudur. İyonize amonyağın oksidasyonu nitriti enerji substratı olarak kullanan *Nitrobacter*'e fayda sağlar.

Anaerobik çürütücüde simbiyotik bir ilişki örneği, üç farklı organizma grubunu içerir. Hidrojenotrofik metan oluşturan bakteriler metan (CH₄) üretmek için çürütücüden hidrojeni uzaklaştırırlar. Hidrojenin çıkarılmasıyla, çürütücüde hidrojen basıncı düşer. Düşük hidrojen basıncı asetojenik bakterilerin asetat (CH₃COO⁻) üretimine izin verir. Asetat üretimi, asetoklastik metan oluşturan Arkea için substrat sağlar (Gerardi, 2006).

1.4.2.6. Av-avcı ilişkisi

Aktif çamur prosesinde çok sayıda av-avcı ilişkisi vardır. Bakteriler protozoonlara kıyasla çözünür substratlar için daha iyi rekabet gösterse de bakteriler protozoa ve metazoa (yırtıcılar) için partikül substrat (av) olarak görev yapmaktadır. Protozoa da metazoa için parçacık substrat (av) olarak hizmet eder (Gerardi, 2006).

1.4.3. Bakteriler

1.4.3.1. Bakteri gelişimini etkileyen faktörler

Atık su arıtma tesislerindeki bakterilerin büyümesi ve buna bağlı olarak arıtma verimliliği, çeşitli beslenme faktörleri ve fiziksel faktörlerden etkilenir. Beslenme

faktörleri substratların ve besin maddelerinin bulunabilirliğini içerir. Fiziksel faktörler pH, sıcaklık ve serbest moleküler oksijene tepkiyi içerir.

1.4.3.2. pH

Bakterilerin en iyi geliştiği pH optimum değeridir. Çoğu bakteri için optimum pH genellikle nötr (pH 7) civarındadır ve çoğu bakteri optimum pH'ının ± 1 biriminde büyümeyebilir ve pH değerlerini 4'ün altında veya 9,5'in üstünde tolere edemez. Çoğu biyolojik arıtma ünitesi, nötr yakınlarındaki pH değerlerinde (6,8 ila 7,2) çalışır ve bu üniteler nötr pH değerinin altında veya üstündeki değerlerde operasyonel problem yaşayabilir. pH değerlerinin 6,8'den daha düşük olduğu biyolojik arıtma birimlerinde oluşacak operasyonel problemler enzimatik aktivitede azalma, hidrojen sülfür (H_2S) üretiminde artış, nitrikasyonun inhibisyonu, flok oluşumunun aksaması, ipliksi fungusların ve bazı Nocardiaformların istenmeyen şekilde büyümesi gibi problemlerdir. 7,2'den yüksek pH değerlerine sahip biyolojik arıtma ünitelerinde oluşabilecek operasyonel problemler ise enzimatik aktivitede azalma, amonyak (NH_3) üretiminde artış, nitrikasyonun inhibisyonu, flok oluşumunun aksamasıdır. Ayrıca pH 6'nın altında olursa veya 8,5'in üzerine çıkarsa denitrifikasyon oranı düşmektedir. Bu yüzden belediyeye ait atık sularda optimum verim için pH 7-8 arasında olmalıdır (Van Haandel ve Van der Lubbe, 2007).

pH'nın bakterilerin etkinliği üzerine olan etkisine ek olarak, pH ile ilgili iki operasyon sorunu bulunmaktadır. Birincisi, pH, substratların, besin maddelerinin ve toksik atıkların iyonizasyon derecesini ve bunların bakteri hücrelerine taşınmasını etkiler. İkinci olarak, substratların kullanımı ve atıkların bakteriler tarafından üretilmesi, bir biyolojik arıtma biriminin pH'sını önemli ölçüde değiştirebilir. Ünitenin pH değeri izlenmediği ve regüle edilmediği sürece, pH'daki değişim istenmeyen bakteri aktivitesine ve atık suyun veya çamurun verimsiz bir şekilde arıtılmasına neden olabilir (Gerardi, 2006).

1.4.3.3. Sıcaklık

Biyolojik atıksu arıtma sistemlerinde sıcaklık çok önemlidir, çünkü mikrobiyal büyüme üzerindeki etkileri. Çoğu mikroorganizma geniş bir sıcaklık aralığında bulunabilse de, genellikle her türün en iyi büyüdüğü bir optimum sıcaklık vardır. Arıtma tesislerinde, sıcaklıktaki mevsimsel değişikliklerden dolayı yavaş bir adaptasyon

meydana gelir. Bununla birlikte, sıcaklıktaki ani değişiklikler mikrobiyal hücrelerin değişen yüzey özelliklerine bağlı olarak flokülasyon gibi işlemleri etkileyebilecek mikrobiyal aktiviteyi etkiler (Manassra, 2006).

Ayrıca substratların ve besinlerin bakteri hücrelerine difüzyon oranını ve de enzimatik aktivite oranını etkiler. Artan sıcaklık ile substratların ve besinlerin bakteri hücrelerine difüzyon hızı artar ve enzimatik aktivite oranı artar. Azalan sıcaklık değerlerinde difüzyon ve enzimatik aktivite oranları düşer. Bu nedenle, sıcak atık sularda artan bakteri aktivitesi ile bir atıksu arıtma tesisi operatörü katı maddeleri (bakteri) azaltabilir.

Aktif kaldıkları minimum ve maksimum sıcaklıklara göre üç grup bakteri vardır. Bu gruplar psikrofiller, mezofiller ve termofillerdir. Mezofiller en büyük mikroorganizma grubunu oluşturur ve 25° C ila 40° C arasındaki sıcaklıklarda en iyi gelişirler. Mezofiller insanların gastrointestinal sisteminde (vücut sıcaklığı yaklaşık 37°C) yaygın olan mikroorganizmalardır ve atık su arıtma tesislerine insan dışkısı vasıtasıyla çok sayıda girerler. Aktif çamur prosesinde ve mezofilik anaerobik çürütücüde çok sayıda bulunurlar.

Termofiller ise ısı seven organizmalardır ve 50°C - 65°C arasındaki sıcaklıklarda en iyi gelişirler. Termofiller, termofilik anaerobik çürütücülerde ve termofil kompostlama işlemlerinde yaygın olarak kullanılırlar (Gerardi, 2006).

1.4.3.4. Moleküler oksijen için yanıt

Bakteriler serbest moleküler oksijen varlığında veya yokluğunda gelişirler ve serbest moleküler oksijene olan ihtiyacı veya cevabına göre üç grupta yer alabilirler. Bu gruplar aerob, anaerob ve fakültatif anaeroblardır.

Aeroblar substratın oksitlenmesi için oksijen gerektirir. Aktif çamur prosesinde aerobik bakteri örnekleri, ipliksi organizmalar olan *Haliscomenobacter hydroxsis* ve *Sphaerotilus natans*, flok oluşturan *Zoogloea ramigera* ve nitrifikasyon bakterileri *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter*'dir. Anaerobik çürütücüde aktif aeroblar bulunmamaktadır. Anaerobik bakteriler substratların bozunması için serbest moleküler oksijen kullanmaz. Bu organizmalar sırasıyla sülfat (SO₄²⁻) ve karbondioksit kullanan sülfat indirgeyen bakteri ve metan oluşturan Arkeaları içerir (Gerardi, 2006).

Aeroblar ve anaeroblar arasında fakültatif anaeroblar bulunur. "Fakültatif" terimi, farklı koşullar altında yaşama kabiliyetini ifade eder. Fakültatif anaerobik bakteriler,

substratın oksidasyonu için serbest molekül oksijen veya başka bir molekül kullanma becerisine sahiptir (Lagunas, 1982). *Bacillus*, *Escherichia* ve *Pseudomonas* dahil olmak üzere denitrifikasyon yapan bakteriler fakültatif anaerobik bakterilerdir. Anaerobik bakterilerin de iki önemli grubu vardır. Bu gruplar oksijen toleranslı (aerotolerant) anaerobik bakteriler ve oksijene toleranssız (zorunlu) anaerobik bakterilerdir. Oksijen toleranslı anaeroblar serbest molekül oksijen varlığında hayatta kalabilirler. Metan oluşturan Arkealar gibi zorunlu anaeroblar serbest molekül oksijen varlığında canlılıklarını sürdüremezler (Gerardi, 2006).

1.4.3.5. Bakteri grupları

1.4.3.5.1. Bakterilerin kullandıkları karbon ve enerji kaynaklarına göre sınıflandırılması

Bakteriler için karbonun iki temel kaynağı vardır: organik bileşikler ve inorganik karbon ve karbon dioksittir. Organik bileşikleri karbon kaynağı olarak kullanan bakterilere, heterotroflar veya organotroflar denir. Heterotroflar ve organotroflar sadece hidrojen kaynaklarına göre farklılık gösterirler. Bununla birlikte, çoğu heterotrof ve organotrof ortak hidrojen kaynakları kullanır.

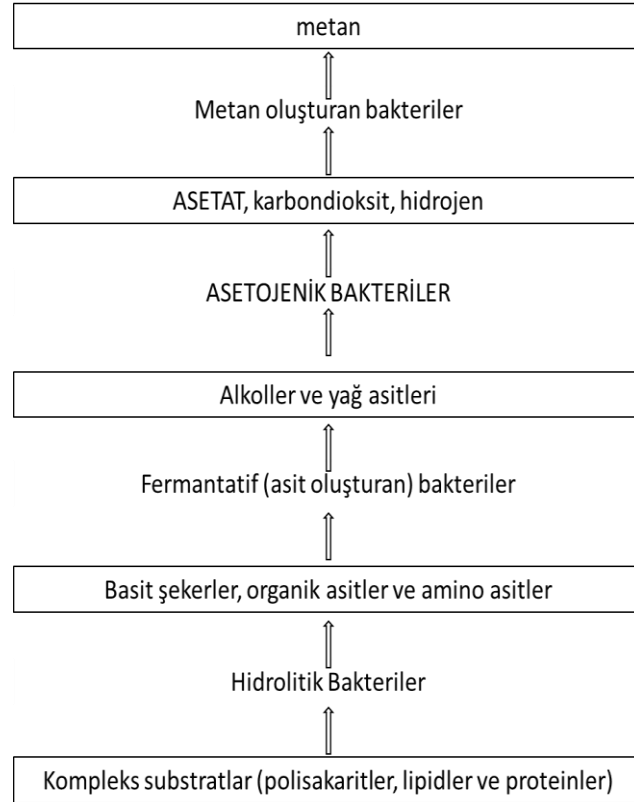
Atık su arıtma tesislerinde, heterotroflar veya organotroflar cBOD'yi düşürürler. Karbon dioksit ya da karbon kaynağı olarak bikarbonat (HCO_3^-) ve karbonat (CO_3^{2-}) gibi başka bir inorganik karbon bileşiği kullanan bakterilere ototroflar denir. Bakteriler için iki önemli enerji kaynağı kimyasal oksidasyon reaksiyonları ve güneş ışığıdır. Kimyasal oksidasyon reaksiyonlarından enerjilerini elde eden bakterilere kemotroflar denir. İki tür kemotrof vardır, bunlar organik bileşikler kullananlar (heterotroflar) ve indirgenmiş inorganik bileşikler veya elementler kullananlardır. Enerji için amonyum (NH_4^+), hidrojen sülfür (H_2S), Fe^{2+} ve nitrit (NO_2^-) gibi indirgenmiş inorganik bileşikleri veya elementleri kullanan bakterilere litotroflar denir. Atıksu arıtma tesislerinde önemli rol oynayan en önemli litotroflar, nBOD'yi parçalayan nitrifiye edici bakterilerdir. Bunlar amonyak ve nitriti oksitlemektedirler. Güneş ışınlarından enerjilerini elde eden bakterilere ise fototrof denir (Gerardi, 2006).

1.4.3.5.2. Bakterilerin gösterdikleri role göre sınıflandırılması

Atık su arıtma tesislerindeki bakteriler yaptıkları role göre sınıflandırılabilir. Bazı bakteriler atık su arıtımında olumlu rol oynamakta buna karşın bazı bakteriler atık suyun verimsiz bir şekilde arıtılmasına, operasyonel maliyetlerin artmasına neden olarak olumsuz rol oynamaktadır (Gerardi, 2006).

Asetojenik bakteriler (Örnek: *Acetobacter*)

Asetat asidogenez basamağında üretilir ve sonraki basamaklarda asetojenik bakteriler tarafından hidrojen ve karbondioksit'e dönüştürülür (Van Lier ve ark., 2008). *Acetobacteriaceae* ailesinin üyeleri asetat (CH_3COO^-) üretir ve anaerobik çürütücülerde çözünür cBOD'un metana dönüşümü için önemlidir. Fermentatif bakterilerden oluşan özel bir gruptur ve organik asitler, alkoller ve ketonları asetata, karbondioksit ve hidrojene dönüştürürler. Asetat metan oluşturan arkeaların metan (CH_4) üretimi için kullandığı bir substrattır (Şekil 1.4). Önemli asetojenik bakteriler arasında *Acetobacter*, *Syntrobacter* ve *Syntrophomonas* bulunur (Gerardi, 2006).



Şekil 1.4. Anaerobik bir çürütücüde asetojenik (asetat oluşturan) bakterilerin rolü (Gerardi, 2006)

Koliformlar (Örnek: Escherichia)

Özellikle evsel atıksular patojenlerin başlıca kaynağıdır ve spesifik patojenlerin varlığını tespit etmek yerine enterik hastalıkların ortaya çıkmasını önlemek için indikatör mikroorganizmalar izlenmelidir (Antunes ve ark., 2007). Koliform bakteri grubunun üyeleri, laktozu 37°C'de fermente eden ve gaz üreten Gram-negatif çubuklardır. Toplam koliform grubu, Enterobacteriaceae familyasının *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Serratia* ve *Yersinia* cinslerini içerir (Gerardi, 2006).

Siyanobakterler (Örnek: Oscillatoria)

Siyanobakteri üyeleri fotosentetik bakterilerdir. Siyanobakteriler tek tek hücreler (*Chlorella*) veya bir hücre veya yaklaşık 100-500 µm uzunluğunda filament zinciri (*Oscillatoria*) olarak bulunabilir. Aktif çamur sürecinde bazen ipliksi siyanobakterler meydana gelir ve çökme problemlerine katkıda bulunabilirler. Siyanobakteriler, yaygın olarak, damlatma filtrelerinde biyofilm yüzeyinde bulunur ve aktif çamur prosesine damlatma filtreleri çıkışından, kuleleri kaba temizlemek veya endüstriyel atıksuları ön işleme almak için filtreler aktif çamur prosesinin akış yönünde kullanıldığında girerler. Siyanobakterilere örnek olarak *Anabaena*, *Chlorella*, *Euglena* ve *Oscillatoria* verilebilir (Gerardi, 2006). Ayrıca çalışmalarda *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Nitzschia*, *Navicula* ve *Stigeoclonium* da izole edilen türler arasındadır (Abdel-Raouf ve ark., 2012).

Denitrifikasyon yapan bakteriler (Örnek: Bacillus)

Atık sularda nitrifikasyon son derece önemlidir. Ayrıca, denitrifikasyon yapan heterotrofik bakteriler hem aerobik hem de anoksik koşullar altında artmış biyolojik fosfor giderme (EBPR) ile ilişkilendirilir (Drysdale ve ark., 1999). Denitrifikasyon yapan bakteriler, çözünür cBOD'yi degrade etmek için serbest molekül oksijen yokluğunda nitrat (NO_3^-) kullanan fakültatif anaerobik bakterilerdir. Nitrat kullanımı azotun atmosfere moleküler azot (N_2) ve azot oksit (N_2O) olarak geri dönüşüyle sonuçlanır. Denitrifikasyon, bir atıksu arıtma tesisi için toplam azot boşaltma gereksinimini karşılamak için kullanılır. Denitrifikasyon aynı zamanda ikincil çöktürme de topaklanma ve anaerobik çürütücüde köpüklenmeye neden olur. Denitrifikasyon yapan bakterileri içeren çok sayıda cins bulunsa da bu türleri en çok içeren üç cins *Alcaligenes*, *Bacillus* ve *Pseudomonas*'tır (Gerardi, 2006).

Fekal koliformalar (Örnek: Escherichia)

Fekal koliformlar, köken olarak dışkıda bulunan tüm koliformları içerir ve laktoz fermente edebilir veya 45°C'de koloni üretebilir. Fekal koliformlar, dışkı kontaminasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır ve esas olarak *Escherichia* cinsinden oluşur (Gerardi, 2006).

Fermentatif (Asit oluşturan) bakteriler (Örnek: Proteus)

Asit oluşturan bakteriler asetojenler ve metanojenler için substrat sağlarlar. Fermentatif veya asit oluşturan (asidojenik) bakteriler, aminoasitler, yağ asitleri ve şekerleri asetik asit (CH₃COOH), butirik asit (CH₃CH₂CH₂COOH), formik asit (HCOOH), laktik asit (CH₃CHOHCOOH) ve propiyonik asit (CH₃CH₂COOH) gibi organik asitler haline dönüştürür. Fermentasyon bakterileri, kompleks substratları, metan oluşturan arkealar tarafından kullanılabilen basit substratlara dönüştürdükleri için anaerobik çürütücüde önemlidir. Fermentatif bakteriler ayrıca, fosfat biriktiren bakteriler tarafından fosfor alımı için ihtiyaç duyulan gerekli organik asitleri ürettiklerinden biyolojik fosfor giderim ünitelerinde de önemlidir. *Clostridium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyrifacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Desulfobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus* ve *Escherichia* gibi pek çok fermentatif bakteri cins ve türü içerirler (Mara ve Horan, 2003).

Filamentli bakteriler (Örnek: Haliscomenobacter)

Filamentli bakteriler, flok oluşturan bakterilere yapışmayı kolaylaştıran flok makroyapısını oluşturur. Dünyadaki çoğu aktif çamur tesisi, belirli filamentli bakterilerin çoğalmasından kaynaklanan kabarma ve/veya köpürme ve operasyonel bozukluklarla karşılaşmaktadır (Lacko ve ark., 1999).

Aktif çamur proseslerinde hızlı ve istenmeyen büyümelerinden dolayı çökme problemi yaratan yaklaşık 30 çeşit filamentöz organizma bulunmaktadır. Bu organizmalardan en fazla kabarma sorunun ortaya çıkmasından 10 bakteri sorumludur. Operasyonel problemler yaratmasıyla daha iyi bilinmesine rağmen, ipliksi bakteriler çözünebilir cBOD'nin degradasyonuna ve flok oluşumuna da katkıda bulunurlar. En sık görülen ipliksi bakteriler *Haliscomenobacter hidrosis*, *Microthrix parvicella*,

Nocardioforms, Sphaerotilus natans, Thiiothrix, tip 0041, tip 0092, tip 0675, tip 1701 ve tip 021N'dir (Gerardi, 2006).

Flok oluşturan bakteriler (Örnek: Zoogloea)

Flok oluşturan bakteriler aktif çamur prosesinde flok oluşumunu başlatır. Artan çamur yaşı ile birlikte, flok oluşturan bakteriler birbirine yapışmak ya da çökmek için gerekli olan hücresel bileşenleri üretirler. Bakterilerin sadece küçük bir bölümü, flok oluşturma yeteneğine sahiptir. Bunlar arasında *Achromobacter, Aerobacter, Citromonas, Flavobacterium, Pseudomonas* ve *Zoogloea* bulunmaktadır (Gerardi, 2006).

Kayan bakteriler (Örnek: Beggiatoa)

Aktif çamur sürecinde çökme problemlerine katkıda bulunan üç hareketli veya kayan filamentli organizma vardır. Bu organizmalar *Beggiatoa, Flexibacter* ve *Thiothrix*'dir.

Gram-negatif, aerobik kok ve çubuklar (Örnek: Acetobacter)

Gram-negatif, aerobik koklar ve çubuklar aktif çamur sürecinde bakterilerin yaklaşık % 20'sini oluşturmaktadır. Biyolojik fosfor giderme, çözünür cBOD'nin bozunması, flok oluşumu ve nitrifikasyon işlemlerine görev alırlar. Gram-negatif, aerobik koklar ve çubuklar *Acetobacter, Acinetobacter, Alcaligenes, Nitrobacter, Nitrosomonas, Pseudomonas* ve *Zoogloea* cinslerini içerir (Gerardi, 2006).

Gram-negatif, fakültatif anaerobik çubuklar (Örnek: Escherichia)

Gram-negatif, fakültatif anaerobik çubuklar, aktif çamur sürecindeki bakterilerin yaklaşık %80'ini ve anaerobik çürütücüdeki bakterilerin önemli bir oranını oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar biyolojik fosfor giderimi, asetat üretimi, asit üretimi, çözünür cBOD bozunumu, denitrifikasyon, flok oluşumu ve cBOD hidrolizinde görev almaktadır. Gram-negatif, fakültatif anaerobik çubuklar içeren bakteri cinsleri *Aeromonas, Escherichia, Flavobacterium, Klebsiella, Proteus* ve *Salmonella*'dır (Gerardi, 2006).

Hidrolitik bakteriler (Örnek: Bacteroides)

Pek çok fakültatif anaerobik bakteri ve anaerobik bakteri hidrolitik bakterileri oluşturmaktadır. Daha önemli hidrolitik bakteriler anaerobik bakterilerdir. Hidrolitik bakteriler kompleks çözünmeyen substratları, daha fazla sayıda bakteri tarafından absorbe edilebilen ve çözünebilen basit çözünür substratlara çözüdüren ekzoenzimler üretmektedir. Hidrolitik bakteriler tarafından gerçekleştirilen enzimatik aktivite, askıdaki büyümenin düzgün gerçekleşmesi, büyük miktarlarda kolloid substratları ve parçacık halindeki substratları indirgemek zorunda olan anaerobik çürütücüler açısından önemlidir. En önemli hidrolitik bakteriler *Bacteroides*, *Bifidobacteria* ve *Clostridium*'dur (Gerardi, 2006).

Metan oluşturan arkealar (Örnek: Methanobacterium)

Metan oluşturan arkealar veya metanojenler, anaerobik çürütücülerde organik maddelerden metan (CH₄) ve karbondioksit üretirler. Zorunlu anaeropturlar ve substratları kısıtlıdır. Metan üretimi iki ana yolla gerçekleşir: asetatın ayrılması ve karbon dioksit ile hidrojen kullanımı. Metan oluşturan arkea cinslerine örnekler arasında *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanomonas* ve *Methanosarcinia* bulunmaktadır (van Lier ve ark., 2008).

Nitrifikasyon bakterileri (Örnek: Nitrosomonas)

Nitrifikasyon yapan bakteriler zorunlu aeroblardır. İyonize amonyağı (NH₄⁺) nitrata okside ederler ve nitriti nitrata okside eder. İyonize amonyağı oksitleyen bakteriler *Nitrosomonas* ve *Nitrospira* 'yı içerir. Nitriti oksitleyen bakteriler arasında ise *Nitrobacter* ve *Nitrospira* bulunur (Gerardi, 2006).

Nocardioformlar (Örnek: Nocardia)

Nocardioformlar veya aktinomisetler, Gram-pozitif ve spor oluşturan bakterilerin özel bir grubudur. Bu ipliksi organizmalar nispeten kısa (<50µm) ve çok dallıdır. Nocardioformlar, funguslarda bulunan gerçek dallanma gibi bazı büyüme özelliklerini gösterir. *Nocardia* ve *Actinomadura*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium* ve *Micromonospora*'yı içeren diğer cinsler aktif çamur prosesinde köpük üretimiyle en sık ilişkili olan cinslerdir. *Nocardia* en yaygın görülen ve köpük üreten aktinomisetler ve en

sık sorun oluşturan *Nocardia* türleri arasında *N. amarae*, *N. asteroides*, *N. caviae*, *N. pinesis* ve *N. rhodochrus* yer almaktadır (Gerardi, 2006).

Patojenik bakteriler (Örnek: Campylobacter)

Çok sayıda patojenik bakteri atıksu arıtma tesislerine evsel atık sudan, mezbaha atıksuyundan ve giriş ve sızıntı suyundan girmektedir. Gerçek patojenler ve fırsatçı patojenler olmak üzere iki tür patojen bakteri vardır. Atık su personeline hastalık geçişi açısından önemli riskler taşıyan bakteriyel patojenler *Campylobacter jejuni* ve *Leptospira interrogans*'dir (Gerardi, 2006).

Fosfat biriktiren bakteriler (Örnek: Acinetobacter)

Gelişmiş biyolojik fosfor giderme (EBPR), aktifleştirilmiş çamurun anaerobik ve aerobik koşullardaki dolaşımı üzerine polifosfat biriktiren organizmaları (PAO'lar) zenginleştirmeye dayanır. Bakteriler atık sudan normal hücresel ihtiyaçların üzerindeki miktarlarda bulunan ortofosfatı ($H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$) atık sudan uzaklaştırırlar. Anaerobik koşullarda, PAO'lar kolaylıkla parçalanabilir organik maddeler alırlar ve onları hücre içi polimerler olarak depolarlar. Aerobik koşullarda, PAO'lar depolanan polimerleri, biyokütle sentezi için endojen karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadırlar. Poli-P bakterileri içeren bakteri cinsleri, *Acinetobacter*, *Accumulibacter*, *Tetrasphaera*, *Halomonas*, *Aerobacter*, *Beggiatoa*, *Enterobacter*, *Klebsiella* ve *Proteobacter*'dir (Muszyński ve Załęska-Radziwiłł, 2015).

Saprofitik bakteriler (Örnek: Micrococcus)

Saprofitik bakteriler ölü organik madde (cBOD) üzerinde beslenir. Saprofitik bakteriler organotrof olup, birçoğu flok oluşturan bakterilerdir. Önemli saprofitik bakteriler arasında *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* ve *Pseudomonas* bulunur (Gerardi, 2006).

Kılıflı bakteriler (Örnek: Sphaerotilus)

Kılıflı bakteriler şeffaf bir tüp ya da kılıf ile çevrelenmiş bir gram-negatif hücreler zincirinden oluşur. Hücreler kılıf bıraktığında, flagella vasıtasıyla hareketlenirler ve yüzücü hücreler olarak adlandırılırlar. Yüzücü hücreler hızlı bir şekilde kılıf üretirler ve

filamentli zincirler oluştururlar. Aktif çamur sürecinde iki kılıflı filamentöz bakteri vardır: *Haliscomenobacter hydroxsis* ve *Sphaerotilus natans* (Gerardi, 2006).

Spiroketler (Örnek: Spirochaeta)

Spiroketler sarmal biçimli, hareketli bakterilerdir. Aerobik, fakültatif anaerobik ve anaerobik olmak üzere üç çeşit spiroket vardır. Her spiroket türünün çoğalması, oksijen gerilimindeki değişikliklerle birlikte atık su içerisinde meydana gelir. Serbest yaşayan spiroketler atık sular da dahil olmak üzere çeşitli sucul habitatlarda bulunur. *Spirochaeta*, atık sularda bulunan serbest yaşayan bir cinstir (Gerardi, 2006).

Kükürt-oksitleyici bakteriler (Örnek: Thiobacillus)

Kükürt oksitleyen bakteriler, inorganik kükürtü oksitlerler ve bu süreçten enerji alırlar. Filamentli olmayan ve filamentli sülfür oksitleyici bakteriler vardır. Filamentli olmayanlar, *Thiobacillus*, *Thiospirillopsis* ve *Thiovulum*'u içerir. Filamentli bakteriler ise *Beggiatoa* ve *Thiothrix*'dir (Gerardi, 2006).

Kükürt indirgeyici bakteriler (Örnek: Desulfovibrio)

Kükürt indirgeyen bakteriler anaeroblardır ve substratları indirgemek için sülfat kullanırlar. Başlıca kükürt indirgeyici bakteriler *Desulfovibrio* ve *Desulfotomaculum*'dur (Gerardi, 2006).

1.5. Türkiye'de Atık Su Arıtma Tesislerinin Durumu

Türkiye'de atık su alt yapı sistemlerinin durumu değerlendirildiğinde yaklaşık 15 yıl önce klasik aktif çamur sistemleri daha yaygın iken, 2005 yılı sonrasında biyolojik azot ve fosfor giderimi yapabilen tesislerin sayısı artmaya başlamıştır.

Atık su arıtım tesisleri (ATT) sayısı incelendiğinde Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Çevre Yönetimi Genel Müdürlüğü tarafından yapılan çalışma sonucunda 2014 yılı sonunda bu tesislerin sayısının 597 olduğu belirlenmiştir. Bu tesisler daha detaylı olarak değerlendirilirse 303 adedi ikincil arıtma, 40 adedi derin deniz deşarjı, 40 adedi paket arıtma, 13 adedi fiziksel arıtma, 124 adedi doğal arıtma ve 77 adedi ise ileri arıtmadır. Bu tesislerde yaygın olarak uygulanan atık su arıtım yöntemleri ön arıtma, mekanik (birincil) arıtma, biyolojik (ikincil) arıtma ve ileri arıtmadır.

Ülkemizde Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Stratejik Planı incelendiğinde 2023 yılı hedef alınarak AAT yapılması gereken yerleşimler belirlenmiş ve toplam 1418 yeni AAT inşa edilmesi ve 83 adet yenilenecek AAT olduğu hedeflenmiştir. Ayrıca 10.10.2009 tarihli ve 27372 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analiz Metodları Tebliği”nin 4’üncü maddesinin üçüncü fıkrasında yer alan hüküm uyarınca, debisi 10000 m³/gün ve üzerinde olan arıtma tesislerinin çıkışlarına gerçek zamanlı uzaktan atık su izleme istasyonlarının kurulması gerekmektedir.

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Çevre Yönetimi Genel Müdürlüğü’nün 2014 yılı verilerine göre bu atık su arıtma tesislerinin sayısı 161’dir. Bu tesislerin bulunduğu iller ise Afyonkarahisar, Batman, Bingöl, Bitlis, Bolu, Burdur, Çanakkale, Çorum, Denizli, Düzce, Elazığ, Erzincan, Eskişehir, Giresun, Isparta, Karabük, Karaman, Kilis, Kırıkkale, Kırklareli, Kutahya, Malatya, Nevşehir, Osmaniye, Siirt, Sivas, Şanlıurfa, Tekirdağ, Tokat, Uşak ve Yozgat’tır ([http-2](http://2)).

1.6. Eskişehir’deki Atık Su Arıtma Tesislerinin Durumu

1.6.1. Belediye’ye ait atık su arıtma tesisleri

Eskişehir merkezinin yaklaşık 10 km doğusunda, Alpu yolu üzerinde bulunan ESKİ AAT, 1999 yılında işletmeye alınmıştır. Daha sonra mevcut tesisin kapasitesi yetersiz olduğundan 2009 yılında azot ve fosfor giderimi sağlayan yeni tesis işletmeye alınmıştır. Tesise giren atıksular kaba ve ince ızgara, havalandırmalı kum-yağ tutucudan oluşan fiziksel arıtma birimlerini geçtikten sonra iki hat üzerinden eski ve yeni tesise aktarılmaktadır. Eski tesis, ön çökeltim tankı, havalandırma tankı ve son çökeltim tankından oluşan bir klasik aktif çamur sistemidir. Yeni tesis ise ön çökeltim tankını takiben, klasik aktif çamur esasına göre tasarlanmış azot ve fosfor giderimi sağlayan aktif çamur sisteminden oluşmaktadır. Ayrıca, eski ve yeni tesisten çıkacak birincil çamurlar için graviteli çamur yoğunlaştırma tankı ve biyolojik çamurlar için mekanik yoğunlaştırma birimi içermektedir. Yoğunlaşmış birincil ve biyolojik çamurlar anaerobik çamur çürütücüde stabilize edilmekte ve biyogaz üretilmektedir. Bu biyogazdan ise elektrik enerjisi elde edilmektedir. Çürütülmüş çamur, çamur susuzlaştırma biriminde santrifüj dekanterleri kullanılarak susuzlaştırılır ve tesisten uzaklaştırılmaktadır. Yeni ve eski tesisin toplam atıksu arıtma kapasitesi ortalama 105000 m³/gün’dür.

1.6.2. Endüstriyel atık su arıtma tesisleri

Eskişehir’de organize sanayi bölgesinde yaklaşık olarak 386 firma faaliyet göstermektedir. Bu sanayi tesislerinde ağırlıklı sektör metal sanayii ile makine imalat sanayiidir. OSB’de oluşan atık su fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtma kademelerinde arıtılarak Porsuk Çayı’na deşarj edilmektedir. Eskişehir Organize Sanayi Bölgesi Atık su Arıtma Tesisi İşletmesi Organize Sanayi Bölgesinde faaliyet gösteren tüm işletmelerin evsel ve endüstriyel nitelikteki atıksuları toplayan 18000 m³/gün arıtma kapasiteli atıksu arıtma tesisidir (ESART A.Ş.). Tesis fiziksel, kimyasal, biyolojik arıtma, azot giderimi, dezenfeksiyon, kimyasal hazırlama, çamur yoğunlaştırma ve susuzlaştırma ünitelerinden oluşan aktif çamur sistemidir. Tesiste yıllık ortalama 4500000 m³/gün atıksu arıtılmaktadır. Tesiste arıtılmış su deşarjında ulusal ve AB mevzuatında belirtilen kriterler sağlanmaktadır. Bünyelerindeki akredite çevre laboratuvarında da günlük olarak deşarj kriterlerini ve tesis performansını izlemek üzere analizler yapılmaktadır. İşletmeye alınma tarihi 5 Haziran 2008 olup kapasitesi 24000 m³/gün’dür ([http-3](http://3)).

Eskişehir’de bulunan bir başka endüstriyel atık su arıtma tesisi de Eskişehir Kazım Taşkent Şeker Fabrikası’nda bulunmaktadır. Üretim sürecinde gerçekleştirilen pancar yüzdürme ve yıkama sonucu “Brükner Havuzu” çamurlu suları ortaya çıkmaktadır. Ayrıca diğer üretim aşamalarında da atık sular, yer yıkama suları ve çeşitli taşkın suları, oluşabilir. Tüm bu atık sular tesis bünyesinde bulunan AAT’de arıtıldıktan sonra Porsuk Çayı’na deşarj edilmektedir.

Diğer bir önemli tesis, Eskişehir’in İnönü ilçesinde bulunmaktadır. Tesiste motorlu kara taşıtları imal ve montajı yapılmaktadır. Oluşan atıksular, membran filtrasyonu sistemli ileri arıtma kademesi olan AAT’de arıtıldıktan sonra Sarısu Çayı’na bağlanan drenaj kanalına deşarj edilmektedir.

Eskişehir ilinin Seyitgazi ilçesi Kırka beldesinde kurulmuş olan Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü Kırka Bor Madeni İşletmesi’nde Tinkal, Boraks Pentahidrat, Susuz Boraks ve Kalsine Tinkal üretimi yapılmaktadır. Tesiste oluşan atıksu, tesis bünyesinde yer alan açık havuzlarda dinlendirilir ve üst faz tekrar kullanılmak üzere tesise geri verilmektedir. Tesiste herhangi bir atıksu deşarjı olmadığı beyan edilmiştir ([http-4](http://4)).

1.7. Biyodegradasyon

Biyodegradasyonun kesin bir tanımı var olmamakla birlikte işlem, genellikle, organik bileşiklerin mikroorganizmalar tarafından daha fazla hücre biyokütlesi ve daha az karmaşık bileşiklere ve nihai olarak suya parçalanmasını içerir. Organik bileşiklerin biyodegradasyonu mikroorganizmalar tarafından katalize edilen, fizyolojik tepkimeler kullanılarak moleküler yapının kısmen bozulması veya tamamen yok edilmesidir. Biyobozunabilirlik mikrobiyal olarak değiştirilebilir maddelerin duyarlılığı olarak tanımlanabilir. Değişiklik enzimatik olarak (içi veya hücre dışı) mikroorganizmaların büyümesi için gerekli olan savunma ile getirilmiştir. Ayrıca, enzimatik reaksiyonların bazıları ya yararlı (zehirli civa mobilizasyonu) ya da mikroorganizmalara karşı hiçbir saptanabilir yararı yoktur. Çoğu organik kirleticilerin biyodegradasyonu aerobik şartlar altında daha hızlı bir şekilde gerçekleşir. Aerobik şartlar altında olduğu gibi oranı hızlı olmasa da birçok organik bileşiğin biyodegradasyonu, (oksijen yokluğunda) anaerobik koşullar altında meydana gelir. Oksijen yokluğunda, bazı mikroorganizmalar son elektron alıcısı olarak nitrat, sülfat, demir ya da manganez kullanabilmektedirler (Rajendran, 2005).

Biyolojik olarak bozunabilir madde, genellikle, bitki ve hayvan artıkları ve canlı organizmalardan kaynaklanan diğer organik maddelerdir veya bitki ve hayvansal maddeye çok benzeyen ve mikroorganizmalar tarafından kullanılabilen yapay maddelerdir. Bazı mikroorganizmalar, hidrokarbonlar (örneğin yağ), poliklorlanmış bifeniller (PCB'ler), poliaromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), radyonüklidler ve metaller dahil olmak üzere çok çeşitli bileşiklerin ayrıştırılması, dönüştürülmesi veya biriktirilmesi için doğal olarak ortaya çıkan, mikrobiyal katabolik çeşitliliğe sahiptir (Leitão ve ark., 2009).

Biyolojik bozunum (biyodegradasyon) terimi genellikle ekoloji, atık yönetimi ve çoğunlukla çevresel iyileştirme (biyolojik remediasyon) ile bağlantılı olarak kullanılır (Marinescu ve ark., 2009). Biyoremediasyon süreci üç aşamaya ya da seviyeye ayrılabilir. Birincisi, doğal zayıflatma yoluyla, kirletici maddeler doğal mikroorganizmalar tarafından herhangi bir insan muamelesi olmadan azaltılır. İkincisi, biyostimülasyon, sistemlerin etkinliğini arttırmak ve biyolojik bozunmayı hızlandırmak için besin maddeleri ve oksijenin uygulandığı durumlar için kullanılır. Son olarak, biyoagumentasyon sırasında, mikroorganizmalar sistemlere eklenir. Bu ilave

organizmalar, hedef kirleticiyi parçalamak için yerli mikrobiyotadan daha verimli olmalıdır (Diez, 2010).

1.8. Fenol Degradasyonu

Fenol, hidroksibenzenin özel adıdır ve hidroksibenzenden türemiş bileşik sınıfına da fenoller denir. Fenol fenol ailesinin en basit üyesidir (Solomons ve Fryhle, 2002). Kimyasal formülü C_6H_5OH ve moleküler ağırlığı 94,144 g/mol'dür. Zayıf asit özelliği göstermektedir ve bu sebeple aşındırıcıdır (ATSDR, 1998). Fenol kristal yapıdadır, renksizdir ve kendine özgü bir kokusu bulunmaktadır. Fenoller suda çözünmeyen ya da çok az çözünen bileşiklerdir. Fenol bileşiklerindeki hidroksil grupları bu bileşiklerin moleküller arası hidrojen bağları yapabilmesini sağlamaktadır (Güler, 2008).

Endüstriyel atık sularda kirletici olarak fenol yaygın olarak bulunmaktadır. Fenol ve türevleri toksik ve tehlikelidir. Bu yüzden atık sularda sınırlı miktarda bulunmalıdır. Klorofenol, benzen, toluen, etilbenzen ve ksilen gibi aromatik hidrokarbonlar petrokimyasal ürünlerde, çoğunlukla benzin ve endüstriyel çözücülerin bünyesinde bulunmaktadır (Yılmaz, 2005). Bununla birlikte kömür işleme tesislerinde, tekstil fabrikası çıkış sularında, petrol rafinerileri atık sularında, kâğıt hamuru ve kâğıt ağartma tesisleri, reçine, pestisit endüstrileri atık sularında bulunmaktadır. Demir çelik fabrikalarında, kâğıt, ilaç endüstrisi atık sularında da bulunmaktadır (Yener ve Aksu, 1999). Fenol içeren atık suların arıtılmasında fiziksel, kimyasal, biyolojik ve/veya ileri arıtım yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin arasında adsorpsiyon, elektrokimyasal arıtım, kimyasal oksidasyon, ozon ile fenol oksidasyonu, fenton prosesi ile fenol oksidasyonu, ileri oksidasyon prosesleri gibi pek çok yöntem yer almaktadır (Güler, 2008). Fenollerin arıtılması için seçilecek yöntemi fenol konsantrasyonu belirlemektedir (Yener ve Aksu, 1999).

5-500 mg/L aralığı içinde fenol içeren atık suların biyolojik proseslerde arıtılması uygun olarak kabul edilir (Yılmaz, 2005). Biyolojik arıtım pek çok atık türünün arıtılmasında kullanılmaktadır. Aerobik ve anaerobik arıtım olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Güler, 2008). Biyolojik arıtımda mikroorganizmalar kullanılmaktadır ve mikroorganizmalar katabolik reaksiyonlar aracılığı ile çeşitli aromatik bileşikleri karbon ve enerji kaynağı olarak kullanarak bir fenolü parçalayabilmektedir (Yılmaz, 2005). Bakteriler fenolü aerobik koşullarda karbondioksit'e, aneorobik koşullarda ise karbondioksit ve metana dönüştürmektedir.

Fenol giderimi yapan mikroorganizmalar *Alcaligenes sp.* ve *Acromobacter sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Rhodococcus erythropolis*, *Acinetobacter sp.*, *Candida tropicalis* ve *Candida maltosa*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus thermoleovorans* gibi bazı bakteriler, *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* ve *Graphium sp.* gibi mantarlardır (Tziotziou ve ark., 2005).

1.8.1. Aerobik fenol degradasyonu

Fenolün yaygın bulunuşu sebebiyle çevrede bu bileşigi karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilen mikroorganizmalar bulunabilir. Bu mikroorganizmalar aerobik veya anaerobik olabilir. Fenol biyodegradasyonunda aerobik yolun ilk adımı sırasında, fenol hidroksilaz enzimi tarafından moleküler oksijen, orto konumda zaten mevcut olan hidroksil grubu dışında bir ikinci hidroksil grubu eklemek için kullanılır. Reaksiyon, indirgenmiş piridin nükleotid gerektirir (NADH₂). Elde edilen katekol (1, 2-dihidroksibenzen) molekülü daha sonra sorumlu organizmaya bağlı olarak, iki alternatif yol aracılığıyla parçalanabilir. Orto ya da β-ketoadipate yolakta, aromatik halka bir katekol 1,2 dioksijenaz ile katekol hidroksilleri arasından bölünür (intradiol fisyon) (Schie ve Young, 2000).

1.8.1.1. Fenol hidroksilaz enzimi

Fenol hidroksilaz fenolün katekole dönüşümünden sorumludur (Zhang ve ark., 2004). Mikrobiyal fenol hidroksilazlar arasında kaydadeğer bir çeşitlilik olduğu görülmektedir. Bazı mikroorganizmalar flavin monooksijenazları kullanır. Tek prostetik grup olarak flavin içeren enzimler aromatik bileşiklerin mikrobiyal metabolizması için ortaktır. Flavinin bu enzimlerdeki rolü moleküler oksijenin aktivasyonudur. İndirgenmiş flavin elektrofilik, nispeten zayıf oksijenleme ajanı olan bir flavin-hidroperoksit, oluşturmak için oksijen ile reaksiyona girer (Schie ve Young, 2000).

Diğer taraftan *Pseudomonas sp.* CF600, çok bileşenli fenol hidroksilaz kullanır. Bu enzim, toluen, benzen, naftalen ve metan parçalanması ile ilgili çok bileşenli mono- ve dioksijenazlara düşük dizi benzerliği ve organizasyonel benzerlik gösterir. Bu çok bileşenli enzimlerin üretimi için 5 protein gerekli görünmektedir (Schie ve Young, 2000).

1.8.2. Anaerobik fenol degradasyonu

Fenol oksijen yokluğunda da degrade olabilir. Bu işlem aerobik süreçten daha az gelişmiştir. Oksijen yokluğunda fenol parçalanmasıyla ilgili ilk rapor bu bileşiğin metanojenik koşullarda parçalanması üzerinedir. Daha sonra nitrat, sülfat ve demir indirgeyici koşullar altındaki mekanizmalar çalışılmıştır (Schie ve Young, 2000).

1.9. Atık Su Arıtım Sistemlerinde Mikrobiyal Çeşitliliğin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Mikroorganizmaların uzun bir evrimsel geçmişi vardır (yaklaşık 3,5 milyar yıl) ve çok karmaşık topluluklarda bulunurlar. Bu mikroorganizmalar, klasik yani kültür bağımlı yaklaşımla, uygun karbon kaynaklarını ve elektron alıcısı içeren katı veya sıvı besiyerlerinde mikroorganizmanın gelişmesini teşvik etmek için farklı fizyolojik koşullar altında geliştirilebilir. Bununla birlikte genel kültürel koşullar altında pek çok kültüre alınamayan mikroorganizma gelişemez.

Bazı çalışmalar mikrobiyal genomların sadece küçük bir kısmının (% 1-15) laboratuvar koşullarında geliştirilebileceğini ve halen % 85' nin çalışılmadığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle kültürel teknikler gerçek mikrobiyal çeşitliliği yansıtmamaktadır (Amann ve ark., 1995; Pace, 1997).

Bu sorunun çözümünde olası bir yöntem moleküler biyoloji yaklaşımlarını kullanmaktır. Doğal ortamlarda mikrobiyal ekolojiyi incelemek için moleküler araçların uygulanması, 1980'lerin ortalarında başlamıştır ve kültüre edilmemiş toplulukların kompozisyonu ile ilgili birçok yeni veri elde edilmiştir. Günümüzde, moleküler araçların mikrobiyal ekolojide kullanılması esastır ve klasik mikrobiyoloji ve moleküler mikrobiyoloji ayrı bilimler olarak düşünülmemektedir.

Moleküler yaklaşımlar esas olarak RNA'nın küçük ribozomal altbirimi (prokaryotlar için 16S rRNA) veya bunlara karşılık gelen genleri esas almaktadır. Bu molekülün seçilmesinin nedeni tüm organizmalar arasındaki evrensel dağılımı ve bazı yüksek oranda korunmuş ve çok değişken bölgeler gibi bazı belirli özellikler sunmasıdır. Ayrıca gen dizisinin boyutu, istatistiksel olarak karşılaştırılabilen verileri üretmek için yeterince büyüktür (Gutell ve ark., 1994; Amann ve ark., 1995).

Atık sulara uygulanan moleküler biyolojik yöntemler arasında Denatüre edici gradient jel elektroforezi (DGGE), Terminal restriksiyon parça uzunluğu polimorfizm (T-

RFLP), Floresan yerinde hibridizasyon (FISH), ve 16S rDNA'nın klonlanması bulunmaktadır (Sanz ve Kochling, 2007).

1.9.1. FISH

Fluoresan in situ hibridizasyon (FISH), mikrobiyal hücrelerin belirlenmesi için RNA veya DNA'ya spesifik sekanslar için moleküler bir tekniktir. Doğal ortamlarında mikrobiyal hücrelerin saptanması ve kültüre alınmamış mikroorganizmaların doğrudan görselleştirilmesine izin verir (Amann ve ark., 2001).

Gerekli problemler mevcutsa nispeten kolay ve hızlı bir yöntem olduğu için atık su arıtma araştırmalarında uygulanan en popüler moleküler tekniklerden biridir. Bu yöntem, genellikle farklı taksonomik seviyedeki spesifik temsilcileri tespit etmek için, sabit hücrelerdeki RNA ve DNA sekanslarını tanıyan floresan bir boya ile etiketlenmiş kısa DNA sekansları (16-20 nükleotid) olan floresan problemleri kullanır (Sanz ve Kochling 2007). İlk kez Wagner ve ark. (1993), aktif çamurdaki (aerobik arıtım) mikrobiyal toplulukları analiz etmek için FISH yöntemini kullanmıştır. α -, β - ve γ -proteobakterilerin saptanması için spesifik problemler kullanmıştır.

Yöntemde çevresel numuneler, hücreleri öldürmek, morfolojilerini korumak ve oligonükleotid problemlere geçirgenlikleri için kimyasal fiksatiflerin eklenmesiyle ön muamele görürler. Gram negatif bakteriler için bir paraformaldehit esaslı fiksatif bu gereklilikleri yerine getirir ve numuneleri birkaç yıl boyunca -20°C 'de saklamaya izin verir. Bununla birlikte, tüm Gram-pozitif bakterileri permeabilize eden bir sabitleme protokolü hala geliştirilmeye çalışılmaktadır. Pek çok Gram pozitif mikroorganizma, % 50 EtOH ilavesiyle FISH için etkili bir şekilde permeabilize edilebilir. Fikse edilmiş örnekler, floresan boyalar ile etiketlenmiş problemlerle hibridize edilir. Çevresel araştırmalar için, FLUOS (5, (6) - karboksi-fluoresein-N-hidroksisüksimid ester: yeşil floresans), Cy3 (turuncu floresan) veya Cy5 (kızılötesi floresans) boya çok uygundur (Loy ve ark., 2002).

Çok yaygın kullanılmasına rağmen yöntemin bir takım dezavantajları bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi nispeten yüksek tespit sınırıdır. Dahası, yalnızca 1000 kopyadan daha fazla bir ribozom içeriğine sahip hücreler, ilave sinyal amplifikasyonu olmaksızın problemler tarafından tespit edilebilir. Fakat düşük bir hücresel ribozom içeriğine sahip olan mikroorganizmalar muhtemelen aktif olmadığından, bu gereksinim, atık su arıtma sistemlerinde fizyolojik olarak aktif hücrelerin in situ analizini

engellemez. Öte yandan, sıklıkla, parlak FISH sinyaline yol açan bir mikrobiyal hücrenin yüksek bir hücrel ribozom içeriğinin, örnekleme sırasında fizyolojik aktivitesinin bir göstergesi olduğu varsayılır. Fakat bu yorum yanıltıcı olabilir, çünkü örneğin nitrifiye edici bakteriler, birkaç gün boyunca tam inhibisyon sonrasında bile yüksek ribozom seviyelerini korurlar (Loy ve ark., 2002).

1.9.2. DGGE (Denatüre Edici Gradyent Jel Elektrofrezisi)

Denatüre edici gradyent jel elektrofrezisi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) DNA ürünlerini, bu molekülün baz çiftlerinin dizisine göre denatürasyon gradyenti altında elektroforetik mobilite profilindeki değişime dayalı olarak ayıran, biyolojik çeşitliliği yansıtabilen bant profilleri üreten moleküler parmak izi tekniğidir (Muyzer ve ark., 1993). Başka bir deyişle, DGGE, farklı bantların genellikle farklı gen dizilerine karşılık geldiği, hedef numunenin bir parmak izi analizinin oluşturulduğu, bir mikrobiyal toplulukta genetik çeşitliliğin bir model veya profilinin sunulduğu bir tekniktir.

Bu teknik atık su arıtma sistemlerindeki mikrobiyal çeşitlilik çalışmalarında kullanılan yaygın yöntemler arasındadır. Sistemlerdeki bakteriyel çeşitliliği belirlemek için pek çok çalışma da DGGE kullanılmıştır (Moura ve ark., 2007; Tan ve Ji, 2010). Santegoeds ve ark., 1998 sülfat indirgeyen bakteriyel grupların analizi için DGGE ve FISH metodunu birlikte kullanmışlardır.

Bu yöntemin en büyük avantajı, özellikle birçok örnek ile çalışılması gerektiğinde, mikrobiyal topluluklarda dinamik değişikliklerin izlenmesidir. Numunelerin kümelenmesini sağlayabilen ve tekrarlanabilir bir tekniktir. DGGE'nin en önemli kısıtlamaları ise PCR biasları ve fragment boyutlarıdır. Yöntem 500 baz çift kadar fragmentin ayrımını sağlamaktadır (Muyzer ve ark., 1993).

1.9.3. 16S rDNA'nın klonlanması

16S rDNA'nın klonlanması ve dizilimi, moleküler mikrobiyal ekoloji çalışmalarında oldukça fazla kullanılmaktadır.

Klon kütüphaneleri belirli bir numunedeki genomik DNA ekstraksiyonundan sonra 16S rRNA genlerinin çoğaltılması ve klonlanması ile oluşturulmaktadır. Klonlama işlemi gerçekleştirildikten sonra, 16S rRNA gen kütüphanesi, kolonilerin gen spesifik problemlerle hibridizasyonu, spesifik primerlerle koloni PCR ve DNA dizilimi gibi çeşitli yöntemlerle taranabilir. Atık sularda klonlama çalışmalarına bakıldığında yöntemin tek

başına kullanıldığı çalışmalar oldukça azdır. Örneğin, filogenetik analizler yapmak ve aktif çamurdaki bakterilerin in situ tanımlanmasını sağlamak için klonlama kullanılmıştır. Bu çalışmada FISH yöntemi ile birlikte kullanılmıştır (Snaidr ve ark., 1997). Zhang ve ark., 2009 farklı atık su arıtma tesislerindeki amonyak okside eden arkeaları karşılaştırmak için klon kütüphanesi oluşturmuştur.

Klon kütüphaneleri, sadece 16S değil, aynı zamanda belirli bir organizmanın (veya mikroorganizmaların bir grubunun) veya fonksiyonel genlerin daha ileri teşhisi ve/veya incelenmesine izin verebilir. Ancak sınırlamaları da bulunmaktadır. DGGE ve klonlamadaki ortak adım DNA veya RNA ekstraksiyonudur ve bu adım en önemli sınırlamalardan birini temsil eder (dos Santos ve ark., 2009).

1.9.4. Yeni nesil dizileme yaklaşımları

Moleküler biyoloji ve genetik teknolojiler sürekli gelişmekte ve geliştirilmekte olup, yeni teknolojilerin kullanıma girmesi, hızlı alımları ve daha sonra kullanımlarında istikrarlı bir durum ya da yavaş yavaş azalma göstermektedir ve daha sonra farklı teknolojiler geliştirilmektedir. Moleküler tekniklerin artan kullanılabilirliği, ayrıca mikrobiyal topluluklar hakkında önemli verilerin üretilmesiyle, daha kapsamlı teknikler istemektedir. Bu da çevresel bir örnekten mikrobiyal hücrelerin veya mikrobiyal çeşitliliğin DNA dizilerini daha hızlı ve daha etkili bir şekilde tanımlamak için çok güçlü olan umut verici ve inanılmaz metodolojilerin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır.

Yeni nesil dizileyicilerin amacı, Nyren ve ark. (1993) tarafından ilk kez sunulan sentezleme dizilimi kavramıdır. Yaklaşım, lusiferazla biten enzimatik basamakla pirofosfat salınımını saptayarak ve yayılan ışığın saptanmasıyla dizilimin yapıldığı teknoloji olan 454 platform tarafından seçilmiştir (Margulies ve ark., 2005). Bununla birlikte, üretilen kısa okuma uzunlukları nedeniyle standart dizileme gereksinimleri için yeterince güçlü olarak düşünülmemiştir (Ronaghi ve ark., 1996).

Margulies ve ark. (2005), pirodizileme reaksiyonunu minyatürize etme ve hem kalıp hazırlama aşamasını hem de pirodizileme kimyasını katı faza taşıırken 454 platformunu temel almıştır. Margulies ve ark., (2005)' in belirttiği yöntem dışında farklı yeni nesil dizileme sistemleri de eklenmiştir. 454'ü takip eden ilk teknoloji, Solexa (Cambridge, İngiltere) tarafından geliştirilen Illumina'nın (Hayward, CA, ABD) Genom Analizörü'dür. Sonrasında Shendure ve diğerleri 2005 çalışmalarına dayanılarak ve Applied Biosystems (Foster City, CA, ABD) tarafından SOLiD sistem olarak adlandırılan

system geliştirilmiştir. Helicos Biosciences'in (Cambridge, MA, ABD) sistemi ise, PCR kirlilik ve sınırlamalarını ortadan kaldırarak ve gerçek tek moleküllü sıralama özelliğini etkinleştirerek, kalıp materyalden PCR amplifikasyonunu gerektirmez (dos Santos ve ark., 2009)

Ayrıca genomik ve metagenomik alanlarında yüksek etkiye sahip olan bir sıralama teknolojisi kısa süre önce Pacific Biosciences (PacBio) tarafından geliştirilmiştir. Bu teknoloji sentez yoluyla tek moleküllü bir DNA dizilimi ile paralelleştirilmiş olan tek moleküllü gerçek zamanlı (SMRT) sekanslama kullanır. SMRT dizilimi sıfır modlu dalga platformu (waveguide) (ZMW) kullanır; tek bir DNA polimeraz enzimi bir ZMW'nin tabanına bir kalıp olarak tek bir DNA molekülü ile sabitlenir. Optik tabanlı sözü edilen teknolojilere ek olarak, Ion Torrent'in yarı iletken dizileme cihazı ve Ion Proton gibi teknolojiler de şimdi devrededir. Bu teknolojiler, nükleotid birleşmesini tespit etmek için DNA'nın polimerizasyonu sırasında proton emisyonunun kullanımına dayanmaktadır. Oxford Nanopore teknolojileri tarafından geliştirilmekte olan daha da ileri teknolojisi olan bir yöntem ise potansiyel olarak tamamen bozulmamış DNA iplikçikleri / polimerleri bir protein nanopore'dan geçerek yapılan bir DNA analizi metodu olan "strand sequencing" dir. Yenilikçi ve çok umut verici bir diğer teknoloji örneği mikro ve nanoyapıları kullanan ve de novo genom haritaları oluşturmanın yeni yollarını sunan Irys Technology (BioNano Genomics)'dir (Oulas ve ark., 2015).

Yüksek verimli sekanslamanın en önemli avantajları 16S rRNA gen analizi ile mikrobiyal toplulukların incelenmesine olanak tanınması, özellikle yararlı olan, yeni mikroorganizmaların ve genlerin keşfi için muazzam gen araştırmalarına izin vermesi ve en önemlisi maliyeti önemli ölçüde azaltılmasıdır. Bu teknolojiler yardımıyla 16S rRNA geninin hiperdeğişken bölgelerini hedefleyen, yeni dizileme teknolojilerinin bazıları tarafından dizilenecek kadar kısa (100-350 baz) ve aynı zamanda mevcut rRNA veritabanları tarafından sınıflandırmaya uygun primerler kullanılarak o sırada binlerce dizinin bulunduğu ortamları araştırmak mümkündür (dos Santos ve ark., 2009).

Yeni nesil dizileme teknolojilerinin sınırlamaları ise dizi verileri üretme yeteneği değil, üretilen verilerin depolanması ve yeni geliştirilmiş programlarla analiz edilmesidir. Metagenomik ve metatranscriptomik verilerin analizleri için veri tabanları ve yazılım araçları önemlidir (dos Santos ve ark., 2009).

1.9.4.1. Metagenomik

Metagenomik bir mikrobiyal topluluğun üyelerinin tüm genomlarının analizini kapsamaktadır. Komunitedeki organizmaları kültüre etmeden klonlama ve genom analizini içermektedir.

Prokaryotlar gezegenimizin fizyolojik ve metabolik olarak en çeşitli organizmalarıdır. Mikroorganizmaların büyük çoğunluğu laboratuarda kültüre edilmemiştir. Mikrobiyal yaşama dair tüm bilgilerimiz kültür edilebilen organizmalara dayanmaktadır. Metagenomik ise kültüre edilemeyen türleri incelemek için ek bir araç sağlamaktadır. Metagenomik komüniteden o ortamdaki organizmaların genomlarını temsil eden DNA ekstraksiyonuna gerek duymaktadır. Bu genomlar metagenomik kütüphane oluşturmak üzere kesilir ve klonlanır. Bu kütüphaneler ise daha sonra DNA dizi analizine tabi tutulur (Sabree ve ark., 2009).

1.9.4.1.1. Markır gen metagenomiği

Markır gen metagenomiği, PCR amplifikasyonu ve 16S rRNA geni gibi evrimsel olarak korunmuş markır genlerin dizilenmesini kullanılarak bir topluluk / taksonomik dağılım profili veya parmak izi elde etmek için hızlı bir yoldur. Bu taksonomik dağılım daha sonra araştırma yapılan numune alanından türetilen çevresel verilerle (metadata) ilişkilendirilebilir (Oulas ve ark., 2015). 16S rRNA geninin diziliminin bakteriyel gelişimi yansıttığı yaygın olarak kabul görmektedir. 16S rRNA geninin pirosekanslaması, mikrobiyal ekoloji alanında çokça uygulanmıştır ve ilgili veritabanlarında çok sayıda sekans yüklenmiştir ve böylece mikrobiyal ekolojide "altın standart" olarak 16S değerini arttırmıştır.

Prokaryotlar (yani bakteri ve arke) için taksonomik analiz, çeşitli dizileme teknolojilerinden türetilmiş 16S verileri (örn., Illumina, Solid ve Ion Torrent'in yanı sıra 454 pyrosequencing) kullanılarak düzenli olarak gerçekleştirilir ve bilgisayar yazılımları analiz edilir. 16S veri analizi için sıkça kullanılan araçlar QIIME, Mothur, SILVAngs, MEGAN ve AmpliconNoise'dir. 16S metagenomik veri kümelerinin analizi için geniş bir algoritma ve yazılım bulunmasına rağmen, QIIME "altın standart" olarak kurulmuş gibi görünmektedir (Oulas ve ark., 2015).

1.10. Literatür Özeti

Atık su mikrobiyal yapısı ile ilgili ilk çalışmalar mikroskopik çalışmalar ve kültür bağımlı çalışmalara dayanmaktadır. Bu klasik yaklaşımlar çeşitli ökaryotik mikroorganizmaların ve filamentli mikroorganizmaların tanımlanmasını olanaklı kılmaktadır. Bununla birlikte temel sorun mikroskop altında bakteriyel toplulukların ayırt edilememesidir.

İzolat temelli metodlarla araştırmacılar atık su arıtım sistemlerinde var olan mikroorganizmaları araştırmaya başlamışlardır. Fakat temel sorun bakterilerin genel amaçlı besiyerlerinde kolayca kültüre edilememeleridir. Bu kültür bağımlı teknikler ortam koşullarına en iyi şekilde adapte olabilen hızlı gelişen heterotroflar için avantajlıdır ve bu yüzden kültüre edilebilir strainler doğal mikrobiyal komünitelerin tam ve doğru olarak kompozisyonunu ve çeşitliliğini yansıtmamaktadır.

Moleküler temelli metodların avantajı kültivasyona dayanmamaları ve bu yüzden mikrobiyal komünitelerin çeşitliliğini tam anlamıyla ve yüksek hassasiyette yansıtmalarıdır. rRNA tabanlı sistematüğın ortaya çıkışıyla sadece mikroorganizmaların sınıflandırılması değil aynı zamanda bize karmaşık mikrobiyal popülasyonları yerinde incelemek için de bir yol olmuştur. rRNA dizilerinin karşılaştırılması ve amplifikasyonuna dayalı, ARDRA (16S-RFLP), RISA, t-RFLP, DGGE ve gen klonlama gibi metodlar su ve atık su sistemleri dâhil çeşitli çevresel örnekler için uygulanmaktadır. Nükleik asit temelli komünite analiz teknikleri mikroorganizmaların kültür ortamında geliştirilmeden mikrobiyal komüniteyi açıklamak için geliştirilmiştir (Gilbride ve ark., 2006).

1.10.1. Dünya’da yapılan çalışmalar

Bir işletme tesisine bağılı bir endüstriyel atıksu arıtma tesisinin nitrifikasyon-denitrifikasyon aktif çamuru mikrobiyal topluluğunun kompozisyonu tamamen rRNA yaklaşımı ile incelenmiştir. Üç farklı yöntem kullanarak yapılan DNA ekstraksiyonu sonrası neredeyse tam uzunlukta 94 adet 16 S rRNA gen klonu sonucu alınmış ve filogenetik analiz yapılmıştır. Aktif çamur mikrobiyal topluluk kompozisyonu floresan in situ hibridizasyon (FISH), konfokal lazer tarama mikroskopi ve dijital görüntü analizi için 36 altgrup-, grup ve OTU spesifik rRNA hedefli oligonükleotid problemleri kullanılarak kantitatif tespit edilmiştir (Juretschko ve ark., 2002).

Real Time PCR kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada Beacon ve TaqMan probolar kullanılarak Real-time PCR deneyleri geliştirilmiş ve toplam bakteri ölçümü, Nitrit-oksitleyici bakteriler *Nitrospira* ve *Nitrosomonas oligotropha* gibi amonyak oksitleyici bakteriler (AOB) için optimize edilmiştir (Harms ve ark., 2003).

Evsel atık suların ileri arıtımı için 2 aktif çamur sistemindeki mikrobiyal kominitenin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada FISH, T-RFLP ve karşılaştırmalı 16 S rDNA analizi kullanılmıştır (Eschenhagen ve ark., 2003).

Aktif çamur örneğinde fenol degradasyonu yapan bakteriler PCR ile belirlenmiştir (Movahedian ve ark., 2009).

Fonksiyonel genlerle ilgili yapılan bir çalışmada oksijenazlar endüstriyel açıdan birçok önemli molekülün üretimi için yararlı olduğundan bir atık su arıtma tesisi çamuru metagenomik kütüphanesinden iki flavin monooksijenazlarının tanımlaması yapılmıştır. Atık arıtma tesisi çamuru metagenomik kütüphanesinin taranması sonucu sırasıyla *Mesorhizobium loti* ve *Sphingomonas wittichii* flavin monooksijenazlar ile benzer olduğu varsayılan, B1 ve B2 proteinlerini kodlayan iki klon tespit edilmiştir (Singh ve ark., 2010).

Bir arıtım tesisinden ve laboratuvar ölçekli nitrifikasyon biyoreaktör ile gerçekleştirilen bir çalışmada 16 S rRNA geni analizi için 454-pirosekanslama kullanılmıştır ve filum ve cins seviyesinde iki örnekleme alanı arasındaki taksonomik çeşitlilik karşılaştırılmıştır (Ye ve ark., 2011).

Yapılan kapsamlı bir çalışmada atık su arıtma biyoreaktörlerindeki mikrobiyal çeşitlilik, fonksiyonel çeşitlilik ve metabolik yollar High-Throughput Sequencing ile ortaya çıkarılmıştır. Çalışmada veriler Illumina HiSeq 2000 platformunda elde edilmiştir. 16S rRNA gen amplikonları, metagenomik verilerden elde edilen 16S rRNA dizileri ve proteinler taksonomik analiz için kullanılmıştır. Özellikle amonyak oksitleyici Arkea (AOA) ve bakterilerin (AOB) bollukları analiz edilmiştir. Ayrıca metabolik profil analizi de gerçekleştirilmiştir (Ye ve ark., 2012).

Bir diğer çalışmada endüstriyel atıklarla kontamine bir alanda mikrobiyal kominite ve metagenom analizi yapılmıştır. Bu çalışmada 16S rDNA kullanılarak taksonomik profilendirme yapılmıştır. Metagenomik okumalardan çeşitli araçlar ve veri tabanlarıyla elde edilen sonuçlarla ksenobiyotik biyodegradasyonunda yer alan enzimler ve yollarla ilgili sonuçlar elde edilmiştir (Shah ve ark., 2013).

Farklı zamanlarda örnekleme yapılan 2 arıtma tesisi aktif çamur örneğinden, biyodegradasyon (BDGS) ve fenol degradasyon (PDGS) genlerinin bolluk, çeşitlilik ve dağılımı için Illumina Highthroughput sekanlamadan 15 veri seti kullanılarak ve BDGS ve PDGs veritabanlarına BLAST karşılaştırmaları yapılarak metagenomik analiz uygulanmıştır. p450 ve pmo genlerinin BDGS ve PDGs alt gruplarında en bol genler olduğu tespit edilmiştir (Fang ve ark., 2013).

Atık su arıtma tesisinden aktif çamur örneğiyle 4 yıllık mevsimsel mikrobiyal varyasyonların metagenomik analizi gerçekleştirilmiştir (Ju ve ark., 2014).

4 farklı endüstrinin atık suyu aktif çamur örneğindeki farklı bakteriyel grupların çeşitliliği nested-PCR-DGGE ile belirlenmiştir. Aktinomisetler, amonyak okside ediciler, metanotroflar gibi bakteri grupları için 16S rRNA spesifik primerler kullanılmıştır. Sonraki PCR döngüsünde ise DGGE için spesifik PCR kurulmuştur. Kommünite analizi ve farklı örneklerden bakteri gruplarının çeşitliliği istatistiksel analiz ve Shannon çeşitlilik indeksi değerlendirme gibi farklı teknikler kullanılarak analiz edilmiştir (Shah, 2014).

2016 ve sonrasında yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, Zielinska ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada, 3 atık su arıtma tesisinde bir yıl boyunca nitrat indirgeyici bakteri popülasyonu üzerine çalışmışlardır. Bakteri kompozisyonu 16S rRNA geninin dizilenmesi ve nitrat indirgeyicileri belirlemek için narG ve napA genlerinin dizilenmesiyle belirlenmiştir. Ayrıca nitrat indirgeyici bakterilere özgü problemlerle FISH yöntemi uygulanmıştır (Zielińska ve ark., 2016), amonyak okside eden bakteriler, antibiyotiğe dirençli bakteriler, kabarma ve köpürmeye sebep olan bakteriler üzerine çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Margot ve ark., 2016; Erhan ve ark., 2016; Jiang ve ark., 2016). Na ve ark., tarafından gerçekleştirilen yeni nesil dizileme çalışmasında ise sürekli bir anaerobik fenol degradasyon sistemindeki mikrobiyal kominitenin belirlenmesi amaçlanmıştır (Na ve ark., 2016).

Fenol degradasyonu üzerine gerçekleştirilen çalışmaların sayısı da son derece fazladır. Çeşitli atıksulardan fenol degrade edebilen bakterilerin izolasyonunu, degradasyon ve biofilm oluşturma yeteneklerini araştırmışlardır (Khusnuryani ve ark., 2016; Patil ve ark., 2016). Liu ve ark., (2016) petrokimyasal atık suyundan fenolün bakteriyel suş *Acinetobacter calcoaceticus* PA ile biyodegradasyonu üzerine bir çalışma gerçekleştirmiştir.

1.10.2. Ülkemizde yapılan çalışmalar

Dünya literatüründe sayısız çalışma olmasına rağmen ülkemizde yapılan çalışmaların sayısı bu kadar fazla değildir. Mevcut tez çalışmaları değerlendirildiğinde;

Güler, (2006) biyolojik atıksu arıtma sistemlerindeki nitrifikasyon bakterilerinin türlerinin ve aktivitelerinin belirlenmesi üzerine çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, gerçek tesis boyutundaki ve laboratuvar ölçekli biyolojik atıksu arıtma tesislerinden alınan çamur numunelerindeki nitrifikasyon bakterileri FISH, Slot – Blot Hibridizasyon ve DGGE teknikleri kullanılarak incelenmiştir (Güler, 2006).

Bir diğer çalışma da amonyağı oksitleyen arkeaların atık arıtma tesislerinde olası varlığının araştırılması ve çevresel örneklerle ilişkilendirilmesi üzerine gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma kapsamında azot döngüsündeki rollerinin daha iyi anlaşılması amacıyla atık su arıtma tesislerinde ve farklı çevresel örneklerde ammonyaga oksitleyen arkeaların varlığı araştırılmıştır. Kimya, alkol, yağ, petrol, sakız, maya, bira ve çöp sızıntı suyu atık arıtma tesislerinden 16 farklı aktif çamur örneği ve çevresel toprak, termal/kaynak suyu, tatlısu, tropikal akvaryum suyu ve çökelti örnekleri arkeal amoA gen varlığı açısından polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve dizi analizleme yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır (Çelik, 2010).

Türkiye'deki atıksu arıtma tesislerinde anoksik fosfor giderimi yapabilen organizmaların varlığının incelenmesi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma ile Paşaköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi ve Kayseri Atıksu Arıtma Tesisi'ne ait çamurlarla kesikli deneyler gerçekleştirilmiş ve fosfor giderebilen denitrifikasyon bakterilerinin varlığı ile fosfor giderimine katkıları araştırılmıştır (Ayhan, 2011).

Amonyaga oksitleyen arkelerin atık su arıtımındaki rolünün moleküler tekniklerle belirlenmesi üzerine gerçekleştirilen çalışmada petrol, yağ, gıda, alkol, kimyasal endüstri ve çöp sızıntı suyu atıksu arıtması gibi, 16 farklı evsel ve sanayi atık su arıtma tesisinden örnek alınmış ve amonyak oksitleyen arke ve bakterilerin varlığı amoA genine özgü iki primer çifti kullanılarak belirlenmiştir (Kurt, 2013).

Kamışlı, (2014) çalışmasında Batı Adana (evsel) ve Adana Hacı Sabancı Organize Sanayi Bölgesi (endüstriyel) Atık Su Arıtma Tesis'lerinden alınan su örneklerinden edilen gram negatif bakterilerin izolasyonunu gerçekleştirmiş ve antibiyotik ve ağır metal dirençliliklerinin belirlenmesi yönelik bir çalışma gerçekleştirmiştir.

Kesikli anaerobik koşullarda sürekli reaktörde ilaç atık sularının arıtım süreci izlenmiştir. Bu çalışma kapsamında arıtımda rol alan mikrobiyal türlerin belirlenmesinde

klonlama, dizi analizi ve yeni nesil dizileme teknikleri kullanılmıştır. Mikrobiyal komünitedeki değişim ise floresan yerinde hibritleme yöntemi (FISH) ile takip edilmiştir (Çomoğlu, 2014).

Atık su arıtma havuzundan alınan örneklerden 50 adet *Pseudomonas* izole edilerek VITEK 2 Compact 30 (biomerieux) cihazı ile tür tanımlamaları yapılmış ve ekzopolisakkarit üretimlerine bazı ağır metallerin etkisi araştırılmıştır (Yalçın, 2016).

Gerçekleştirilen bir başka doktora tez çalışmasında ağır metal içeren atık sulardan Cr (VI)'ya dayanıklı bakterilerin izole edile edilmesi ve biyoremediasyon potansiyelleri araştırılmıştır. Krom ile kontamine alanlardan izolasyon yapılmış ve *Morganella morganii* suşu seçilerek krom giderme kapasitesi incelenmiştir (Ülger, 2016).

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan kimyasallar

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasal maddeler ve özellikleri Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Kullanılan kimyasallar

Malzeme adı	Kullanım amacı	Markası
Fenol	Biyodegradasyon deneyleri	Sigma
Toluen	Biyodegradasyon deneyleri	Riedel de Haen
Agar	Besiyeri hazırlığı	Pronadisa
K ₂ HPO ₄	Besiyeri hazırlığı-FISH protokolü	Merck
KH ₂ PO ₄	Besiyeri hazırlığı-FISH protokolü	Riedel-de Haen
(NH ₄) ₂ SO ₄	Biyodegradasyon deneyleri	Sigma
MgCl ₂ .6H ₂ O	Besiyeri hazırlığı	Merck
NaCl	Besiyeri hazırlığı-DNA Ekstraksiyonu, FISH protokolü	Sigma
FeCl ₃ .6H ₂ O	Biyodegradasyon deneyleri	Fluka
CaCl ₂	Besiyeri hazırlığı	Merck
Agaroz	PCR, DNA ekstraksiyonu	Sigma
MQ su	Tüm deney protokolleri	Gibco
10X PBS çözeltisi	FISH	Hyclone
10X TAE çözeltisi	Jel elektroforezi	Fisher
10X TBE çözeltisi	Jel elektroforezi	Fisher
Enzimler (<i>Mbo I-Hinf I</i>)	Restriksiyon analizi	Biolabs
PCR Mix	PCR	Biolabs
Saflaştırma kiti	DNA ekstraksiyonu, PCR	Promega
Filtre	DNA ekstraksiyonu	Millipore
Filtre	FISH	Millipore
DAPI	FISH	Sigma
Formamid	FISH	Sigma
Tris-HCl	DNA ekstraksiyonu	Sigma
EDTA	DNA ekstraksiyonu, FISH	Gibco
FISH için prob	FISH	Thermo
SDS	DNA ekstraksiyonu, FISH	Amresco
Lizozim	DNA ekstraksiyonu	Sigma
Proteinaz K	DNA ekstraksiyonu	Sigma
Kloroform-İzoamil alkol	DNA ekstraksiyonu	Sigma
Fenol-Kloroform-İzoamil alkol	DNA ekstraksiyonu	Amresco
NaOAc	DNA ekstraksiyonu	Fluka
CTAB	DNA ekstraksiyonu	Amresco
Izopropanol	DNA ekstraksiyonu	Sigma
Etanol	DNA ekstraksiyonu	Riedel de Haen
Trizma base	Besiyeri hazırlığı	Sigma
EDTA (0.5 M pH 8)	FISH	Amresco
Asetik asit	Jel elektroforezi	Sigma
4-aminoantipyrin	Biyodegradasyon deneyleri	Sigma

Tablo 2.1. (Devam) *Kullanılan kimyasallar*

Malzeme adı	Kullanım amacı	Markası
NaOH	pH ölçümü, biyodegradasyon deneyleri	Fluka
Potasyum ferrosiyanit	Biyodegradasyon deneyleri	Fluka
EDTA (0.5 M pH 8)	FISH	Amresco
Amonyum hidroksit	Biyodegradasyon deneyleri	Fluka
Yeast ekstrakt	Besiyeri hazırlığı	Merck
Pepton	Besiyeri hazırlığı	Himedia
Plate count agar	Besiyeri hazırlığı	Fluka
Formaldehit	FISH	Fluka

2.1.2. Kullanılan besiyerleri

2.1.2.1. MSM (Mineral Salt Medium) besiyeri (1 litre için)

MSM besiyerinin hazırlanışı Tablo 2.2' de verilmiştir.

Tablo 2.2. *Mineral Salt Medium hazırlanışı*

K ₂ HPO ₄	2,75 g
KH ₂ PO ₄	2,25 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,2 g
NaCl	0,1 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,02 g
CaCl ₂	0,01 g
Distile su ile 1 litreye tamamlanır. pH 7'ye ayarlanarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir (Watanabe ve ark., 1998). Katı besiyeri hazırlamak için 15g/L agar kullanılır.	

2.1.2.2. Plate count agar (PCA) besiyeri

PCA besiyeri, 22,5 g/L olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilip, otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir ve steril Petri kutularına dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak, açık sarımsı renktedir ve 25 °C'da pH'sı 7,0±0,2'dir.

2.1.3. Kullanılan çözeltiler

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışları Tablo 2.3-2.10'da verilmiştir.

2.1.3.1. TAE 50X (1 litre için)

Tablo 2.3. *TAE 50X hazırlanışı*

Tris base	242,0 g
EDTA (0.5 M pH 8)	57,1 ml
Asetik asit	100,0 ml
Distile su ile 1 litreye tamamlanır, pH 8'e ayarlanarak oda sıcaklığında saklanır (Sambrook ve ark., 1989).	

2.1.3.2. TBE 5X (1 litre için)

Tablo 2.4. TBE 5X hazırlanışı

Tris base	54,0 g
Borik asit	27,5 g
EDTA (0.5 M pH 8)	20,0 ml
Distile su ile 1 litreye tamamlanır, pH 8'e ayarlanarak oda sıcaklığında saklanır (Sambrook ve ark., 1989).	

2.1.3.3. Elektroforez için yükleme boyası (6X)

Tablo 2.5. Elektroforez için yükleme boyası hazırlanışı

Ksilensiyanol	0,25%
Bromofenol blue	0,25%
Gliserol	30%
Oda sıcaklığında saklanır (Sambrook ve ark., 1989).	

2.1.3.4. Total nükleik asit ekstraksiyonu için ekstraksiyon tamponu

Tablo 2.6. Total nükleik asit ekstraksiyonu için ekstraksiyon tamponu hazırlanışı

100 mM Tris-HCl	0,7880 g
100 mM EDTA	1,5760 g
mQ su ile 100ml'ye tamamlanır ve pH 8.0'a ayarlanır.	

2.1.3.5. %10 SDS solüsyonu

Tablo 2.7. %10 SDS solüsyonu hazırlanışı

Sodyumdodesilsülfat (SDS)	10,0 g
Distile su	100,0 ml
Hazırlandıktan sonra oda sıcaklığında saklanır (Sambrook ve ark., 1989).	

2.1.3.6. PBS 10X

Tablo 2.8. PBS 10X hazırlanışı

NaCl	80,0 g
NaH ₂ PO ₄ ·7H ₂ O	11,5 g
KCl	2,0 g
KH ₂ PO ₄	2,0 g
Distile su ile 1 litreye tamamlanır, pH 7.2' e ayarlanır, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir ve oda sıcaklığında saklanır (Sambrook ve ark., 1989).	

2.1.3.7. *In situ* hibridizasyon tamponu

Tablo 2.9. *In situ* hibridizasyon tamponu hazırlanışı

Tris-HCl (1 M pH 8)	40,0 µl
NaCl (5 M)	360,0 µl
Formamid	700,0 µl
SDS (%10)	2,0 µl
mQ su	900,0 µl
Hazırlanıp buz üzerinde korunur (Anton, 1999).	

2.1.3.8. *FISH* için yıkama tamponu

Tablo 2.10. *FISH* için yıkama tamponu hazırlanışı

Tris-HCl (1 M pH 8)	1,0 ml
NaCl (5 M)	700,0 µl
EDTA (0.5 M)	500,0 µl
mQ su ile 50 ml'ye tamamlanır (Anton, 1999).	

2.1.4. Kullanılan primerler ve proplar

Çalışma süresince kullanılan primer ve proplara ait baz dizileri Tablo 2.11'de verilmiştir.

Tablo 2.11. Kullanılan primerler ve proplara ait özellikler

PRİMER ADI	BAZ DİZİLİMİ	SPESİFİTESİ
27 F	5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3'	Bacteria (Lane ve ark., 1985)
21F	5'-TTCCGGTTGATCCTGCCGGA-3'	Archaea (Lane ve ark., 1985)
1492R	5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'	Evrensel(Lane ve ark., 1985)
pheUf	5'CCAGG(C/G)(C/G/T)GA(G/A)AA(A/G)GAG A(A/G)GAA(G/A)CT-3'	Fenol hidroksilaz kodlayan gen (Futamata ve ark., 2001)
pheUr	5'-CGG(A/T)A(G/A)CCGCGCCAGAACCA -3'	Fenol hidroksilaz kodlayan gen (Futamata ve ark., 2001)
PROB ADI	PROB DİZİSİ	SPESİFİTESİ
Eub 338	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	Bacteria (Amann ve ark., 1990)
Arc 915	GTGCTCCCCGCCAATTCCT	Archaea (Amann ve ark., 1990)
Arc 344	TCGCGCCTGCTGCICCCCGT	Archaea (Amann ve ark., 1990)

2.2. Metot

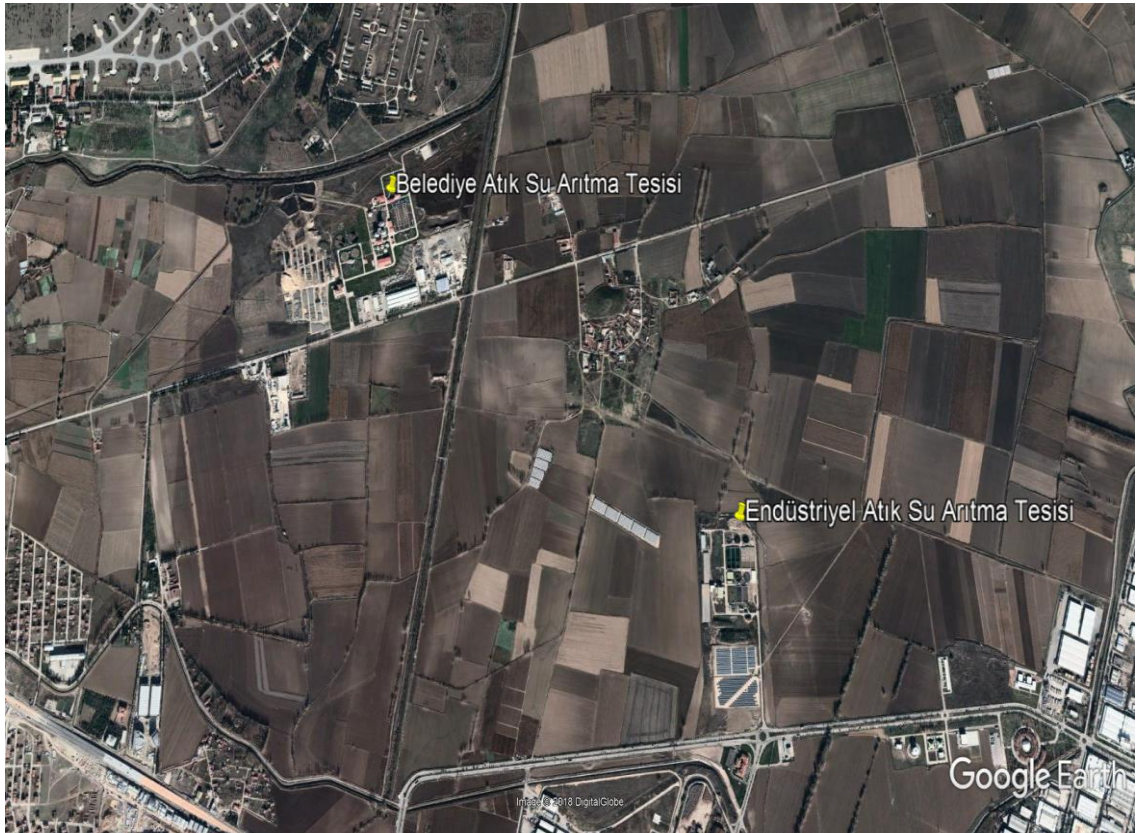
2.2.1. Örneklerin toplanması

Çalışmada kullanılan atık su örnekleri ve çamur örnekleri Belediyeye ait Atık su Arıtma Tesisi ve endüstriyel bir atık su arıtma tesisi'nin farklı bölgelerinden bir yıl

boyunca 4 mevsimi temsil edecek şekilde alınmıştır. Örnekleme tarihleri Tablo 2.12’de, örnekleme noktaları ise Şekil 2.1-2.9’da gösterilmiştir.

Tablo 2.12. Örnekleme noktaları ve örnek alım tarihleri

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi	1. örnekleme-Yaz	2. örnekleme-Sonbahar	3. örnekleme Kış	4. örnekleme İlkbahar
1.Giriş	16.06.2015	-	-	-
2.Kum ve Yağ Tutucu	16.06.2015	02.10.2015	06.01.2016	13.04.2016
3.Ön Çökeltim Havuzu	16.06.2015	02.10.2015	06.01.2016	13.04.2016
4.Havalandırma Havuzu	16.06.2015	02.10.2015	06.01.2016	13.04.2016
5.Geri Devir Çamuru	16.06.2015	02.10.2015	06.01.2016	13.04.2016
6.Son Çökeltim Havuzu	16.06.2015	02.10.2015	06.01.2016	13.04.2016
7.Anaerobik Çürütücü	16.06.2015	02.10.2015	06.01.2016	13.04.2016
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi	1. örnekleme Yaz	2. örnekleme Sonbahar	3. örnekleme Kış	4. örnekleme İlkbahar
1.Kum Tutucu	06.07.2015	09.10.2015	28.01.2016	21.04.2016
2.Ön Çökeltim Havuzu	06.07.2015	09.10.2015	28.01.2016	21.04.2016
3.Havalandırma Havuzu	06.07.2015	09.10.2015	28.01.2016	21.04.2016
4.Son Çökeltim	06.07.2015	09.10.2015	28.01.2016	21.04.2016



Şekil 2.1. Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi



Şekil 2.2. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları



Şekil 2.3. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları



Şekil 2.4. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi giriş ve kum yağ tutucu ünitesi



Şekil 2.5. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çöktürme ve havalandırma ünitesi



Şekil 2.6. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir çamur ve son çökeltim ünitesi



Şekil 2.7. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü



Şekil 2.8. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ve ön çökeltim ünitesi



Şekil 2.9. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ve son çökeltim ünitesi

2.2.2. Örneklerin BOİ₅, pH değerleri ile elementel içeriklerinin belirlenmesi

Örneklerin BOİ₅ değeri manometrik olarak (Oxitor, Şekil 2.10), pH'ı ise pH metre (Mettler Toledo) ile ölçülmüştür. Su örneklerinin içerdiği bazı elementler Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (BİBAM) bünyesindeki ICP-OES (Perkin Elmer Optical Emission Spectrometer Optima 4300 DV) cihazı ile belirlenmiştir.



Şekil 2.10. Oxitor BOİ₅ ölçüm şişeleri

2.2.3. Mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi

2.2.3.1. Kültür bağımlı yöntemler

2.2.3.1.1. Kültüre alma

Örneklerden fenole dirençli ve fenolü kullanabilen mikroorganizmaları kültüre edebilmek için mineral tuz (MS) besiyeri kullanılmıştır. Her bir örnekten ayrı ayrı birer ml alınarak sıvı besi ortamlarına ekim yapılmıştır. Fenol için 3mM (300 µl/L) fenollü MS besiyeri hazırlanmıştır. 7 günlük inkübasyon sonunda sıvı besiyerinden 20'şer ve 50'şer µl yayma plak yöntemiyle fenollü, 15g/L agar ilave edilerek hazırlanan katı MS besiyerlerine ekim yapılmıştır (Saiqa ve ark., 1998). Gelişen koloniler alınıp çizgi ekimler yapılarak saf kültür haline getirilmiş, saf haldeki kültürler % 20' lik gliserol stokları içerisinde -85°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3.1.2. Toplam mezofilik bakteri sayımı

Toplam mezofilik bakteri sayısının belirlenmesi amacıyla PCA (Plate Count Agar) kullanılmıştır. Sayım için örneklerden çeşitli dilüsyonlar hazırlanarak PCA besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. 37°C ve oda sıcaklığında 24-48 saat inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılarak toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı hesaplanmıştır.

2.2.3.1.3. İzolatlardan DNA ekstraksiyonu

Çalışmada polimeraz zincir reaksiyonlarında (PZR) kalıp DNA olarak kullanılmak üzere ekim yaptığımız besiyerleri üzerinde gelişen kültürlerden tek koloni alınarak 200 µl steril distile su içinde iyice karıştırılarak resüspanse edilmiş ve 100°C'ye ayarlanmış su banyosunda 5–10 dk bekletilerek hücrelerin lize olması sağlanmıştır. Daha sonra 10000 rpm'de santrifüj yapılmış ve süpernatant steril bir ependorfa alınarak kalıp olarak kullanılmak üzere -20'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3.1.4. PZR ile 16S rRNA geninin çoğaltılması

Farklı morfolojilerde izolatlar seçilerek Archaea ve Bacteria spesifik primerler kullanılarak PZR reaksiyonu kurulmuştur. PZR reaksiyonu kurmak için ileri primer olarak Bacteria için 27F Archaea için 21F, geri primer olarak ise hem Archaea hem Bacteria için 1492R, kalıp ve Biolabs OneTaq® Quick-Load®2X Master Mix (M0486S)

kullanılmıştır. 1X OneTaq Quick-Load Master Mix ile PZR karışımının hazırlanması Tablo 2.13'te verilmiştir.

Tablo 2.13. PZR karışımının hazırlanması

İÇERİK	25 µl reaksiyon	50 µl reaksiyon	Final Konsantrasyon
OneTaq Quick-Load 2X Master Mix with Standard Buffer	12.5 µl	25 µl	1X
10 µM İleri Primer	0.5 µl	1 µl	0.2 µM
10 µM Geri Primer	0.5 µl	1 µl	0.2 µM
Kalıp DNA	değişken	değişken	<1,000 ng
Nükleaz içermeyen su	25 µl'ye kadar	50 µl'ye kadar	

Bacteria ve Archaea üyelerinin 16S rRNA amplifikasyonu için Bacter 50 programı kullanılmıştır. Bacter 50 programı reaksiyon şartları Tablo 2.14'te gösterildiği gibidir;

Tablo 2.14. Bacter 50 reaksiyon koşulları

94°C.....3 dakika (Denatürasyon)	
94°C.....30 saniye	30 döngü
50°C.....1 dakika	
72°C.....1 dakika	
72°C.....10 dakika	
4°C.....Süresiz	

Reaksiyonlar için Techne ve Applied Biosystems® Thermal Cyclers kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda hem pozitif hem de negatif kontrol reaksiyonları hazırlanmıştır. Pozitif kontroller Archaea veya Bacteria olduğu bilinen örneklerle hazırlanmıştır. Negatif kontroller ise DNA içermeyen reaksiyon karışımları ile oluşturulmuştur. Elde edilen PZR ürünleri %1 lik agaroz jele 1X'lik TAE (Tris-Asetik asit-EDTA) tamponu içinde 5V/cm akım uygulanarak gözlenmiştir. Jelde oluşturulan kuyucuklara 5 µl PZR ürünü (0.5 µl-4 µl) yükleme boyası (Fermentas 6X Loading Dye Solution) ile karıştırılarak yüklenmiştir ve oluşan ürün boyutunu saptayabilmek için marker olarak Fermentas 1kb Plus DNA Ladder kullanılmıştır. PZR ürünleri 90 V altında 40 dakika yürütülmüştür. DNA' nın jelde görünür hale gelmesi için RedSafe™ (20,000x) nükleik asit boyama solüsyonu kullanılmıştır. Jeller daha sonra 312 nm dalga boyunda UV veren transillüminatör (Biolab Uvitec) ile incelenmiş ve fotoğrafları çekilerek saklanmıştır.

2.2.3.1.5. Fenol degrade eden bakterilerin belirlenmesi

Fenollü besiyerinden izole edilmiş farklı morfolojilerde izolatlar seçilerek kalıp hazırlanmış ve fenol hidroksilaz geni büyük alt ünitesi hedefli primerler kullanılarak PZR reaksiyonu kurulmuştur. PZR reaksiyonu kurmak için ileri primer olarak PheUF ve geri primer olarak ise PheUR kullanılmıştır. Amplifikasyonu için Tablo 2.15'teki program kullanılmıştır (Futamata ve ark., 2001).

Tablo 2.15. Fenol hidroksilaz geni spesifik PZR reaksiyon koşulları

BASAMAKLAR	ALT BASAMAKLAR	SÜRE (dakika)	SICAKLIK °C
Ön Denatürasyon	-	10	94
ADIM 1 (5 DÖNGÜ)	Denatürasyon	1	94
	Bağlanma	1	58
	Uzama	1	72
ADIM 2 (5 DÖNGÜ)	Denatürasyon	1	94
	Bağlanma	1	57
	Uzama	1	72
ADIM 3(25 DÖNGÜ)	Denatürasyon	1	94
	Bağlanma	1	56
	Uzama	1	72
Final Uzama		10	72

Reaksiyonlar için Techne ve Applied Biosystems® Thermal Cyclers kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda negatif kontrol reaksiyonları hazırlanmıştır.

Elde edilen PZR ürünleri %1 lik agaroz jele 1X'lik TAE (Tris-Asetik asit-EDTA) tamponu içinde 5V/cm akım uygulanarak gözlenmiştir. Jelde oluşturulan kuyucuklara 5 µl PZR ürünü (0.5 µl-4 µl) yükleme boyası (Fermentas 6X Loading Dye Solution) ile karıştırılarak yardımıyla yüklenmiştir ve oluşan ürün boyutunu saptayabilmek için marker olarak Fermentas 1kb Plus DNA Ladder kullanılmıştır. PZR ürünleri 90 V altında 40 dakika yürütülmüştür. DNA'nın jelde görünür hale gelmesi için RedSafe™(20,000x) nükleik asit boyama solüsyonu kullanılmıştır. Jeller daha sonra 312 nm dalga boyunda UV veren transillüminatör (Biolab Uvitec) ile incelenmiş ve fotoğrafları çekilerek saklanmıştır.

2.2.3.1.6. Amplifiye edilmiş ribozomal dna restriksiyon analizi (ARDRA)

16S rRNA geni için elde edilen PZR ürünlerinin restriksiyon analizleri için *Hinf I* ve *Mbo I* enzimi kullanılmıştır. Her bir reaksiyon için 1 µl 5 U enzim (Biolabs), 10 µl PZR ürünü, 2 µl restriksiyon enzimine uygun tampon (Biolabs) ve 7 µl DNaz-RNaz

içermeyen ultra saf distile su (Gibco) (20 µl toplam hacim olacak şekilde) kullanılmıştır. Karışım 37 °C’de bir gece inkübe edilmiştir. Analiz amacıyla 20 µl örnek yükleme boyası (Fermentas 6X Loading Dye Solution) ile karıştırılarak 1X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) tamponu içindeki %2 lik agaroz jele yüklenerek 5 V/cm elektrik akımı uygulanarak 4 saat yürütülmüştür. ARDRA analizinin değerlendirilmesinde 1kb ve 50 bp (Fermentas Gene Ruler™ 50 bp DNA Ladder) markırlar kullanılmıştır. Daha sonra ARDRA sonucuna göre PZR ürünlerinin kaç farklı profil verdiği saptanmıştır (Vanechoutte ve ark., 1992).

2.2.3.1.7. DNA dizi analizi

Fenollü besiyerinden çekilen izolatlardan DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ardından elde edilen DNA’nın 16S rRNA bölgesi PZR ile çoğaltılmıştır. Bu izolatlar için fenol hidroksilaz geni için de PZR kurulmuş ve ARDRA yapılarak farklı profiller belirlenmiş ve bu profilleri temsil eden örnekler seçilerek saflaştırılmış. Saflaştırma amacıyla Promega saflaştırma kiti kullanılmıştır ve dizi analizine gidilmiştir. PZR ürünlerinin baz diziliminin belirlenmesinde AGTC Ltd.Şti., Refgen Ltd.Şti.ve BM Yazılım Danış. ve Lab. Sis. Ltd. Sti. (BMLabosis) ’den hizmet alımı yapılmıştır. Reaksiyonlar 27F, 907R, 1100R ve 1492R primerleri kullanılarak ayrı ayrı kurulmuştur.

2.2.3.2. Kültür bağımsız yöntemler

2.2.3.2.1. Örneklerden total nükleik asit ekstraksiyonu

Atık su arıtma tesislerinden yapılan örneklemeler sonucu elde edilen numunelerden DNA Ekstraksiyonu için su ve çamur örneği kullanılmıştır. Ekstraksiyon için Cifuentes ve ark., (2000); Nogales ve ark., (1999) ve Singka ve ark., (2012) protokolleri modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu işlem için su örneklerinden 200 ml örnek vakumlu membran filtrasyon sistemi kullanılarak 0.2 µm por çaplı membran filtreden (Millipore, Isopore GTTP04700) geçirilmiştir. Membran filtreler küçük parçalar şeklinde kesildikten sonra ependorfa aktarılmıştır. Çamur örnekleri için ise 8.000 rpm’de 20 dakika santrifüj işlemi uygulanmış ve çöken çamur numunelerinden ise 0.2 gr tartılarak DNA ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Numuneler üzerine numune ile eşit hacimde 0.5 mm’lik cam boncuk ve 300 µl ekstraksiyon tamponu (100mM Tris-HCl pH:8, 100 mM EDTA) eklenmiştir. Kısa bir süre vortekslenerek parçaların da solüsyonla karışımı sağlanmıştır. 6 µl (3mg/ml) lizozim ve 9 µl proteinaz K (150mg/ml) eklendikten sonra 15 dakika 37°C’de çalkalamalı

etüvde inkübe edilmiştir. Ardından üzerine 50 µl %10'luk SDS ve 100 µl CTAB (%10 CTAB (Cetil Trimetil Ammonyum Bromid), 0.7 M NaCl eklenerek tekrar vortekslenmiştir. Bu işlemden sonra 500 µl Fenol: Kloroform: İsoamilalkol (25:24:1) eklenip 1 dk vortekslenmiş ve DNA'nın degradasyonunu önlemek amacıyla 1 dk buzda bekletilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrar edildikten sonra karıştırılmış ve 10 dakika 4 °C'de 14.000 rpm de santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı faz alındıktan sonra üzerine 500 µl Fenol:Kloroform:İzoamilalkol (25:24:1) eklenmiştir ve fenol ekstraksiyonu tekrar edilmiştir. Süpernatant yeni bir santrifüj tüpüne alınarak fenol 500 µl Kloroform: İzoamilalkol (24:1) ilave edilerek 10 dakika 4 °C'de 14.000 rpm de santrifüj ile uzaklaştırılmıştır. Üstteki sıvı faz alınarak DNA presipitasyonu amacıyla 80 µl sodyum asetat (3M, pH 4.8) ve 480 µl isopropanol, 8 µl MgCl₂ (1M) eklendikten sonra 1 saat 4 °C 'de bekletilmiştir ve daha sonra 15 dakika 14.000 rpm' de 4 °C'de santrifüj edilmiştir. Pelet üzerine %70'lik alkol ilave edilmiş ve tekrar 15 dakika 14.000 rpm'de 4 °C'de santrifüj edilmiştir. Alkol pipetle uzaklaştırıldıktan sonra, pelet oda sıcaklığında kurutulmuş ve 50 µl dietilpirokarbonat (DEPC)'li su ile resüspanse edilerek, -85 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3.2.2. Fonksiyonel genlerin belirlenmesi

Fenol degradasyon genlerinin varlığının belirlenmesi

Ekstrakte edilen total DNA'dan fenol hidroksilaz geni büyük alt ünitesi hedefli primerler kullanılarak PZR reaksiyonu kurulmuştur. PZR reaksiyonu kurmak için ileri primer olarak PheUF ve geri primer olarak ise PheUR kullanılmıştır. Amplifikasyonu için Tablo 2.15'teki program kullanılmıştır (Futamata ve ark., 2001). Reaksiyonlar için Techne ve Applied Biosystems® Thermal Cycler kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda hem pozitif hem de negatif kontrol reaksiyonları hazırlanmıştır. Elde edilen PZR ürünleri %1 lik agaroz jelle 1X'lik TAE (Tris-Asetik asit-EDTA) tamponu içinde 5V/cm akım uygulanarak gözlenmiştir.

Jelde oluşturulan kuyucuklara 5 µl PZR ürünü (0.5 µl-4 µl) yükleme boyası (Fermentas 6X Loading Dye Solution) ile karıştırılarak yüklenmiştir ve oluşan ürün boyutunu saptayabilmek için marker olarak Fermantas 1kb Plus DNA Ladder kullanılmıştır. PZR ürünleri 90 V altında 40 dakika jelde yürütülmüştür. DNA'nın jelde görünür hale gelmesi için RedSafe™(20,000x) nükleik asit boyama solüsyonu

kullanılmıştır. Jeller daha sonra 312 nm dalga boyunda UV veren transillüminatör (Biolab Uvitec) ile incelenmiş ve fotoğrafları çekilerek saklanmıştır.

2.2.3.2.3. *Fluoresan in situ hibridizasyon (FISH)*

Çalışmada kullanılan örneklerdeki mikrobiyal içeriği belirlemek için FISH yöntemi uygulanmıştır. Yöntem uygulanırken bazı küçük değişiklikler yapılarak Aman ve ark., ve Daims ve ark.,'ın protokolü dikkate alınmıştır. (Aman ve ark., 1995; Daims ve ark., 2005) Öncelikle atık su örneklerine fiksasyon işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla örneklerden 20'şer ml alınarak ependorflara aktarılmıştır ve üzerine çeker ocakta 220 µl /ml formaldehit olacak şekilde 4400 µl formaldehit eklenerek 4 °C'de 1 gece fiksasyon için bekletilmiştir (Aman ve ark., 1995). Fikse edilmiş örnekler homojenize edilmiş ve sonrasında vortekslenmiştir (Pavlekovic ve ark. , 2009). Bu işlemde homojen hale gelen örnekler için çok yoğun çamur kıvamlı olduklarından farklı oranlarda dilüsyon işlemi uygulanmıştır. Dilüsyon oranları örneklere göre değişmekle birlikte 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} şeklinde hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan örnekteki mikrobiyal yoğunluğa bağlı olarak 1ml, 2ml, 3ml, 5ml gibi farklı hacimlerde örnekler alınarak 10 ml 1X PBS eklenmiş ve karışım 0.2 µm por çaplı GTTP Isopore (Millipore) filtreden geçirilmiştir. Filtrenin yıkanması amacıyla tekrar 1X 10 ml PBS filtreden geçirilmiştir. Sonra filtreler hibridizasyon işlemine kadar muhafaza edilmek üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Aman ve ark., 1995).

Fikse edilip filtreden geçirilen örneklerin hibridizasyonu için öncelikle in situ hibridizasyon tamponu hazırlanmıştır. Reaksiyon için 18 µl in situ hibridizasyon tamponu ve Archaea için ARC344 ve Bacteria için EUB338 probundan 50 ng/µl konsantrasyonda 2 µl prob karıştırılmıştır. Sonrasında filtrelerden parçalar kesilerek lam üzerine yerleştirilmiş bu parça filtrelerin tüm yüzeyine temas edecek şekilde hibridizasyon tamponu-prob karışımı damlatılmıştır. Lamlar hibridizasyon tamponu ile ıslatılmış kâğıt havlu bulunan 50 ml'lik plastik tüplere yerleştirilmiş ve tüpler yatay şekilde hibridizasyon fırınına (Biometra OV3) yerleştirilerek 3 saat boyunca 46 °C'de inkübe edilmiştir (Aman ve ark., 1995).

Hibridizasyon sonrası bağlanmamış problemlerin uzaklaştırılması için yıkama işlemi yapılmıştır. Filtrelerin yıkanması için, 48 °C'lik su banyosunda beklemekte olan yıkama tamponu içerisine filtreler konarak 20 dakika bekletilmişlerdir. Yıkama tamponundan çıkarılan filtreler kurutulmuştur (Aman ve ark., 1995).

Kuruyan filtreler üzerine DAPI (4', 6'-diamidino-2-fenilindol-dihidroklorur) boyaması yapılmıştır. Filtrelerin ön yüzeyine 40 µl DAPI çalışma solüsyonu (1 µg/ml konsantrasyon olacak şekilde) damlatılmış ve 5 dk bekletilmiştir. Bu işlem sonrası önce saf alkol sonrada su ile 10 sn yıkanarak kurutulmuştur. Kurutulan filtreler lama alınarak üzerine 20 µl citifluor (Citifluor Ltd.) damlatılarak lamel ile kapatılmıştır ve 100X'lük objektifte epifluoresan mikroskopta (Leica DM6000B) incelenmiştir (Daims ve ark., 2005).

2.2.3.3. Metagenomik analizler

Alınan örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliği belirlemek amacıyla ChunLab, Inc. (Seul, Güney Kore) firmasına 16S rRNA geni marker gen olarak kullanılarak metagenomik analiz yaptırılmıştır. Ayrıca bazı örneklerin analizi ise Argonne National Laboratory (Chicago, A.B.D) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla analiz yaptırılması planlanan örnekler için total genomik DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir ve DNA kalitesinin belirlenmesi amacıyla NanoDrop'ta DNA konsantrasyonu ölçülmüştür. Analiz 4 mevsim boyunca alınan tüm örnekler üzerine uygulanmıştır.

ChunLab, Roche 454 GS FLX + / Junior platformlarını kullanarak 16S rRNA geninin V1-V3 bölgelerinde pirosekanslama gerçekleştirmiştir. Taksonomik sınıflandırma, ChunLab tarafından geliştirilen ve EzTaxon veritabanı kullanılarak her bir okuma için tür düzeyinde yapılmıştır. CLcommunity, analiz elde edilen çok miktarda ham veriyi görüntüleme ve analiz amacıyla ChunLab tarafından oluşturulan çok yönlü ve kullanımı kolay bir yazılım paketidir. Çeşitlilik analizi için bu yazılım kullanılmıştır. Argonne National Laboratory'de gerçekleştirilen analizlerde ise Illumina MiSeq platformu kullanılmıştır. Veri analizleri QIIME programı ile gerçekleştirilmiştir (Caporaso ve ark., 2010a; b; 2011; 2012).

3. BULGULAR

3.1. Örneklerin pH Değerlerinin Belirlenmesi

Örneklerin yapılan pH ölçüm sonuçları Tablo 3.1 ve 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları ve pH değerleri

Eskisehir Atıksu Arıtma Tesisi	pH	pH	pH	pH
Örnekleme Noktası	1.Örnekleme Yaz	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Kum ve Yağ Tutucu	7,81	8,06	8,12	7,56
Ön Çökeltim Suyu	8,19	8,03	8,32	7,77
Havalandırma Havuzu	7,49	7,46	7,21	7,25
Geri Devir Çamuru	7,27	7,37	7,13	7,16
Son Çökeltim Havuzu	7,01	7,66	7,32	7,56
Anaerobik Sistem	7,41	7,35	7,47	7,22

Tablo 3.2. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi örnekleme noktaları ve pH değerleri

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi	pH	pH	pH	pH
Örnekleme Noktası	1.Örnekleme Yaz	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Giriş	5,80	-		
Kum Tutucu	5,40	6,79	7,24	6,69
Ön Çökeltim Havuzu	6,80	6,67	6,92	6,75
Havalandırma Havuzu	7,10	7,33	7,33	7,39
Son Çökeltim	8,04	7,74	7,72	7,60

3.2. Örneklerin BOİ₅ Değerlerinin Belirlenmesi

Manometrik (Oxitop şişeler) olarak ölçülen BOİ₅ değerlerine ait veriler aşağıda Tablo 3.3 ve 3.4.’de verilmiştir.

Tablo 3.3. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi BOİ₅ değerleri

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi	BOİ	BOİ	BOİ	BOİ
Örnekleme Noktası	1.Örnekleme Yaz	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Giriş	980 mg/L	-	-	-
Kum ve Yağ Tutucu	420 mg/L	500 mg/L	340 mg/L	380 mg/L
Ön Çökeltim Havuzu	60 mg/L	360 mg/L	200 mg/L	380 mg/L
Havalandırma Havuzu 1	920 mg/L	1000 mg/L	1000 mg/L	1000 mg/L
Geri Devir Çamuru	820 mg/L	1000 mg/L	1000 mg/L	960 mg/L
Son Çökeltim Havuzu	-	100 mg/L	40 mg/L	40 mg/L

Tablo 3.4. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi BOİ₅ değerleri

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi	BOİ	BOİ	BOİ	BOİ
Örnekleme Noktası	1.Örnekleme Yaz	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Giriş	980 mg/L	-	-	-
Kum Tutucu	1000 mg/L	900 mg/L	900 mg/L	1000 mg/L
Ön Çökeltim Havuzu	840 mg/L	1000 mg/L	1000 mg/L	1000 mg/L
Havalandırma Havuzu	1000 mg/L	180 mg/L	180 mg/L	820 mg/L
Son Çökeltim	-	120 mg/L	120 mg/L	280 mg/L

3.3. Örneklerin ICP Sonuçları

Su örneklerinde Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (BİBAM) bünyesindeki ICP (Perkin Elmer Optical Emission Spectrometer Optima 4300 DV) cihazı ile belirlenen bazı elementler Tablo 3.5 ve 3.6 'da belirtilmiştir.

Tablo 3.5. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi 4 mevsim için ICP verileri

	Örnek kodu	Mg ⁺²	Ca ⁺²	Na ⁺¹	K ⁺¹	Fe ⁺²	Zn ⁺²	Ni	Mn ⁺²	Al ⁺³
Yaz Mevsimi	Giriş	45.14 ppm	47.80 ppm	112.3 ppm	37.19 ppm	41.65 ppb	20.08 ppb	90.67 ppb	45.81 ppb	<
	Kum Tutucu	41.33 ppm	53.42 ppm	105.1 ppm	22.07 ppm	63.48 ppb	20.50 ppb	<	39.37 ppb	29.82 ppb
	Ön çökeltim	41.34 ppm	56.01 ppm	75.97 ppm	23.99 ppm	66.74 ppb	<	<	6.362 ppb	<
	Havalandırma 1	56.37 ppm	46.02 ppm	85.61 ppm	54.48 ppm	72.20 ppb	<	<	30.85 ppb	<
	Havalandırma 2	23.16 ppm	12.60 ppm	84.98 ppm	59.89 ppm	16.62 ppb	<	<	<	<
	Geri Devir	36.34 ppm	43.14 ppm	33.09 ppm	20.51 ppm	24.51 ppb	<	<	2.775 ppb	<
	Son çökeltim	90.19 ppm	49.50 ppm	97.73 ppm	83.63 ppm	407.7 ppb	204.5 ppb	<	7.905 ppb	<
	Anaerobik	32.08 ppm	45.73 ppm	38.41 ppm	78.41 ppm	163.3 ppb	579.2 ppb	<	15.99 ppb	<
	Eski sistem	40.30 ppm	46.04 ppm	46.57 ppm	24.16 ppm	11.78 ppb	1.287 ppm	<	37.17 ppb	<
Sonbahar Mevsimi	Kum tutucu	58.30 ppm	63.54 ppm	132.2 ppm	37.64 ppm	20.39 ppb	10.64 ppb	<	<	<
	Ön çökeltim	56.32 ppm	65.30 ppm	108 ppm	28.06 ppm	26.94 ppb	10.79 ppb	12.78 ppb	<	<
	Havalandırma	72.80 ppm	65.23 ppm	129.9 ppm	59.64 ppm	57.68 ppb	<	<	<	<
	Geri Devir	82.95 ppm	64.69 ppm	119.7 ppm	82.13 ppm	117.1 ppb	<	<	<	<
	Son çökeltim	51.44 ppm	63.83 ppm	127.7 ppm	23.32 ppm	9.872 ppb	19.34 ppb	<	<	<
	Anaerobik	28.35 ppm	48.70 ppm	69.67 ppm	102.30 ppm	160.20 ppm	43.98 ppb	<	12.49 ppb	<

Tablo 3.5. (Devam) Belediye Atık Su Arıtma Tesisi 4 mevsim için ICP verileri

	Örnek kodu	Mg ⁺²	Ca ⁺²	Na ⁺¹	K ⁺¹	Fe ⁺²	Zn ⁺²	Ni	Mn ⁺²	Al ⁺³
	Kış Mevsimi	Kum tutucu	38.2 ppm	51.33 ppm	78.61 ppm	23.86 ppm	37.85 ppb	26.08 ppb	<	12.59 ppb
Ön çökeltim		49.10 ppm	75.34 ppm	107.8 ppm	28.43 ppm	29.59 ppb	35.96 ppb	<	10.02 ppb	<
Havalandırma		46.13 ppm	61.31 ppm	88.81 ppm	31.89 ppm	42.94 ppb	17.25 ppb	<	<	<
Geri Devir		51.81 ppm	55.66 ppm	85.08 ppm	44.45 ppm	6.572 ppb	6.165 ppb	11.82 ppb	<	<
Son çökeltim		38.58 ppm	59.51 ppm	79.96 ppm	22.58 ppm	<	173.2 ppb	<	<	<
Anaerobik		14.04 ppm	53.20 ppm	74.67 ppm	252.5 ppm	194.6 ppb	23.98 ppb	20.49 ppb	3.861 ppb	<
İlkbahar Mevsimi	Kum tutucu	102.9 ppm	179.4 ppm	107.8 ppm	51.05 ppm	<0.16 ppm	83.24 ppb	<	31.30 ppb	<
	Ön çökeltim	93.27 ppm	180.6 ppm	95.34 ppm	35.24 ppm	<0.16 ppm	88.20 ppb	<	<	<
	Havalandırma	87.24 ppm	167.8 ppm	104.2 ppm	39.87 ppm	<0.16 ppm	161.7 ppb	<	<	<
	Geri Devir	99.24 ppm	218 ppm	185.1 ppm	61.67 ppm	<0.16 ppm	61.50 ppb	12.12 ppb	<	<
	Son çökeltim	89.05 ppm	182.2 ppm	105.5 ppm	38.65 ppm	<0.16 ppm	196.5 ppb	<	<	<
	Anaerobik	46.39 ppm	196.2 ppm	97.46 ppm	385.6 ppm	0.302 ppm	77.95 ppb	31.79 ppb	10.94 ppb	27.43 ppb

Tablo 3.6. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi 4 mevsim için ICP verileri

	Örnek kodu	Mg ⁺²	Ca ⁺²	Na ⁺¹	K ⁺¹	Fe ⁺²	Zn ⁺²	Co	Ni	Cu ⁺²	Mn ⁺²	Cd	Cr ⁺³	Al ⁺³
	Yaz Mevsimi	Giriş	51.9 3 ppm	217. 7 ppm	585. 5 ppm	68.2 0 ppm	427. 6 ppb	63.1 3 ppb	21.7 5 ppb	260. 8 ppb	<	55.5 2 ppb	9.79 8 ppb	78.3 5 ppb
Kum tutucu		51.6 4 ppm	134. 3 ppm	558. 7 ppm	30.5 4 ppm	772. 7 ppb	535. 6 ppb	20.1 9 ppb	451 ppb	36.2 4 ppb	69.9 0 ppb	9.65 1 ppb	276. 9 ppb	43.14 ppb
Son çökeltim		50.7 1 ppm	48.6 3 ppm	628. 2 ppm	104. 4 ppm	9.16 9 ppb	14.5 1 ppb	18.5 7 ppb	290. 3 ppb	6.88 5 ppb	10.5 0 ppb	9.52 8 ppb	12.3 9 ppb	16.28 ppb
Havalandırma 1		50.9 2 ppm	45.1 0 ppm	526. 2 ppm	31.2 8 ppm	17.4 8 ppb	13.1 7 ppb	18.8 5 ppb	354. 8 ppb	<	10.3 8 ppb	9.98 7 ppb	13.8 7 ppb	<
Havalandırma 2		49.8 7 ppm	57.8 8 ppm	522. 6 ppm	29.9 6 ppm	82.4 6 ppb	12.0 8 ppb	18.4 6 ppb	441. 4 ppb	7.38 3 ppb	13.2 9 ppb	9.97 0 ppb	15.6 5 ppb	<
Ön çökeltim		83.9 1 ppm	109. 6 ppm	468. 9 ppm	29.9 8 ppm	22.1 4 ppb	25.7 6 ppb	15.5 7 ppb	242 ppb	8.93 1 ppb	40.2 0 ppb	10.6 0 ppb	71.5 5 ppb	14.18 ppb
Sonbahar	Kum tutucu	49.8 3 ppm	185. 4 ppm	356. 9 ppm	23.8 3 ppm	382. 1 ppb	16.5 3 ppb	<	93.7 7 ppb	<	<	<	<	<
	Ön çökeltim	54.6 6 ppm	201. 7 ppm	440. 1 ppm	31.7 2 ppm	42.5 ppb	15.8 9 ppb	<	112. 5 ppb	<	<	<	<	<
	Havalandırma 2	56.2 2 ppm	204. 8 ppm	487 ppm	35.0 4 ppm	6.09 7 ppb	29.6 7 ppb	<	30.2 6 ppb	<	<	<	<	<
	Son çökeltim	55.6 3 ppm	98.1 6 ppm	576. 7 ppm	32.2 0 ppm	5.15 5 ppb	17.6 0 ppb	<	35.2 9 ppb	<	<	<	<	<

Tablo 3.6. (Devam) Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi 4 mevsim için ICP verileri

	Örnek kodu	Mg ₊₂	Ca ⁺²	Na ₊₁	K ⁺¹	Fe ⁺²	Zn ⁺²	Co	Ni	Cu ⁺²	Mn ⁺ ₂	Cd	Cr ⁺³	Al ⁺³
Kış Mevsimi	Kum Tutucu	52.9 1 ppm	169. 9 ppm	694 ppm	52.4 2 ppm	206. 4 ppb	46.5 4 ppb	<	716 ppb	44.3 9 ppb	98.2 7 ppb	<	8.22 6 ppb	47.65 ppb
	Ön çökeltim	51.0 2 ppm	255. 2 ppm	621. 5 ppm	28.9 5 ppm	232. 7 ppb	176. 7 ppb	<	161. 6 ppb	<	101. 2 ppb	<	42.9 7 ppb	60.56 ppb
	Havalandırma	58.6 1 ppm	211. 6 ppm	588. 3 ppm	34.7 5 ppm	11.6 8 ppb	25.5 2 ppb	<	83.4 2 ppb	<	<	<	33.5 2 ppb	37.14 ppb
	Son çökeltim	55.4 0 ppm	93.9 3 ppm	671. 1 ppm	29.0 1 ppm	<	14.2 9 ppb	<	212. 2 ppb	<	<	<	6.90 2 ppb	<
İlkbahar Mevsimi	Kum Tutucu	100. 3 ppm	629. 2 ppm	875. 9 ppm	78.0 2 ppm	0.57 7 ppm	12.4 5 ppb	<	82.6 1 ppb	<	181. 4 ppb	<	963. 9 ppb	87.76 ppb
	Ön çökeltim	93.2 5 ppm	824. 3 ppm	937 ppm	57.8 8 ppm	<0.1 6 ppm	5.98 8 ppb	<	87.7 3 ppb	<	103. 1 ppb	<	126. 7 ppb	633.8 ppb
	Havalandırma	95.8 8 ppm	626. 5 ppm	900. 7 ppm	69.6 1 ppm	<0.1 6 ppm	57.4 8 ppb	<	183. 6 ppb	<	<	<	66.9 7 ppb	159.4 ppb
	Son çökeltim	107. 9 ppm	564. 7 ppm	878. 7 ppm	69.3 2 ppm	<0.1 6 ppm	60.2 0 ppb	<	240. 8 ppb	<	<	<	39.3 5 ppb	77.30 ppb

3.4. Toplam Mezofilik Bakteri Sayımı

37°C ve oda sıcaklığında 24-48 saat inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılarak toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı hesaplanmış ve Tablo 3.7, 3.8, 3.9 ve 3.10'da verilmiştir. Bakteri sayısının hesaplanmasında genellikle 30-300 aralığında koloni sayılan petriler (10⁻³ ve 10⁻⁴ dilasyonları) kullanılmış ve seyreltme faktörü çarpılarak mezofilik bakteri sayısı elde edilmiştir.

Tablo 3.7. 37°C inkübasyon sonrası Belediye Atık Su Arıtma tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (37°C)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)
Örnekleme Noktası	1.Örnekleme Yaz	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Giriş	4,7x10 ⁸	-	-	-
Kum ve Yağ Tutucu	4,9x10 ⁶	1,4x10 ⁶	2,61 x10 ⁶	4,1x10 ⁶
Ön Çökeltim Suyu	2,9x10 ⁷	2,3x10 ⁶	1,99 x10 ⁵	1,87x10 ⁶
Havalandırma Havuzu 1	1,8x10 ⁶	9,6x10 ⁵	2,10 x10 ⁵	1,25x10 ⁶
Geri Devir Çamuru	4,6x10 ⁶	1,74x10 ⁶	1,82 x10 ⁶	6,0x10 ⁶
Son Çökeltim Havuzu	1,34x10 ⁷	2,99x10 ⁴	2,87 x10 ⁴	5,0x10 ⁴
Anaerobik Sistem	3,0x10 ⁶	1,92x10 ⁵	1,13 x10 ⁶	1,02x10 ⁷

Tablo 3.8. 22°C inkübasyon sonrası Belediye Atık su Arıtma Tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (22°C)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)
Örnekleme Noktası	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Giriş	-	-	-
Kum ve Yağ Tutucu	2,18 x10 ⁶	5,435x10 ⁵	8,4x10 ⁶
Ön Çökeltim Suyu	3,09 x10 ⁶	2,69x10 ⁵	2,11x10 ⁶
Havalandırma Havuzu 1	2,56 x10 ⁶	1,22x10 ⁸	2,6x10 ⁶
Geri Devir Çamuru	3,21 x10 ⁶	2,96x10 ⁶	5,0x10 ⁶
Son Çökeltim Havuzu	5,4 x10 ⁴	1,39x10 ⁶	5,0x10 ⁴
Anaerobik Sistem	2,43 x10 ⁵	2,68x10 ⁶	1,06x10 ⁶

Tablo 3.9. 37°C inkübasyon sonrası Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (37°C)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)
Örnekleme Noktaları	1.Örnekleme Yaz	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Giriş	4,22x10 ⁷	-	-	-
Kum Tutucu	1,11x10 ⁸	2,12x10 ⁷	3,16x10 ⁶	8,5x10 ⁶
Ön Çökeltim Havuzu	8,1x10 ⁷	1,30x10 ⁸	1,07x10 ⁸	8,1x10 ⁷
Havalandırma Havuzu	3,62x10 ⁶	9,8x10 ⁷	3,98x10 ⁶	1,73x10 ⁷
Son Çökeltim	2,96x10 ⁵	1,40x10 ⁷	3,87x10 ⁴	1,77x10 ⁷

Tablo 3.10. 22°C inkübasyon sonrası Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi toplam mezofilik bakteri sayımı sonuçları

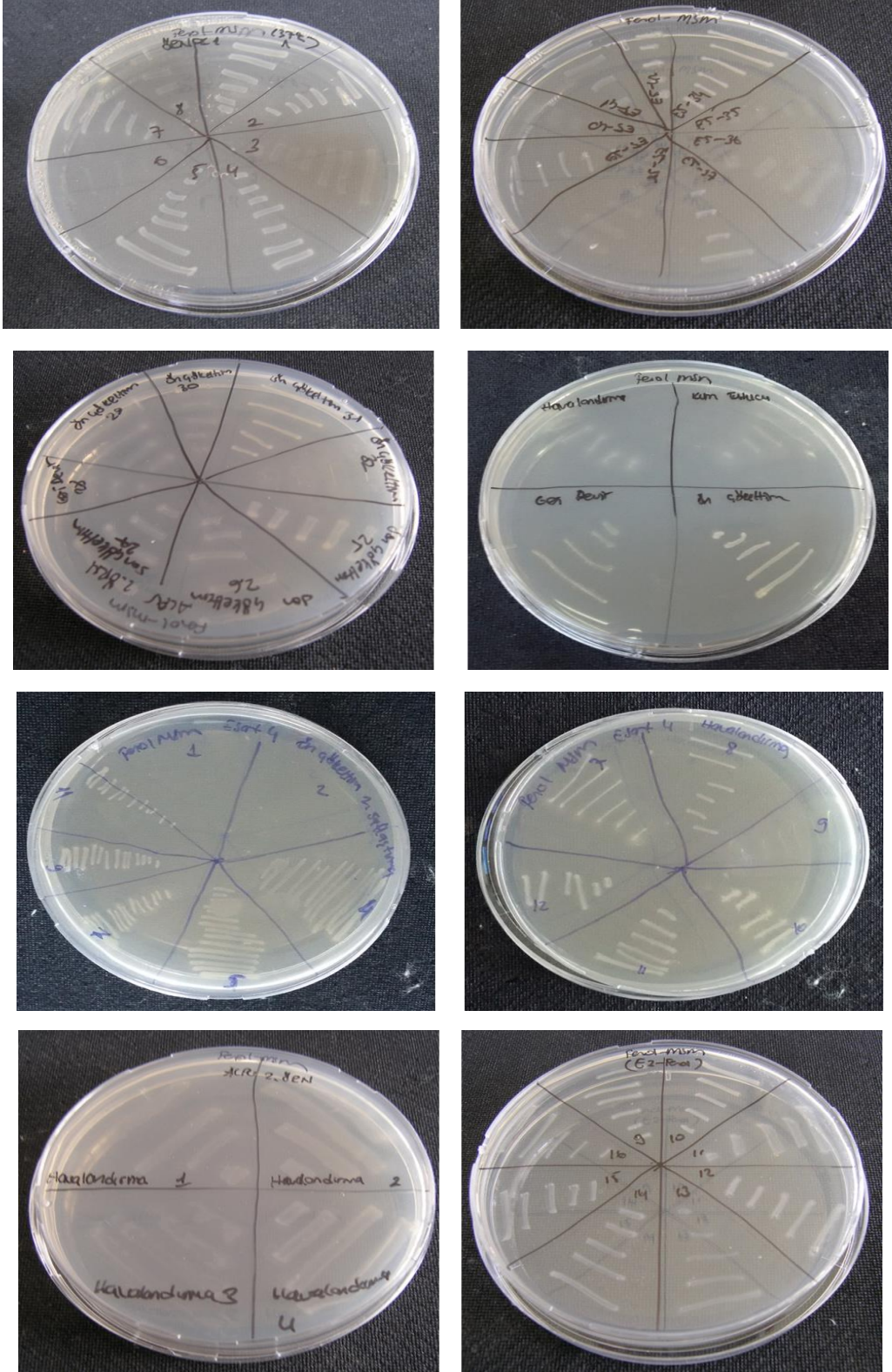
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (22°C)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)	KOLONİ SAYISI (cfu/ml)
Örnekleme Noktaları	2.Örnekleme Sonbahar	3.Örnekleme Kış	4.Örnekleme İlkbahar
Kum Tutucu	1,39x10 ⁷	5,334x10 ⁷	8,0x10 ⁶
Ön Çökeltim Havuzu	1,13x10 ⁷	3,08x10 ⁷	2,13x10 ⁷
Havalandırma Havuzu	2,66x10 ⁷	4,42x10 ⁷	5,4x10 ⁷
Son Çökeltim	2,85x10 ⁶	7,9x10 ⁴	1,39x10 ⁷

3.5. Kültür Bağımlı Yöntemler

3.5.1. Örneklerin kültüre alınması

Çalışmada kullanılan fenol içeren MSM (Mineral Salt Medium) besiyerinin degradasyon yapan türlerin izolasyonu için oldukça uygun olduğu belirlenmiş ve bu nedenle çalışmada fenollü mineral salt medium kullanılmıştır. Çalışmada inkübasyonlar sonucu farklı pigmentasyon ve koloni morfolojisine sahip olduğu düşünülen izolatlar seçilerek bu izolatlar çalışmalarda kullanılmak üzere stoklanmışlardır. Aşağıda Şekil

3.1'de farklı renk ve morfolojilerde bazı izolatların çeşitli besiyerindeki görüntüleri verilmiştir.



Şekil 3.1. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden saflaştırılan izolatlar

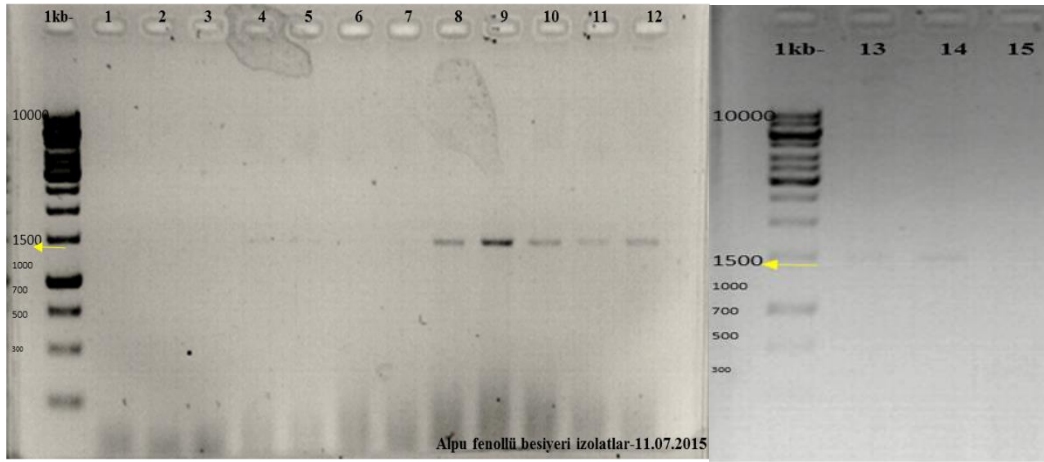
3.5.2. İzolatlardan DNA ekstraksiyonu

Çalışmada izole edilen mikroorganizmalardan distile su içinde homojenizasyon sonrası kaynatma esasına dayanan DNA ekstraksiyon yönteminin 16S rRNA geni amplifikasyonları için yeterli olduğu görülmüştür.

3.5.3. 16S rRNA geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonu

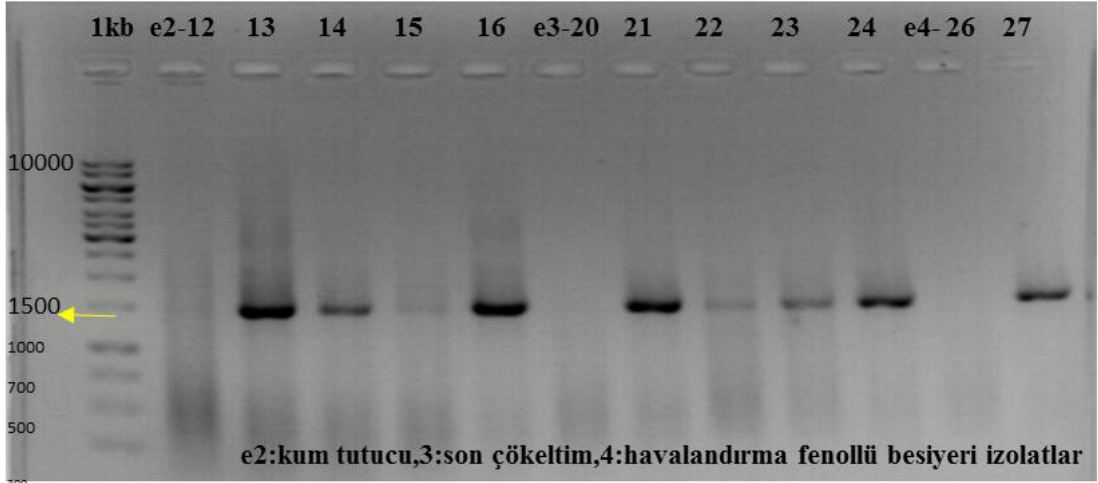
İzolatların 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası elde edilen ürünler %1'lik agaroz jellerde yürütülmüşlerdir. Her örnek için hem Archaea hem de Bacteria primer setleri ile PZR kurulmuş ve sadece Archaea ürünü veya sadece Bacteria ürünü elde edilerek öncelikle örneğin Archaea veya Bacteria olup olmadığı tespit edilmiştir.

Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR sonucunda, Şekil 3.2. de görüldüğü gibi 8-9-10-11-12-13 ve 14 numaralı izolatlardan pozitif sonuç alınmıştır.

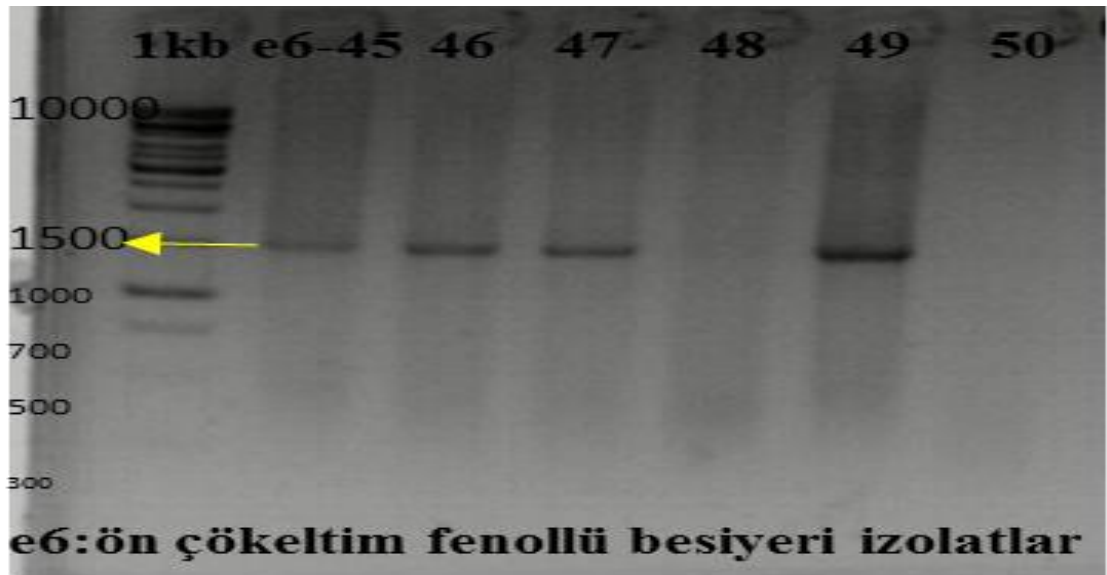
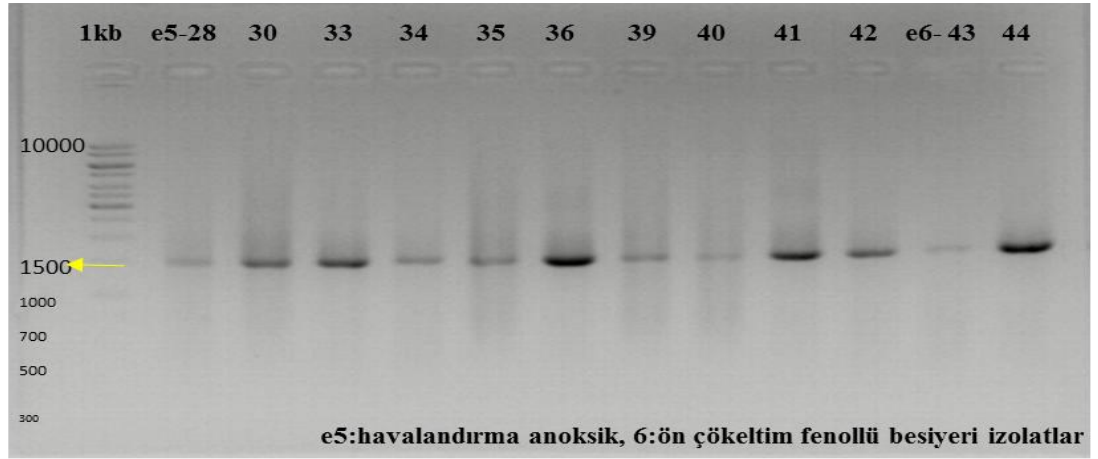


Şekil 3.2. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) örneklemelerinden elde edilen izolatlardan yapılan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu Şekil 3.3 ve 3.4.'de görüldüğü gibi e1-7, e2-12, e3-20, e4-26, e6-48 ve e6-50 no'lu izolatlardan negatif, diğer 32 izolattan ise pozitif sonuç alınmıştır.

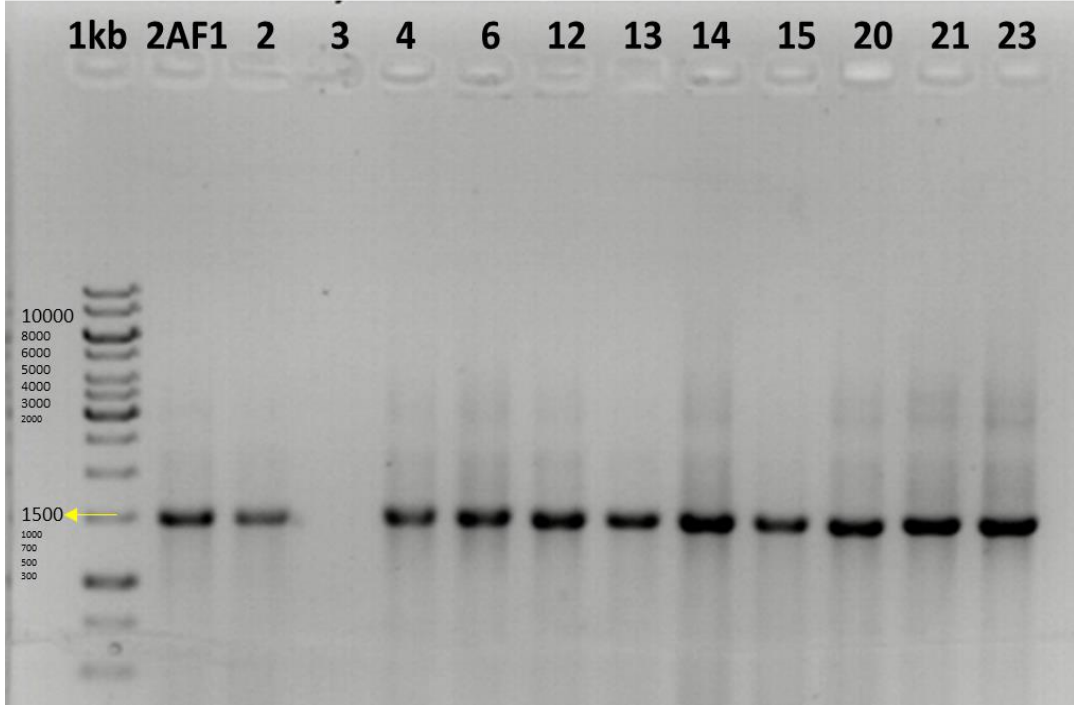


Şekil 3.3. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü

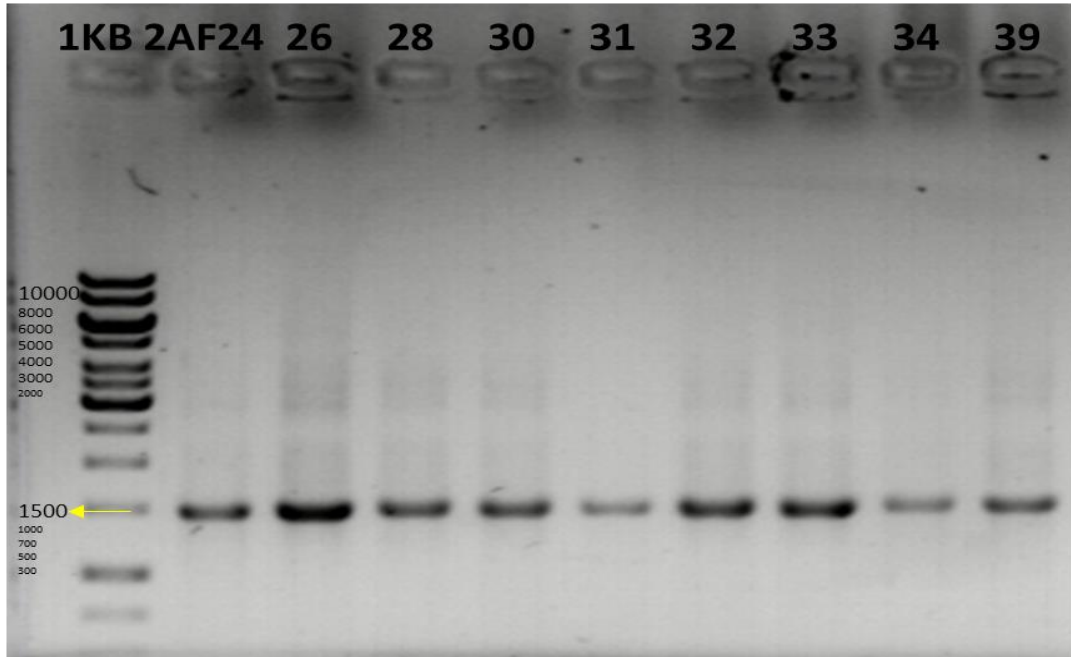


Şekil 3.4. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü

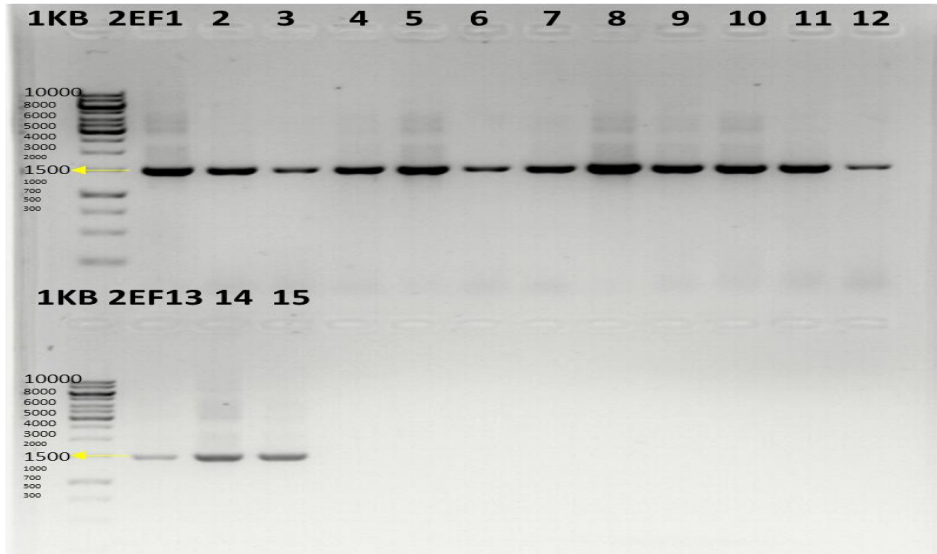
Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR sonucunda Şekil 3.5 ve 3.6 da görüldüğü gibi 20 izolattan pozitif sonuç alınmıştır. (20 izolattan)



Şekil 3.5. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü (1-23 arası)



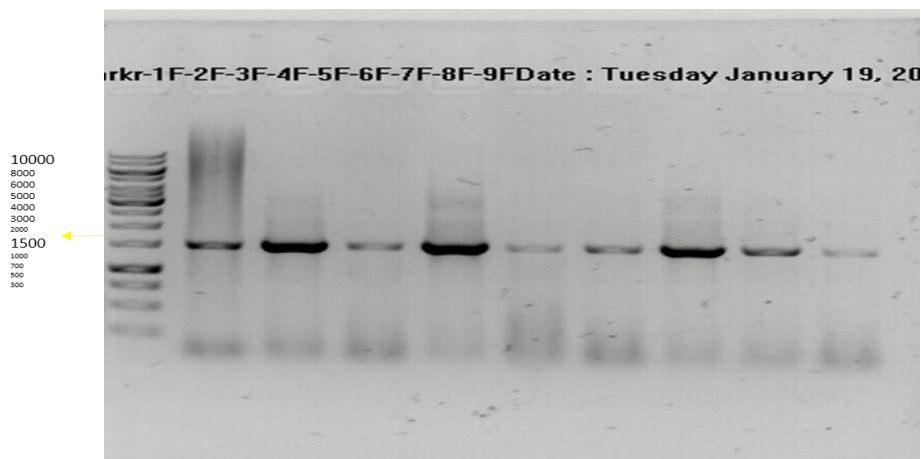
Şekil 3.6. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü (24-39 arası)



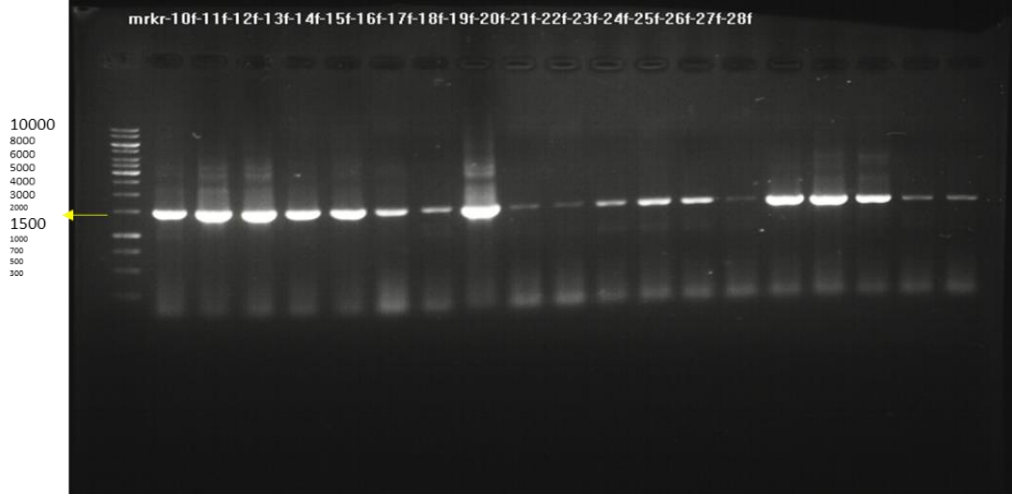
Şekil 3.7. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) örneklemelerinden fenollü besiyerinden çekilen izolatlardan yapılan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile Şekil 3.7 de görüldüğü gibi amplifikasyonu sonucu tüm izolatlardan pozitif sonuç elde edilmiştir. (15 izolattan)

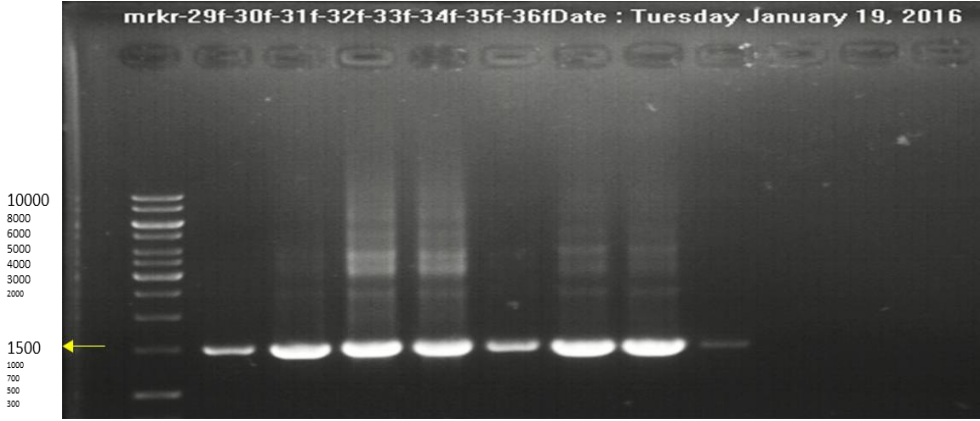
Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR sonucunda Şekil 3.8, 3.9 ve 3.10 de görüldüğü gibi tüm izolatlardan pozitif sonuç alınmıştır. (36 izolattan)



Şekil 3.8. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü (1-9 arası)



Şekil 3.9. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü 10-28 arası



Şekil 3.10. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü 29-36 arası

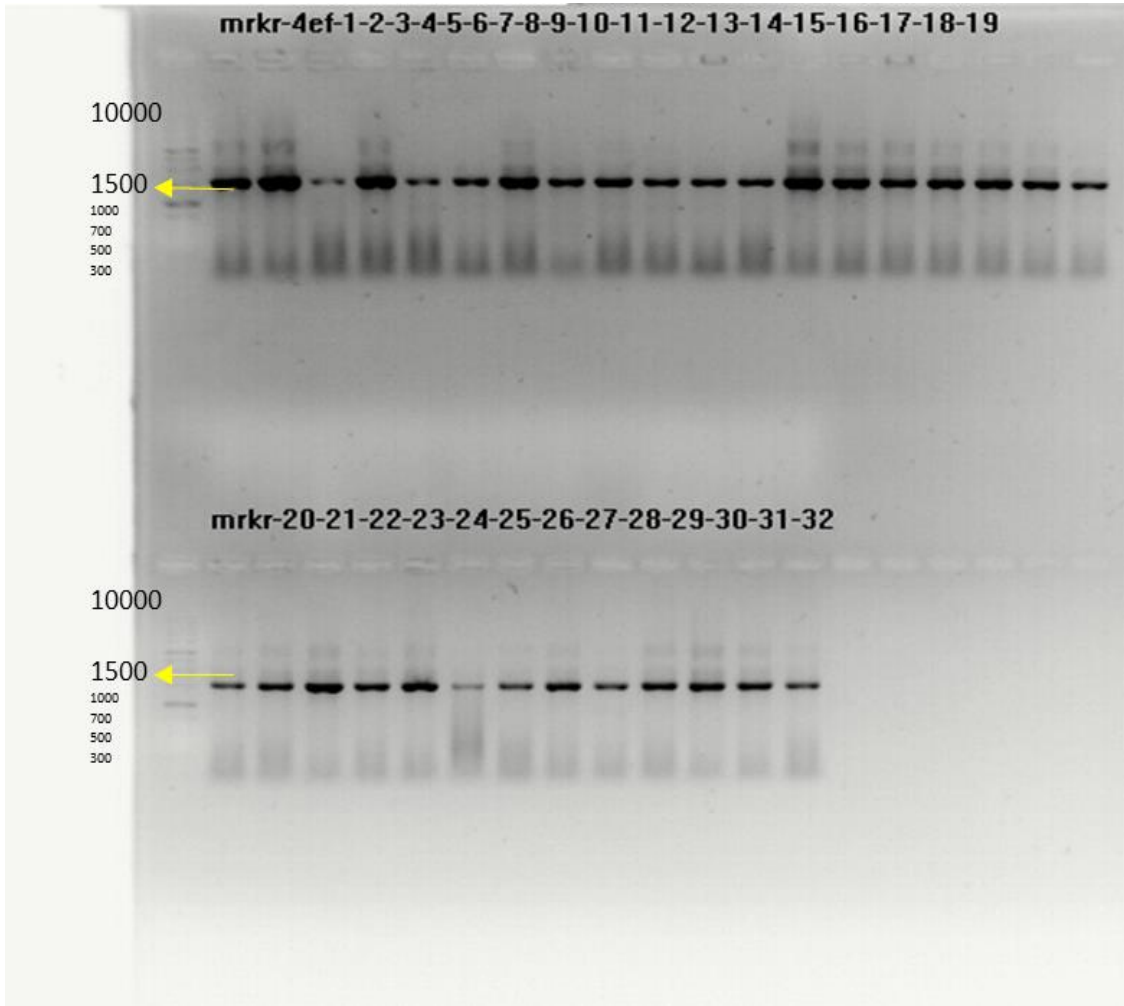


Şekil 3.11. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) örneklemelerinden fenollü besiyerinden çekilen izolatlardan yapılan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu tüm izolatlardan Şekil 3.11’de görüldüğü gibi 25 pozitif sonuç elde edilmiştir. (26 izolattan)

Belediye Atık su Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların 16S rRNA geni PZR sonucunda 15 izolattan pozitif sonuç alınmıştır. (28 izolattan)

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) örneklemelerinden fenollü besiyerinden çekilen izolatlardan yapılan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu Şekil 3.12’ de görüldüğü gibi tüm izolatlardan pozitif sonuç elde edilmiştir. (32 izolattan)

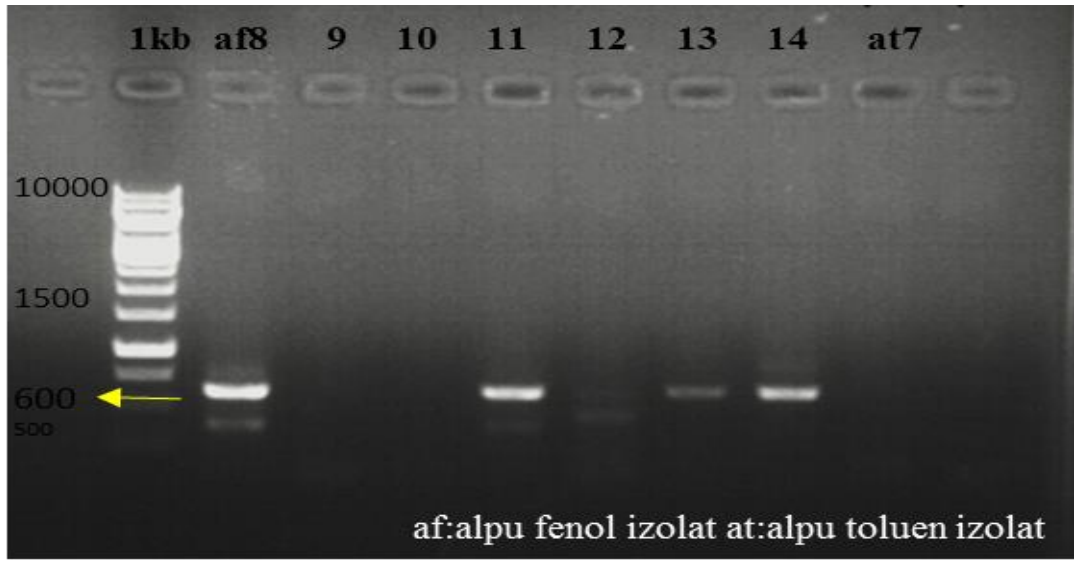


Şekil 3.12. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi(İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden izolatlar 16S PZR jel görüntüsü

3.5.4. Fenol degrade eden bakterilerin belirlenmesi

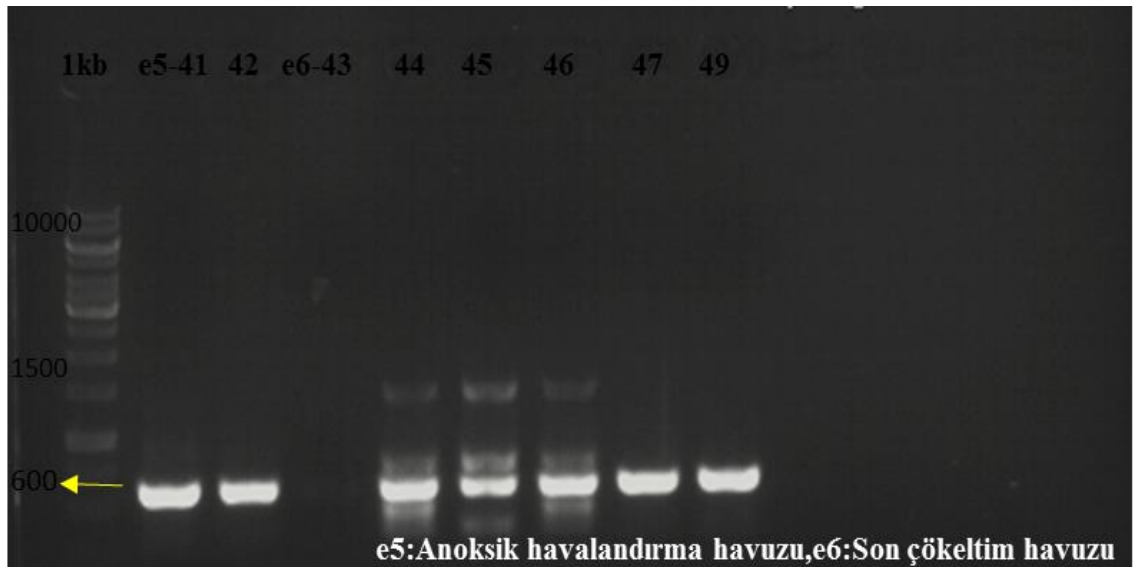
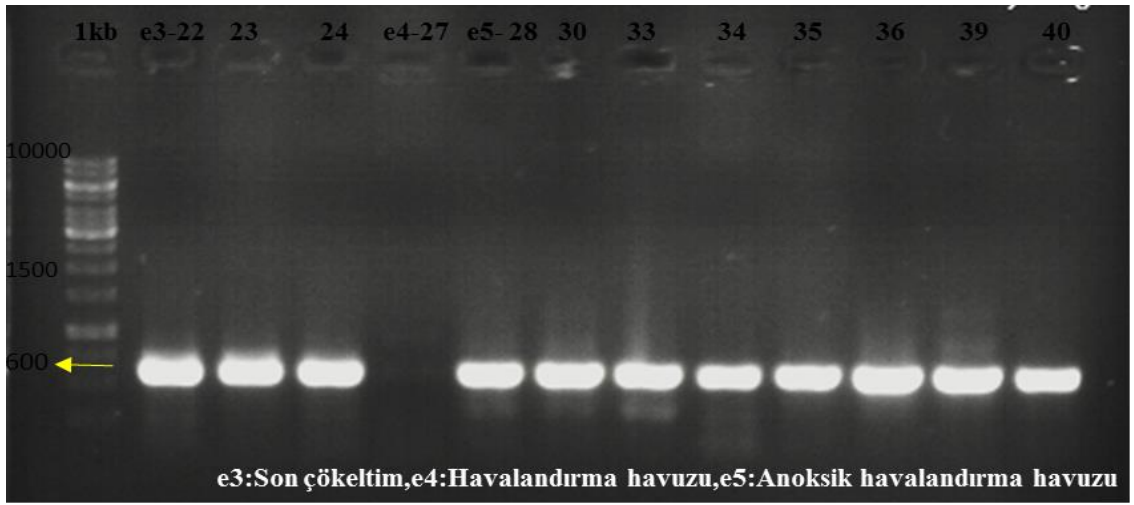
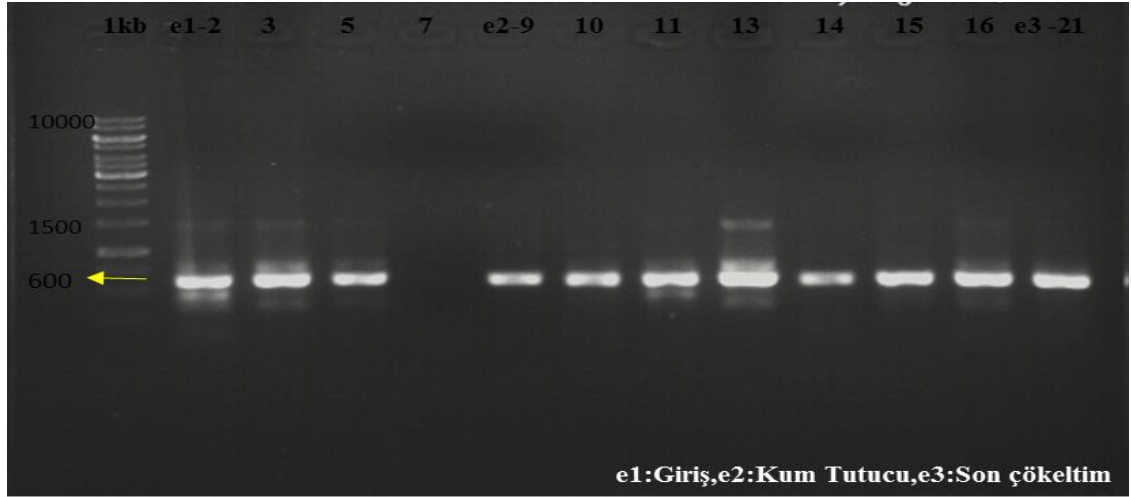
Fenol hidroksilaz geni büyük alt ünitesi hedefli primerler ile yapılan PZR lar sonrası elde edilen ürünler %1'lik agaroz jellerde yürütülmüşlerdir. İzolatların fenol hidroksilaz genine sahip olup olmadığı 600 bp'lik ürün varlığı ile tespit edilmiştir.

Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen izolatlardan Şekil 3.13'de görüldüğü gibi 8-11-13 ve 14 no'lu izolatların fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir.



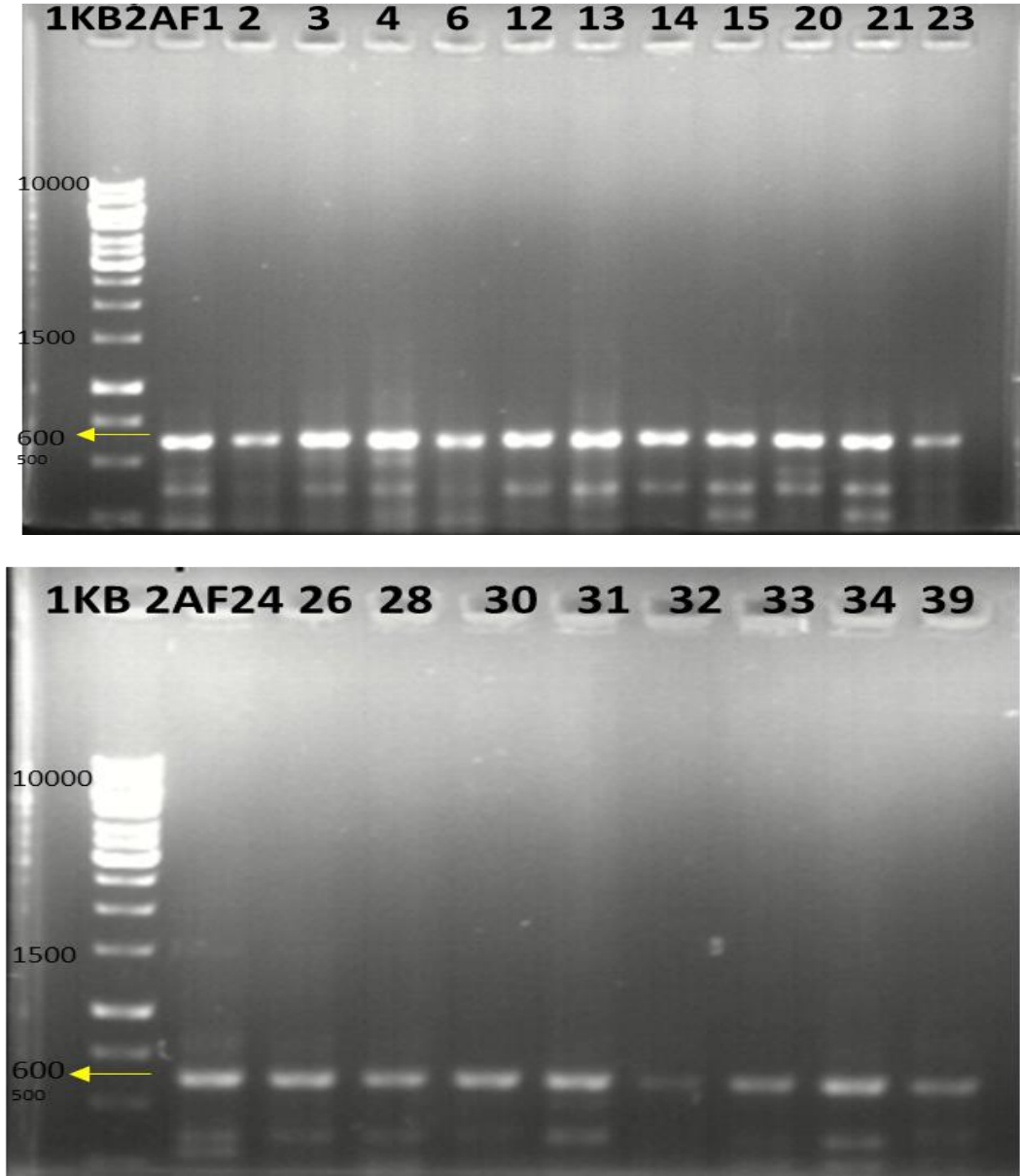
Şekil 3.13. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen izolatlardan Şekil 3.14'de görüldüğü gibi 9 adet izolatın fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi giriş'ten saflaştırılan (E1)2-3-5 nolu izolatlar, kum tutucudan (E2) saflaştırılan 9-10-11-13-14-15 ve 16 no'lu izolatlar, son çökeltim havuzundan saflaştırılan (E3) 21-22-23 ve 24 no'lu izolatlar, havalandırma havuzundan saflaştırılan (E5) 28-30-33-34-35-36-39-40-41 ve 42 no'lu izolatlar ve ön çökeltim havuzundan (E6) saflaştırılan 44-45-46-47 ve 49 no'lu izolatların fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir.



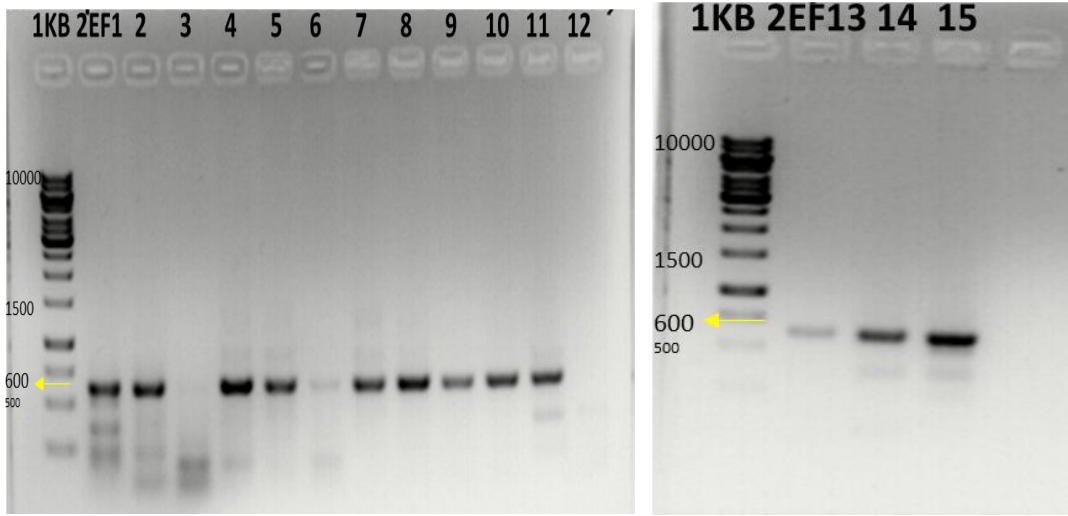
Şekil 3.14. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen izolatların hepsinin Şekil 3.15’ de görüldüğü gibi fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir.



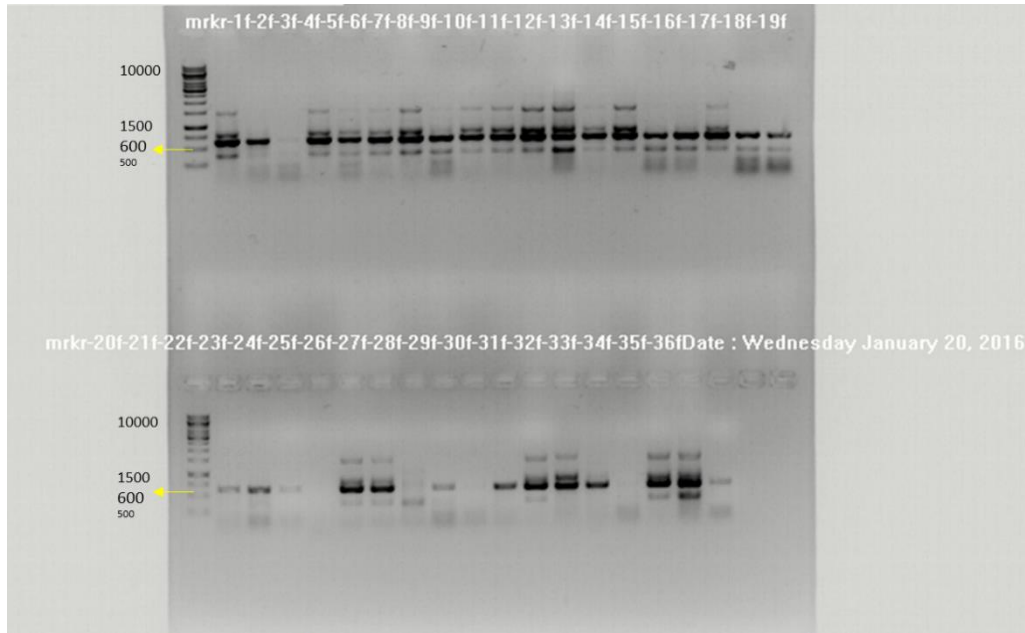
Şekil 3.15. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen izolatlardan Şekil 3.16’ da görüldüğü gibi 13 adet izolatın fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir.



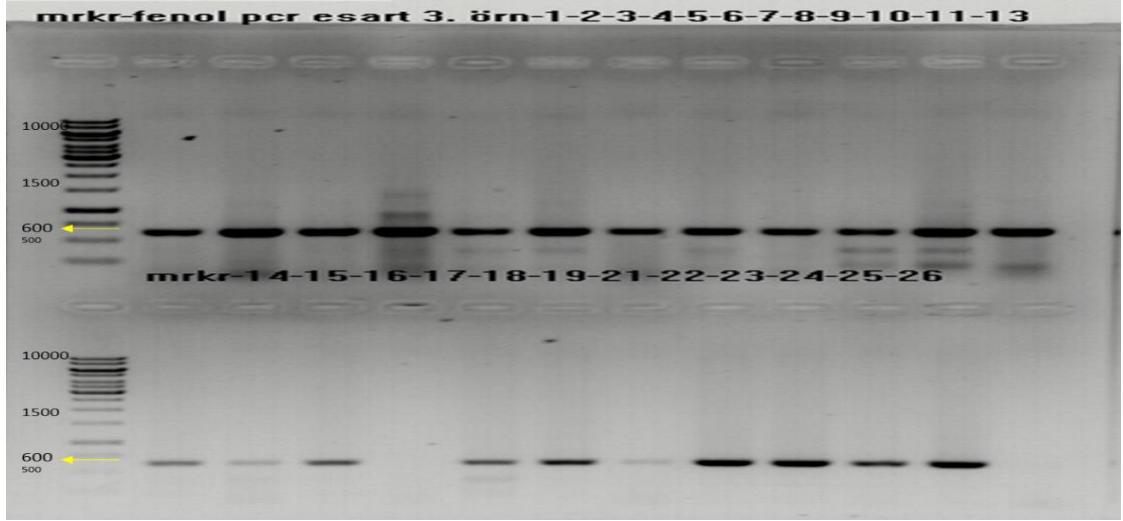
Şekil 3.16. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

Şekil 3.17’de görüldüğü gibi Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen 34 izolatın fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir. (36 izolattan)



Şekil 3.17. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

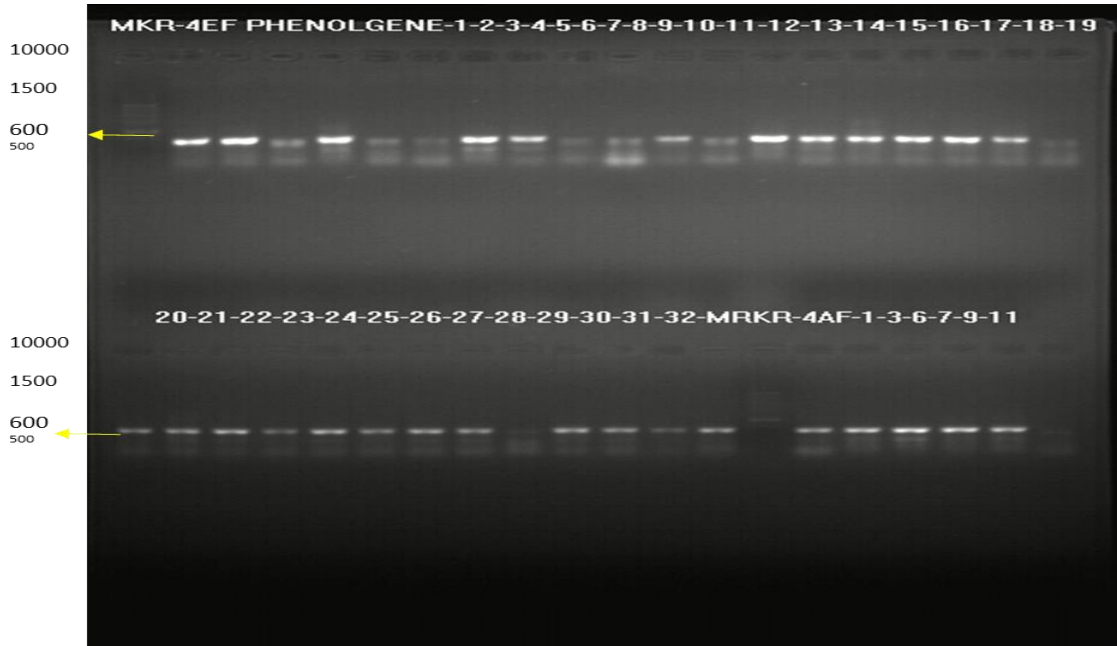
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen izolatlardan Şekil 3.18’de görüldüğü gibi 22 adet izolatın fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir.



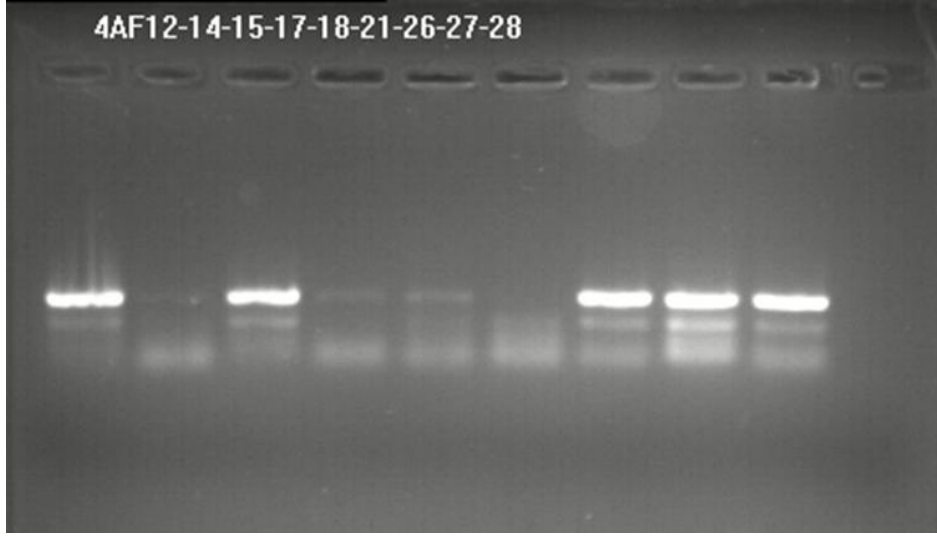
Şekil 3.18. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi(Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

Belediye Atık su Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen 14 izolatın Şekil 3.19 ve 3.20’de görüldüğü gibi fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir. (15 izolattan)

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden izole edilen izolatlardan Şekil 3.19’da görüldüğü gibi 32 adet izolatın fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir.(32 izolattan)

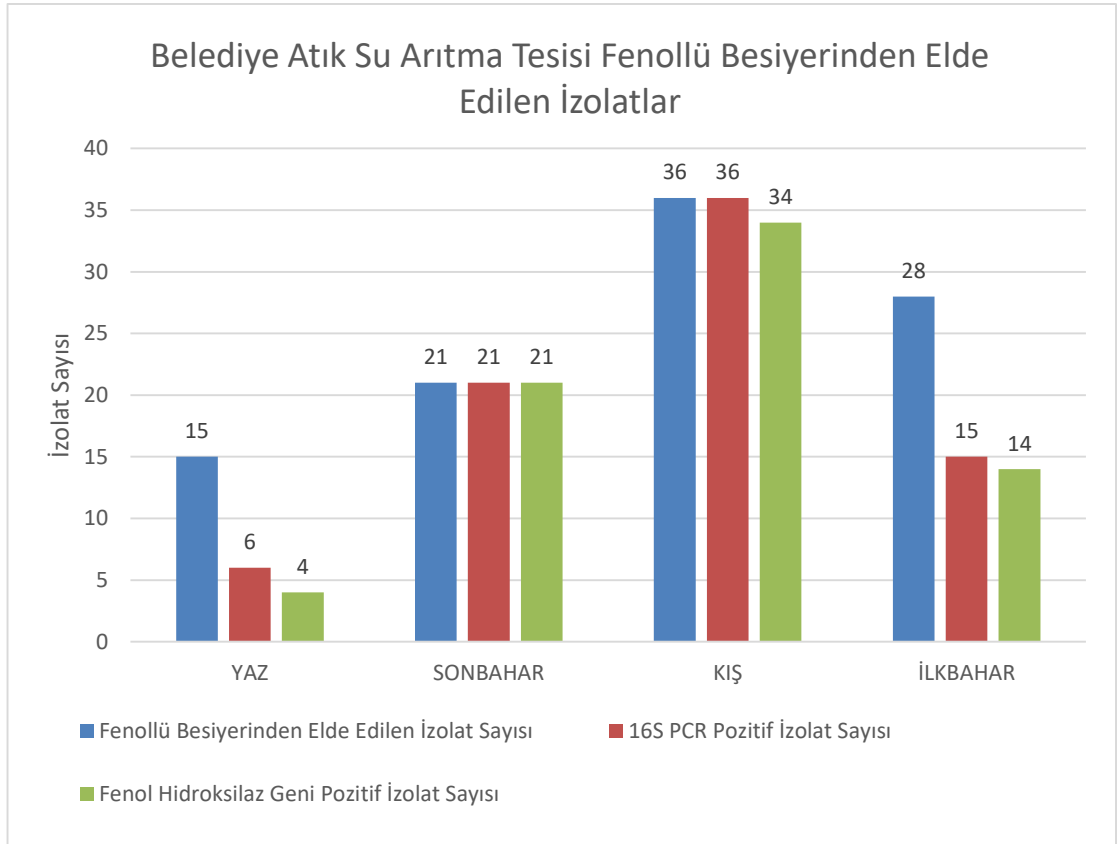


Şekil 3.19. Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

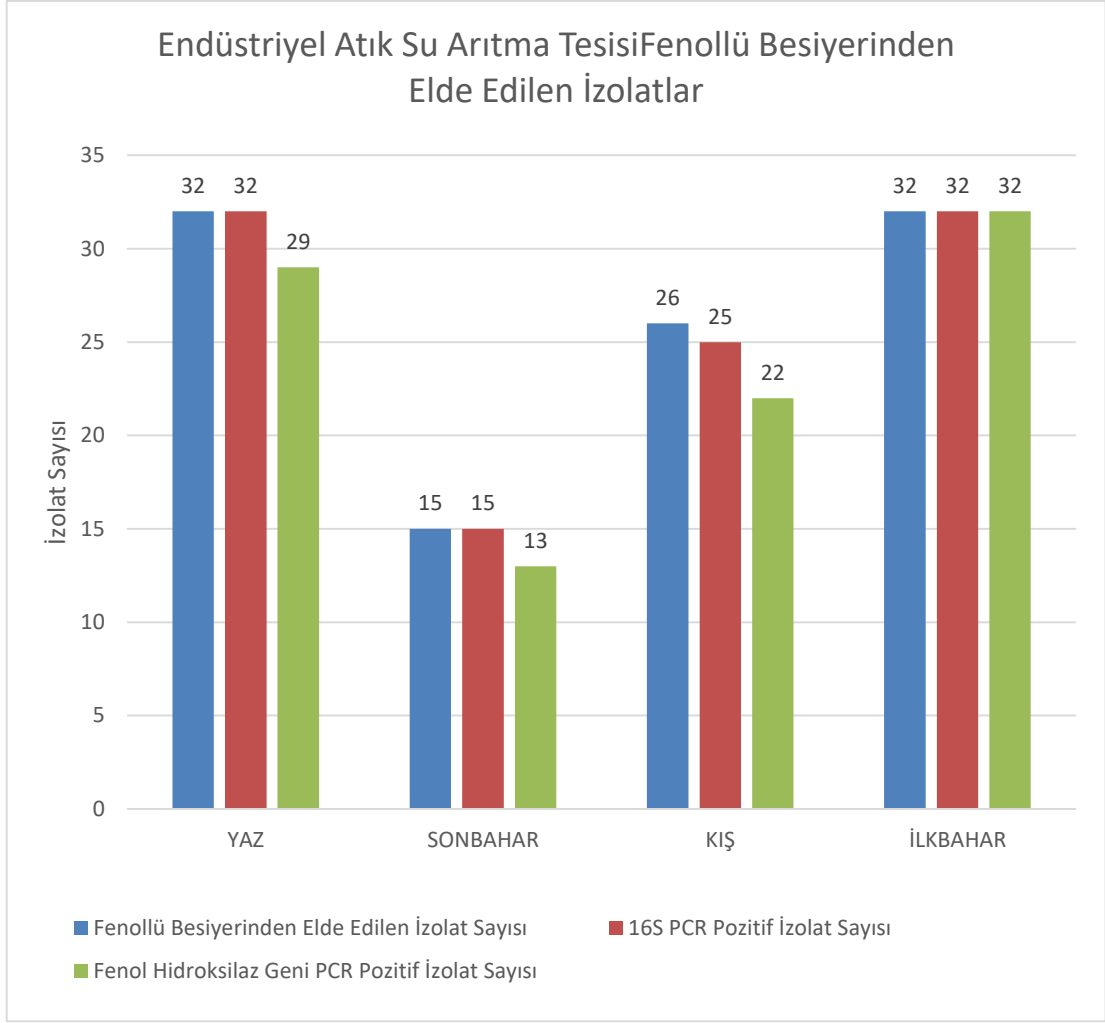


Şekil 3.20. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (İlkbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

PZR sonuçları değerlendirildiğinde aşağıda Şekil 3.21 ve 3.22 'de tesis tipine, mevsimlere göre elde edilen izolat sayıları, 16S PZR reaksiyonu pozitif izolatların sayıları ve fenol hidroksilaz geni spesifik PZR sonucu pozitif izolatlar verilmiştir.



Şekil 3.21. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden izole edilen izolatlara ilişkin PZR verileri



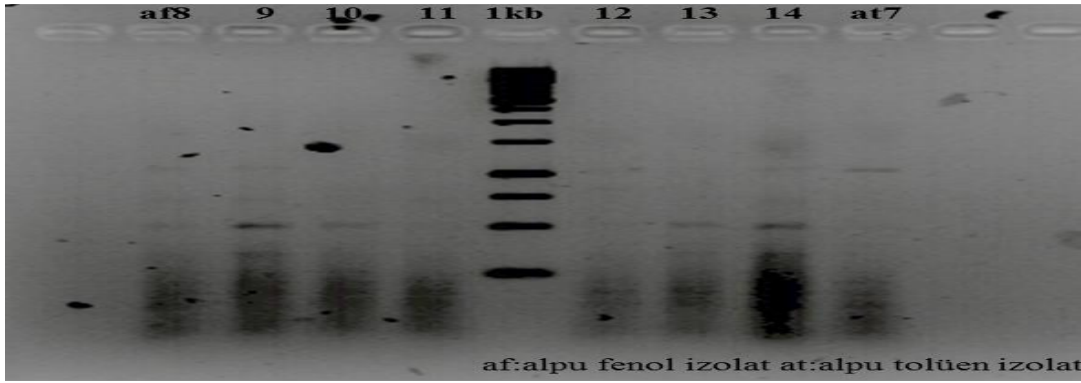
Şekil 3.22. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden izole edilen izolatlarla ilişkin PZR verileri

3.5.5. 16S rRNA geni amplifikasyonu ürünlerinin enzimatik kesimi (ARDRA)

16S rRNA geni için elde edilen PZR ürünlerinin restriksiyon analizleri için *Hinf I* ve *Mbo I* enzimleri kullanılmıştır.

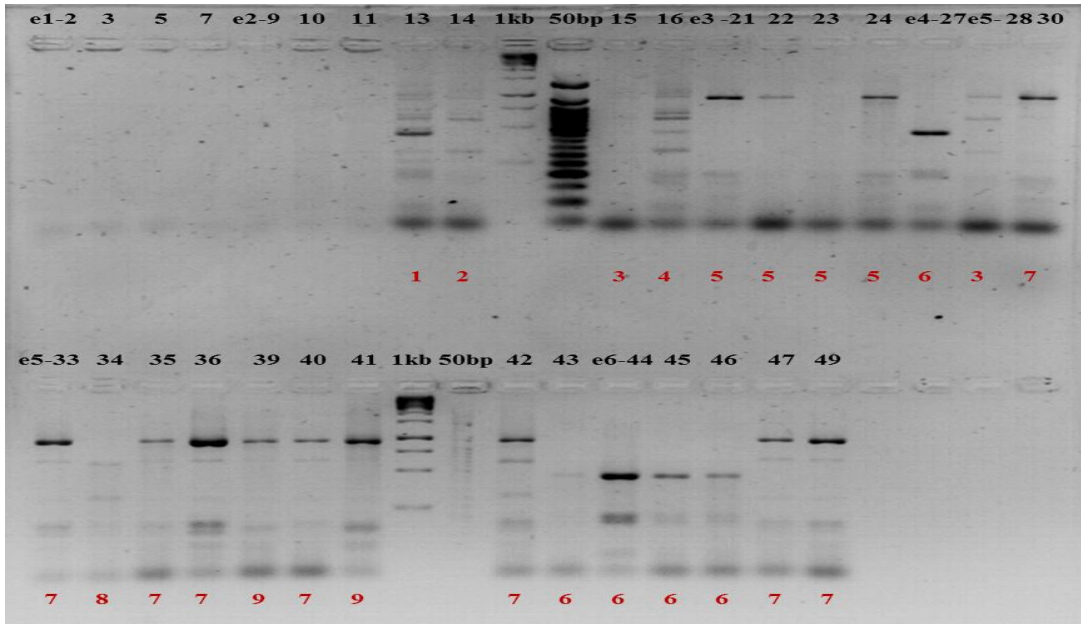
Restriksiyon kesimleri sonrası örnekler %2 lik agaroz jele yüklenerek yürütülmüştür. İzolatlara ait 16S rRNA ürünleri için *Hinf I* veya *Mbo I* enzimi ile kesilerek oluşan farklı profiller belirlenmiş ve profillere göre gruplandırma yapılmıştır. Bu gruplandırma sonrası farklı profiller gösteren izolatların hangileri olduğu belirlenerek dizi analizi yapılacak izolatlar seçilmiştir.

Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) için *Hinf I* enzimi kullanılmıştır. Fenollü besiyerinden çekilen izolatların Şekil 3.23’de görüldüğü gibi aynı profile sahip olduğu belirlenmiştir.



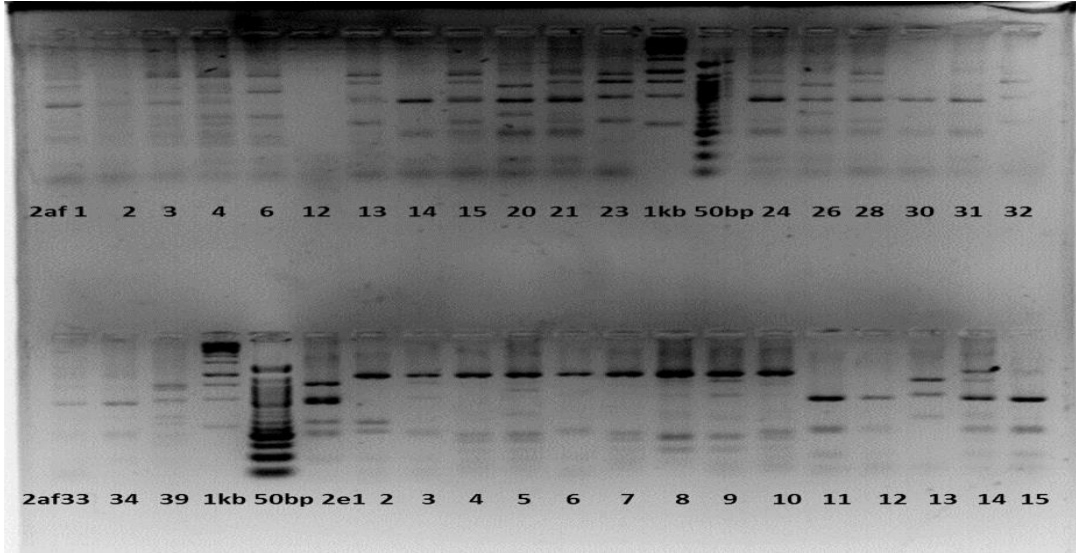
Şekil 3.23. Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) için *Hinf I* enzimi kullanılmıştır. Fenollü besiyerinden çekilen izolatların 32 tanesi için ARDRA reaksiyonu kurulmuş ve reaksiyon sonucu 9 farklı profil belirlenmiştir. 1.profile ait 1 izolat (e2-13), 2.profile ait 1 izolat (e2-14), 3.profile ait 1 izolat (e2-15), 4.profile ait 1 izolat (e2-16), 5.profile ait 4 izolat (e3-21, 22, 23, 24), 6.profile ait 5 izolat (e4-27, e5-43, e6-44, 45, 46), 7.profile ait 8 izolat (e5-30, 33, 35, 36, 40, 42, e6-47, 49), 8. profile ait 1 izolat (e5-34), 9.profile ait 2 izolat (e5-39,41) belirlenmiştir. Aşağıdaki Şekil 3.24'de de bu farklı profillerin gözlendiği jel görülmektedir.



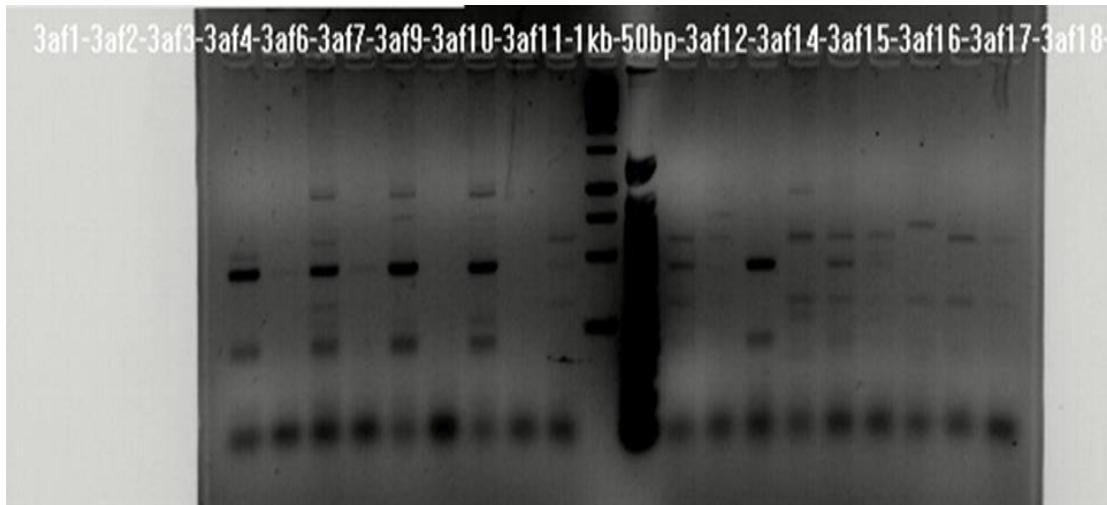
Şekil 3.24. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü

Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden çekilen izolatların (Sonbahar mevsimi) kesim reaksiyonu için *Hinf I* enzimi kullanılmıştır. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi fenollü besiyerinden çekilen izolatların farklı profile sahip olduğu belirlenmiş ve Şekil 3.25’de gösterilmiştir.

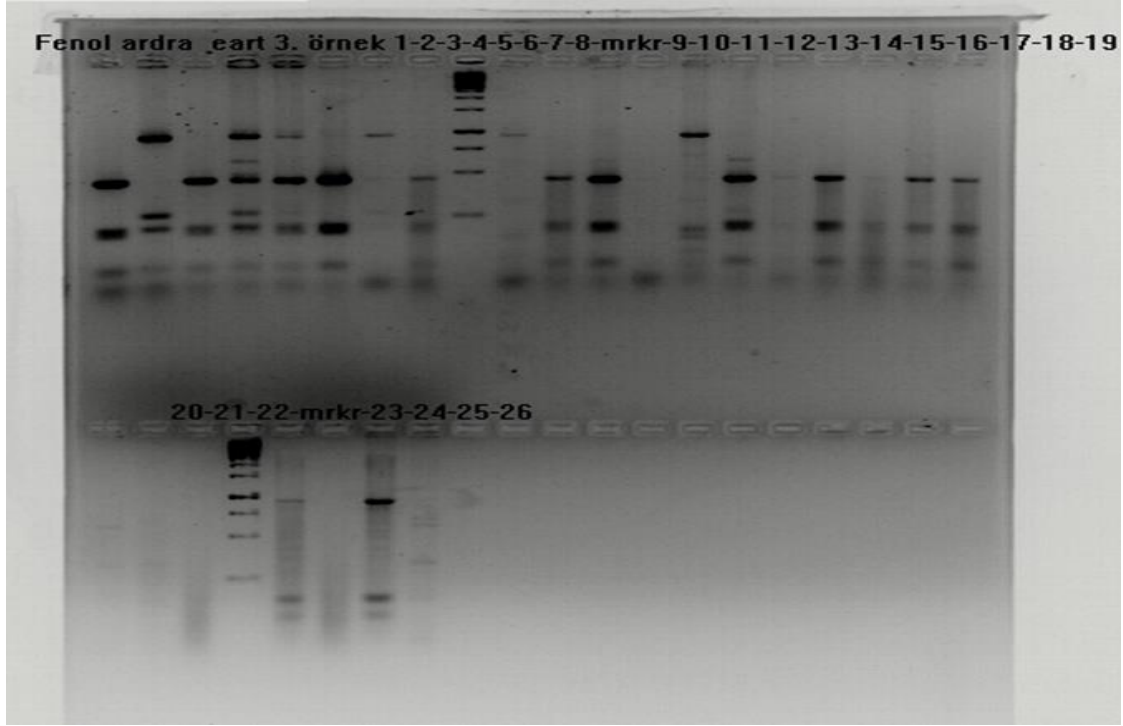


Şekil 3.25. Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Sonbahar mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA Jel Görüntüsü

Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) kesim reaksiyonu için *Mbo I* enzimi kullanılmıştır. Farklı profiller Şekil 3.26 ve 3.27’de gösterilmiştir.



Şekil 3.26. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü



Şekil 3.27. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Kış mevsimi) fenollü besiyerinden çekilen izolatların ARDRA jel görüntüsü

Tüm ARDRA sonuçları değerlendirildiğinde yaz mevsimi örneklemesinden toplamda 9 farklı profil, sonbahar mevsimi örneklemesinden 10 adet profil Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nden, 9 adet profil Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden elde edilmiştir. Kış mevsimi örneklemesinde 7 profil Belediye Atık Su Arıtma Tesisi, 6 profil Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden, ilkbahar mevsimi örneklemesinde ise 9 profil Belediye Atık Su Arıtma Tesisi, 8 profil Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden elde edilmiştir.

3.5.6. Dizi analizi sonuçları

DNA ekstraksiyonu yapılan ve ARDRA kesim reaksiyonları sonucu farklı olduğu belirlenen izolatlardan, 16S rRNA geni PZR ile amplifiye edilerek bu ürünlerin direkt olarak dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizler için 27F, 907R, 1100R ve 1492R primerleri kullanılmıştır. Dizilenen örnekler NCBI veri tabanındaki referans dizilerle karşılaştırılmıştır. Aşağıda Tablo 3.11'de dizilenen izolatların referans dizilerle olan benzerlik oranları verilmiştir.

Tablo 3.11. Fenollü besiyerinden saflaştırılan izolatlara ait profillerinden elde edilen dizi analizi sonuçları

İzolat Kodu	Gen Bankası Temsilcisi	% Benzerlik oranı	Benzerlik görülen izolatın kodu
E6F 44	<i>Pseudomonas sp.</i> E6F-44 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1380/1380(100%)	KU311044.1
E5F 41	<i>Burkholderia multivorans</i> strain E5F-41 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1340/1340(100%)	KU311045.1
E5F 30	<i>Ideonella sp.</i> E5F-30 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1365/1365(100%)	KU311046.1
E3F 21	<i>Alcaligenes sp.</i> E3F-21 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1213/1213(100%)	KU311047.1
AF 11	<i>Pseudomonas sp.</i> BX-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	474/509(93%)	KU365418.1
E2F 13	<i>Pseudomonas sp.</i> BX-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	542/568(95%)	KU365418.1
E5F 34	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> strain PA 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	502/504(99%)	KT878384.1
2AF13	<i>Bordetella petrii</i> strain PGY1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1275/1364(93%)	FJ577503.1
2AF 21	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	576/654(88%)	CP015878.1
2AF 6	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> strain PA 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	573/617(93%)	KT878384.1
2AF 13	<i>Bordetella petrii</i> strain PGY1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	809/864(94%)	FJ577503.1
2AF 14	<i>Pseudomonas sp.</i> 2AF-14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	875/875(100%)	KU311048.1
2AF 21	<i>Pseudomonas sp.</i> NBUS11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822/871(94%)	KF765795.1
2EF 1	<i>Pseudomonas denitrificans</i> strain 2EF-14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	662/733(90%)	KU311053.1
2EF2	<i>Pseudomonas nitroreducens</i> strain 2EF-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	890/890(100%)	KU311049.1
2EF 3	<i>Pseudomonas linyingensis</i> strain 2EF-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	881/881(100%)	KU311050.1
2EF 4	<i>Ideonella sp.</i> 2EF-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1002/1002(100%)	KU311051.1
2EF 8	<i>Burkholderia multivorans</i> strain 2EF-8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1019/1019(100%)	KU311052.1
2EF 14	<i>Pseudomonas denitrificans</i> strain 2EF-14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1011/1011(100%)	KU311053.1
3AF 1	<i>Pseudomonas sp.</i> Sps1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1315/1322(99%)	KU291435.1
3AF2	<i>Pseudomonas denitrificans</i> strain H38A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	790/798(99%)	KT337533.1
3AF 3	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	814/817(99%)	CP015878.1
3AF 6	<i>Pseudomonas sp.</i> NBIWW4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1201/1215(99%)	KF765796.1
3AF 12	<i>Pseudomonas sp.</i> Sps1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1255/1264(99%)	KU291435.1
3EF 2	<i>Bacillus sp.</i> B4(2007) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1323/1334(99%)	EU281630.1

Tablo 3.11. (Devam) *Fenollü besiyerinden saflaştırılan izolatlara ait profillerinden elde edilen dizi analizi sonuçları*

İzolat Kodu	Gen Bankası Temsilcisi	% Benzerlik oranı	Benzerlik görülen izolatın kodu
3EF 4	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	852/877(97%)	CP015878.1
3EF 5	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	864/868(99%)	CP015878.1
3EF 10	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	847/852(99%)	CP015878.1
3EF 13	<i>Ideonella sp.</i> EP3-2L 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1122/1130(99%)	KT619177.1
3EF 25	<i>Burkholderia multivorans</i> ATCC BAA-247 chromosome 1, complete sequence	1350/1353(99%)	CP009832.1
4EF 2	Uncultured <i>Pseudomonas sp.</i> clone LHE032 16S ribosomal RNA gene, partial sequence <i>Pseudomonas sp.</i> AT3-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1187/1209(98%)	JX093125.1 JN093012.1
4EF4	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	1316/1318(99%)	CP015878.1
4EF 7	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	907/917(99%)	CP015878.1
4EF 12	<i>Acinetobacter baumannii</i> partial 16S rRNA gene, isolate CRESPO_SUMMER_CTD16_Surface_Culture_307	1137/1140(99%)	LN846082.1
4EF 13	<i>Pseudomonas sp.</i> enrichment culture clone AD25-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1235/1249(99%)	JX081254.1
4EF 14	<i>Pseudomonas sp.</i> NBUS7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1232/1246(99%)	KF765793.1
4EF 15	<i>Pseudomonas citronellolis</i> partial 16S rRNA gene, strain BG 6903	668/684(98%)	AM088480.1
4EF16	<i>Pseudomonas sp.</i> enrichment culture clone AD25-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1082/1099(98%)	JX081254.1
4EF21	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	950/956(99%)	CP015878.1
4EF 22	<i>Pseudomonas denitrificans</i> strain H44B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1274/1281(99%)	KT337538.1
4EF 24	<i>Pseudomonas sp.</i> FP2-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1038/1038(100%)	EU293343.1
4EF 26	<i>Pseudomonas sp.</i> enrichment culture clone AD25-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1096/1097(99%)	JX081254.1
4EF32	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain R5-120 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	830/848(98%)	JQ659720.1
4AF3	<i>Pseudomonas sp.</i> FP2-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	788/807(98%)	EU293343.1
4AF 6	<i>Pseudomonas sp.</i> NBIWW4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1028/1061(97%)	KF765796.1
4AF7	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain LK 140 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	685/731(94%)	KF261586.1
4AF9	<i>Pseudomonas denitrificans</i> strain H44B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1085/1085(100%)	KT337538.1

Tablo 3.11. (Devam) Fenollü besiyerinden saflaştırılan izolatlara ait profillerinden elde edilen dizi analizi sonuçları

4AF12	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	1169/1187(98%)	CP015878.1
4AF 15	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	784/845(93%)	CP015878.1
4AF26	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain SJTE-3, complete genome	1197/1213(99%)	CP015878.1
4AF27	<i>Pseudomonas sp.</i> enrichment culture clone AD25-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1090/1092(99%)	JX081254.1

3.5.7. Dizilenen izolatların dizilerinin NCBI GenBank sistemine yüklenmesi ve numara alınması

Dizilenen izolatlar için benzerlik oranı yüksek olanlar ve kaliteli dizileme sonucu alınan diziler için NCBI sistemine, Sequin sistemi kullanılarak GenBank sistemine elde edilen veriler yüklenmiştir. Dizilerin GenBank sistemine yüklenmesi için uygun dizilere Numara/kod (Accession number) atanmaktadır. Bu numara da yüklenen dizileri tanımlamaktadır. Sisteme yüklenen diziler ve kodları (Accession number) aşağıdaki Tablo 3.12’de verilmiştir.

Tablo 3.12. NCBI GenBank veritabanına yüklenen izolatlar ve atanan GenBank numaraları

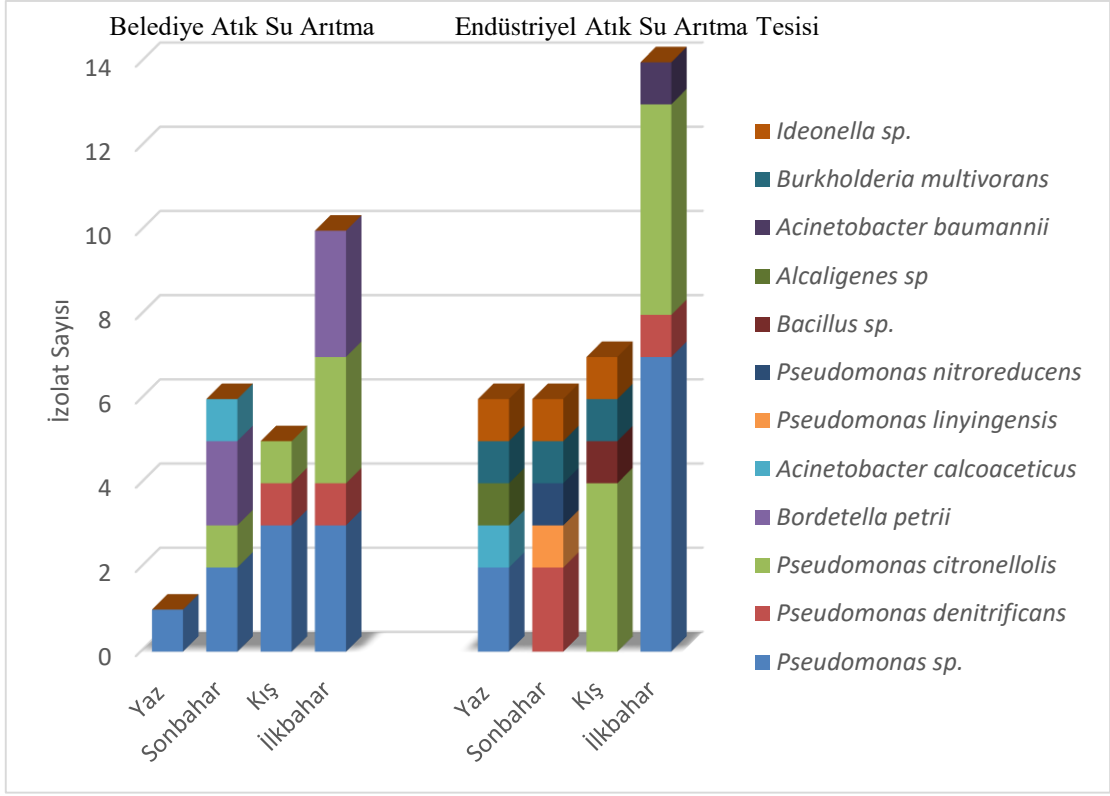
İzolat Kodu	İzolat Türü	Accession Number-GenBank Numarası
E6F-44	<i>Pseudomonas sp.</i>	KU311044
E5F-41	<i>Burkholderia multivorans</i>	KU311045
E5F-30	<i>Ideonella sp.</i>	KU311046
E3F-21	<i>Alcaligenes sp.</i>	KU311047
2AF-14	<i>Pseudomonas sp.</i>	KU311048
2EF-2	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	KU311049
2EF-3	<i>Pseudomonas linyingensis</i>	KU311050
2EF-4	<i>Ideonella sp.</i>	KU311051
2EF-8	<i>Burkholderia multivorans</i>	KU311052
2EF-14	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	KU311053
E5F34	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	KX682248
3AF1	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682249
3AF2	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	KX682250
3AF3	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682251
3AF6	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682252
3AF12	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682253
3EF2	<i>Bacillus sp.</i>	KX682254
3EF4	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682255
3EF5	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682256
3EF10	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682257
3EF13	<i>Ideonella sp.</i>	KX682258
3EF25	<i>Burkholderia multivorans</i>	KX682259
4EF2	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682260

Tablo 3.12. (Devam) NCBI GenBank veritabanına yüklenen izolatlar ve atanan GenBank numaraları

İzolat Kodu	İzolat Türü	Accession Number-GenBank Numarası
4EF4	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682261
4EF7	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682262
4EF12	<i>Acinetobacter baumannii</i>	KX682263
4EF13	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682264
4EF14	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682265
4EF15	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682266
4EF16	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682267
4EF21	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682268
4EF22	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	KX682269
4EF24	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682270
4EF26	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682271
4EF32	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682272
4AF3	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682273
4AF6	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682274
4AF9	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	KX682275
4AF12	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682276
4AF14	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682277
4AF26	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	KX682278
4AF27	<i>Pseudomonas sp.</i>	KX682279

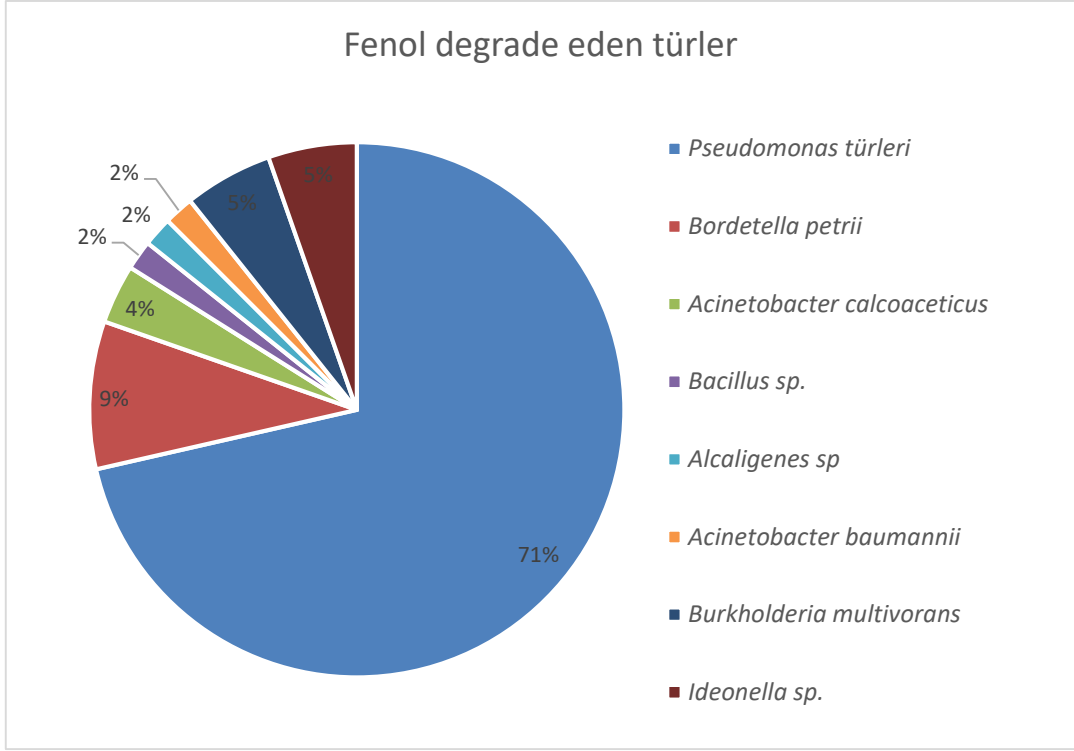
3.5.8. Dizi analizi sonucu tanımlanan izolatların tür dağılımlarının mevsim ve tesis tipine göre değerlendirilmesi

Fenollü besiyerinden izole edilen ve fenol degrade eden mikroorganizmaların mevsimlere ve farklı 2 tesise göre sayısal dağılımı Şekil 3.28’de verilmiştir. İzolatların çoğunluğunun *Pseudomonas* türleri olduğu Şekil 3.29’de gösterilmiş olup, tür çeşitliliğine bakıldığında *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas citronellis*, *Pseudomonas linyingensis*, *Pseudomonas nitroreducens* varlığı belirlenmiştir. Ayrıca taksonomik dağılımları Şekil 3.30, filogenetik ağaçtaki durumları ise Şekil 3.31’de belirtilmiştir.

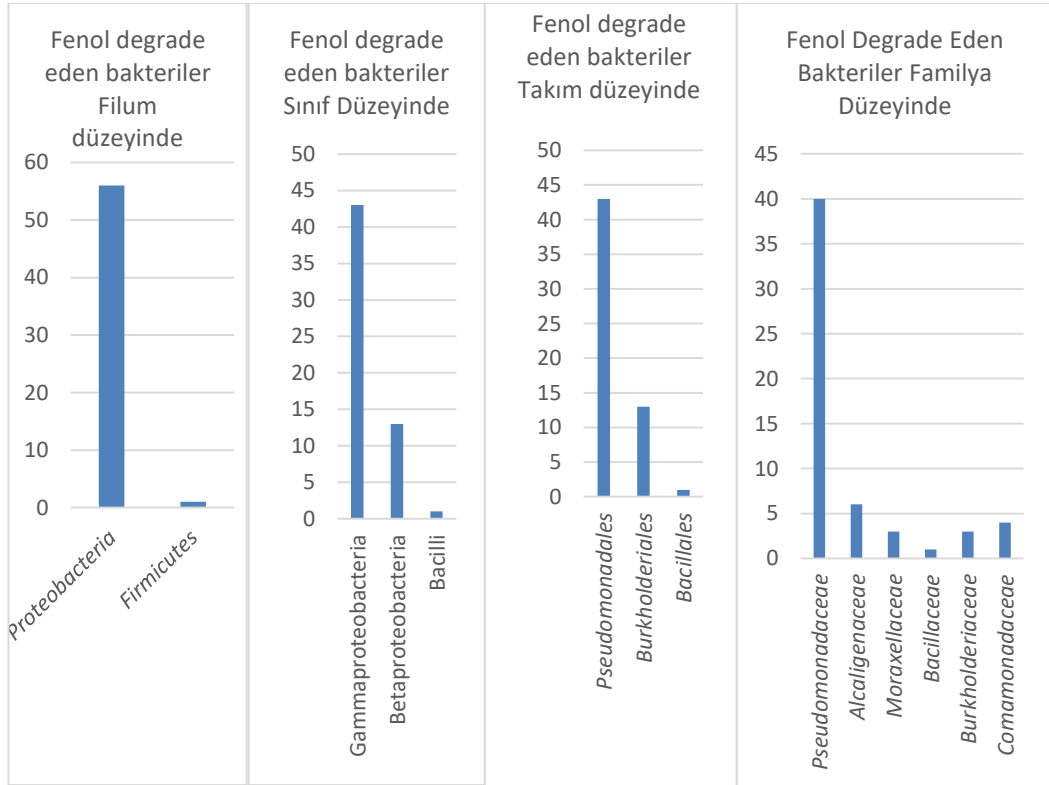


İzolat Türü	Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Fenollü besiyerinden elde edilen izolatlar				Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Fenollü besiyerinden elde edilen izolatlar				
	Yaz	Sonbahar	Kış	İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış	İlkbahar	
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	2	3	3	<i>Pseudomonas sp.</i>	2	0	0	7
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	0	0	1	1	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	0	2	0	1
<i>Pseudomonas citronellolis</i>	0	1	1	3	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	0	0	4	5
<i>Bordetella petrii</i>	0	2	0	3	<i>Bordetella petrii</i>	0	0	0	0
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0	1	0	0	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	0	0	0
<i>Pseudomonas linyingensis</i>	0	0	0	0	<i>Pseudomonas linyingensis</i>	0	1	0	0
<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	0	0	0	0	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	0	1	0	0
<i>Bacillus sp.</i>	0	0	0	0	<i>Bacillus sp.</i>	0	0	1	0
<i>Alcaligenes sp.</i>	0	0	0	0	<i>Alcaligenes sp.</i>	1	0	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	0	0	<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	0	1
<i>Burkholderia multivorans</i>	0	0	0	0	<i>Burkholderia multivorans</i>	1	1	1	0
<i>Ideonella sp.</i>	0	0	0	0	<i>Ideonella sp.</i>	1	1	1	0

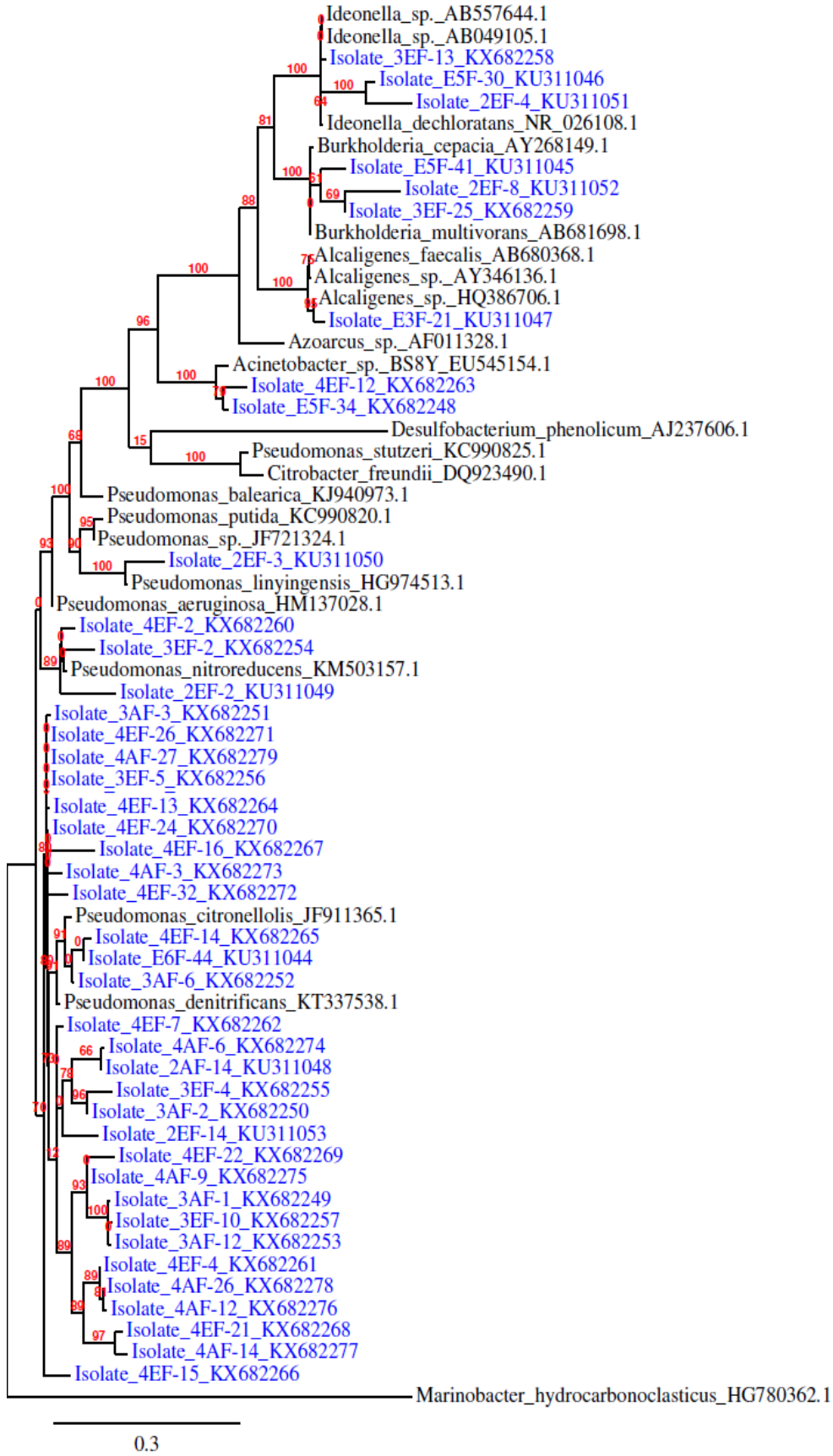
Şekil 3.28. Fenollü besiyerinden dizilenen izolatlar (Tesis tipi ve mevsime göre)



Şekil 3.29. Her iki testisten elde edilen ve fenol degrade eden türlerin dağılımı



Şekil 3.30. Taksonomik olarak fenol degrade eden bakterilerin dağılımı

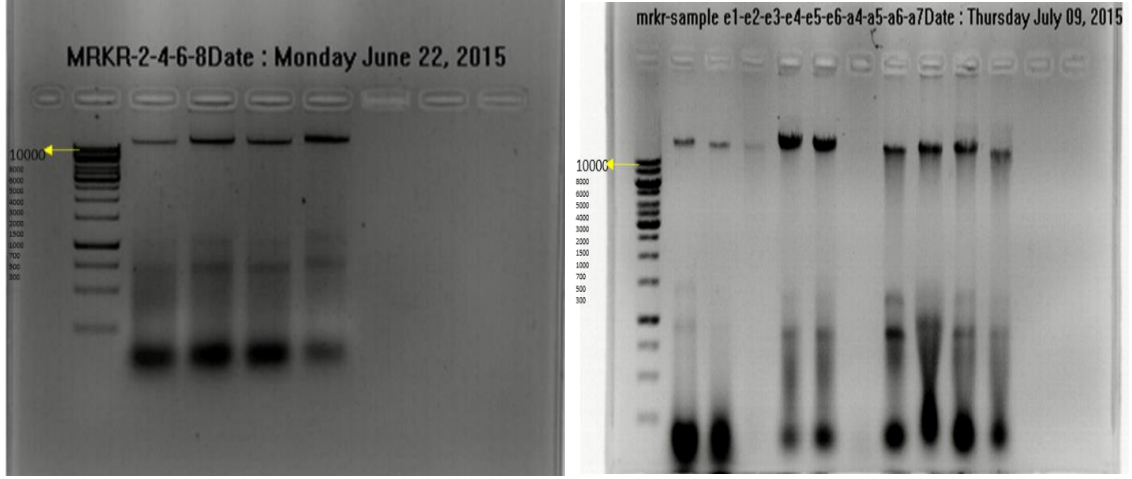


Şekil 3.31. Fenol degrade eden bakteriler filogenetik ağaç

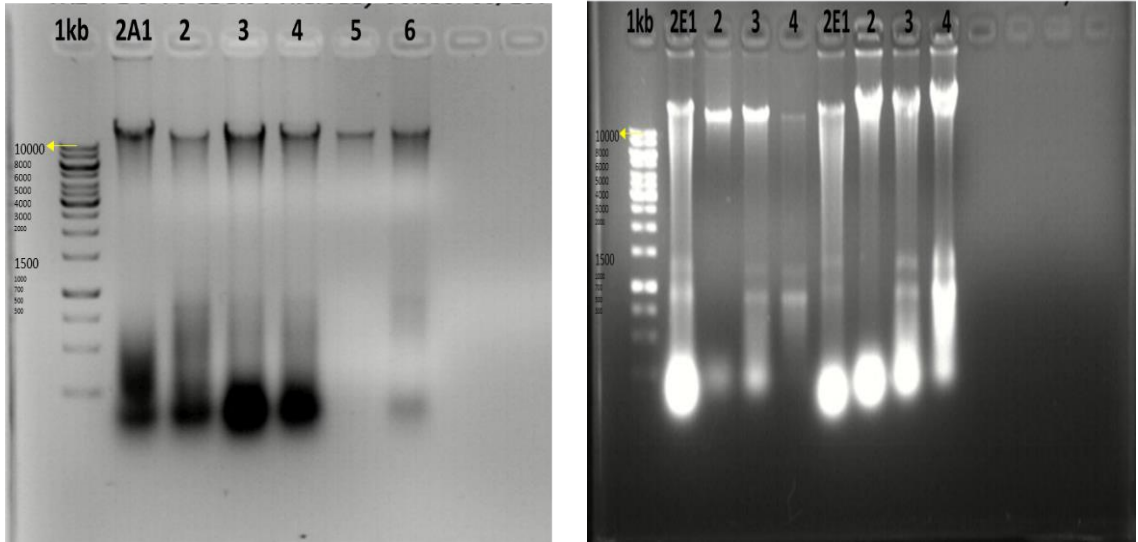
3.6. Kùltür Bağımsız Yöntemler

3.6.1. Örneklereinden toplam DNA ekstraksiyonu

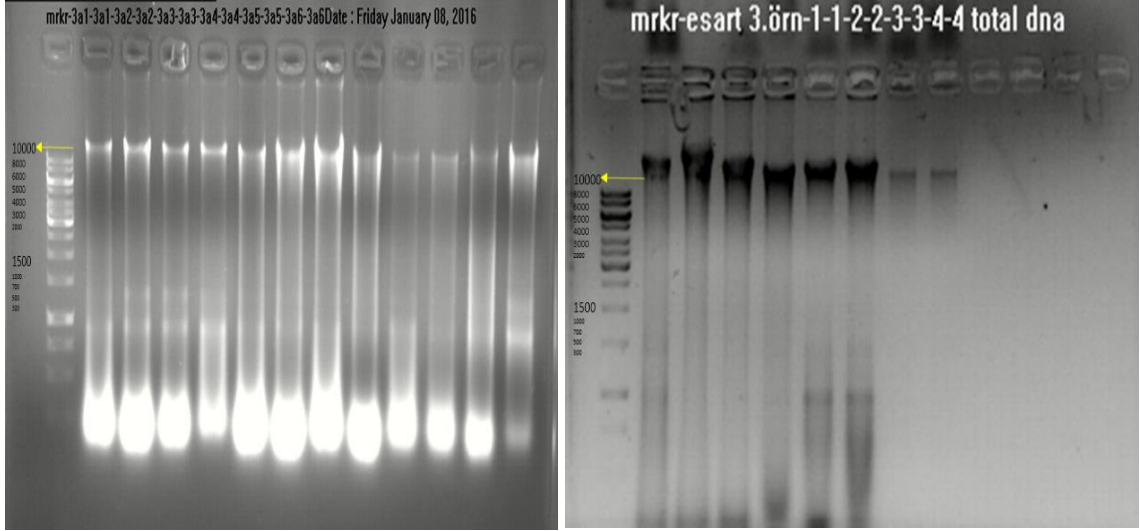
Tesislerden alınan örneklereinden genomik DNA izolasyonu uygun ekstraksiyon yöntemi kullanılarak başarıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen genomik DNA'lara ait jel görüntüleri Şekil 3.32, 3.33, 3.34, 3.35'de verilmiştir.



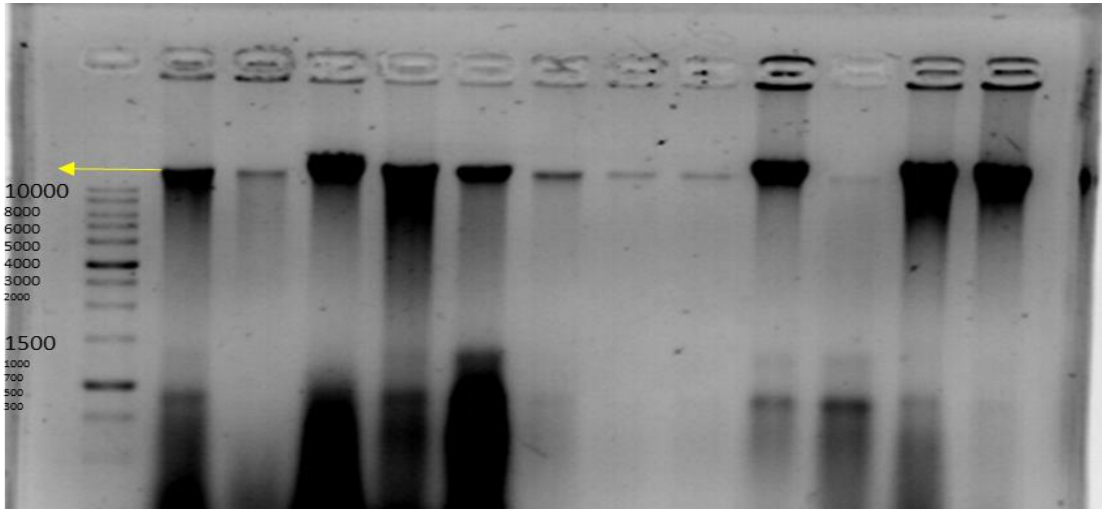
Şekil 3.32. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (1.Örnekleme) 2-4-6-8 ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) 1-2-3-4-5-6 numaralı örneklemelemlerden, Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi) 4-5-6 ve 7 numaralı örneklemelemlerden total DNA ekstraksiyonu



Şekil 3.33. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örneklemelemleri total DNA ekstraksiyonu jel görüntüsü



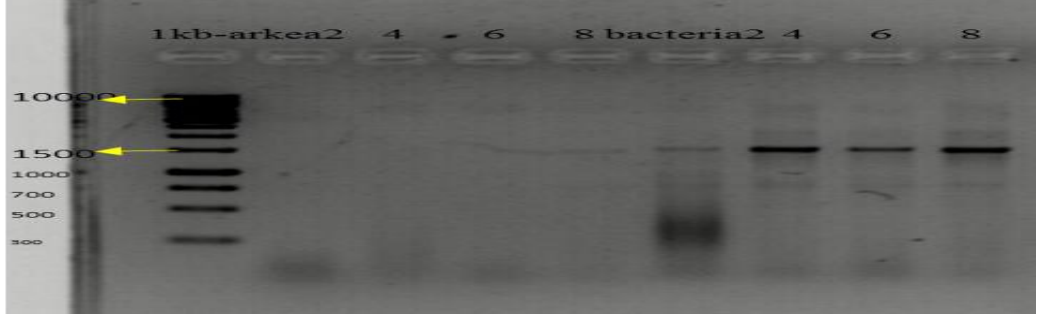
Şekil 3.34. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu jel görüntüsü



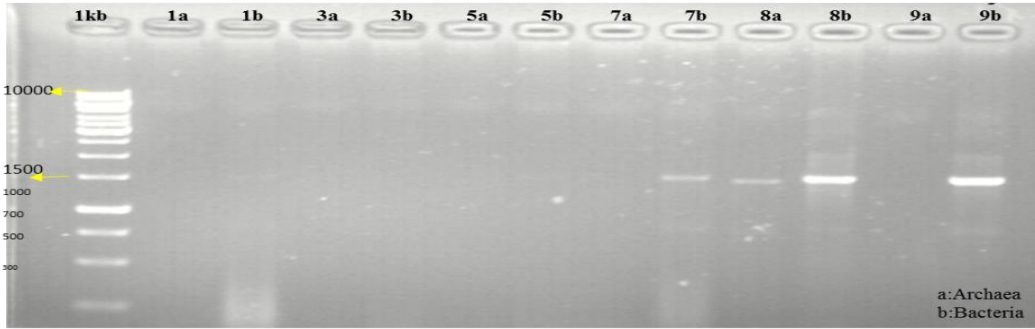
Şekil 3.35. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu jel görüntüsü

3.6.2. Total DNA'dan 16S rRNA geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonu

Total DNA'lardan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR'lar sonrası elde edilen ürünler %1'lik agaroz jellerde yürütülmüşlerdir. Her örnek için hem Archaea hem de Bacteria primer setleri ile PZR kurulmuş ve örneklerde Archaea veya Bacteria olup olmadığı tespit edilmiştir.

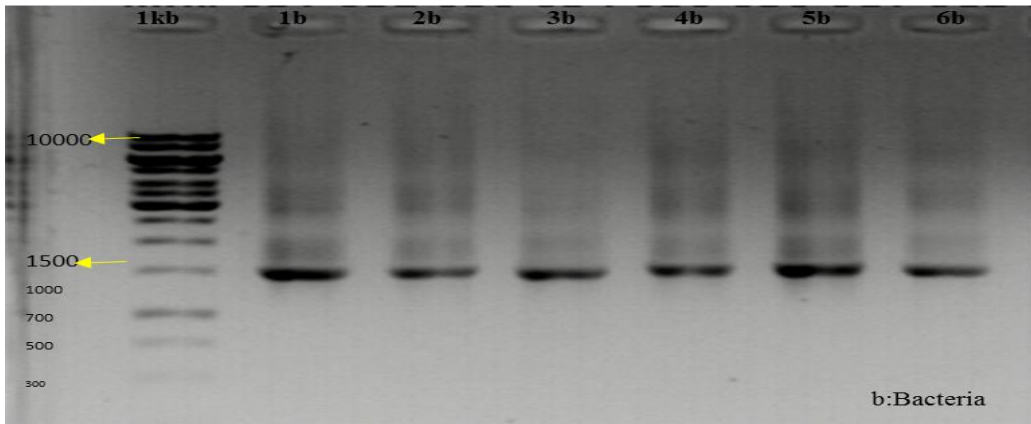


Şekil 3.36. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme) 2-4-6 ve 8 numaralı örnekleme örneklerinden total DNA'dan 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü



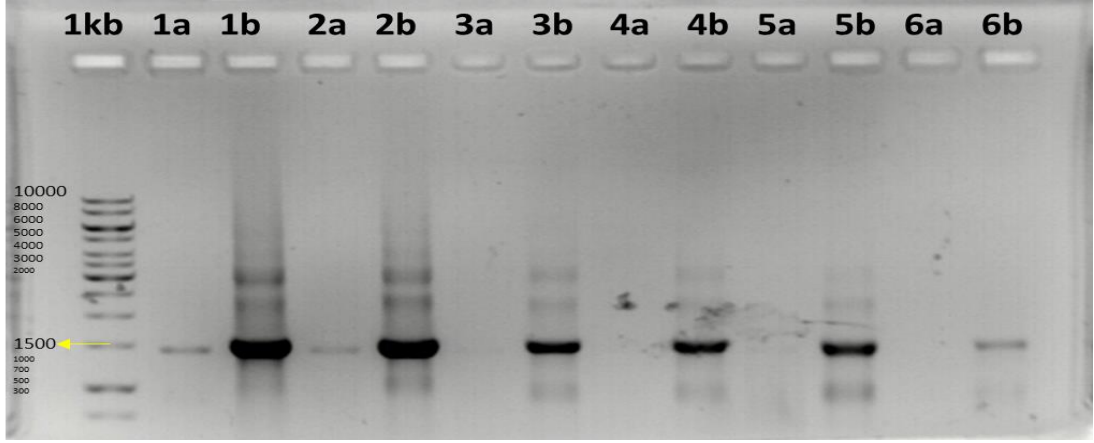
Şekil 3.37. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme) 1-3-5-7-8 ve 9 numaralı örnekleme örneklerinden total DNA'dan 16S rRNA geni PZR jel görüntüsü

Belediye Atık su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi örnekleme) örneklemelerinden elde edilen total DNA'lardan yapılan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu Şekil 3.36 ve 3.37'de görüldüğü gibi örnekleme örneklerinin hepsinden Bacteria için pozitif sonuç alınmış ve sadece 8 numaralı örnekte Archaea pozitif sonuç alınmıştır.



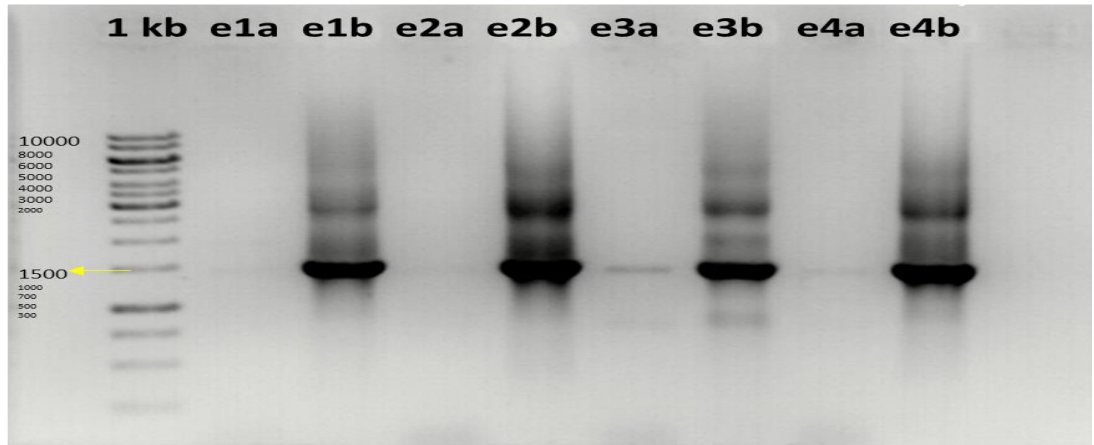
Şekil 3.38. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme) 1-2-3-4-5 ve 6 numaralı örnekleme örneklerinden Total DNA'dan 16S rRNA genii PZR jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (Yaz mevsimi örnekleme) örneklemelerinden elde edilen total DNA'lardan yapılan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu Şekil 3.38'de görüldüğü gibi örneklemelerden sadece Bacteria için pozitif sonuç alınmış ve Archaea için pozitif sonuç alınmamıştır.



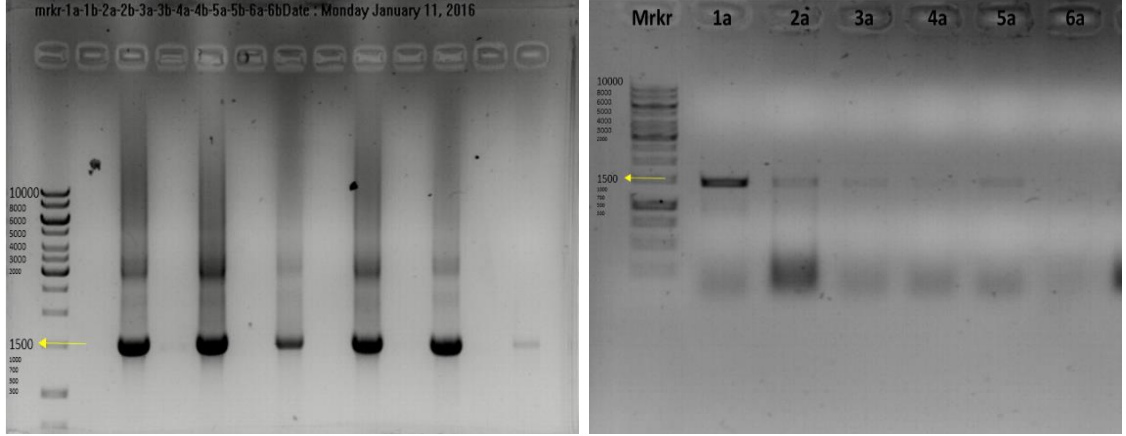
Şekil 3.39. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü

Şekil 3.39'da görüldüğü gibi Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme sonrası total DNA'lardan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nden kum yağ tutucu ve ön çökeltim havuzundan Archaea hem de Bacteria primer setleri ile pozitif sonuç alınmıştır.



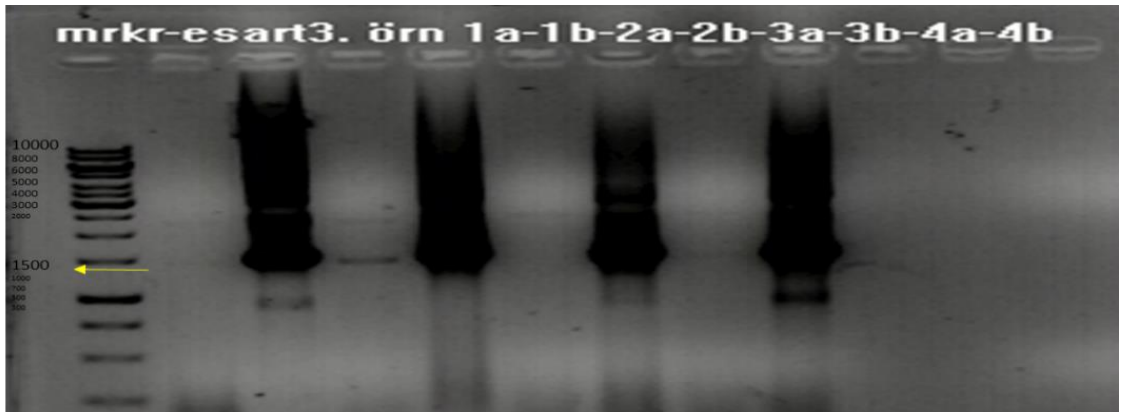
Şekil 3.40. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden sonbahar mevsimi örnekleme sonrası total DNA'lardan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR'lar sonrası Şekil 3.40'da görüldüğü gibi havalandırma havuzundan hem Archaea hem de Bacteria primer setleri ile pozitif sonuç alınmıştır.



Şekil 3.41. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme sonrası total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü

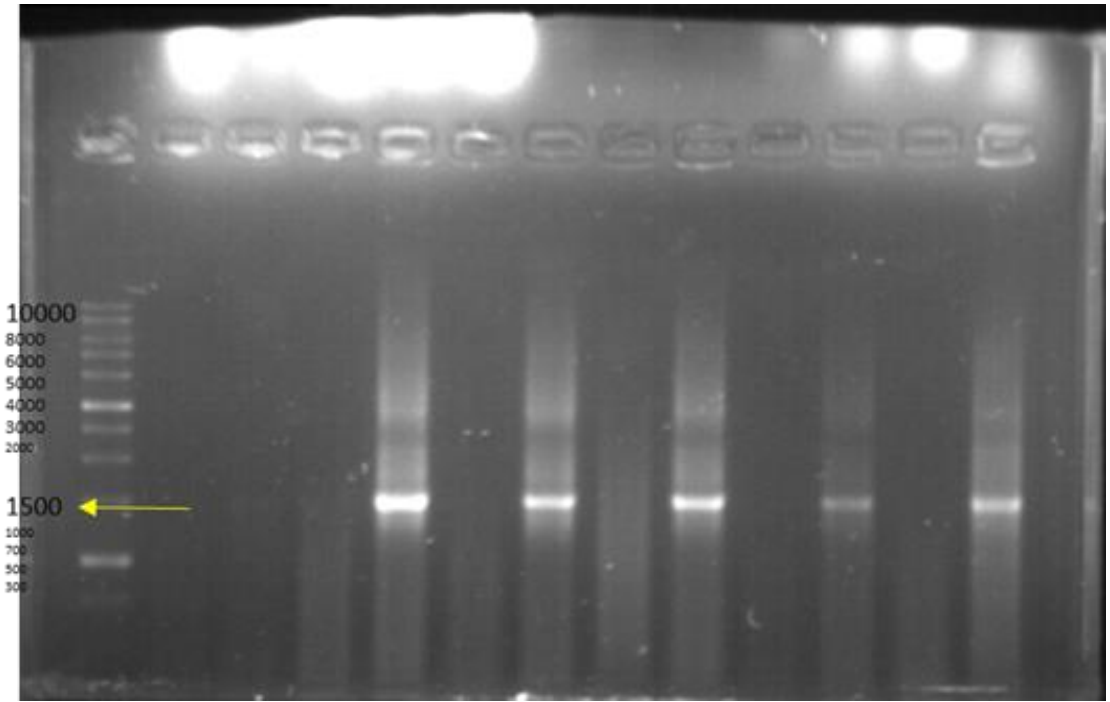
Total DNA'lardan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nden yapılan kış örnekleme sonrası Şekil 3.41'de görüldüğü gibi kum yağ tutucu, ön çökeltim havuzu, havalandırma havuzu, geri devir pompa istasyon ünitesi, son çökeltim havuzu ve anaerobik ünite için hem Archaea hem de Bacteria primer setleri ile pozitif sonuç alınmıştır.



Şekil 3.42. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme sonrası total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü

Total DNA'lerden 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR'lar sonrası Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örneklemesinden Şekil 3.42'de görüldüğü gibi kum tutucu, ön çökeltim havuzu, havalandırma havuzu ve son çökeltim havuzundan hem Archaea hem de Bacteria primer setleri ile pozitif sonuç alınmıştır.

Şekil 3.43'de belirtildiği gibi total DNA'lerden 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası Belediye Atık Su Arıtma Tesisinden yapılan ilkbahar mevsimi örneklemelelerinden kum yağ tutucu, ön çökeltim havuzu, havalandırma havuzu, geri devir pompa istasyon ünitesi, son çökeltim havuzu ve anaerobik ünite için Bacteria primer setleri ile pozitif sonuç alınmıştır. Arkea primer setleri ile ise ön çökeltim havuzu, havalandırma havuzu, geri devir pompa istasyon ünitesinden pozitif sonuç alınmıştır.



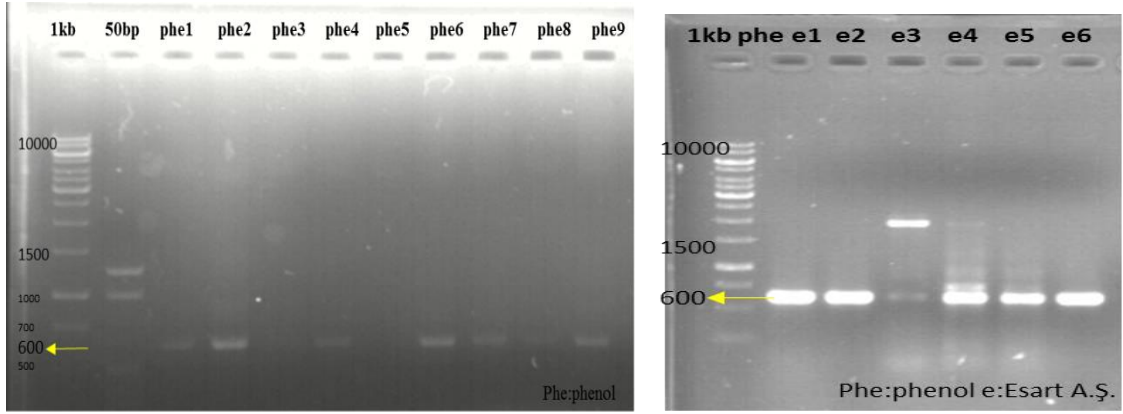
Şekil 3.43. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örneklemesi Total DNA'dan 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası jel görüntüsü

Total DNA'lerden 16S rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR'lar sonrası Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örneklemesinden ise kum tutucu, ön çökeltim havuzu, havalandırma havuzu ve son çökeltim havuzundan hem Archaea hem de Bacteria primer setleri ile pozitif sonuç alınmıştır.

3.6.3. Fonksiyonel genlerin belirlenmesi

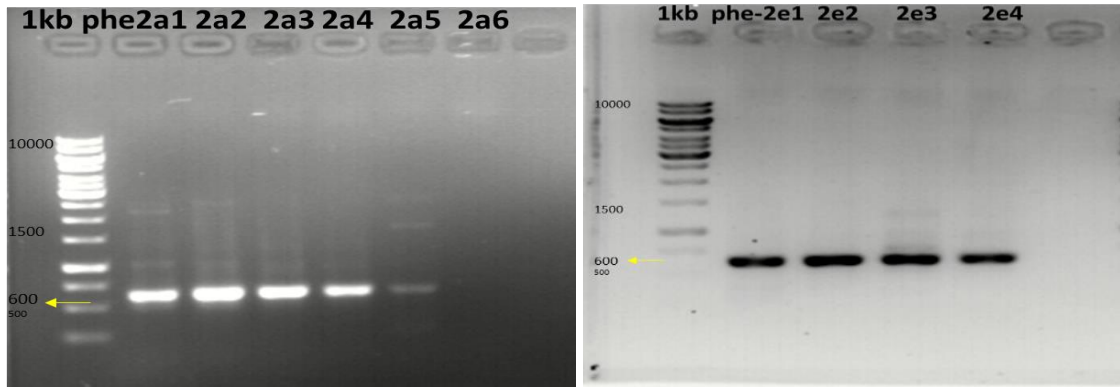
3.6.3.1. Total DNA'dan fenol degradasyon genlerinin belirlenmesi için PZR kurulması

Total DNA'lardan fenol hidroksilaz genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için yapılan PZR lar sonrası elde edilen ürünler %1'lik agaroz jellerde yürütülmüşlerdir. Her örnek için doğru boyutta ürün (600bp) varlığı belirlenmiştir.



Şekil 3.44. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi) 1-2-3-4-5-6-7-8 ve 9 numaralı örneklemelerden ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (yaz mevsimi) 1-2-3-4-5 ve 6 numaralı örneklemelerden total DNA'dan fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örneklemelerinden elde edilen Total DNA'lardan yapılan fenol hidroksilaz geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu Şekil 3.44'de görüldüğü gibi örneklemelerden hepsinden pozitif sonuç alınmıştır.



Şekil 3.45. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi) 1-2-3-4-5-6 numaralı örneklemelerden ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi) 1-2-3 ve 4 numaralı örneklemelerden total DNA'dan fenol hidroksilaz geni PZR jel görüntüsü

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örneklemelerinden elde edilen total DNA'lardan yapılan fenol hidroksilaz geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu Şekil 3.45'de görüldüğü gibi örneklemelerden anaerobik sistem hariç hepsinden pozitif sonuç alınmıştır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örneklemelerinden ise elde edilen total DNA'lardan yapılan fenol hidroksilaz geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu örneklemelerden hepsinden pozitif sonuç alınmıştır.

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi kış mevsimi örneklemelerinden elde edilen total DNA'lardan yapılan fenol hidroksilaz geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu örneklemelerden anaerobik sistem hariç pozitif sonuç alınmıştır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örneklemelerinden elde edilen total DNA'lardan yapılan fenol hidroksilaz geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu örneklemelerden hepsinden pozitif sonuç alınmıştır.

Belediye Atıksu Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örneklemelerinden elde edilen total DNA'lardan yapılan fenol hidroksilaz geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu örneklemelerden anaerobik hariç pozitif sonuç alınmıştır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örneklemelerinden elde edilen total DNA'lardan yapılan fenol hidroksilaz geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu sonucu örneklemelerden son çökeltim hariç hepsinden pozitif sonuç alınmıştır.

3.6.4. Metagenomik analizler

Alınan örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliği belirlemek amacıyla ChunLab, Inc. firması ve Argonne National Laboratory'(Argonne Uluslararası Laboratuvarı)'de 16S rRNA geni marker gen olarak kullanılarak tüm örneklemeler için metagenomik analiz yapılmıştır. Bu amaçla analiz yaptırılması planlanan örnekler için total genomik DNA ekstraksiyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Aşağıda Tablo 3.13, 3.14, 3.15, 3.16'da DNA'ların ng/ µl değerleri belirtilmiştir.

Tablo 3.13. Metagenomik analiz için yaz mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları

ÖRNEK	DNA Konsantrasyonu (ng/ µl)	260/280	260/230
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Kum ve Yağ Tutucu	748	2,19	2,32
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Havalandırma Havuzu	615,1	2,09	2,01
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Geri Devir Çamuru	450,8	2,03	1,95
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Son Çökeltim	457,8	2,05	2,03
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Anaerobik sistem	288,7	1,88	1,68
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Giriş	1416,1	2,1	2,27
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Kum Tutucu	851,2	2,1	2,1
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)- Son Çökeltim	46,1	1,9	0,88
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (yaz mevsimi örnekleme)-Havalandırma	341,1	2,07	2,25

Tablo 3.14. Metagenomik analiz için sonbahar mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları

ÖRNEK	DNA Konsantrasyonu (ng/ µl)	260/280	260/230
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Kum ve Yağ Tutucu	1368,7	2,14	2,28
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Ön Çökeltim	378	2,11	2,07
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Havalandırma	917,8	2,05	1,93
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Geri Devir Çamur	559,3	2,02	2,0
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Son Çökeltim	61,8	2,02	0,97
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Anaerobik sistem	306,6	1,64	1,24
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Kum Tutucu	1450,2	2,03	2,15
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Ön Çökeltim	948	2,02	2,25
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Havalandırma	1340,2	2,02	2,20
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (sonbahar mevsimi örnekleme)-Son Çökeltim	202,8	2,05	2,15

Tablo 3.15. Metagenomik analiz için kış mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları

ÖRNEK	DNA Konsantrasyonu (ng/ µl)	260/280	260/230
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Kum ve Yağ Tutucu	644,9	2,13	2,18
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Ön Çökeltim	447,9	2,13	2,50
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Havalandırma	828,5	2,06	1,73
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Geri Devir Çamur	781	1,98	2,12
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Son Çökeltim	328,8	2,12	2,35
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Anaerobik sistem	489,1	1,82	1,66
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Kum Tutucu	2434,6	2,15	2,33
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Ön Çökeltim	1098,8	2,05	1,90
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Havalandırma	807,3	2,16	2,25
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (kış mevsimi örnekleme)-Son Çökeltim	115,5	2,08	2,19

Tablo 3.16. Metagenomik analiz için ilkbahar mevsimi örnekleme total DNA ekstraksiyonu sonuçları

ÖRNEK	DNA Konsantrasyonu (ng/ µl)	260/280	260/230
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Kum ve Yağ Tutucu	416,5	2,01	2,17
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Ön Çökeltim	119,6	1,98	2,00
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Havalandırma	405,1	2,07	2,18
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Geri Devir Çamur	510,5	2,04	2,17
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Son Çökeltim	29,4	1,93	2,29
Belediye Atıksu Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Anaerobik sistem	235,7	1,89	1,99
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Kum Tutucu	336,3	1,91	1,98
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Ön Çökeltim	169,2	1,89	1,77
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Havalandırma	265,1	1,94	1,93
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi (ilkbahar mevsimi örnekleme)-Son Çökeltim	118,3	1,90	2,06

3.6.4.1. Aerobik atık su arıtma sistemlerinde mikrobiyal çeşitlilik analizi

3.6.4.1.1. Yaz mevsimi örnekleme-Belediye Atık Su Arıtma Tesisi

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum ve yağ tutucu ünitesinden alınan örnekleme sonucu filum düzeyinde % 76,78 Proteobacteria, % 21,19 Bacteroidetes, % 1,1 Firmicutes belirlenmiştir. Cins düzeyinde % 28,02 *Pseudomonas*, % 11,11 *Arcobacter*, % 10,16 *Acidovorax*, % 9,20 *Aquabacterium* bulunmaktadır. Tür düzeyinde % 14,02 *Pseudomonas hunanensis*, % 9,47 *Arcobacter cryaerophilus*, % 8,4 *Bacteroidetes graminisolvens*, % 5,92, *Acidovorax defluvii*, % 5,9 *Aquabacterium citratiphilum*, % 4,94 *Flavimonas oryzihabitans* bulunmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesinden alınan örnekleme sonucu filum düzeyinde % 55,2 Proteobacteria, % 14,4 Bacteroidetes, % 13,8 Cyanobacteria belirlenmiştir. Cins düzeyinde ise kommunitiyi %10,3 *Comamonadaceae*; g, % 7,7 *Xanthomonadaceae*;g, % 7,1 *Pseudomonas*, % 5,8 *Flavobacterium*, % 5,4 *Stramenopiles*;f;g oluşturmaktadır.

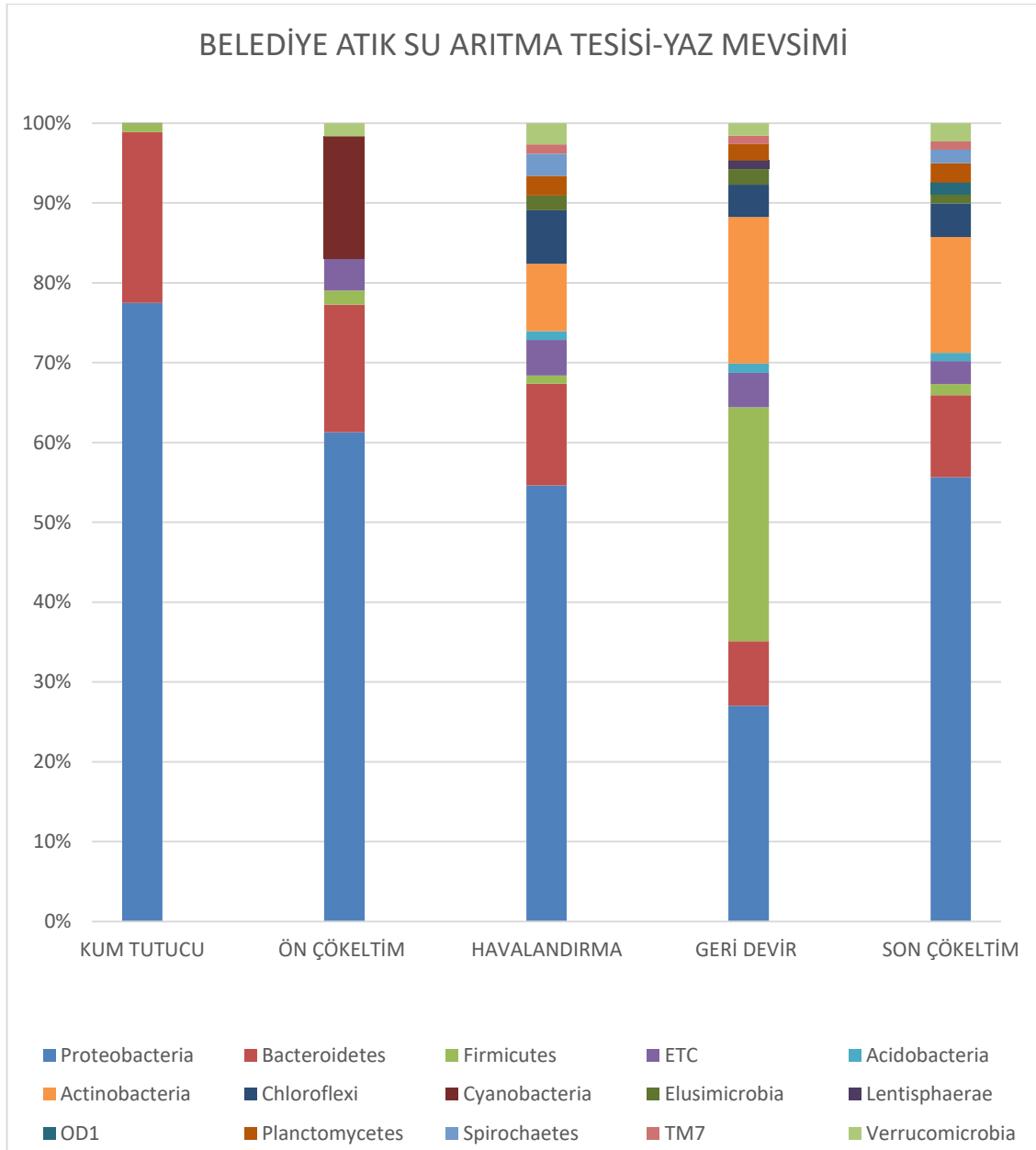
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma havuzundan alınan örnekleme sonucu filum düzeyinde % 54,61 Proteobacteria, % 12,74 Bacteroidetes, % 8,44 Acinetobacter, % 6,68 *Chloroflexi* belirlenmiştir. Cins düzeyinde % 7,52 *Sulfuritalea* baskın olarak bulunmaktadır. Tür düzeyinde ise % 3,64 FQ660083 (Uncultured bacterium), % 2,94 *Sulfuritalea*, % 2,8 *Microthrix parvicella*, % 2,49 FJ660552, % 2,31 *Accumulibacter phosphatis* bulunmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir çamuru ünitesi örnekleme sonucu % 29,33 Firmicutes, % 27,03 Proteobacteria, % 18,35 Actinobacteria, % 8,05 Bacteroidetes bulunmaktadır. Cins düzeyinde % 25,24 *Bacillus*, % 10,75 *Microthrix* bulunmaktadır. Tür düzeyinde ise % 25,6 *Bacillus* türleri, % 8,9 *Microthrix parvicella* bulunmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim havuzundan alınan örnekleme sonucu filum düzeyinde, % 55,28 Proteobacteria, % 14,44 Bacteroidetes, % 10,19 Acinetobacter belirlenmiştir. Cins düzeyinde % 7,95 *Arcobacter*, % 7,30 *Microthrix*, % 5,40 *Sulfuritalea* bulunmaktadır. Tür düzeyinde ise % 6,06 *Microthrix parvicella*, % 2,9 FQ660083 (Uncultured bacterium), % 2,61 *Arcobacter venerupis*, % 2,34 *Arcobacter sp.*, türleri bulunmaktadır.

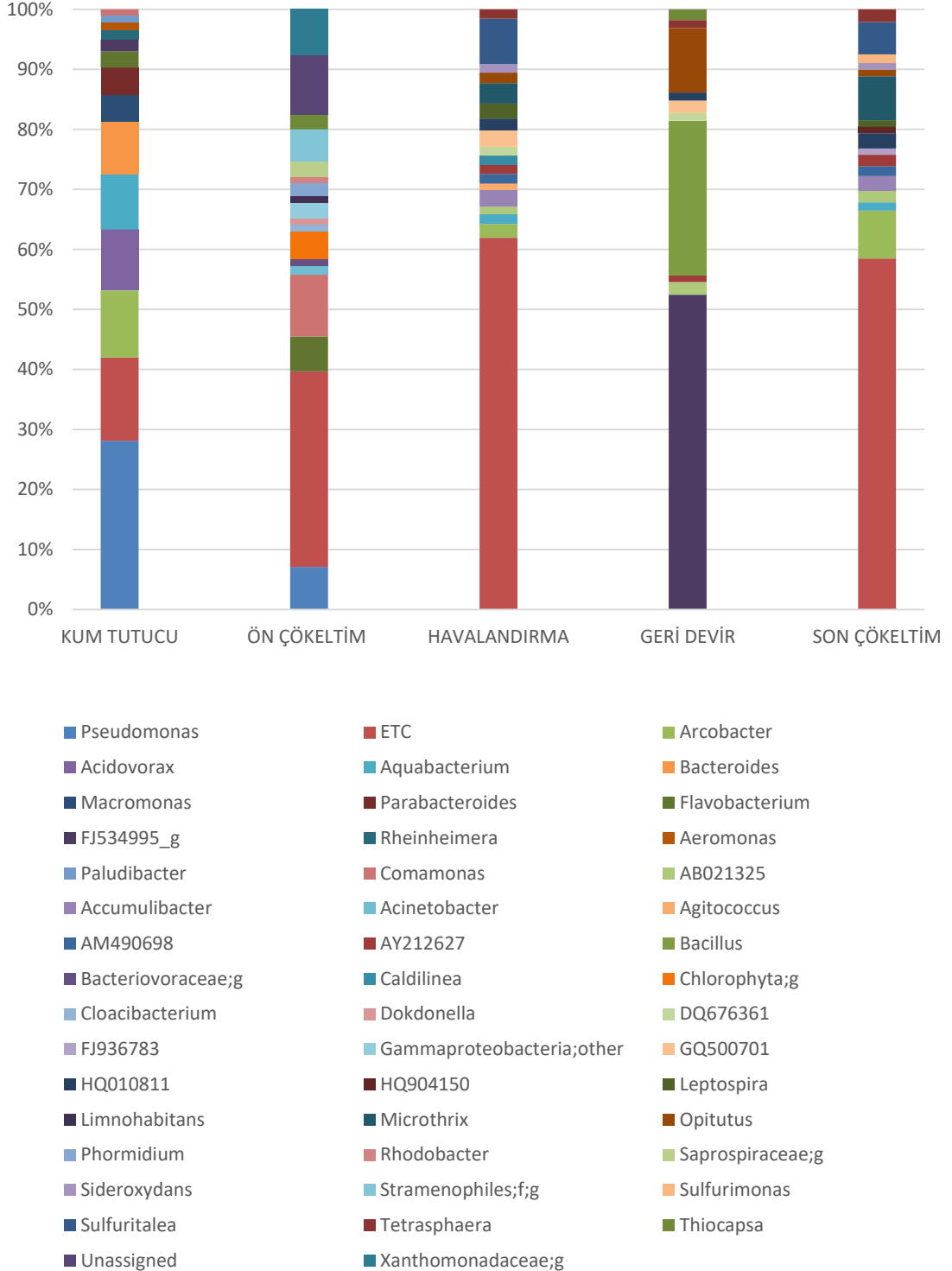
Şekilde 3.46 ve 3.47’de görüldüğü gibi Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum ve yağ tutucu ünitesi, havalandırma havuzu, geri devir çamuru ve son çökeltim havuzu çeşitliliği

karşılaştırıldığında havalandırma havuzu ve son çökeltim havuzu mikrobiyal kompozisyonlarının aynı olduğu belirlenmiştir. 4 örnekleme noktasının da çeşitlilik açısından ortalama kompozisyonu filum düzeyinde % 53,43 Proteobacteria, % 13,04 Bacteroidetes, % 10,34 Actinobacteria, % 8,21 Firmicutes yer almaktadır. Cins düzeyinde % 7,29 *Pseudomonas*, % 6,44 *Bacillus*, % 5,52 *Arcobacter*, % 5,36 *Microthrix*, tür düzeyinde % 6,41 *Bacillus anthracis* grup, % 4,46 *Microthrix parvicella*, % 3,51 *Pseudomonas hunanensis*, % 2,59 *Arcobacter cryaerophilus* bulunmaktadır.



Şekil 3.46. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ-YAZ MEVSİMİ



Şekil 3.47. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

3.6.4.1.2. Sonbahar mevsimi örnekleme- Belediye Atık Su Arıtma Tesisi

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum yağ tutucu örneğinin Arkea taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde % 99,682 Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 36,838 *AY454733_g*, % 31,207 *Methanobrevibacter*, % 15,641 *Methanosphaera*, %4,846 *Methanoaseta*, %4,359 *AY693811_g*, %2,423 *Methanobacterium* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 36,791 *AY454733_s*, % 16,436 *Methanobrevibacter acididurans*, % 14,294 *Methanobrevibacter smithii*, % 11,291 *Methanasphaera stadtmannae* oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum yağ tutucu örneğinin Bacteria taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde % 58,281 Proteobacteria, % 25,454 Bacteroidetes, % 10,411 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde ise % 24,565 *Arcobacter*, % 5,484 *Bacteroides*, % 5,039 *FJ534995_g*, % 5,039 *Pseudomonas*, % 4,891 *Comamonas*, % 4,854 *Parabacteroides*, % 4,594 *Macromonas* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 20,082 *Arcobacter cryaerophilus*, % 5,002 *CU924825_s*, % 4,817 *Macellibacteroides fermentans* grup, % 4,780 *Bacteroides graminisolvans*, % 4,372 *Macromonas bipunctata* oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi Arkea örneğinin taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde % 99,737 Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 67,667 *Methanobrevibacter*, % 12,603 *Methanosphaera*, % 5,926 *AY693811_g*, % 5,889 *Methanoaseta* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 56,402 *Methanobrevibacter acididurans*, % 10,753 *Methanobrevibacter smithii*, % 8,165 *Methanasphaera stadtmannae*, % 5,914 *CU916953_s* oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde % 66,305 Proteobacteria, % 22,062 Bacteroidetes, % 7,250 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 27,890 *Arcobacter*, % 16,354 *Pseudomonas*, % 5,299 *Parabacteroides*, % 4,215 *Bacteroides* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 23,001 *Arcobacter cryaerophilus*, % 14,764 *JN609384_s*, % 4,937 *Macellibacteroides fermentans* grup, oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde %55,905 Proteobacteria, %14,369 Bacteroidetes, % 10,854 Actinobacteria, % 4,224 Choloroflexi oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 6,290 *AY212627_g*, % 5,550 *Accumulibacter*, % 5,335 *Tetrasphaera*

oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 5,304 AY212627_s, % 4,995 OM27_f_uc_s, % 4,070 *Tetrasphaera elongata*, % 3,978 *Accumulibacter phosphatis* oluşturmaktadır.

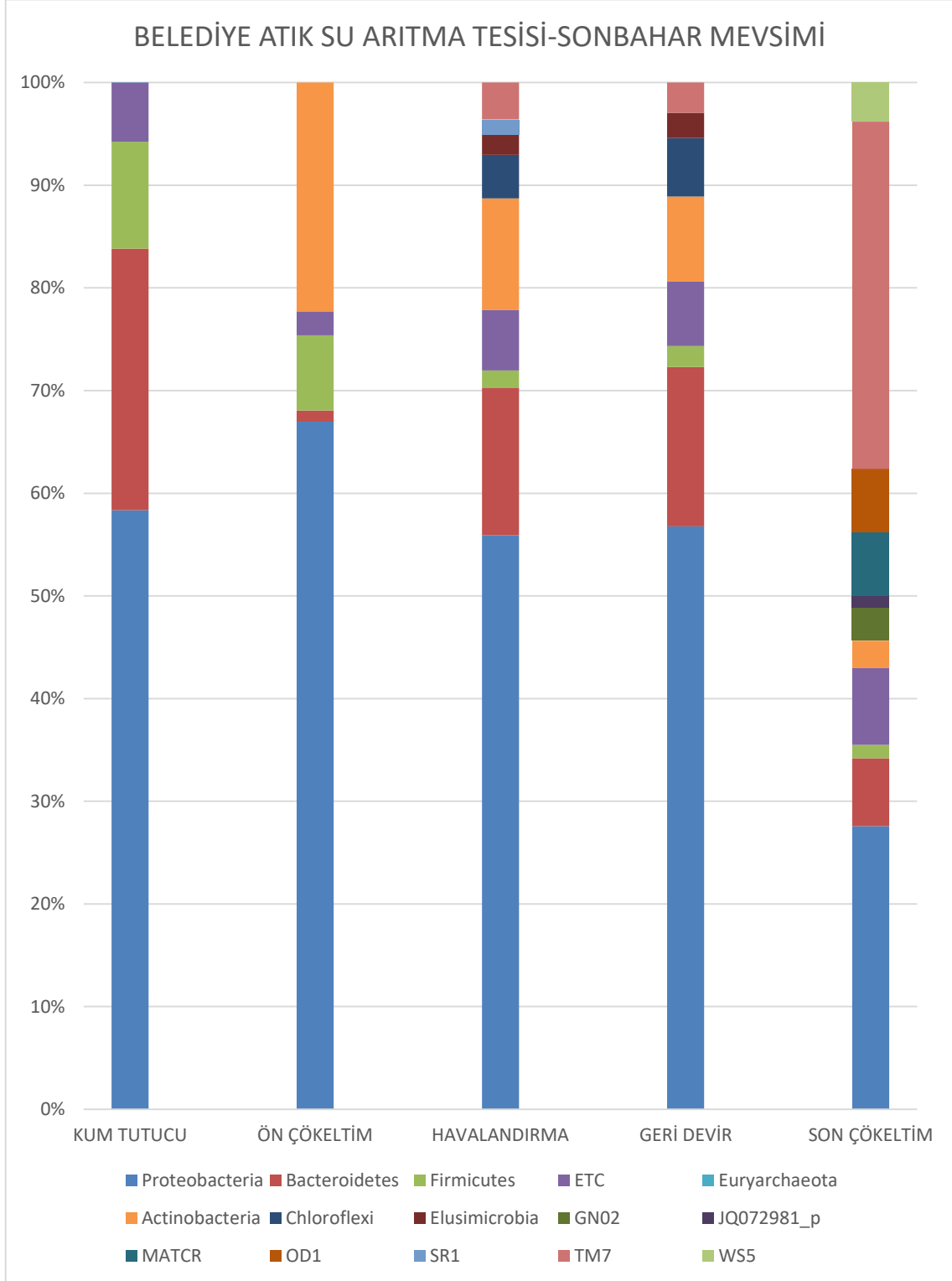
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde % 56,774 Proteobacteria, % 15,526 Bacteroidetes, % 8,299 Actinobacteria, % 5,688 Choloroflexi oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 7,942 *Accumulibacter*, % 6,348 AY212627_g, % 5,11 OM27_f_uc, % 3,737 *Tetrasphaera* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 5,551 AY212627_s, % 5,386 *Accumulibacter phosphatis*, % 5,11 OM27_f_uc_s oluşturmaktadır,

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde % 33,836 TM7, % 27,567 Proteobacteria, % 6,621 Bacteroidetes, % 6,196 MATCR, % 6,164 OD1 oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 9,750 JF421159_f_uc, % 6,919 *Saccharimonas*, % 5,771 EU135380_g, % 4,655 AM991231_f_uc oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 9,750 JF421159_f_uc_s, % 5,488 *Saccharimonas alborgensis*, % 4,749 DQ640696, % 4,655 AM991231 oluşturmaktadır.

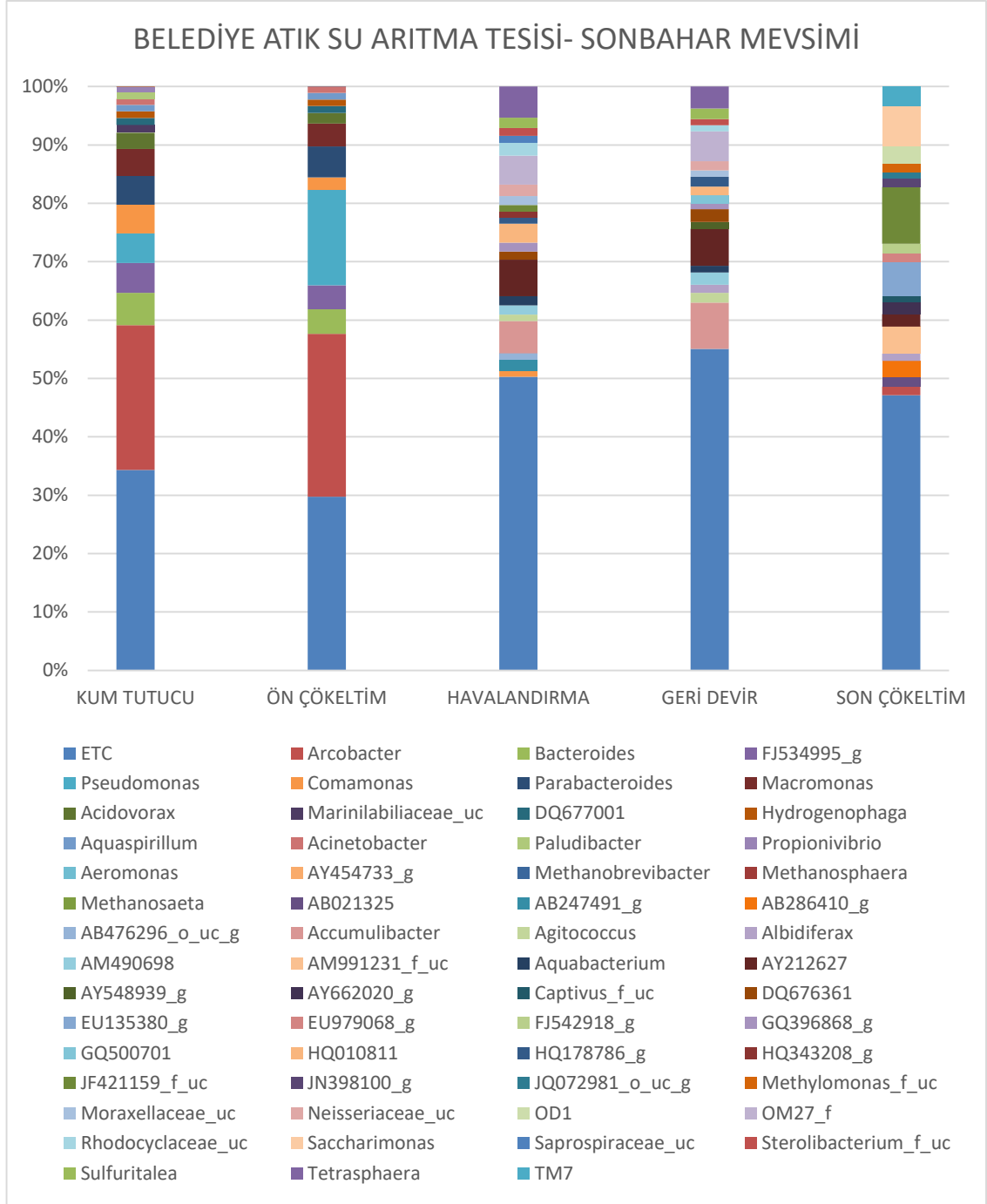
Tesisin örnekleme noktalarını karşılaştırdığımızda kum yağ tutucu ve ön çökeltim üniteleri için Arkea spesifik PZR ürünü pozitif sonuç vermiş ve bu üniteler için analiz yaptırılmıştır. Bu iki ünite için Arkeal çeşitliliği kıyaslayacak olursak kum yağ tutucu ve ön çökeltim ünitelerinin Arkeal çeşitliliği benzerlik göstermektedir. Çeşitliliği filum düzeyinde Euryarchaeota, sınıf düzeyinde Methanobacteria, Methanomicrobia, AY835427_c Thermoplasmata oluşturmaktadır. Ordo düzeyinde Methanobacteriales, Methanosarcinales, AY693811_o oluşturmaktadır. Ancak farklı olarak kum yağ tutucuda Methanomicrobiales ordosu üyeleri görülmektedir. Familya düzeyinde Methanobacteriaceae, Methanasaetaceae, AY693811_f, Methanomassiliicoccus oluşturmaktadır. Cins düzeyinde ise kum yağ tutucuda *Methanobrevibacter* üyeleri % 31,207 iken ön çökeltim ünitesinde % 67,667'dir. Bunun dışında iki ünitenin kompozisyonları benzerdir. Aynı şekilde tür düzeyinde de kum yağ tutucu ünitesinde *Methanobrevibacter acididurans* % 16,436 oranında bulunurken, ön çökeltim ünitesinde % 56.432'dir.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum ve yağ tutucu ünitesi, havalandırma havuzu, geri devir çamuru ve son çökeltim havuzu çeşitliliği karşılaştırıldığında Şekil 3.48 ve 3.49'da görüldüğü gibi kum yağ tutucu, ön çökeltim, havalandırma ve geri devir çamur ünitesinin mikrobiyal çeşitliliğinin benzer olduğu belirlenmiştir. Ancak kum yağ tutucu ünitesinde Actinobacteria filumu üyeleri saptanmamıştır. Havalandırma ve geri devir

ünitelerinin taksonomik kompozisyonu birbiriyle oldukça benzerdir. Bu iki ünite de Chloroflexi, Elusimicrobia filumu ve Actinobacteria filumu üyeleri bulunmaktadır. Son çökeltim ünitesi diğer 4 üniteden biraz farklılık göstermektedir.



Şekil 3.48. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik



Şekil 3.49. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

Tesisin ortalama bakteriyel kompozisyonu değerlendirildiğinde filum düzeyinde % 47,52 Proteobacteria, % 17,79 Bacteroidetes, % 7,28 TM7 ve % 5,47 Actinobacteria oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 9,23 *Arcobacter*, % 3,64 *Pseudomonas*, % 2,64 *Accumulibacter* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 7,54 *Arcobacter cryaerophilus* oluşturmaktadır.

3.6.4.1.3. Kış mevsimi örnekleme-Belediye Atık Su Arıtma Tesisi

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örneklemleri filum düzeyinde incelendiğinde; en fazla bulunan filumlar Proteobacteria Bacteroidetes ve Firmicutes filumlarıdır. Ayrıca Fusobacteria, Actinobacteria ve Verrucomicrobia filumları da bulunmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinin filum düzeyi çeşitliliğini % 66,2 Proteobacteria, % 19,9 Bacteroidetes, % 6,7 Firmicutes, % 4,8 Fusobacteria oluşturmaktadır. Cins düzeyinde ise % 30,7 *Arcobacter*, % 8,9 *Aeromonadaceae*; g, % 7,1 *Bacteroides*, % 5,7 *Porphyromonadaceae*; g, % 3,8 *Tolomonas* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 30,6 *Arcobacter sp.*, % 9,5 *Acinetobacter sp.*, % 8,9 *Aeromonadaceae*; g; s, % 6,5 *Bacteroides*; s, % 5,7 *Porphyromonadaceae*; g; s oluşturmaktadır.

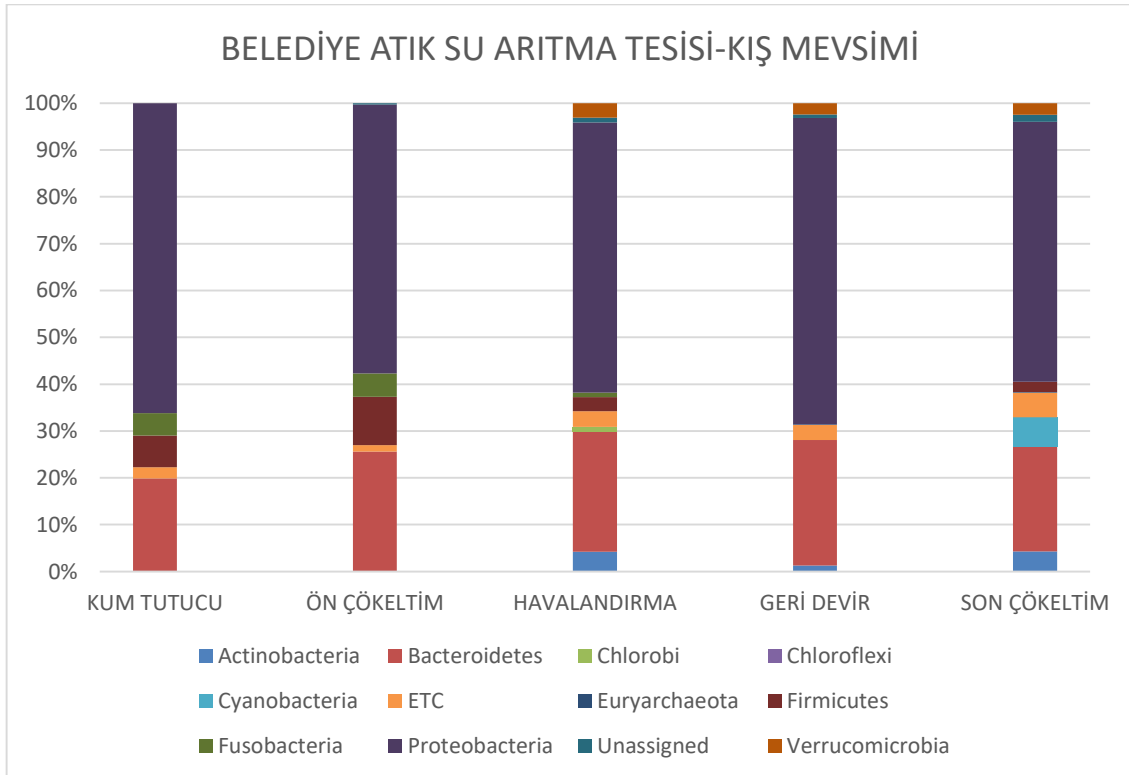
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesinin filum düzeyinde çeşitliliğini % 57,4 Proteobacteria, % 25,6 Bacteroidetes, % 10,3 Firmicutes, % 5 Fusobacteria oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 29,2 *Arcobacter*, % 9,6 *Bacteroides*, % 7,9 *Acinetobacter*, % 7,7 *Porphyromonadaceae*; g, % 6,6 *Aeromonadaceae*; g oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 29,1 *Arcobacter*; s, % 8,7 *Bacteroides*; s, % 7,7 *Porphyromonadaceae*; g; s, % 7,7 *Acinetobacter*; s, % 6,6 *Aeromonadaceae*; g; s oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesinin filum düzeyinde çeşitliliğini % 57,7 Proteobacteria, % 25,7 Bacteroidetes, % 13,3 Saprospirae, % 4,2 Actinobacteria oluşturmaktadır. Cins düzeyinde çeşitliliği % 8,7 *Saprospiraceae*; g, % 6,2 *Comamonadaceae*; g, % 5,3 *Moraxellaceae*; g, % 5 *Rhodocyclaceae*; g, % 4,8 *Dechloromonas* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 8,7 *Saprospiraceae*; g; s, % 6,2 *Comamonadaceae*; g; s, % 5,3 *Moraxellaceae*; g; s, % 5 *Rhodocyclaceae*; g; s, % 4,8 *Dechloromonas*; s oluşturmaktadır.

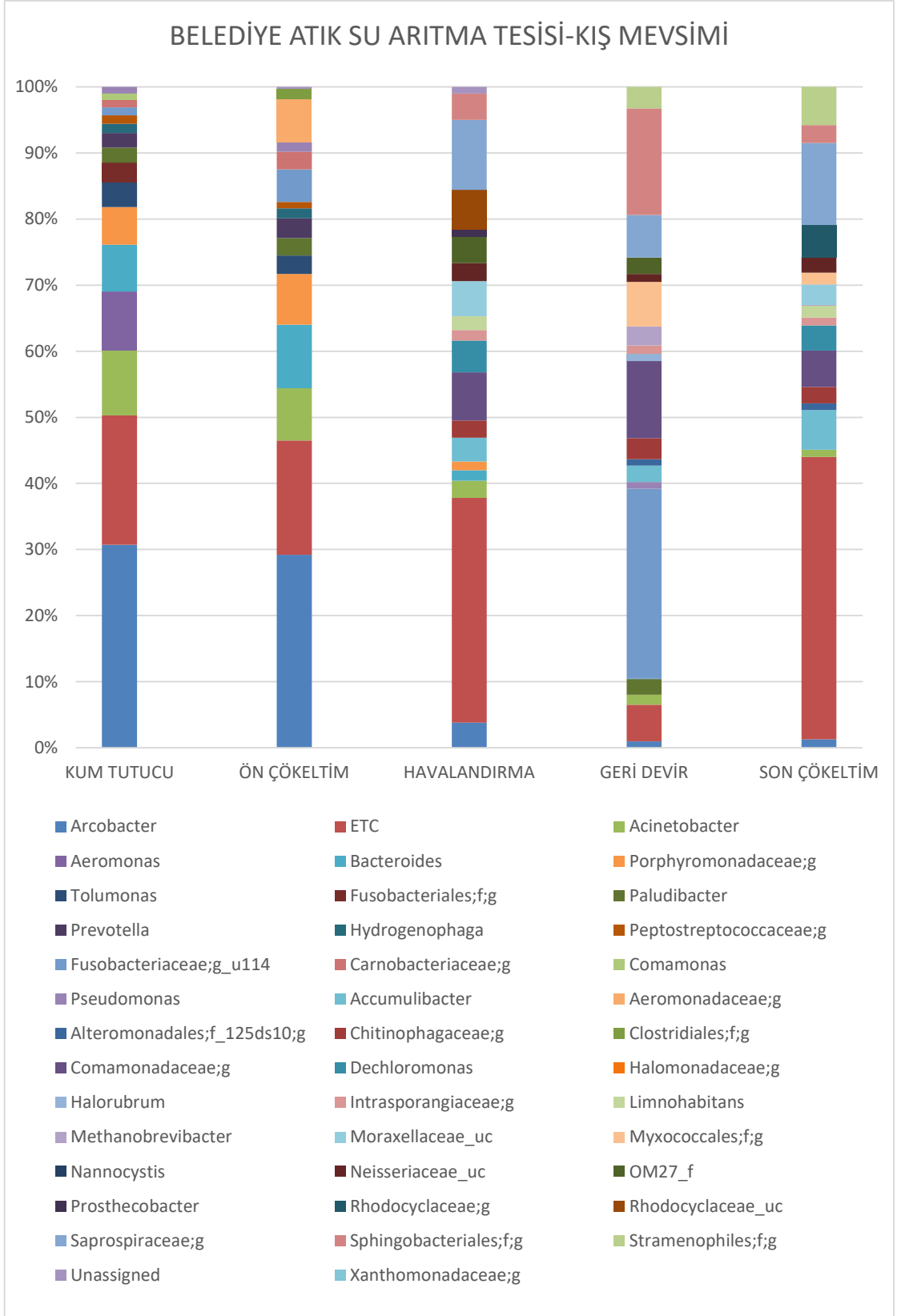
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesinin filum düzeyinde çeşitliliğini % 65,4 Proteobacteria, % 26,8 Bacteroidetes, % 2,4 Verrucomicrobia, % 1,3 Actinobacteria, % 0,1 Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 13,8 *Saprospiraceae*; g, % 10,2 *Comamonadaceae*; g, % 6,8 *Moraxellaceae*; g, % 5,6 *Dechloromonas*, % 5,1 *Rhodocyclaceae*; g oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 13,8 *Saprospiraceae*; g; s, % 10,2 *Comamonadaceae*; g; s, % 6,8 *Moraxellaceae*; g; s, % 5,6 *Dechloromonas*; s, % 5,1 *Rhodocyclaceae*; g; s oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesinin filum düzeyinde çeşitliliğini % 55,5 Proteobacteria, % 22,4 Bacteroidetes, % 6,2 Cyanobacteria, % 4,3 Actinobacteria, % 2,5 Verrucomicrobia, % 2,2 Firmicutes, % 1,1 Chlorobi, % 0,1 Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 11,3 *Saprospiraceae; g*, % 6 *Candidatus Accumulibacter*, % 5,8 *Stramenopiles; f; g*, % 5,5 *Comamonadaceae; g* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise %11,3 *Saprospiraceae; g; s*, % 6 *Candidatus Accumulibacter; s*, % 5,8 *Stramenopiles ;f; g; s*, % 5.5 *Comamonadaceae;g;s* oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme sonrası farklı ünitelerin taksonomik kompozisyonu karşılaştırıldığında Şekil 3.50 ve 3.51’de görüldüğü gibi Kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinin birbiriyle benzer kompozisyona sahip olduğu belirlenmiştir. Havalandırma, geri devir ve son çökeltim üniteleri de birbiriyle benzerlik göstermektedir. Arkea domaini üyelerine geri devir ve son çökeltim ünitelerinde rastlanmıştır. Geri devir ünitesi üyeleri Halobacteria son çökeltim ünitesi üyeleri de Methanobacteria sınıfına aittir. Geri Devir ünitesi üyeleri *Halorubrum* cinsine ait iken, son çökeltim ünitesi üyeleri *Methanobrevibacter* cinsine aittir.



Şekil 3.50. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik



Şekil 3.51. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes, Verrucomicrobia filumu 5 ünite de mevcuttur. Chlorobi, Elusimicrobia, Gemmatimonadetes, Planctomycetes filumu havalandırma, geri devir, son çökeltim de mevcuttur. Cyanobacteria filumu havalandırma, geri devir, son çökeltim ünitelerinde mevcuttur.

Acidobacteria, Anaerolineae ve Chlamydia sınıfı sadece havalandırma ve son çökeltim ünitelerinde bulunmaktadır. Bütün örnekleme noktalarında bulunan Actinobacteria sınıfı havalandırma ve son çökeltim ünitelerinde oldukça bol bulunmaktadır. Bacteroidia sınıfı üyeleri tüm örnekleme bölgelerinde bulunurken kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde baskın olarak bulunmaktadır. Saprospirae sınıfı üyeleri tüm örnekleme bölgelerinde bulunmakla birlikte yoğun olarak havalandırma geri devir ve son çökeltim ünitelerinde bulunmaktadır. Elusimicrobia sınıfı üyeleri havalandırma, geridevir ve son çökeltim ünitelerinde bulunmaktadır. Bacilli tüm ünitelerde bulunurken yoğun olarak ön çökeltim ünitesinde bulunmaktadır. Clostridia ve Fusobacteriia sınıfı üyeleri tüm örnekleme noktalarında bulunurken yoğun olarak kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde bulunmaktadır. Alphaproteobacteria yoğun olarak geri devir ve son çökeltim ünitelerinde, Betaproteobacteria havalandırma, geri devir ve son çökeltim ünitelerinde, Deltaproteobacteria havalandırma, geri devir ve son çökeltim ünitelerinde, Epsilonproteobacteria kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde, Gammaproteobacteria üyeleri ise tüm örnekleme noktalarında bulunmaktadır.

3.6.4.1.4. İlkbahar mevsimi örnekleme-Belediye Atık Su Arıtma Tesisi

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinin filum düzeyi çeşitliliğini % 71,40 Firmicutes ve % 28,6 Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde ise % 28,60 *Caprococcus*, % 28,6 *Haloferax*, % 14,30 *Ruminococcaceae*; g, % 14,30 *Lachnospiraceae*; g ve % 14,30 *Blautia* oluşturmaktadır.

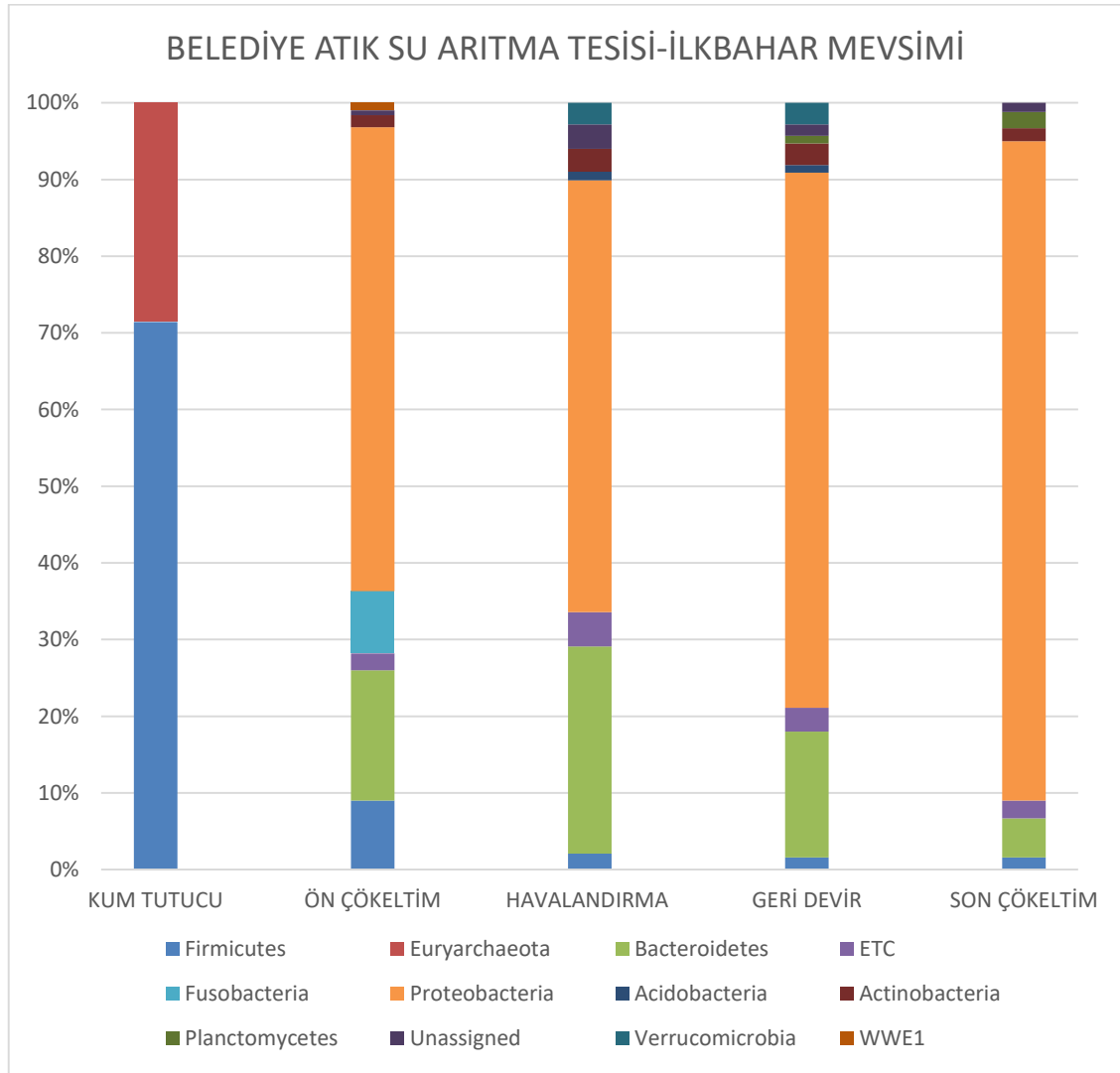
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesinin filum düzeyi çeşitliliğini % 60,5 Proteobacteria, % 17,0 Bacteroidetes, % 9,0 Firmicutes, % 8,1 Fusobacteria oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 23,5 *Arcobacter*, % 14,7 *Acinetobacter*, % 7,40 *Fusobacteriales*; f_;g, % 6,0 *Aeromonadaceae*; g oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesinin filum düzeyi çeşitliliğini % 56,30 Proteobacteria, % 2,0 Bacteroidetes, % 3,0 Actinobacteria oluşturmaktadır. Cins

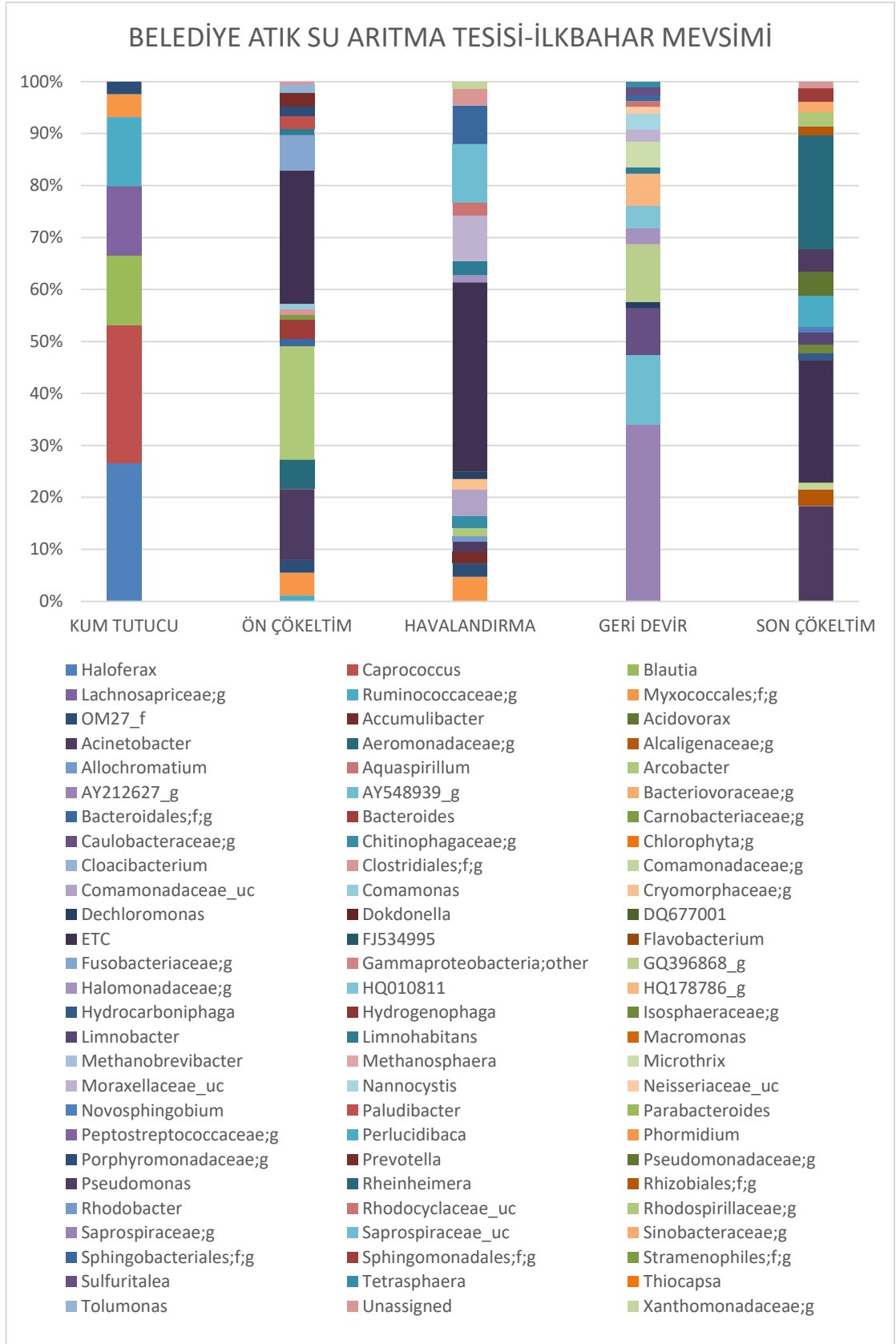
düzeyinde % 9,20 *Saprospiraceae*; g, % 8,70 *Moraxellaceae*; g, % 7,40 *Sphingobacteriales*; f; g oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesinin filum düzeyi çeşitliliğini % 69,80 Proteobacteria ve % 16,40 Bacteroidetes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 13,30 *Candidatus Accumulibacter*, % 10,90 *Moraxellaceae*; g, % 4,40 *Sphingobacteriales*; f; g, % 4,40 *Myxococcales*; f; g oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesinin filum düzeyi çeşitliliğini % 85,90 Proteobacteria ve % 5,10 Bacteroidetes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 20,30 *Rheinheimera*, % 17,0 *Acinetobacter*, % 5,60 *Perlucidibaca* oluşturmaktadır.



Şekil 3.52. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik



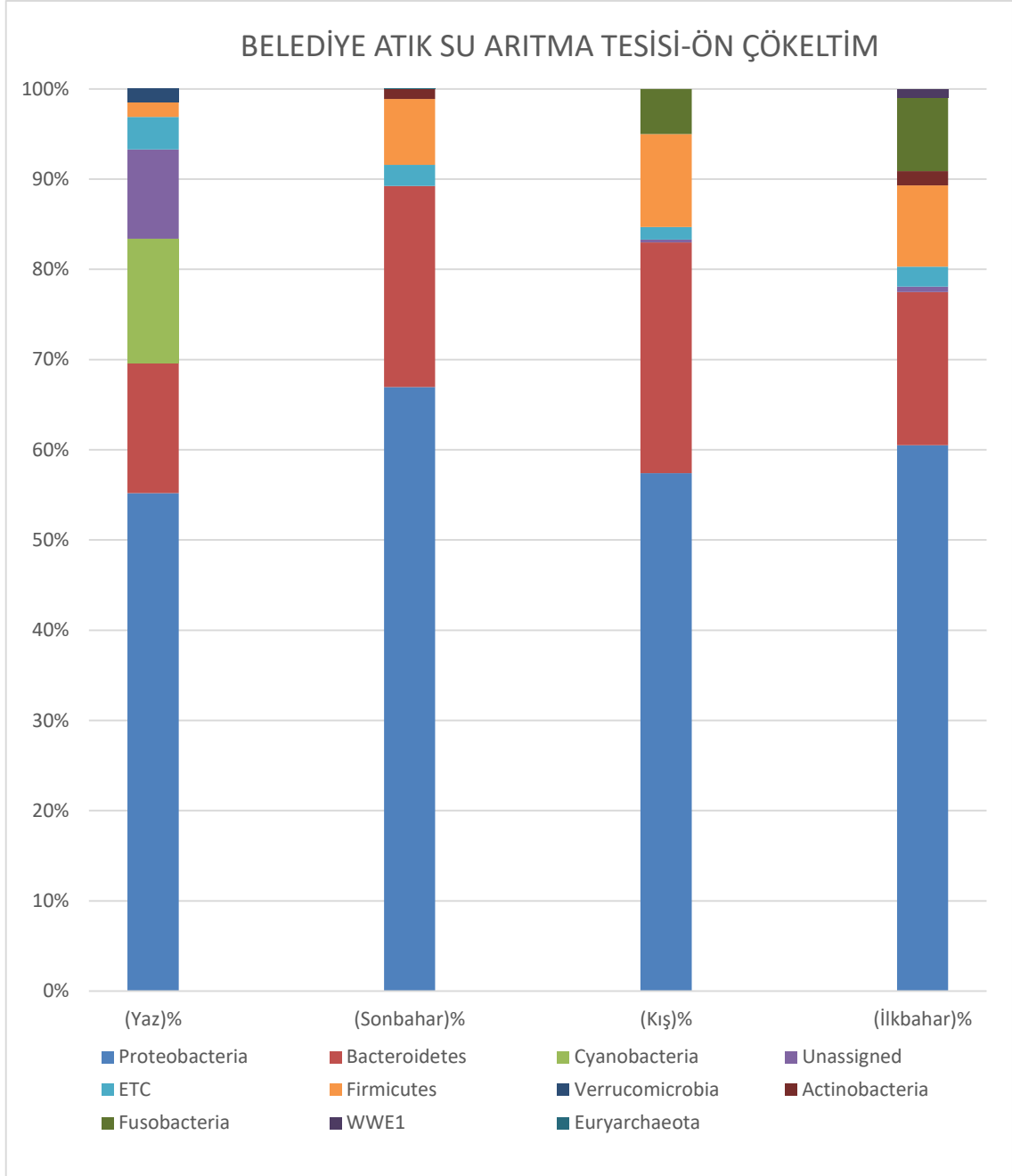
Şekil 3.53. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

Farklı ünitelerin taksonomik kompozisyonu karşılaştırıldığında Şekil 3.52 ve 3.53’ de görüldüğü gibi ön çökeltim, havalandırma, geri devir ve son çökeltim ünitelerinde en dominant filumun Proteobacteria olduğu belirlenmiştir. Bu örnekleme noktalarının tümünde Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes ve Actinobacteria filumları mevcuttur. Kum yağ tutucu ünitesinin taksonomik kompozisyonu diğer örnekleme noktalarından oldukça farklıdır. Oldukça yüksek oranda Euryarchaeota üyelerine rastlanmıştır.

Haloferax ve *Caprococcus* cinsi üyeleri kum tutucu ünitesinde baskın iken diğer örnekleme noktalarında görülmemiştir. *Arcobacter* cinsi üyeleri havalandırma, ön çökeltim ve geri devir ünitelerinin üçünde de belirlenmiştir. Ancak cinslerin baskın olma durumları örnekleme noktasına göre son derece değişkendir. Havalandırma ünitesinde Saprospiraceae ve Moraxellaceae familyası cinsine ait üyeler baskın iken, ön çökeltim ünitesinde *Arcobacter* ve *Acinetobacter*, geridevir ünitesinde *Accumulibacter*, son çökeltim ünitesinde *Rheinheimera* ve *Acinetobacter* üyeleri baskındır.

3.6.4.1.5. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi örneklerinin mevsimsel olarak karşılaştırılması

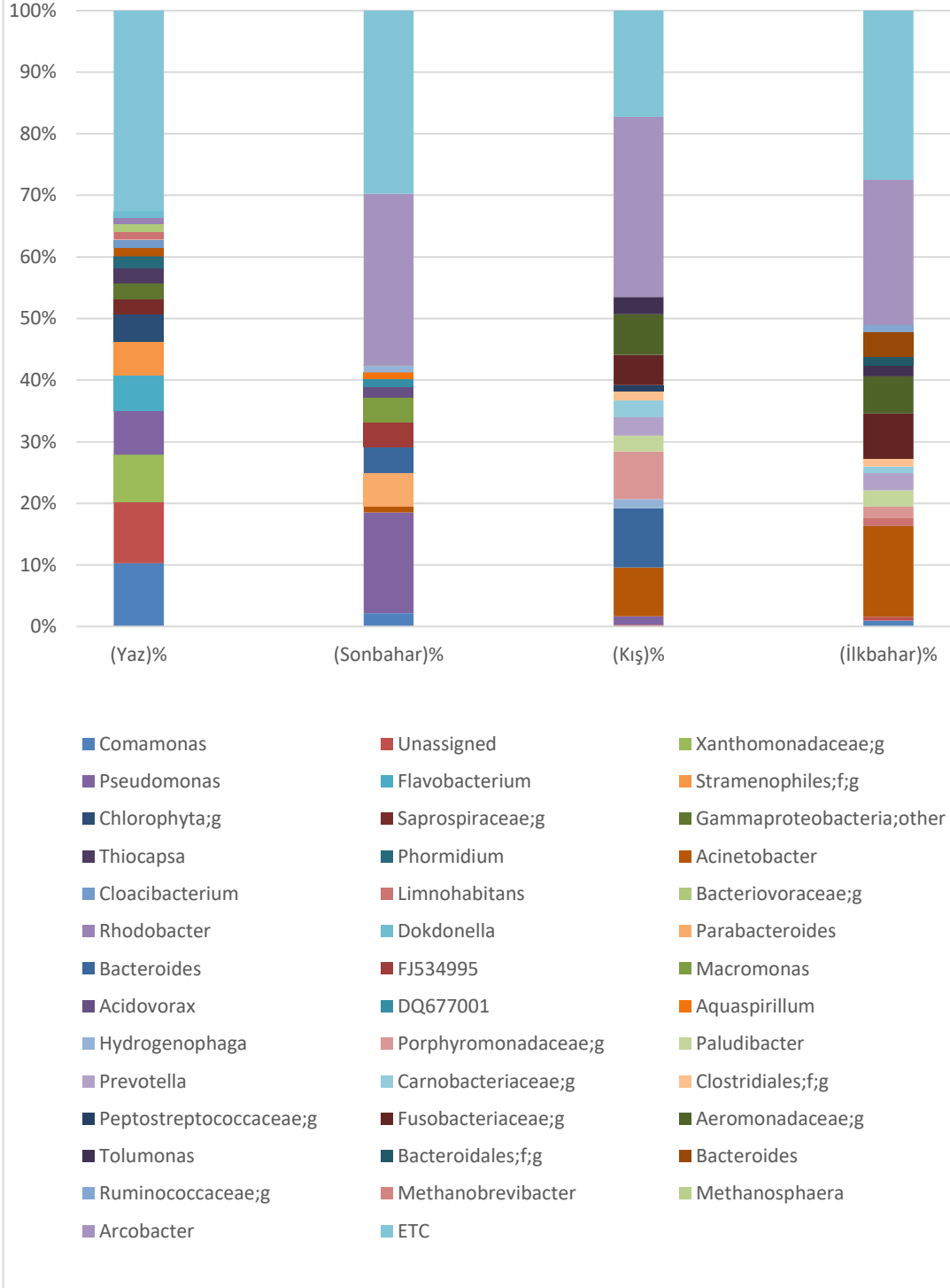
Farklı mevsimlerde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesinden alınan örnekler filum düzeyinde incelendiğinde aşağıdaki Şekil 3.54’de görüldüğü gibi büyük oranda benzer olduğu görülmüştür. Ancak yaz mevsimi örneklemesinde oldukça yüksek oranda görülen Cyanobacteria filumu üyelerine diğer mevsimlerde rastlanmamıştır. Ayrıca Fusobacteria filum üyeleri ise sadece ilkbahar ve kış mevsimi örneklemealarında görülmüştür.



Şekil 3.54. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

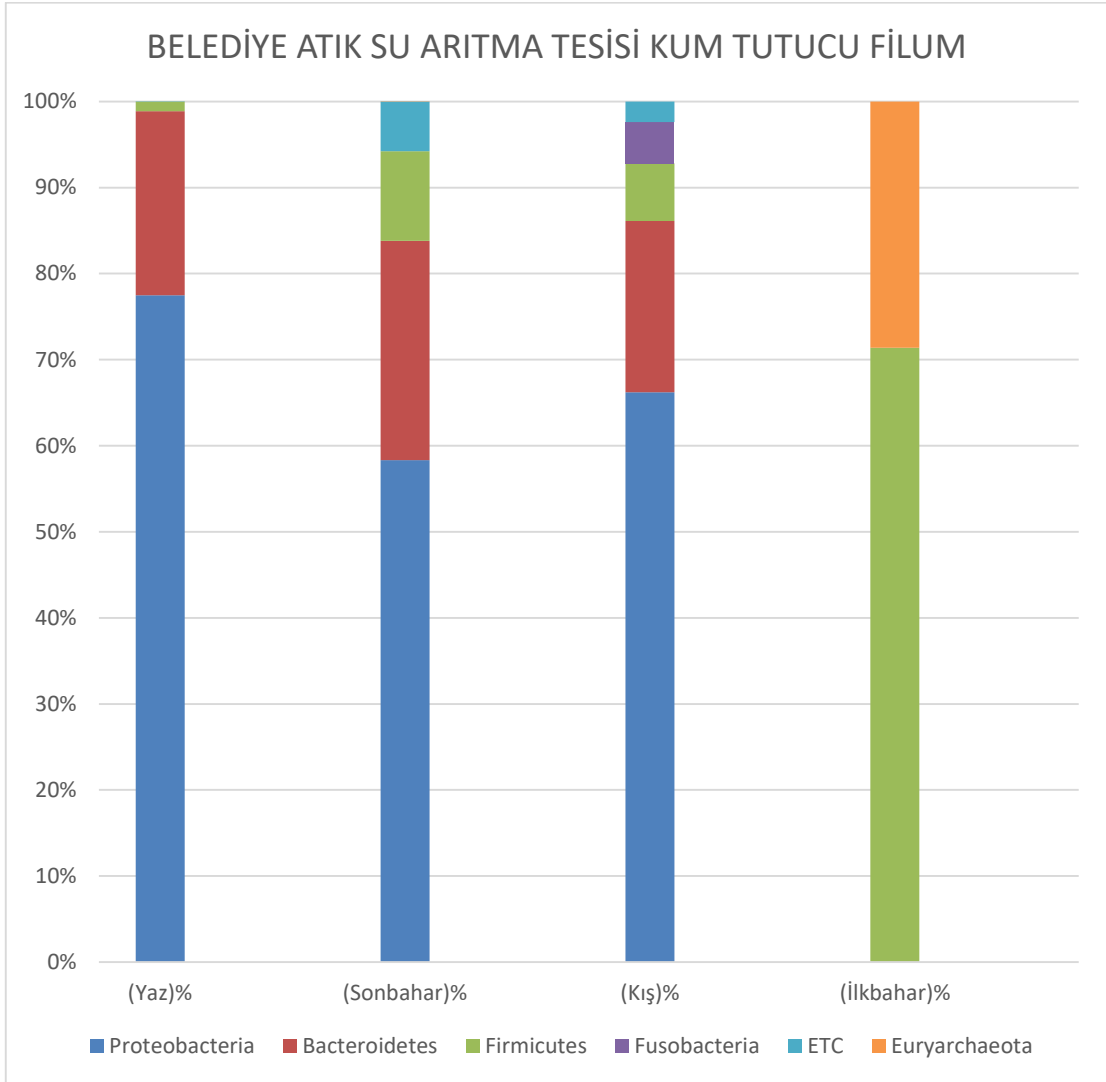
Cins düzeyinde ön çökeltim ünitesini değerlendirirsek de Şekil 3.55’de’görüldüğü gibi bazı farklılıklar bulunmaktadır. Ancak kış ve ilkbahar mevsimi cins içeriği birbirine daha yakındır. Yaz mevsimi örneklemede en baskın cins *Comamonas* iken, Diğer mevsimlerde *Arcobacter* cinsi baskındır. Ayrıca sonbahar mevsiminde *Pseudomonas* cinsi üyeleri de oldukça dominanttır.

BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ ÖN ÇÖKELTİM CİNS



Şekil 3.55. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

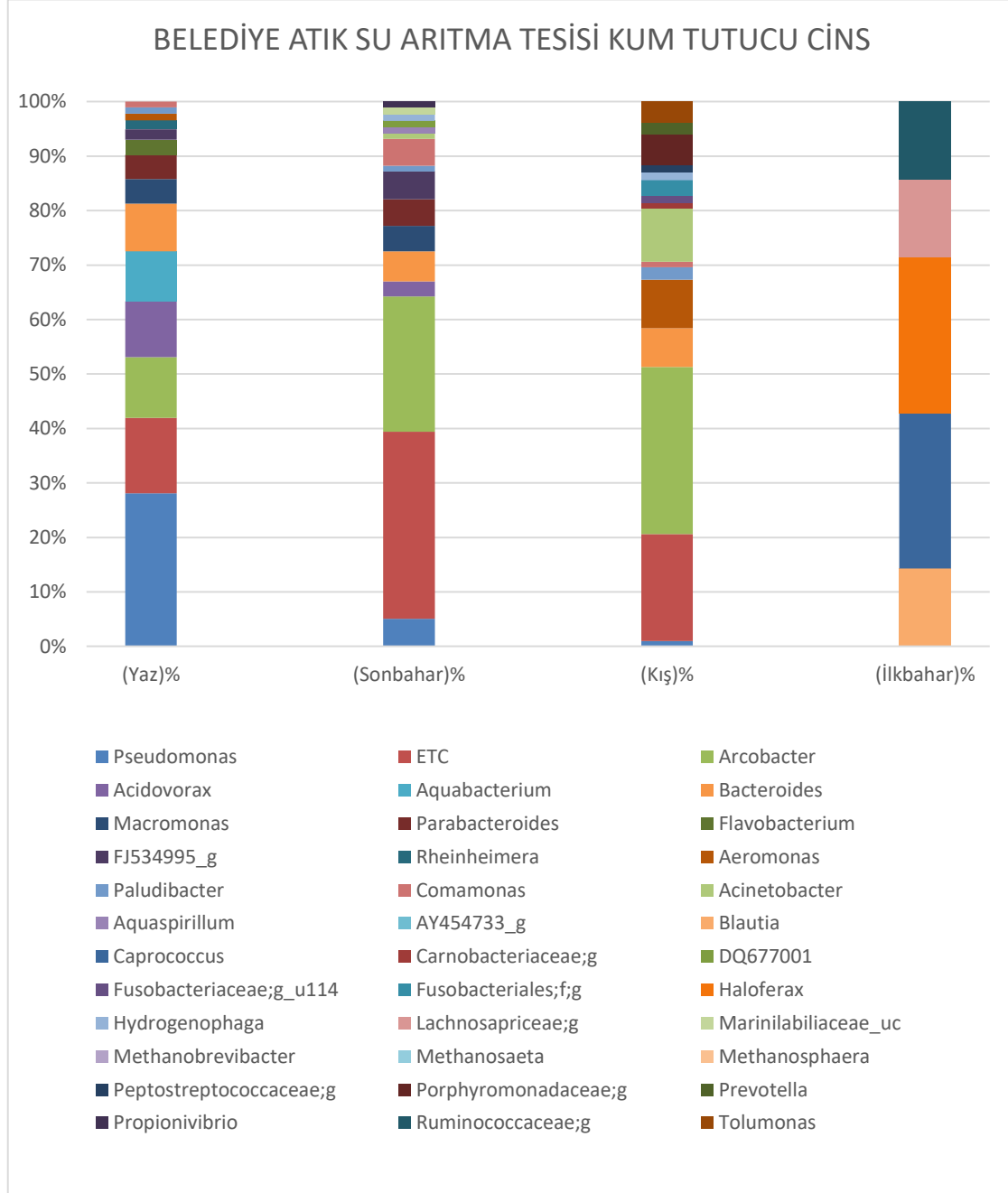
Farklı mevsimlerde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinden alınan örneklerin filum düzeyinde taksonomik kompozisyon dağılımları Şekil 3.56'de aşağıda verilmiştir. Buna göre kum tutucu ünitesinin taksonomik kompozisyonu yaz, sonbahar ve kış mevsiminde benzer iken ilkbahar mevsiminde oldukça farklılık göstermiştir.



Şekil 3.56. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

Cins düzeyinde kum tutucu ünitesinin mevsimsel dağılımı ise Şekil 3.57'de aşağıdaki grafikte verilmiştir. Cins düzeyinde de yaz, sonbahar ve kış mevsiminde ortak gruplar bulunsa da çeşitlilik ve baskınlık açısından farklı özellikler göstermektedirler. Örneğin yaz mevsiminde *Pseudomonas* baskın cins iken, sonbahar ve kış mevsiminde *Arcobacter* cinsi baskındır. Ayrıca *Aquabacterium* ve *Rheinheimera* cinsi üyeleri sadece yaz mevsimi örneğinde görülmektedir. *Acinetobacter* üyeleri ise kış mevsiminde son

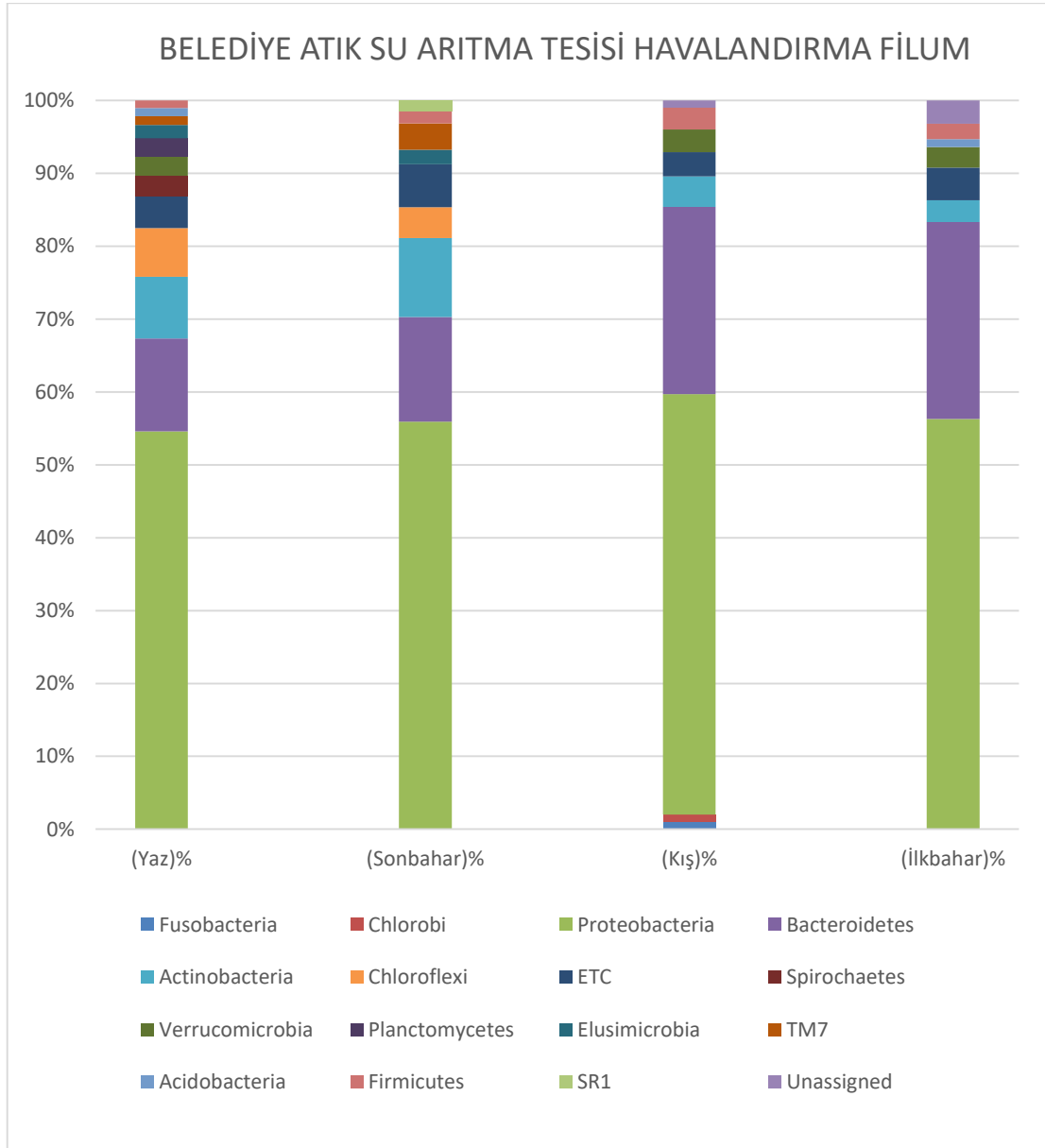
derece baskın bir cinstir. İlkbahar mevsimi ise diğer mevsimlerden son derece farklıdır. *Halomonas*, *Caprococcus* ve *Blautia* üyeleri baskındır.



Şekil 3.57. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

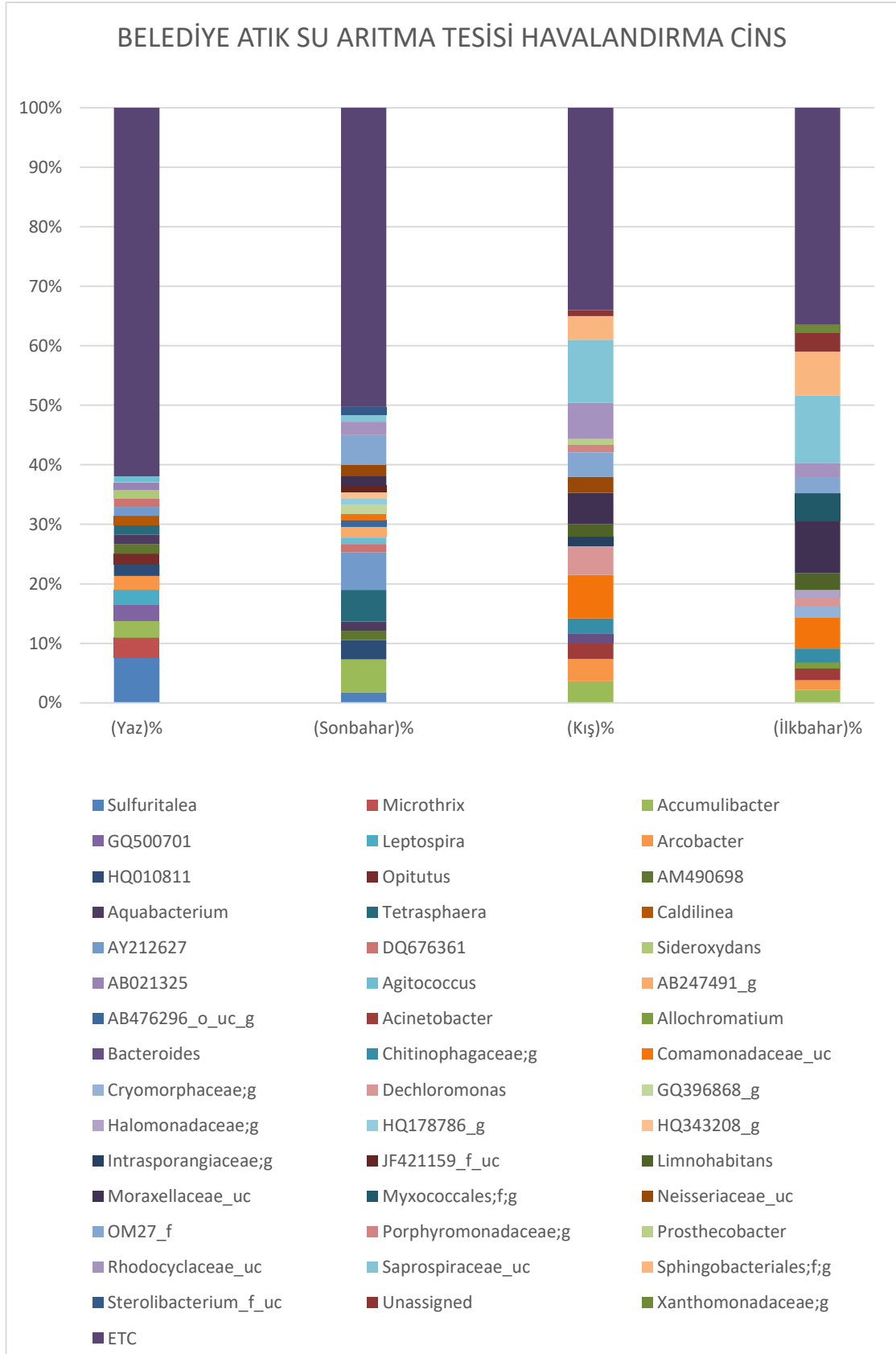
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesinden mevsimsel yapılan örneklerde kommunité yapısı incelendiğinde Şekil 3.58’de görüldüğü gibi benzer olduğu

ancak en çok çeşitliliğin yaz mevsiminde görüldüğü belirlenmiştir. Kış ve ilkbahar mevsimleri filum kompozisyonları da birbirine benzemektedir.



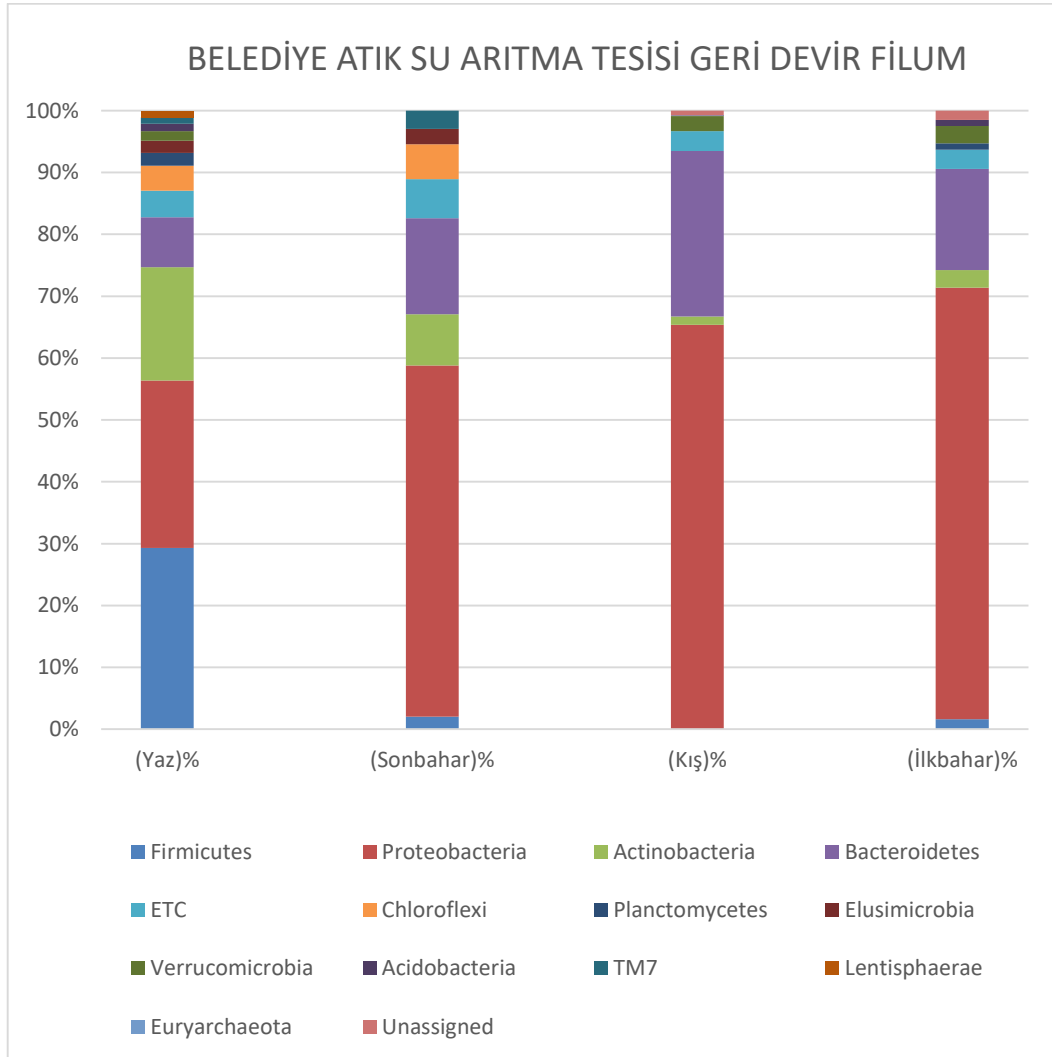
Şekil 3.58. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

Havalandırma ünitesi taksonomik kompozisyonu mevsimsel olarak cins düzeyinde değerlendirilirse aşağıdaki Şekil 3.59' da görüldüğü gibi oldukça farklı ve çeşitli olduğu görülmektedir. Yaz mevsiminde *Sulfuritalea*, *Accumulibacter*, *Microthrix* baskın cinsler iken, sonbaharda alınan örneklerde AY212627, *Accumulibacter* ve *Tetrasphaera* baskın cinslerdir. Kış ve ilbaharda ise Saprospiraceae familyasına ait cins baskındır. Bazı cinslere ise sadece bir örnekleme mevsiminde rastlanmıştır.



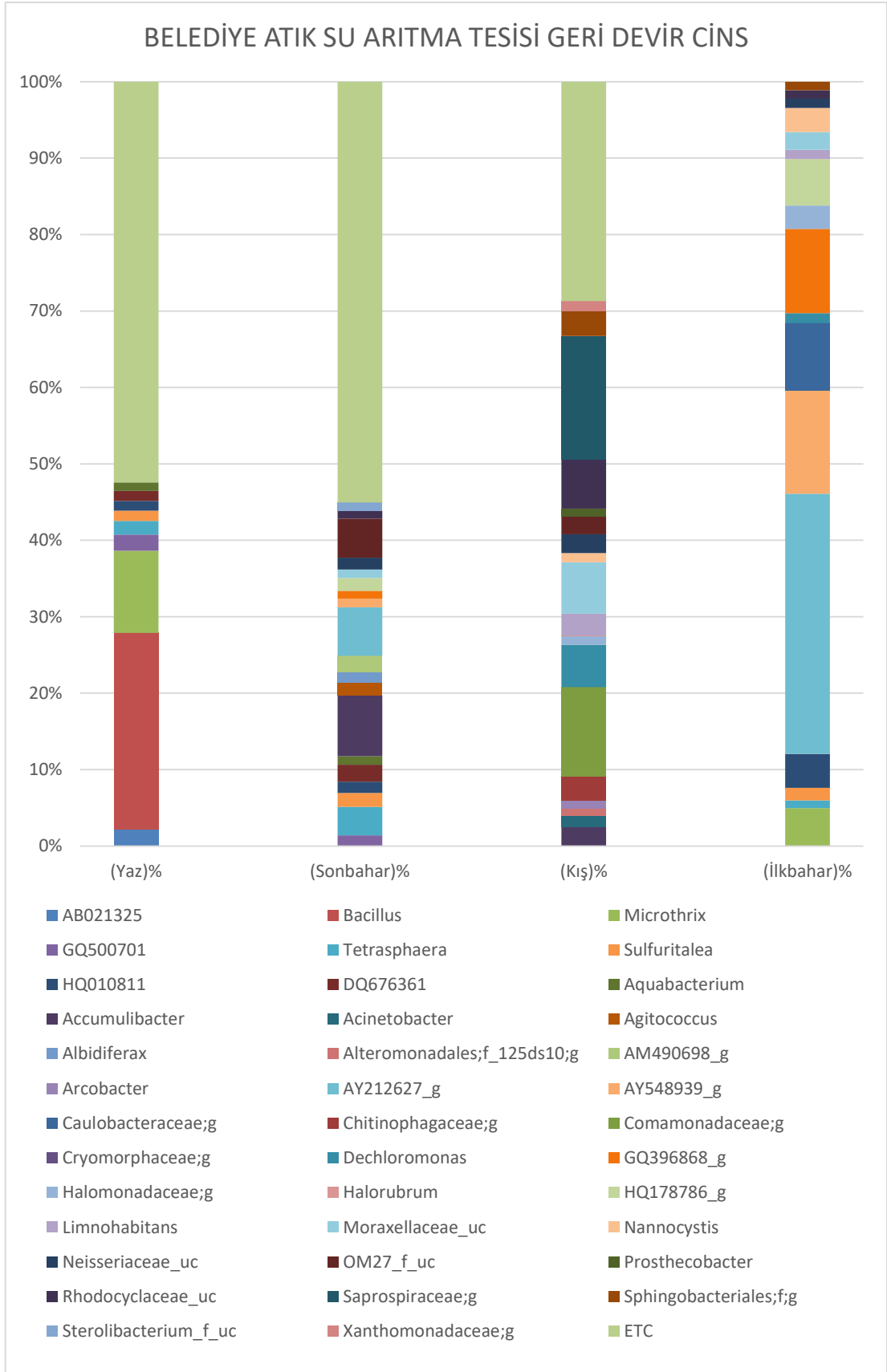
Şekil 3.59. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesindeki mevsime bağlı kommunité yapısı incelendiğinde yaz mevsiminde Firmicutes filumunun baskın olduğu diğer mevsimlerde ise Proteobacteria filumunun baskın olduğu görölmektedir. Çeşitlilik açısından incelendiğinde ise Şekil 3.60’da yaz ve sonbahar mevsiminde filum sayısının fazla olduğu görölmektedir.



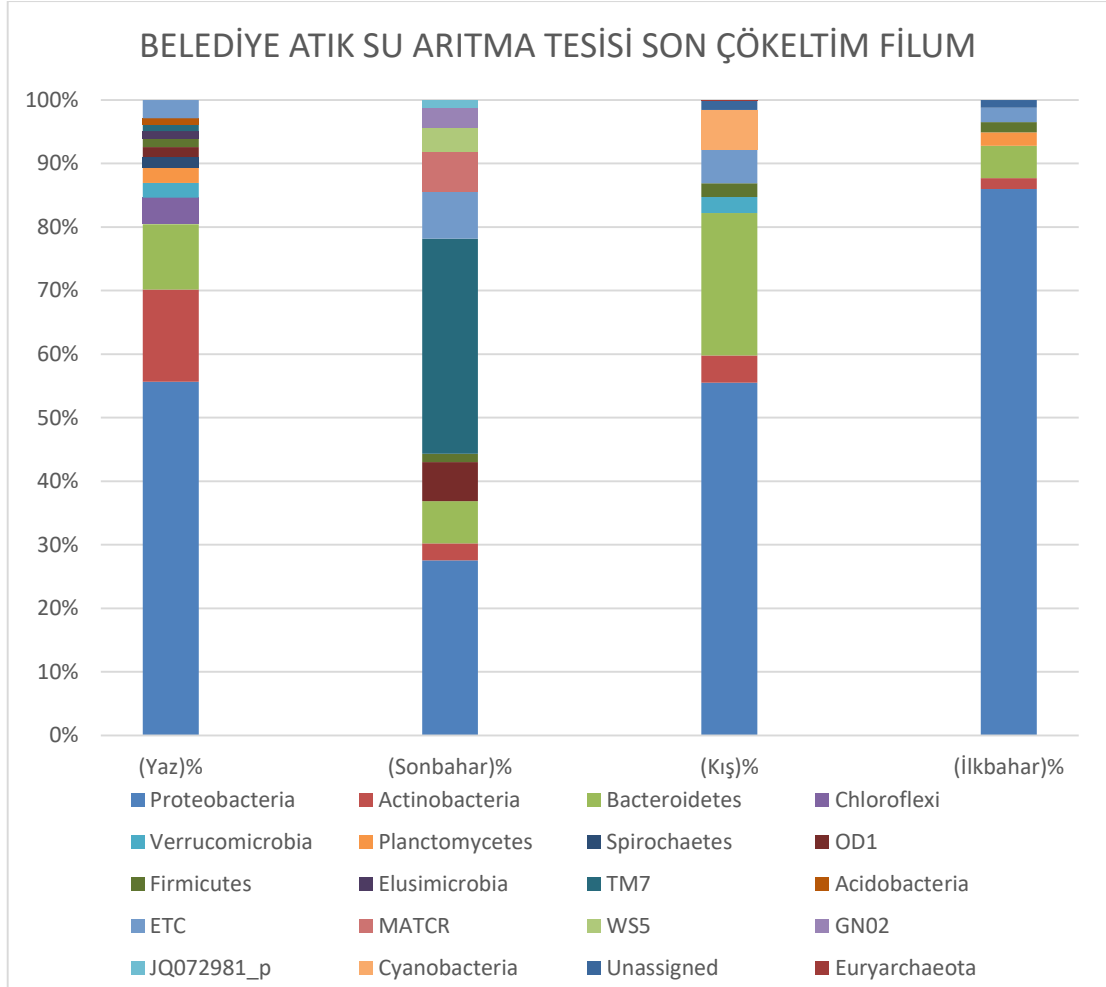
Şekil 3.60. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

Cins düzeyinde mevsimsel karşılaştırma yapıldığında Şekil 3.61’de görüldüğü gibi mikrobiyal çeşitliliğın tüm örneklemeelerde aynı olmadığı farklı bir profil sergilediği belirlenmiştir. Yaz mevsiminde *Bacillus* üyeleri en dominant üye iken diğer mevsimlerde *Bacillus* cinsi üyelerine rastlanmamıştır. Sonbahar mevsiminde *Accumulibacter* cinsi üyeleri, kış mevsiminde Saprospiraceae familyasına ait cinsler, ilkbahar mevsiminde ise AY212627_g baskındır.



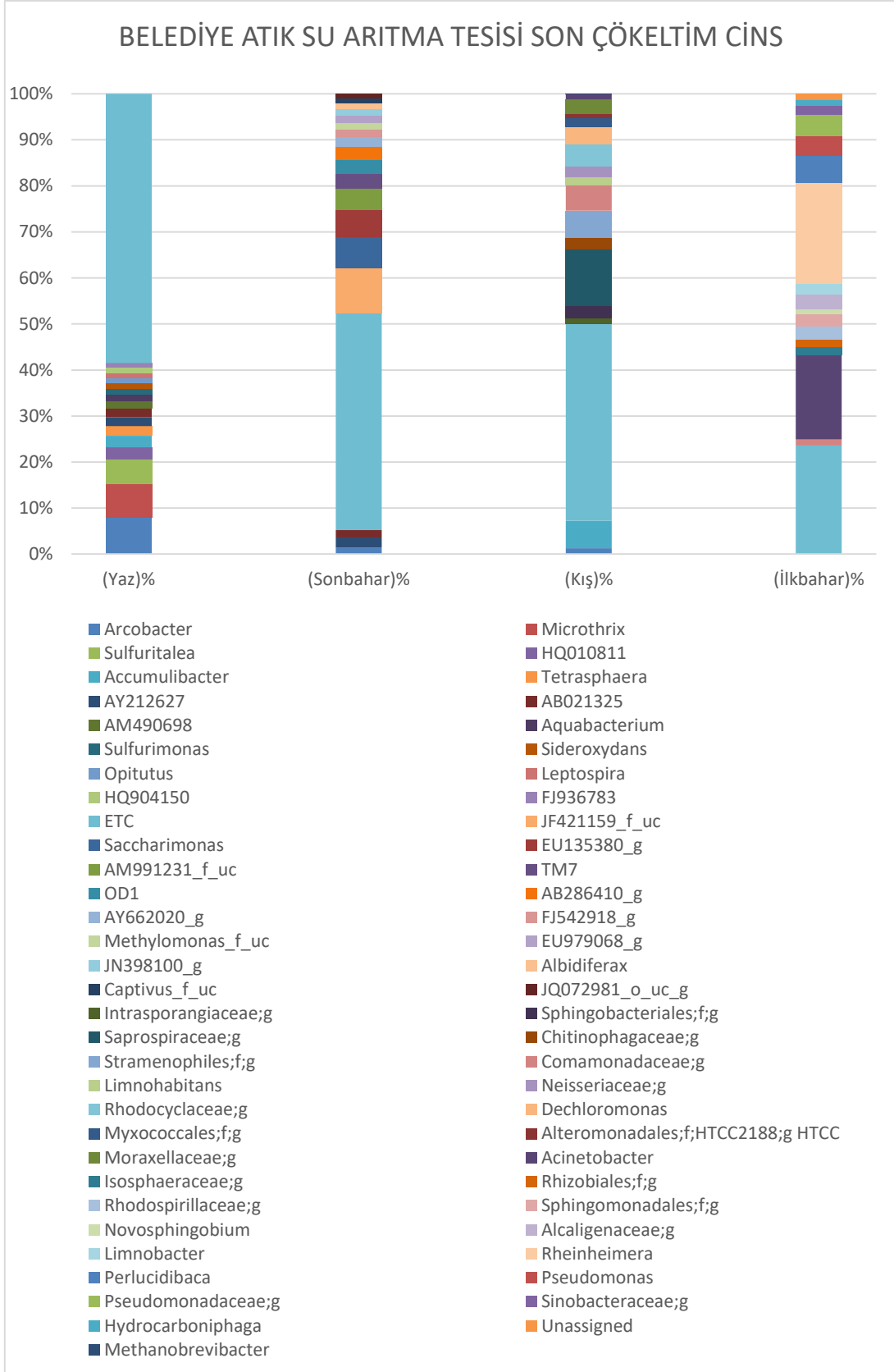
Şekil 3.61. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliği mevsimsel olarak filum düzeyinde incelendiğinde Şekil 3.62’de görüldüğü gibi mevsimsel olarak oldukça farklıdır. Çeşitlilik açısından incelendiğinde yaz ve sonbahar mevsimleri oldukça zengindir. Proteobacteria filum üyeleri tüm mevsimlerde görülse de ilkbahar mevsimi örneklemeinde % 85,9 oranında bulunmaktadır. Sonbahar mevsiminde ise diğer mevsimlerden farklı olarak TM7 en baskın filum olarak bulunmaktadır.



Şekil 3.62. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

Cins düzeyinde mevsimsel olarak incelenirse Şekil 3.63’de görüldüğü gibi tüm mevsimler birbirinden son derece farklıdır. Yaz mevsiminde *Arcobacter* ve *Microthrix* en dominant cinsler iken sonbaharda *JF421159_f_uc* ve *Saccharimonas*, kış mevsiminde *Saprospiraceae;g* , ilkbaharda ise *Rheinheimera* baskın cinstir.



Şekil 3.63. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

3.6.4.1.6. Yaz mevsimi örnekleme-Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi

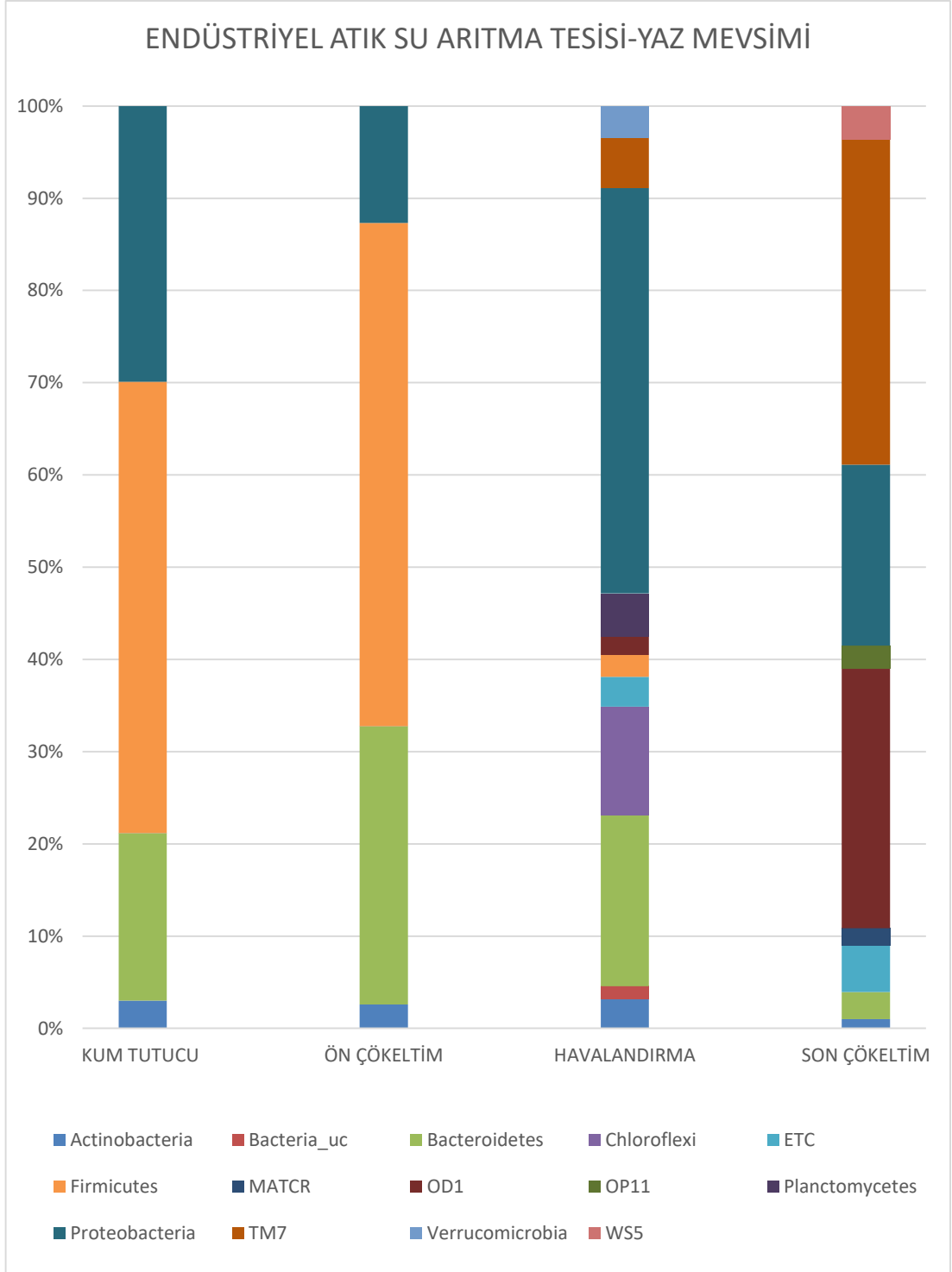
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi giriş suyu örnekleme sonucu filum düzeyinde % 54,4 Firmicutes, % 30,07 Bacteroidetes, % 12,66 Proteobacteria belirlenmiştir. Cins düzeyinde ise % 33,78 *Lactococcus*, % 27,86 *Prevotella*, % 12,44 *Streptococcus* bulunmaktadır. Tür düzeyinde ise % 32,09 *Lactococcus chungangensis*, % 26,21 AB286489, % 8,32 *Streptococcus equinus* grup, % 5,31 *Brachymonas denitrificans* belirlenmiştir.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünite örnekleme sonucu filum düzeyinde % 48,78 Firmicutes, % 29,79 Proteobacteria, % 18,1 Bacteroidetes belirlenmiştir. Cins düzeyinde % 26,92 *Streptococcus*, % 16,54 *Brachymonas*, % 16,44 *Prevotella*, % 10,07 *Lactococcus* bulunmaktadır. Tür düzeyinde ise % 25,28 *Streptococcus equinus* grup, % 16,29 *Brachymonas denitrificans*, % 15,51 AB286489, % 8,09 *Lactococcus chungangensis* belirlenmiştir.

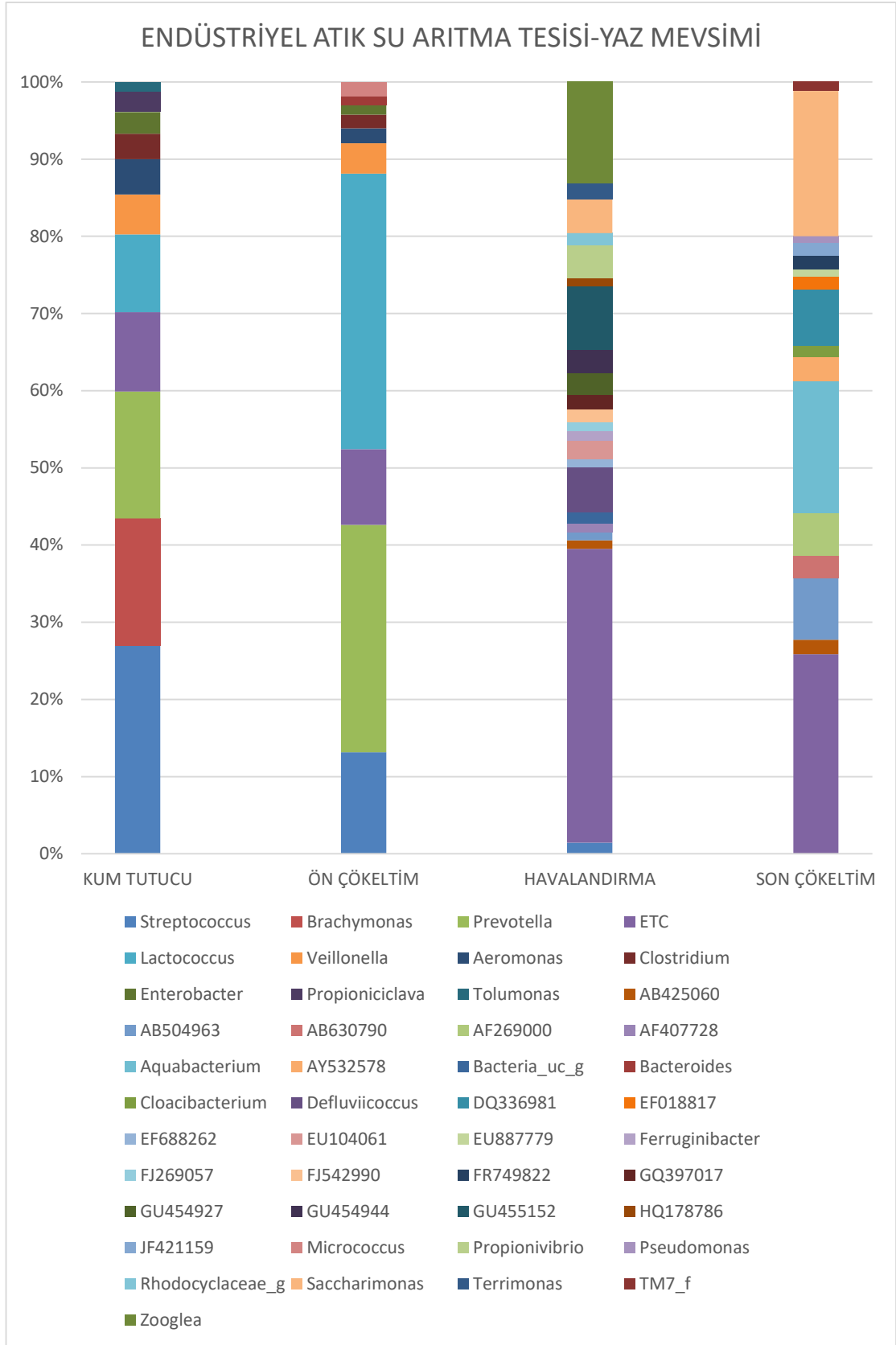
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim havuzu örnekleme sonucu filum düzeyinde % 35,23 TM7, % 28,12 OD1, % 19,61 Proteobacteria belirlenmiştir. Cins düzeyinde % 22,23 *Saccharimonas*, % 9,39 AB504963, % 8,60 DQ336981 belirlenmiştir. Tür düzeyinde ise % 15,06 AF445701, % 9,39 AB504963, % 8,60 DQ336981 ve % 6,8 *Saccharimonas* türleri belirlenmiştir.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma havuzu örnekleme sonucu % 43,94 Proteobacteria, % 18,53 Bacteroidetes, % 11,79 Chloroflexi, % 5,52 TM7, % 4,67 Planctomyces belirlenmiştir. Cins düzeyine % 13,15 *Zoogloea*, % 8,12 GU455152, % 5,92 *DeFluviicoccus*, % 4,42 *Saccharimonas* belirlenmiştir. Tür düzeyinde ise % 13,15 *Zoogloea*, % 6,71 GU455152 belirlenmiştir.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi giriş suyu, kum tutucu ünitesi, havalandırma havuzları ve son çökeltim havuzu karşılaştırıldığında Şekil 3.64 ve 3.65’de görüldüğü gibi giriş suyu ve kum tutucu ünitenin taksonomik kompozisyonlarının aynı olduğu belirlenmiştir. Bu ünitelerde yoğun olarak *Lactococcus chungangensis* ve *Streptococcus equinus* grup belirlenmiştir. Bu örnekleme noktalarının ortalama mikrobiyal çeşitliliği filum düzeyinde % 31,13 Proteobacteria, % 21,82 Firmicutes, % 17,06 Bacteroidetes, % 8,87 TM7, % 6,35 OD1, % 4,88 Chloroflexi, cins düzeyinde % 8,90 *Lactococcus*, % 8,44 *Streptococcus*, % 5,82 *Zoogloea*, tür düzeyinde ise % 8,46 AB286489, % 8,15 *Lactococcus chungangensis*, % 6,76 *Streptococcus equinus* grup, % 5,82 *Zoogloea*, % 4,67 *Branchymonas denitrificans* oluşturmaktadır.



Şekil 3.64. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik



Şekil 3.65. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi yaz mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

3.6.4.1.7. Sonbahar mevsimi örnekleme-Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde %49,657 Bacterioidetes, % 36,391 Firmicutes, % 11,414 Proteobacteria oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 43,779 *Prevotella*, % 13,198 *Lactococcus*, % 8,005 *Veillonella*, % 6,610 *Streptococcus*, % 6,107 *Clostridium* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 41,926 AB286489, % 11,871 *Lactococcus chungangensis*, % 7,777 DQ860048 oluşturmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde % 37,613 Proteobacteria, % 36,063 Firmicutes, % 23,750 Bacterioidetes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 14,507 *Arcobacter*, % 11,378 *Cloacibacterium*, % 11,202 *Veillonella*, % 10,822 *Streptococcus*, % 9,740 *Prevotella*, % 8,745 *Lactococcus*, % 6,581 *Sulfurospirillum*, % 6,113 *Brachymonas* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 10,910 DQ860048, % 10,646 *Arcobacter butzleri*, % 9,242 AB286489, % 9,213 AY173079, % 7,897 *Lactococcus chungangensis*, % 5,879 *Brachymonas denitrificans*, % 5,616 *Sulfurospirillum cavolei* oluşturmaktadır.

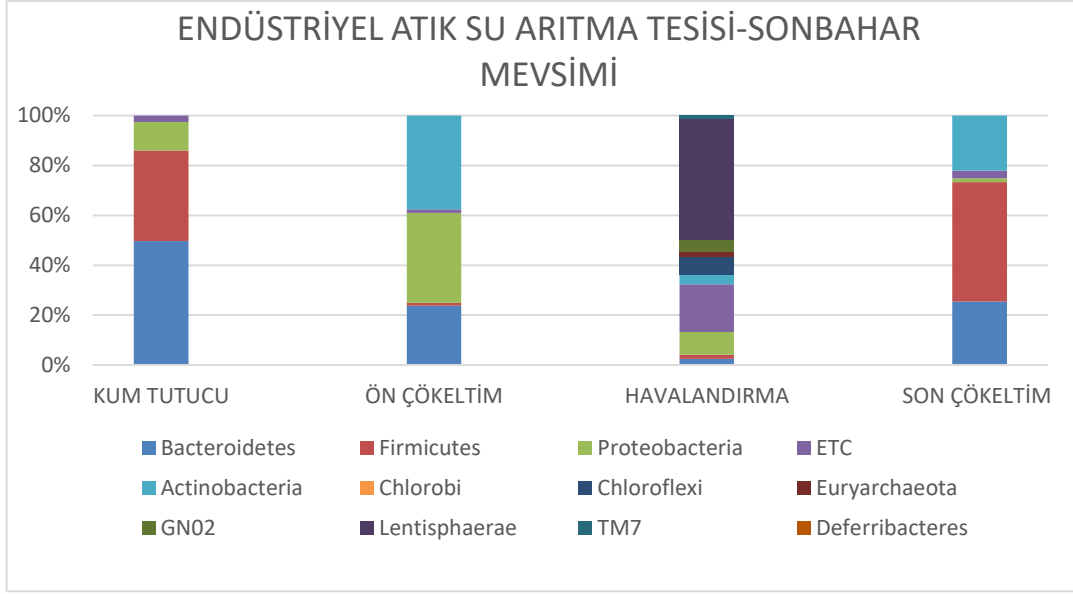
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi Arkea örneğinin taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde % 99,353 Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 31,491 *Methanomicrobia_uc_g*, % 23,096 *Euryarchaeota_uc_g*, % 19,744 AF424770_g, % 9,086 *Methanobrevibacter*, % 7,674 *Methanomethylovorans* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 31,491 *Methanomicrobia_uc_s*, % 23,096 *Euryarchaeota_uc_s*, % 19,597 AF424770_s, % 6,131 *Methanomethylovorans uponensis*, % 5,425 *Methanobrevibacter smithii* oluşturmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde % 49,93 Proteobacteria, % 19,61 Bacteroidetes, % 9,4 Choloroflexi, % 7,71 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 11,415 *Afifella*, % 9,622 *Ferribacterium*, % 5,889 *Desulfobulbus*, % 5,574 FJ269057, % 5,2 *Geobacter* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise % 11,415 *Afifella_uc*, % 9,476 *Ferribacterium limneticum*, % 5,381 DQ296474, % 5,211 *Desulfobulbus uc* oluşturmaktadır.

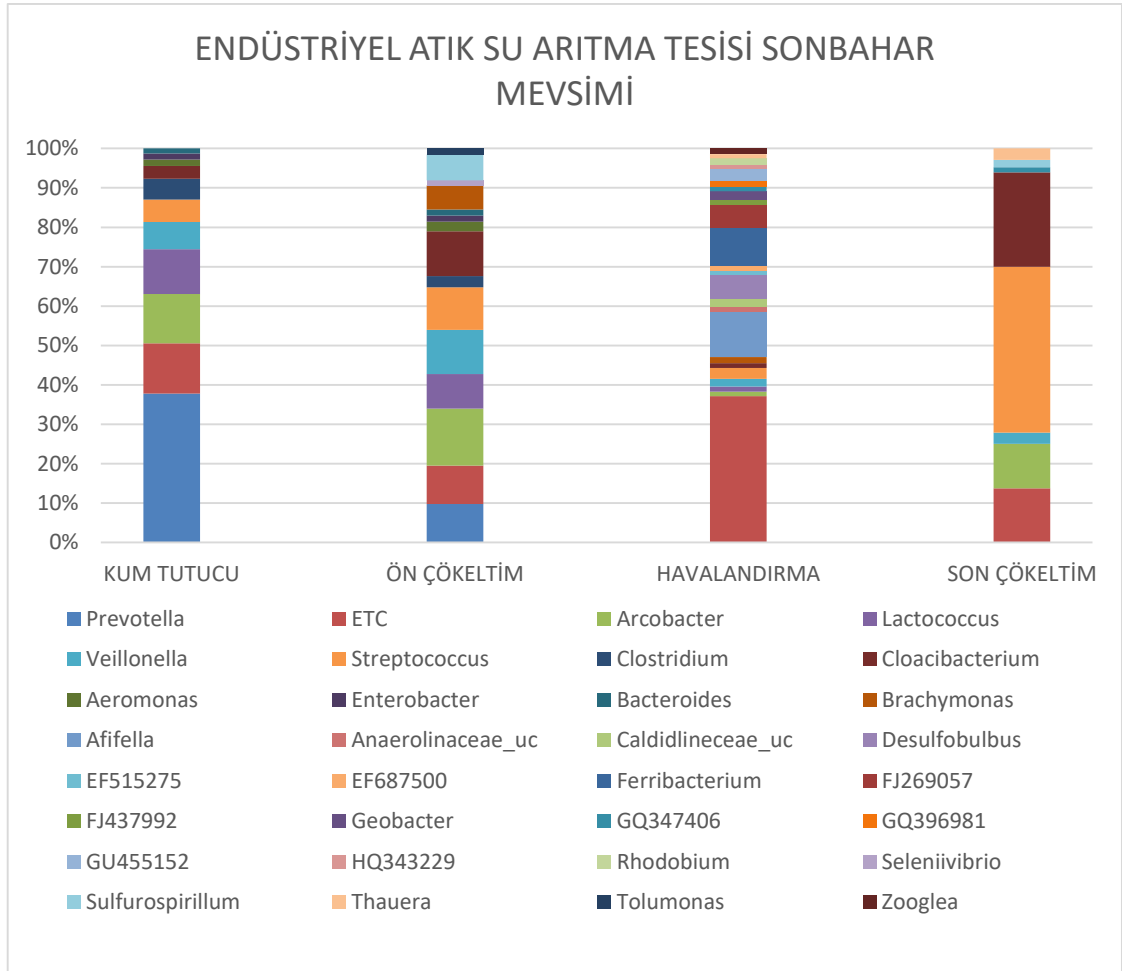
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi Bacteria örneğinin taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde % 47,856 Firmicutes, % 25,458 Bacterioidetes % 22,134 Proteobacteria oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 42,148

Streptococcus, % 23,988 *Cloacibacterium*, % 11,368 *Arcobacter* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 40,583 AY173079, % 12,042 HQ674890, % 6,792 *Cloacibacterium normanense*, % 6,792 *Arcobacter butzleri* oluşturmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünite, ön çökeltim havalandırma havuzu ve son çökeltim havuzu karşılaştırıldığında benzer filumlar bulunsa da Şekil 3.66'da görüldüğü gibi farklılıklar görülmektedir. Son çökeltim ünitesinde diğer ünitelere göre Bacilli ve Flavobacteria sınıfı üyeleri yoğun olarak görülmektedir. Havalandırma ünitesi ise diğer ünitelerden oldukça farklıdır. Alphaproteobacteria ve Deltaproteobacteria sınıfı üyeleri oldukça yoğundur. Bu sınıf üyeleri diğer örneklerde %0.5' ten düşük oranda veya hiç bulunmayabilir. Ayrıca diğer ünitelerden farklı olarak Anaerolineae, Phycisphaerae, Caldilineae ve Sphingobacteria üyeleri bulunmaktadır. Ordo düzeyinde karşılaştırıldığında kum tutucu ünitesinde Bacteroidales, Lactobacillales, Clostridiales ve Enterobacteriales üyeleri bulunmaktadır. Ön çökeltim ünitesinde ise Bacteroidales üyelerinin yoğunluğu daha azdır. Flavobacteriales, Campylobacterales ve Burkholderiales üyeleri yoğun olarak bulunmaktadır. Havalandırma ünitesinde ise diğer ünitelerden farklı olarak Rhizobiales ve Rhodocyclales ordosu üyeleri yoğun olarak bulunmaktadır. Ayrıca Desulfobulbaceae_o, Anaerolineales, Caldilineales, Desulfuromonadales, Sphingobacteriales üyeleri bulunmaktadır. Son çökeltim ünitesinde ise diğer ünitelerle kıyaslandığında Lactobacillales ve Flavobacteriales üyeleri çok yoğundur. Cins düzeyinde ise Şekil 3.67'de belirtildiği gibi kum tutucu ünitesinde *Prevotella* cinsi üyeleri baskındır. Sonrasında *Lactococcus*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Cloacibacterium*, *Aeromonas* ve *Enterobacter* bulunmaktadır. Son çökeltim ünitesinde ise *Arcobacter*, *Cloacibacterium*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Lactococcus* baskındır. Ayrıca diğer ünitelerden farklı olarak *Brachymonas*, *Seleniivibrio*, *Tolumonas* üyeleri bulunmaktadır. Havalandırma ünitesinin ise çeşitliliği oldukça fazladır. Yoğunluk sırasına göre *Afiifella*, *Ferribacterium*, *Desulfobulbus*, FJ269057 bulunmaktadır. Bunların dışında *Geobacter*, *Thauera*, *Rhodobium* üyeleri bulunmaktadır. Son çökeltim ünitesinin ise mikrobiyal kompozisyonunun büyük oranını *Streptococcus* cinsi üyeleri oluşturmaktadır.



Şekil 3.66. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik



Şekil 3.67. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sonbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

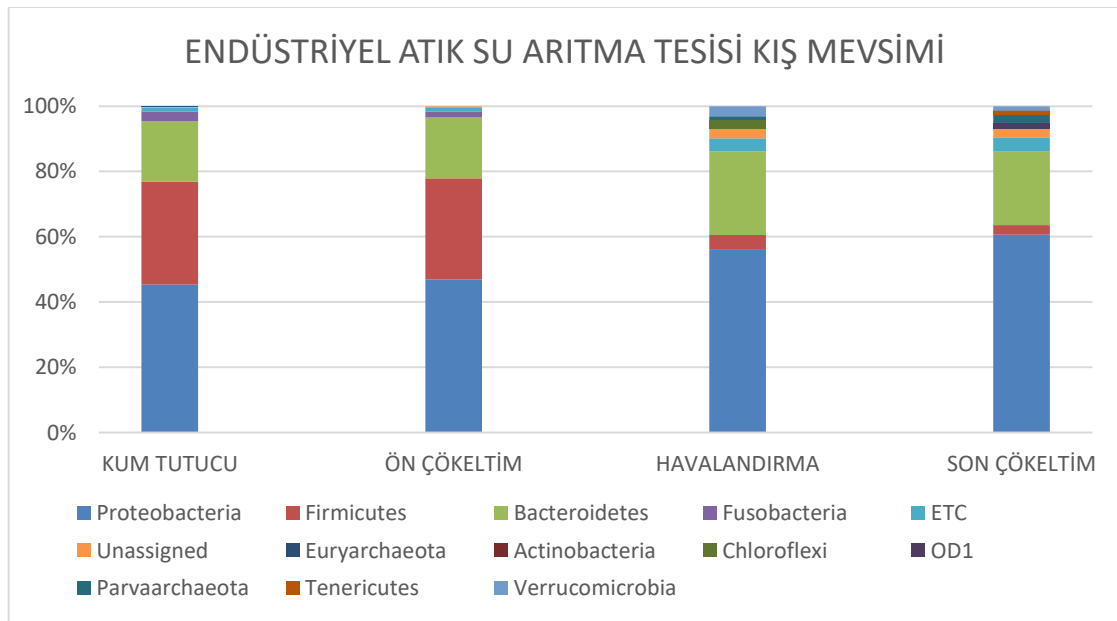
3.6.4.1.8. Kış mevsimi örnekleme-Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinin filogenetik çeşitliliğin filum düzeyinde % 0.1 Euryarchaeota, % 45,3 Proteobacteria, % 31,5 Firmicutes, % 18,5 Bacteroidetes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 24,1 *Streptococcus*, % 12 *Cloacibacterium*, % 11,50 *Arcobacter*, % 9,30 *Sulfurospirillum*, % 7,2 *Pseudomonas* oluşturmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesinin filogenetik çeşitliliğini % 46,9 Proteobacteria, % 31,00 Firmicutes, % 18,6 Bacteroidetes, % 0,1 Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 21,8 *Streptococcus*, % 11,40 *Arcobacter*, % 11 *Sulfurospirillum*, % 8,80 *Cloacibacterium*, % 5,40 *Pseudomonas* oluşturmaktadır.

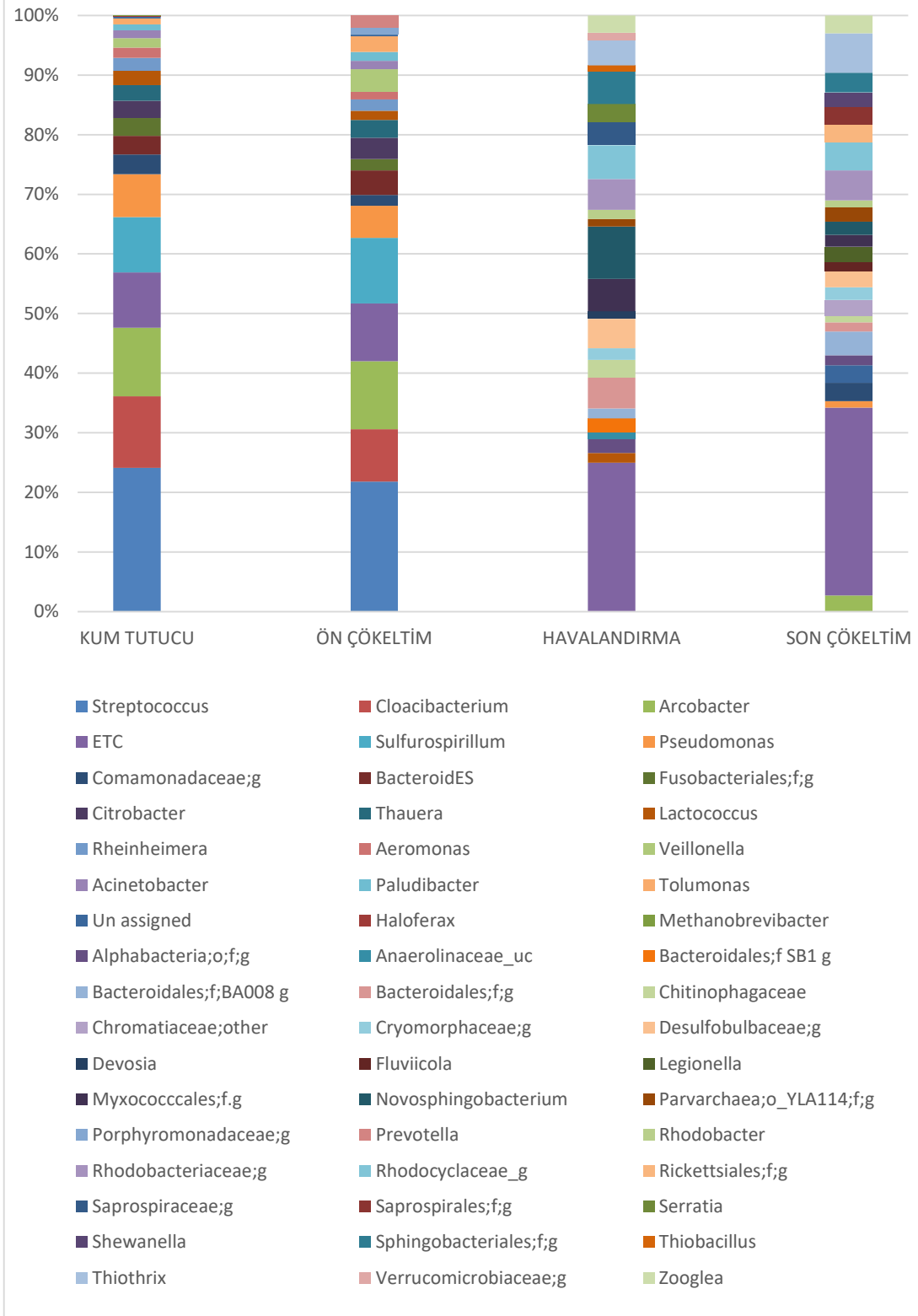
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesinin filogenetik çeşitliliğini % 56,9 Proteobacteria, % 26,0 Bacteroidetes, % 4,30 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 8,50 *Novosphingobium*, % 5,5 Rhodocyclaceae; Other, % 5,30 *Sphingobacteriales*; f; g, % 5,30 *Myxococcales*; f; g, % 5,0 *Bacteroidales*; f; g, % 1,2 *Parvarchaeota* oluşturmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesinin filogenetik çeşitliliğini % 60,60 Proteobacteria, % 22, 6 Bacteroidetes, % 3,0 Firmicutes ve % 2,4 Parvarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 6,60 *Thiothrix*, % 4,70 Rhodocyclaceae; Other, % 4 *Bacteroidales*; f; g oluşturmaktadır.



Şekil 3.68. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ-KIŞ MEVSİMİ



Şekil 3.69. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kış mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu, ön çökeltim, havalandırma ve son çökeltim ünitelerinin mikrobiyal içeriği karşılaştırıldığında Şekil 3.68 ve 3.69'da görüldüğü gibi kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde Proteobacteria ve Firmicutes filumu üyeleri baskın iken havalandırma ve son çökeltim ünitelerinde Proteobacteria ve Bacteroidetes filumları baskındır. Ayrıca havalandırma ve son çökeltim ünitelerinde Parvaarchaeota ve Verrucomicrobia üyeleri belirlenmiştir. Cins düzeyinde değerlendirildiğinde de yine kum tutucu ile ön çökeltim ünitesinin ve havalandırma ve son çökeltim ünitelerinin mikrobiyal içeriği birbiriyle benzerdir. Kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde baskın olarak *Streptococcus*, *Cloacibacterium*, *Arcobacter* ve *Sulfurospirillum* bulunmaktadır. Havalandırma ve son çökeltim ünitelerinde ise *Thiothrix*, Rhodocyclaceae_g gibi ortak cinsler dominant bir şekilde bulunmakla birlikte, bazı ortak olmayan cinsler de bulunmaktadır.

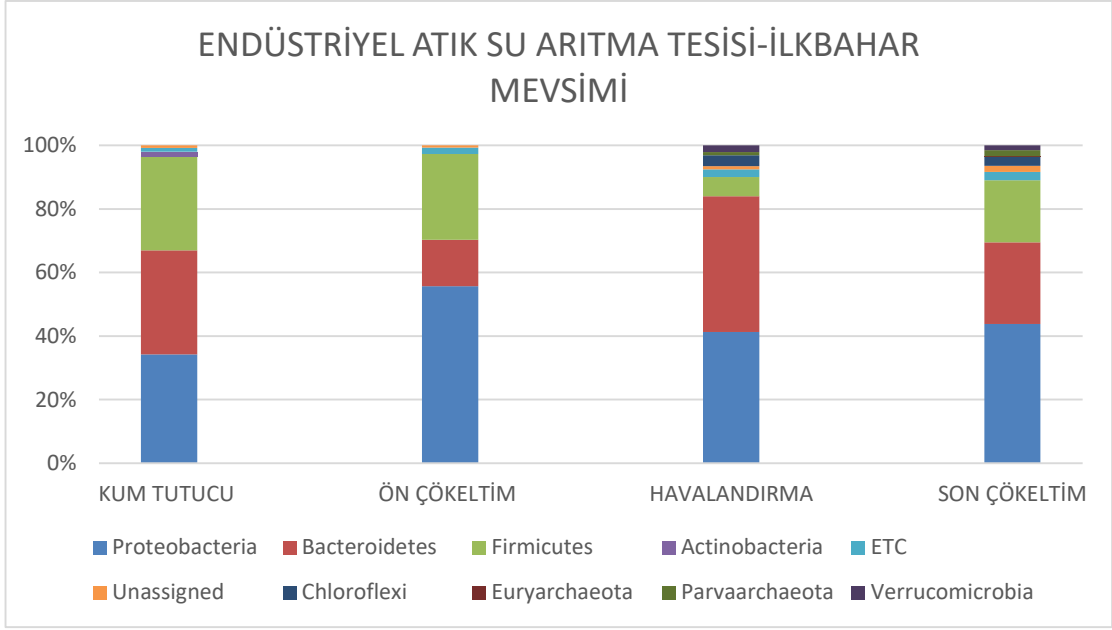
3.6.4.1.9. İlkbahar mevsimi örnekleme-Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinin filogenetik çeşitliliğini filum düzeyinde % 34,20 Proteobacteria, % 32,80 Bacteroidetes, % 29,50 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 21,90 *Prevotella*, % 8,40 *Veillonella*, % 6,40 *Acinetobacter*, % 6,20 *Arcobacter*, % 5,50 Enterobacteriaceae; g oluşturmaktadır.

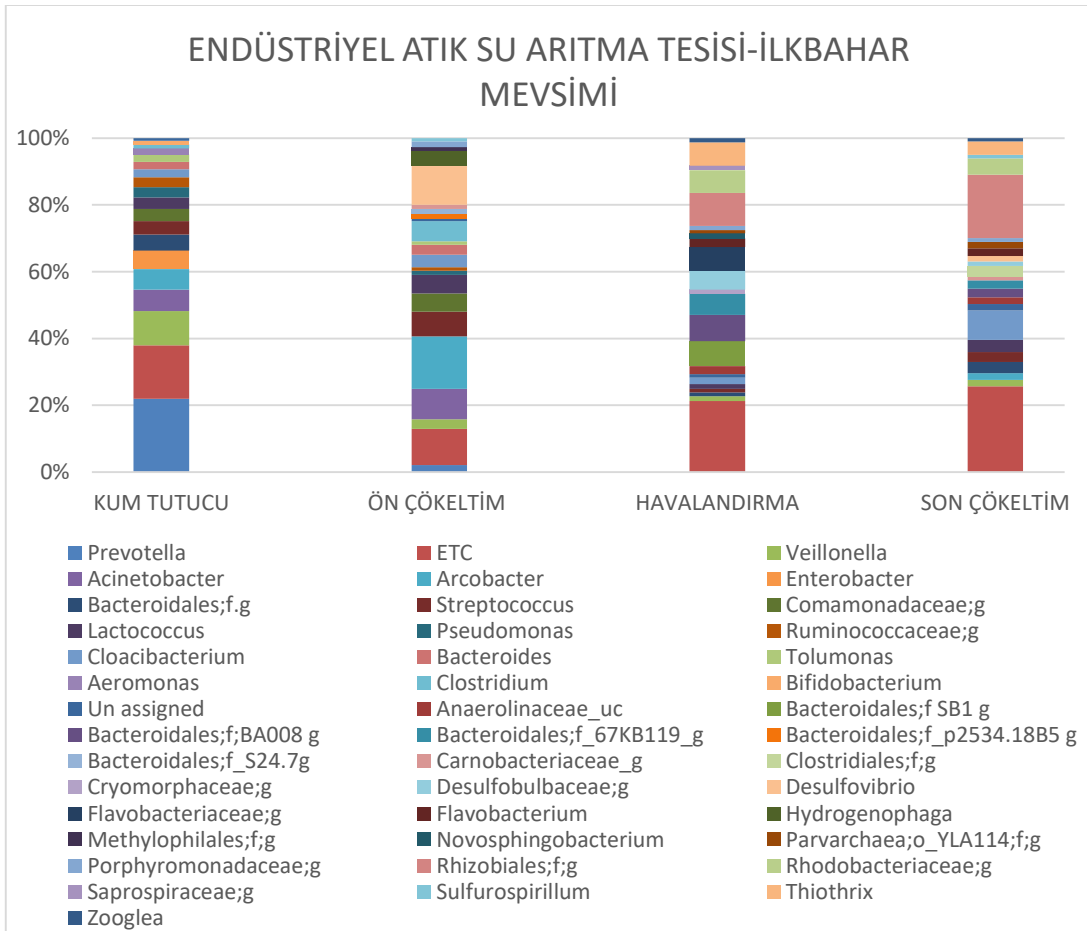
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesinin filogenetik çeşitliliğini filum düzeyinde % 55,70 Proteobacteria, % 27,00 Firmicutes % 14,60 Bacteroidetes, oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 15,70 *Arcobacter*, % 11,60 *Desulfovibrio*, % 9,1 *Acinetobacter*, % 7,40 *Streptococcus*, % 5,5 *Lactococcus*, % 5,5 Comamonadaceae; g oluşturmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesinin filogenetik çeşitliliğini filum düzeyinde % 42,70 Bacteroidetes, % 41,30 Proteobacteria, % 6,10 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 10,0 Rhizobiales; f; g, % 8,0 Bacteroidales; f; g, % 7,5 Bacteroidales; f SB-1;g, % 7,10 *Thiothrix*, % 7,0 Flavobacteriaceae; g, % 6,40 Bacteroidales; f GZKB119;g, % 5,90 Desulfobulbaceae; g oluşturmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesinin filogenetik çeşitliliğini filum düzeyinde % 43,80 Proteobacteria, % 25,7 Bacteroidetes, % 19,5 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 19,80 Rhizobiales; f; g, % 8,80 *Cloacibacterium*, % 4,40 Clostridiaceae; g, % 1,90 [Parvarchaea];o_YLA114;f_g oluşturmaktadır.



Şekil 3.70. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için filum düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

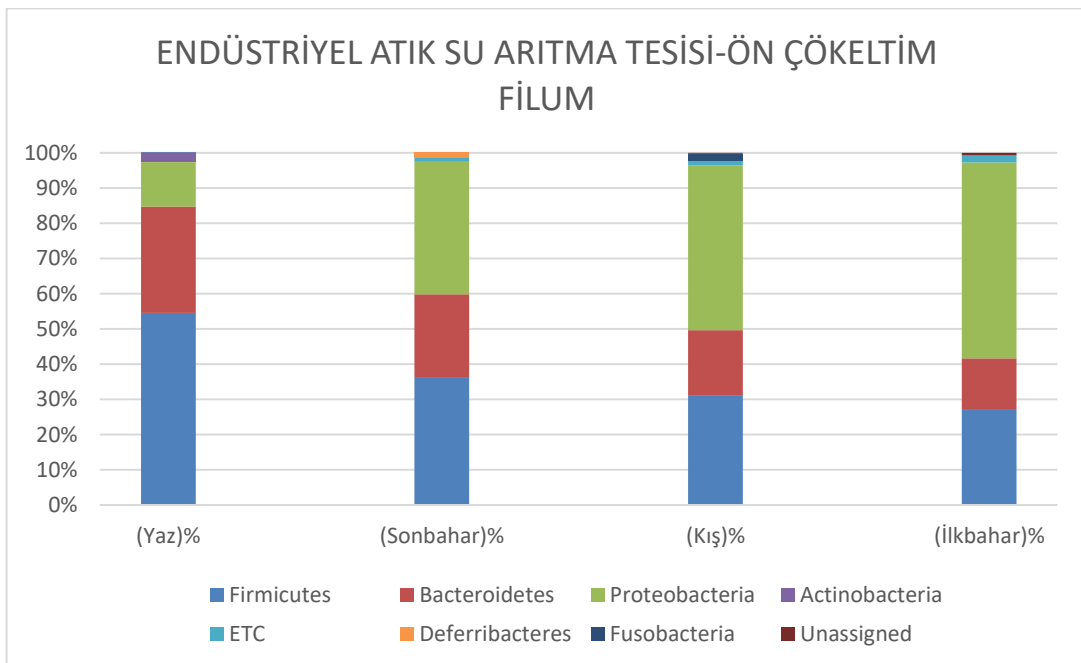


Şekil 3.71. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ilkbahar mevsimi örnekleme noktaları için cins düzeyinde mikrobiyal çeşitlilik

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünite, ön çökeltim havalandırma havuzu ve son çökeltim havuzu karşılaştırıldığında benzer filumlar bulunsa da Şekil 3.70’de görüldüğü gibi bazı farklılıklar da görülmektedir. Tüm örneklerde Proteobacteria, Bacteroidetes ve Firmicutes en baskın filumlar iken oranları değişmektedir. Ayrıca Verrucomicrobia, Chloroflexi ve Parvaarchaeota filumları sadece havalandırma ve son çökeltim ünitelerinde bulunmaktadır. Cins düzeyinde de Şekil 3.71’de görüldüğü gibi örnekleme noktalarında farklılıklar görülmektedir. *Prevetolla* kum tutucu ünitesinde en baskın cins iken havalandırma ve son çökeltim ünitelerinde görülmemektedir. Ön çökeltim ünitesinde ise *Arcobacter* cinsi en baskın cins iken yine havalandırma ve son çökeltim ünitesinden yapılan örnekleme noktasında bu cins görülmemiştir.

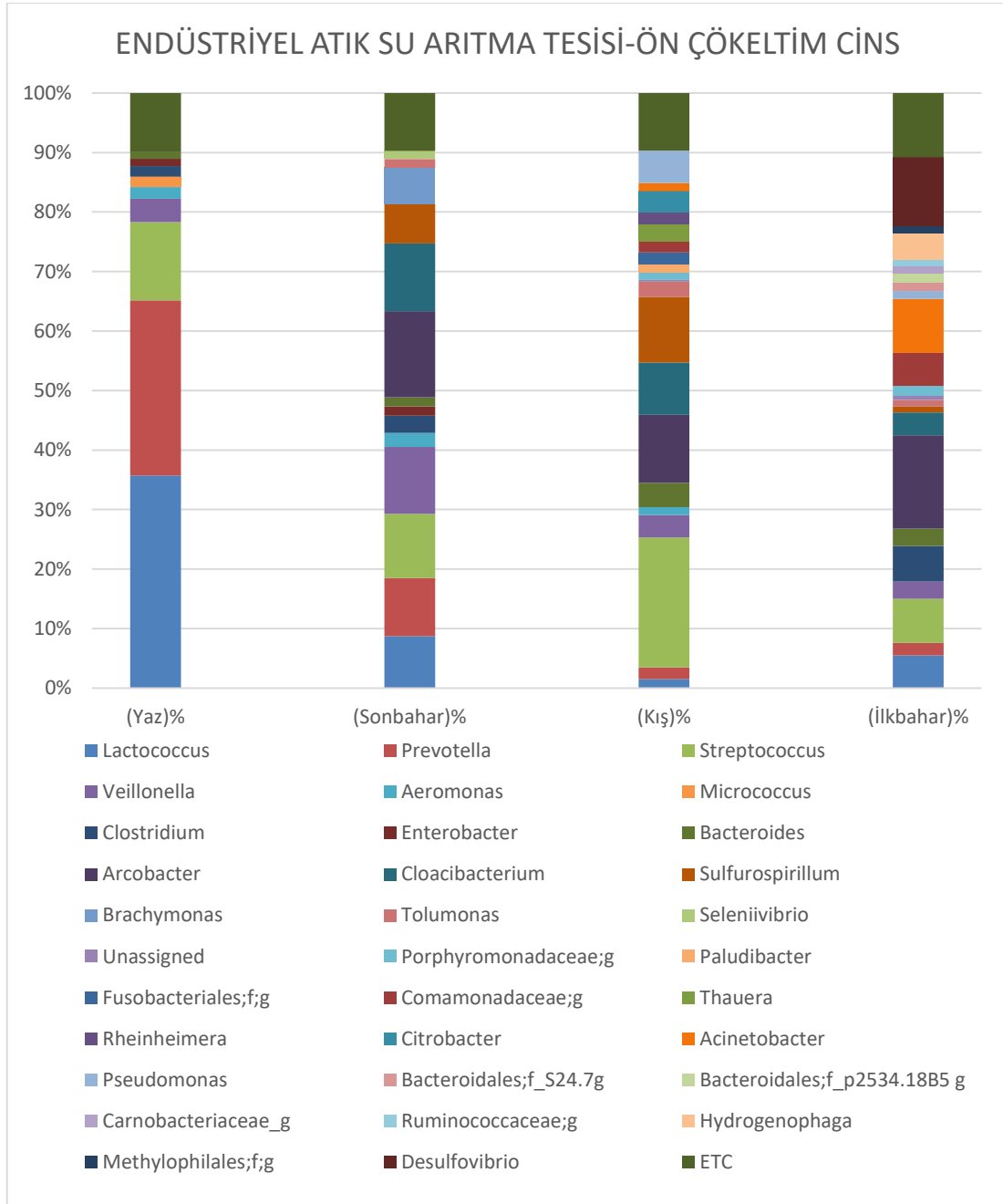
3.6.4.1.10. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi örneklerinin mevsimsel olarak karşılaştırılması

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi örnekleme noktalarını filum düzeyinde mevsimsel karşılaştıracak olursak Şekil 3.72’de görüldüğü gibi benzer özellik sergilemektedir. Ancak filumların dağılım oranları değişmektedir. Firmicutes ve Bacteroidetes üyeleri yaz mevsiminde baskın iken sonbahar, kış ve ilkbahar mevsimlerinde azalmaktadır. Bu mevsimlerde Proteobacteria oranı artış göstermektedir.



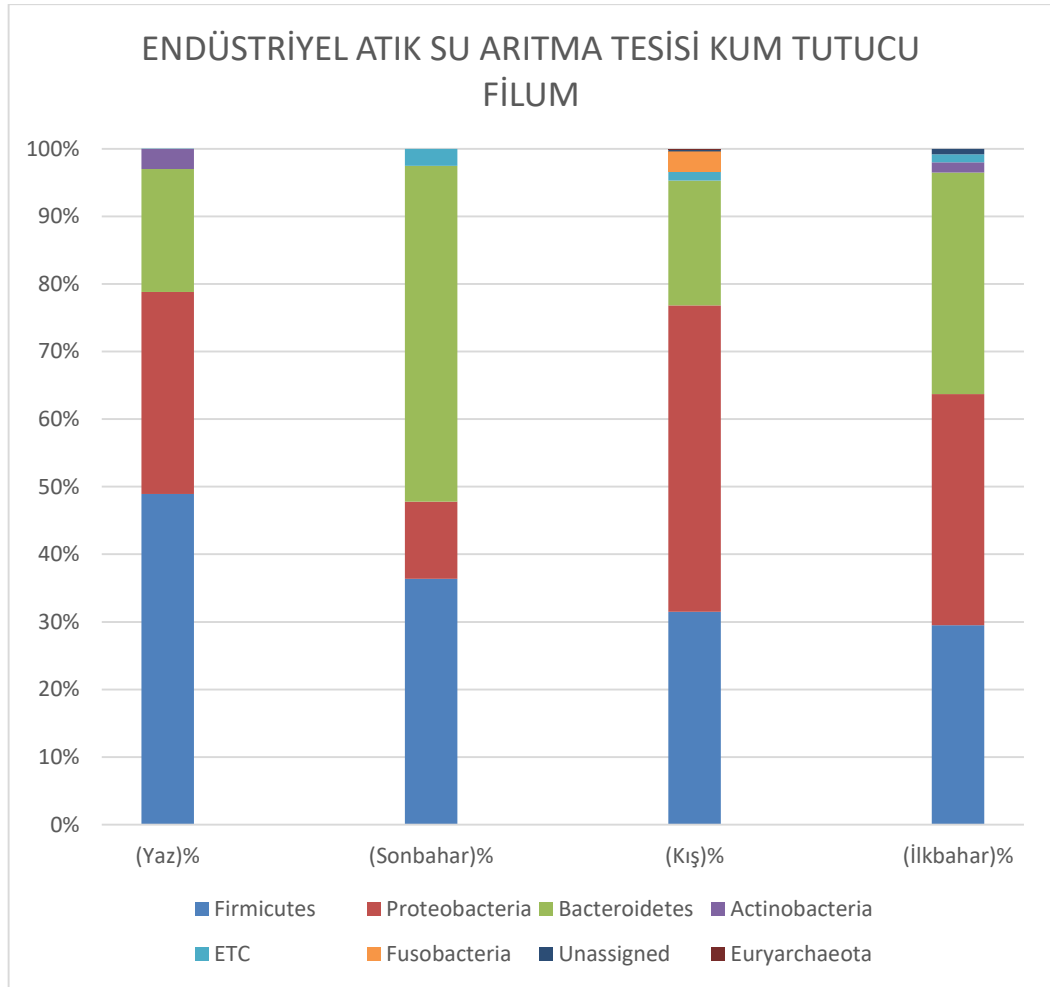
Şekil 3.72. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel düzeyde değerlendirilmesi

Cins düzeyinde ise Şekil 3.73’de görüldüğü gibi mevsimsel olarak mikrobiyal kommünite yapısı değişkenlik göstermektedir. Yaz mevsiminde *Lactococcus* en baskın cinstir. *Prevotella* ve *Streptococcus* ise bol bulunan diğer cinslerdir. Sonbahar mevsiminde ise *Arcobacter*, *Cloacibacterium* ve *Veillonella* baskın cinslerdir. Kış mevsiminde ise *Streptococcus*, *Arcobacter* ve *Sulfurospirillum* baskın cinslerdir. Kış mevsiminde ise *Arcobacter*, *Desulfovibrio* ve *Acinetobacter* cinsleri baskındır.



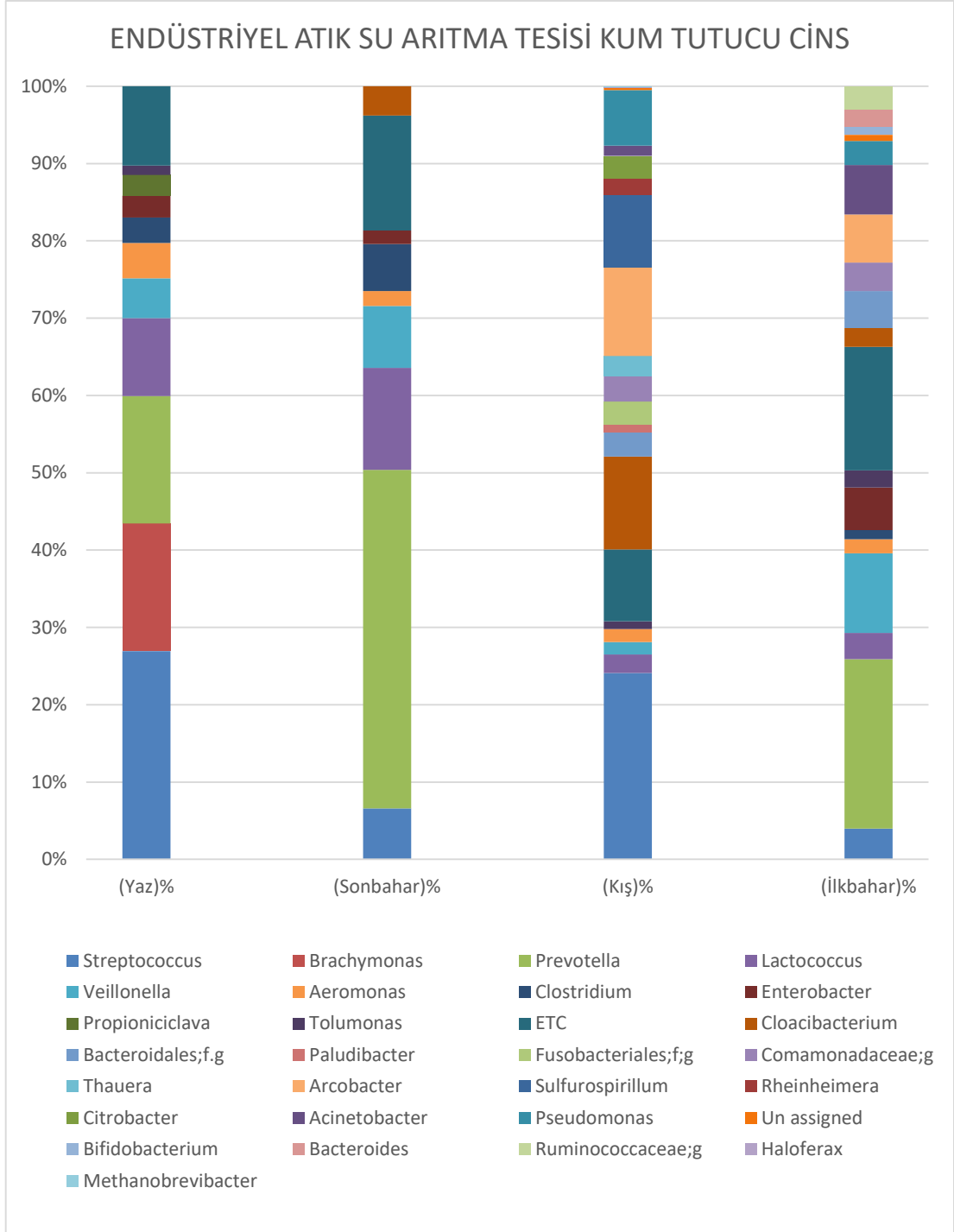
Şekil 3.73. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinin mikrobiyal komünite yapısı mevsimlere bağlı olarak değerlendirilirse Şekil 3.74’de görüldüğü gibi en bol bulunan 3 filum ortak olsa da bu filumların mevsimlere bağlı bollukları değişmektedir. Yaz mevsiminde en baskın filum Firmicutes iken, sonbahar mevsiminde Bacteroidetes, kış ve ilkbahar mevsiminde ise Proteobacteria’dır. Ayrıca Actinobacteria üyeleri sadece yaz ve ilkbahar mevsiminde görülürken, Fusobacteria filum üyelerine ise sadece kış mevsiminde rastlanmıştır.



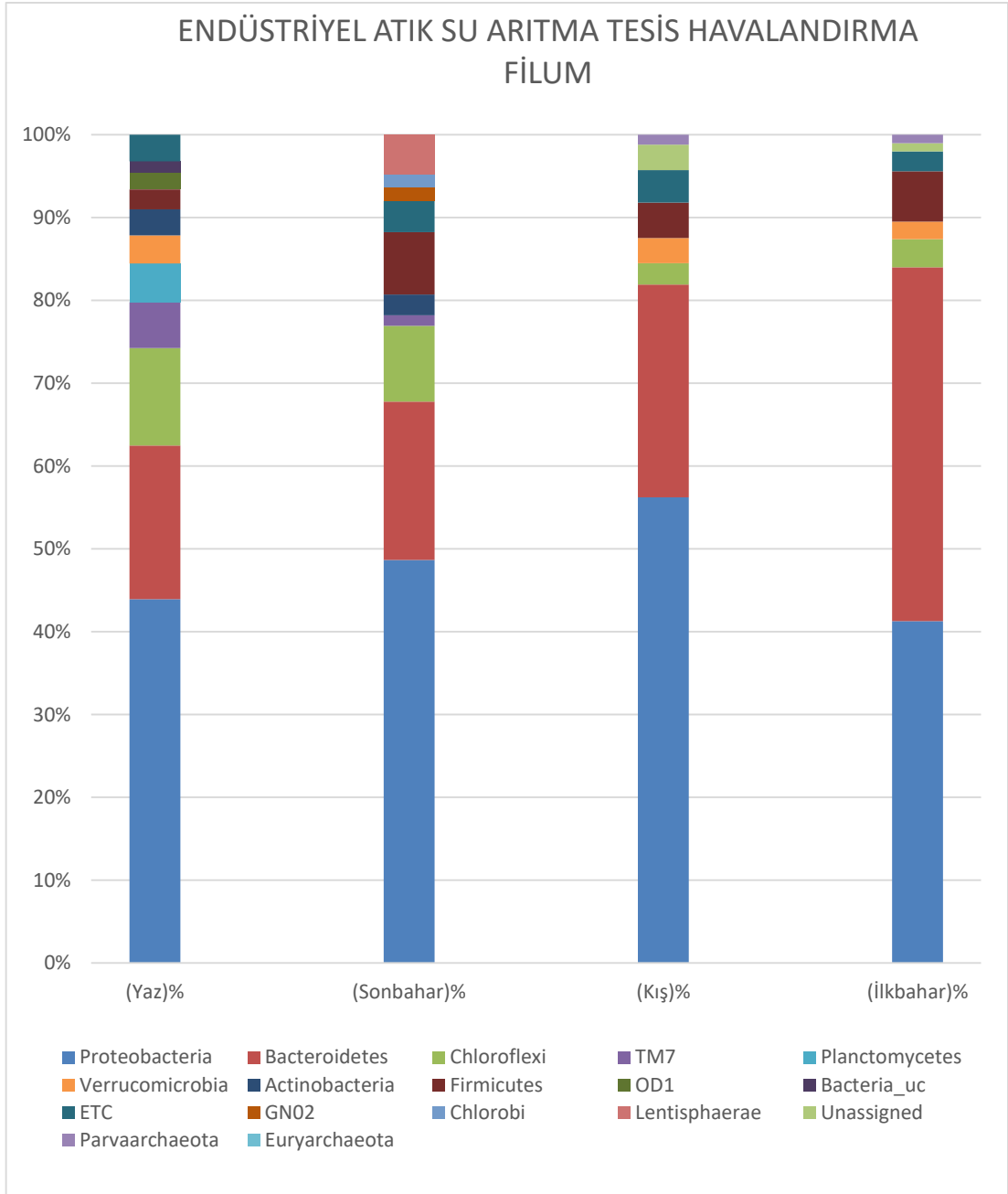
Şekil 3.74. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

Cins düzeyinde mikrobiyal komünite yapısı karşılaştırıldığında oldukça farklı olduğu görülmektedir. Şekil 3.75’de görüldüğü gibi yaz mevsiminde *Streptococcus* en baskın cinstir. *Brachymonas*, *Prevotella* ve *Lactococcus* ise sırasıyla diğer baskın cinslerdir. Sonbahar ve ilkbahar mevsimlerinde ise *Prevotella* cinsi en baskın cinstir. Kış mevsiminde ise *Cloacibacterium* ve *Arcobacter* baskın cinslerdir.



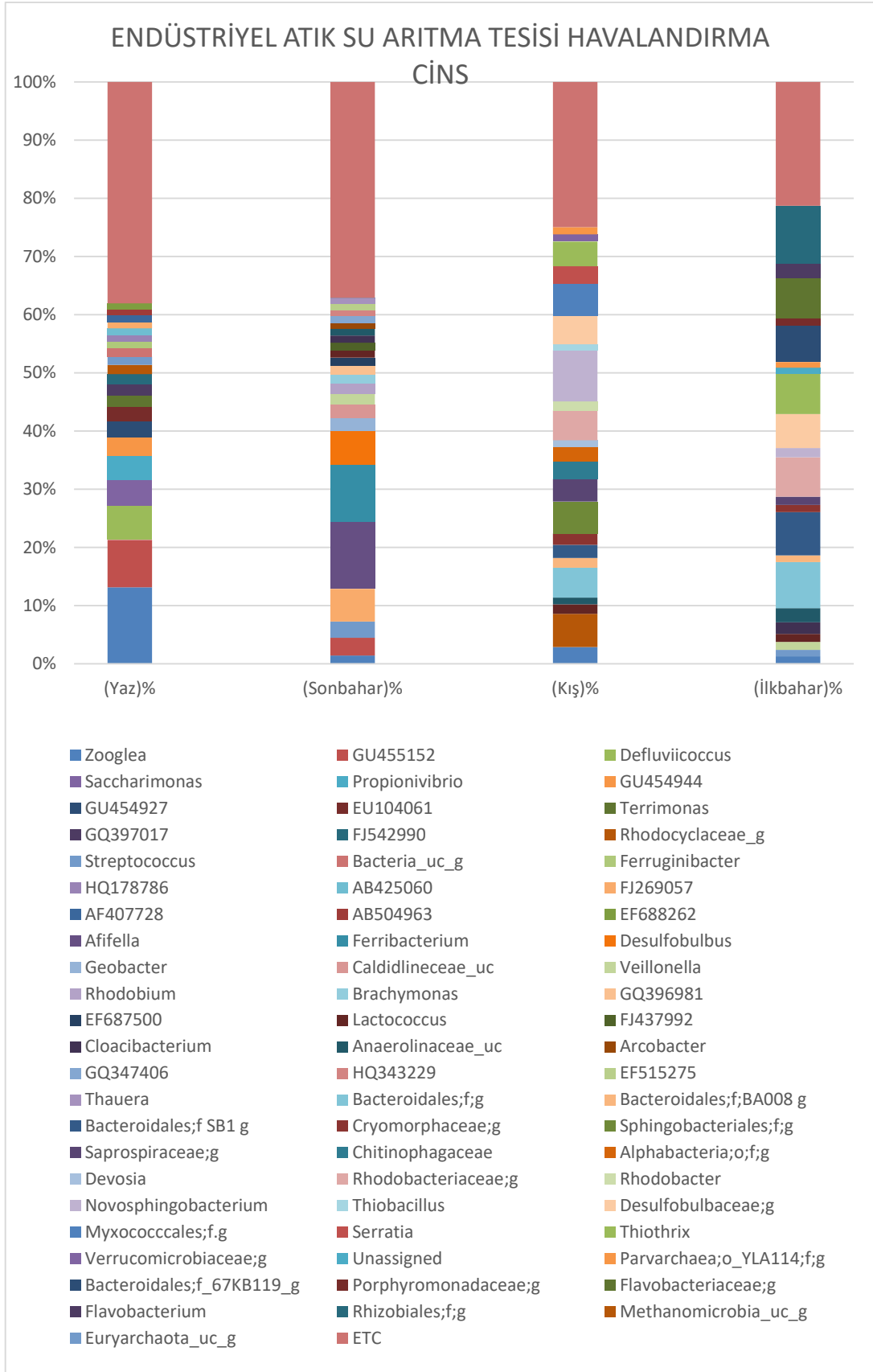
Şekil 3.75. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğini, Şekil 3.76' da görüldüğü gibi baskın olarak Proteobacteria, Bacteroidetes ve Chloroflexi oluştursa da mevsimler arası farklılıklar bulunmaktadır. Ancak kış ve ilkbahar örneklemelerinin kommunité içeriği birbirine daha yakındır.



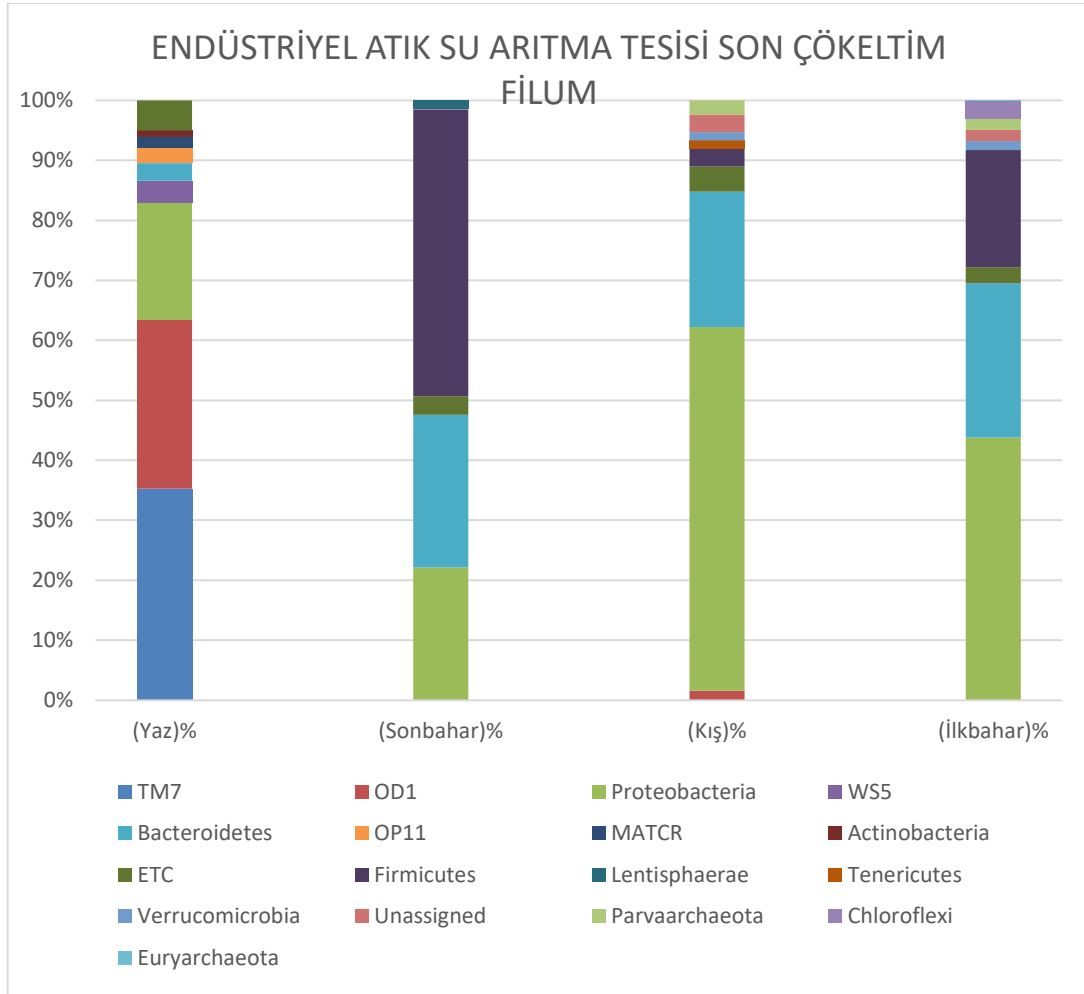
Şekil 3.76. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

Cins düzeyinde ise Şekil 3.77 'de de belirtildiği gibi havalandırma ünitesinin mevsimsel örneklemelerinin mikrobiyal kommunité yapısı oldukça farklıdır. Yaz mevsimi örneklemeinde *Zooglea* cinsi en baskın cinstir. Bunu sırasıyla *GU455152* ve *Defluviicoccus* cinsleri izlemektedir. Sonbahar mevsimi örneklemeinde *Afifella*, *Ferribacterium* ve *Desulfobulbus* baskın cinslerdir. Kış mevsiminde *Novosphingobacterium*, yaz mevsiminde ise Rhizobiales;f;g üyeleri baskındır.



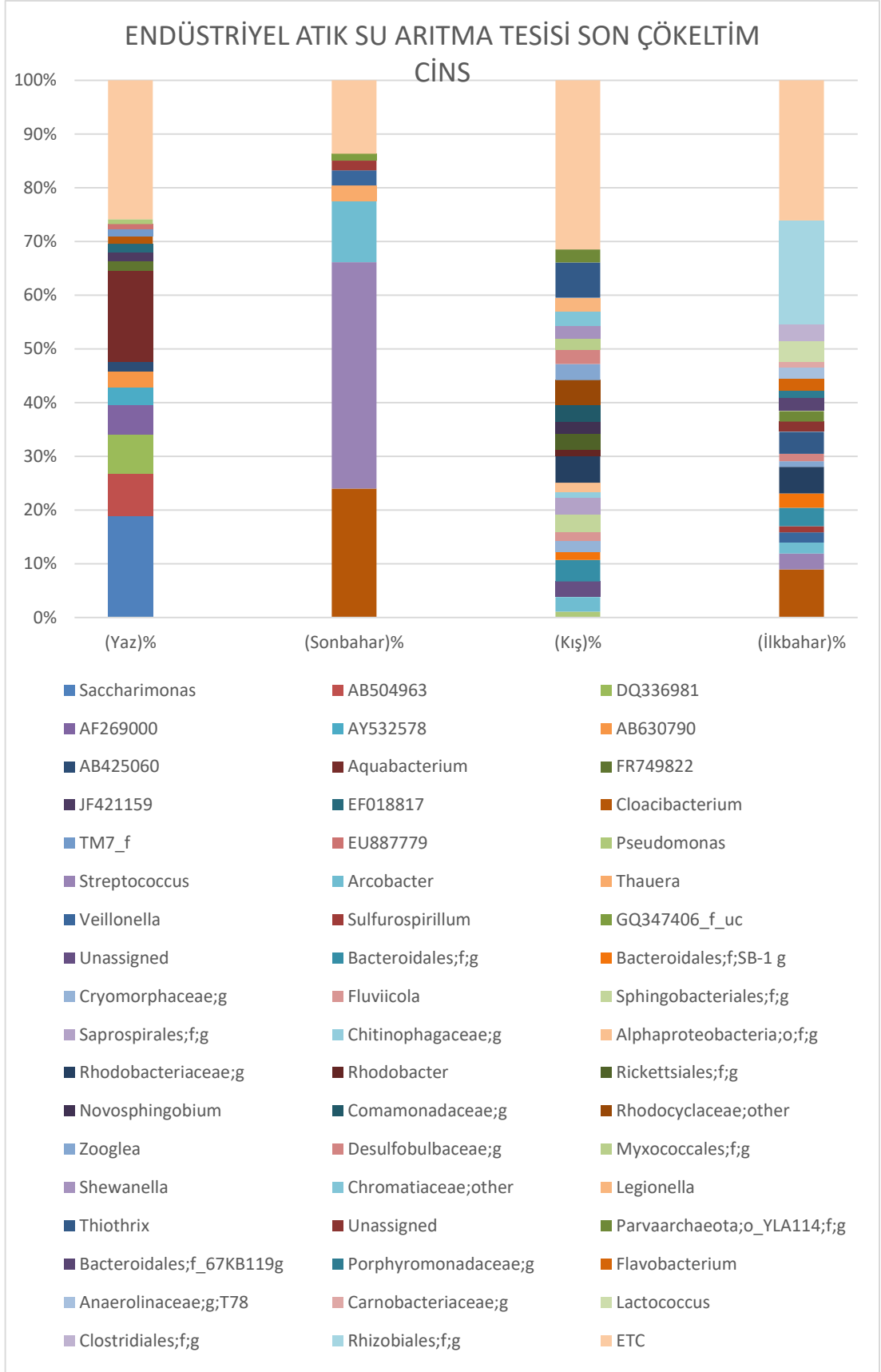
Şekil 3.77. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi örneklemelerini filum düzeyinde mevsimsel karşılaştıracak olursak Şekil 3.78’de görüldüğü gibi mikrobiyal kommunité yapısının oldukça farklı olduğu belirlenmiştir. Yaz mevsiminde TM7 ve OD1 baskın iken, sonbahar mevsiminde Firmicutes filumu baskındır. Kış ve ilkbahar mevsiminde Proteobacteria ve Bacteroidetes baskındır. Fakat ilkbahar mevsiminde Firmicutes üyeleri de yoğun olarak bulunmaktadır.



Şekil 3.78. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

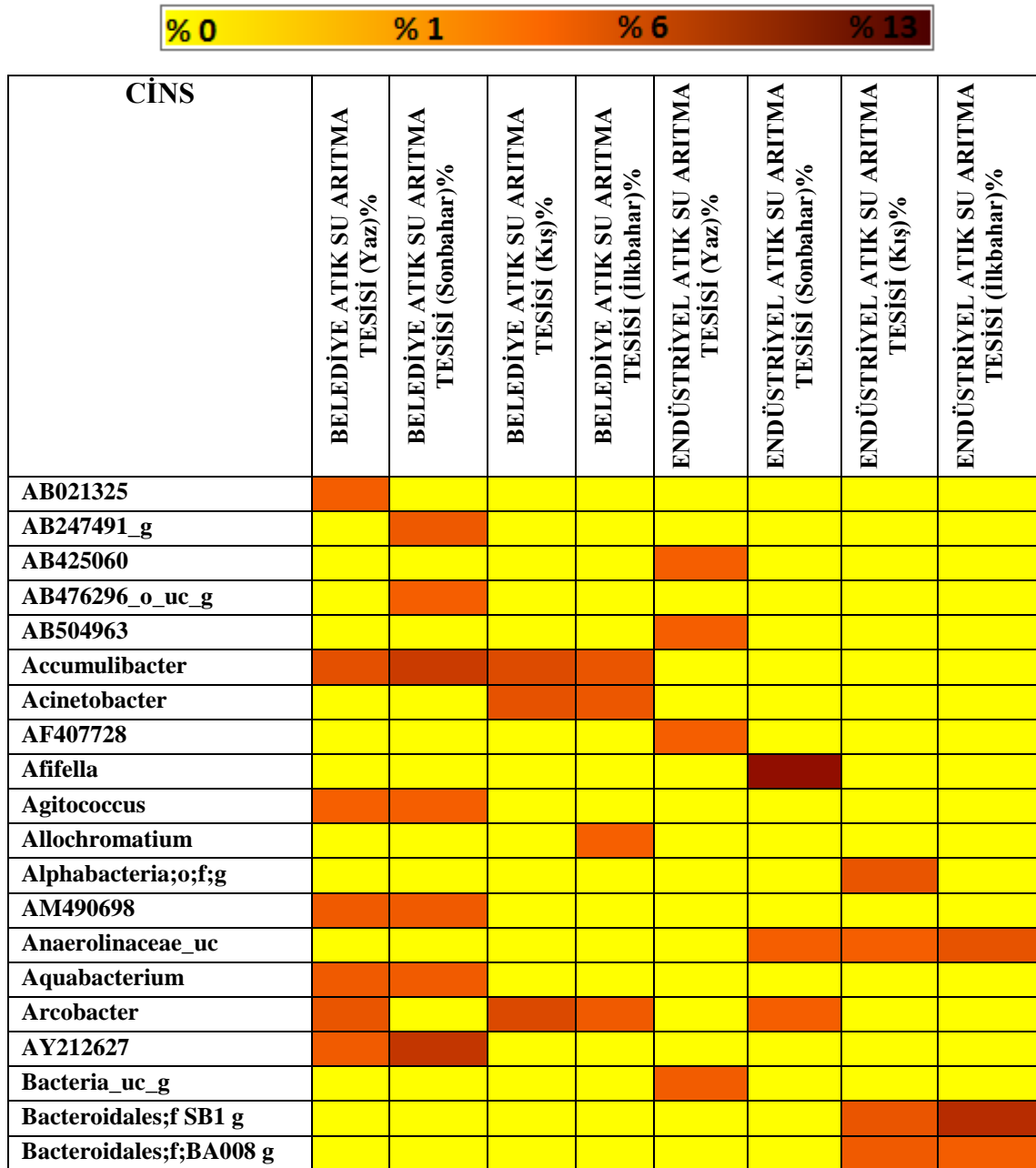
Cins düzeyinde incelendiğinde ise Şekil 3.79’da belirtildiği gibi mikrobiyal kommunité içeriği mevsimsel olarak son derece farklılık göstermiştir. Yaz mevsiminde *Saccharimonas* ve *Aquabacterium* baskın cinsler iken kış mevsiminde *Streptococcus* en dominant cinstir. Kış mevsiminde ise *Thiothrix* baskın olmakla birlikte farklı grupların da yakın oranlarda bulunduğu görülmüştür. İlkbahar mevsiminde ise Rhizobiales; f; g ve *Cloacibacterium* baskındır.



Şekil 3.79. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

3.6.4.1.11. Tesislerin havalandırma ünitelerinin birbiriyle karşılaştırılması

Her iki tesisin havalandırma üniteleri cins düzeyinde mevsimsel olarak karşılaştırıldığında Şekil 3.80’de görüldüğü gibi ortak grup yok denecek kadar azdır. Mevsimsel olarak değerlendirildiğinde ise Belediye Atık Su Arıtma Tesisinde tüm mevsimlerde görülen cinsler *Accumulibacter*, *Arcobacter*, *Comamonadaceae_uc*, *Moraxellaceae_uc*, *OM27_f* dir. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisinde ise *Anaerolinaceae_uc*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Zooglea* ‘dır.



Şekil 3.80. Belediye Atık Su Arıtma Tesis ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisinin havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde karşılaştırılması

CİNS	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (Yaz)%	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (Sonbahar)%	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (Kış)%	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (İlkbahar)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (Yaz)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (Sonbahar)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (Kış)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (İlkbahar)%
Bacteroidales;f_67KB119_g								
Bacteroides								
Brachymonas								
Caldilinea								
Chitinophagaceae;g								
Cloacibacterium								
Comamonadaceae_uc								
Cryomorphaceae;g								
Dechloromonas								
Defluviicoccus								
Desulfobulbaceae;g								
Desulfobulbus								
Devosia								
DQ676361								
EF515275								
EF687500								
EF688262								
EU104061								
Ferribacterium								
Ferruginibacter								
FJ269057								
FJ437992								
Flavobacteriaceae;g								
Flavobacterium								
Geobacter								
GQ347406								
GQ396868_g								
GQ396981								
GQ397017								
GQ500701								
GU454927								
GU454944								
GU455152								
Halomonadaceae;g								
HQ010811								
HQ178786_g								
HQ343208_g								

Şekil 3.80. (Devam) Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nin havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde karşılaştırılması

CİNS	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (Yaz)%	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (Sonbahar)%	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (Kış)%	BELEDİYE ATIK SU ARITMA TESİSİ (İlkbahar)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (Yaz)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (Sonbahar)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (Kış)%	ENDÜSTRİYEL ATIK SU ARITMA TESİSİ (İlkbahar)%
Lactococcus								
Leptospira								
Limnohabitans								
Microthrix								
Moraxellaceae_uc								
Myxococcales;f;g								
Neisseriaceae_uc								
Novosphingobacterium								
OM27_f								
Opiritus								
Parvarchaea;o_YLA114;f;g								
Porphyromonadaceae;g								
Propionivibrio								
Prostheco bacter								
Rhizobiales;f;g								
Rhodobacter								
Rhodobacteriaceae;g								
Rhodobium								
Rhodocyclaceae_uc								
Saccharimonas								
Saprospiraceae_uc								
Serratia								
Sideroxydans								
Sphingobacteriales;f;g								
Sterolibacterium_f_uc								
Streptococcus								
Sulfuritalea								
Terrimonas								
Tetrasphaera								
Thauera								
Thiobacillus								
Thiothrix								
Unassigned								
Veillonella								
Verrucomicrobiaceae;g								
Zooglea								
ETC								

Şekil 3.80. (Devam) Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nin havalandırma ünitesi mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde karşılaştırılması

3.6.4.2. Anaerobik atık su arıtma sistemlerinde mikrobiyal çeşitlilik analizi

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücüden yapılan yaz mevsimi örnekleme sonucu yapılan analizde Bacteria taksonomik kompozisyonun analizi sonucu; % 30,57 Bacteroidetes, % 18,2 Cloacamonas, %15,54 Proteobacteria, % 9,39 Spirochaetes, %8,36 Chloroflexi, filumuna aittir. Cins düzeyinde % 18,37 *Cloacomonas*, % 17,54 *HQ183936*, % 8,58 AY214182 bulunmaktadır. Tür düzeyinde ise % 17,25 AY780554 (Uncultured Bacteroides clone), % 15,37 DQ984664, % 7,90 EU591644, % 4,09 CU924993 (Uncultured Bacteroidetes bacterium) bulunmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücüden yapılan yaz mevsimi örnekleme sonucu yapılan analizde Arkea taksonomik kompozisyonun analizi sonucu; filum düzeyinde % 92,89 Euryarchaeota, % 6,94 Crenarchaeota, % 0,04 Thaumarchaeota belirlenmiştir. Cins düzeyinde % 44,43 AY693811_g, % 20,48 *Methanosaeta*, % 12,50 AF424770_g, % 5,35 AF424768_g, % 4,90 *Methanoculleus*, % 3,762 *Methanobacterium*, % 3,612 *Methanobrevibacter* belirlenmiştir. Tür düzeyinde ise % 43,23 CU916953_s, % 17,70 *Methanosaeta concilii*, % 12,41 AF424770_s, % 3,46 *Methanoculleus receptaculi*, % 3,44 CU915923_s, % 2,73 *Methanobrevibacter smithii* belirlenmiştir.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü sonbahar mevsimi örneğinin Bacteria taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde % 22,691 Bacteroidetes, % 20,303 Proteobacteria, % 12,527 Thermotogae, % 10,111 Chloroflexi, % 8,997 Actinobacteria, % 8,572 Cloacamonas (FCB grup) oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 11,730 HQ183936_g, % 9,846 EU639069_g, % 8,041 *Cloacamonas*, % 5,281 AJ009469 oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 11,677 AY780554, % 9,766 CR933192, % 6,343 DQ984664 oluşturmaktadır.

Sonbahar örnekleme verileri incelendiğinde filum düzeyinde Arkea üyeleri % 0,8 Euryarchaeota üyelerinden oluşmaktadır. Cins düzeyinde % 0,1 *Methanobrevibacter*, % 0,2 *Methanobacteriales WSA2_g*, % 0,2 *Methanoculleus*, % 0,2 *Methanosaeta*, % 0,1 *Methanomassiliicoccaeae_g* bulunmaktadır. Tür düzeyinde ise % 0,1 *Methanobrevibacter s.*, % 0,2 *Methanobacteriales WSA2_g_s*, % 0,2 *Methanoculleus s.*, % 0,2 *Methanosaeta s.*, % 0,1 *Methanomassiliicoccaeae_g_s* bulunmaktadır.

Bakteri çeşitliliği incelendiğinde % 28,4 Proteobacteria, %23,4 Bacteroidetes, %12,7 Bacteria p_WWE 1, % 5,7 Thermotogae, %5,6 Firmicutes, %5 Actinobacteria

filumu üyeleri baskın bir şekilde bulunmaktadır. Cins düzeyinde % 9,4 *Cloacamonaceae_g W5*, % 8,5 *Bacteroidales_f_g*, %6,4 *Rikenellaceae Blvii 28* bulunmaktadır. Tür düzeyinde % 9,4 *Cloacomonas W5 s.*, % 8,5 *Bacteroidales_f_g_s.*, % 6,4 *Rikenellaceae Blvii 28 s.*, % 4,2 *Fervidobacterium s.*, %3,3 *Arcobacter s.*, %3,3 *Syntrophus s.* bulunmaktadır.

Kış mevsimi örnekleme verileri incelendiğinde filum düzeyinde % 1,2 Euryarchaeota üyeleri belirlenmiştir. Cins düzeyinde %0,4 *Methanobacteriales_f_WSA2_g*, %0,1 *Methanomicrobiales_f_g*, %0,2 *Methanoculleus*, %0,3 *Methanospirillum*, %0,2 *Methanosaeta* bulunmaktadır. Tür düzeyinde de %0,4 *Methanobacteriales_f_WSA2_g_s*, %0,1 *Methanomicrobiales_f_g_s*, %0,2 *Methanoculleus s.*, %0,3 *Methanospirillum s.*, %0,2 *Methanosaeta s.*, bulunmaktadır.

Bakteri çeşitliliği incelendiğinde filum düzeyinde % 26,8 Bacteroidetes, % 22,9 Proteobacteria, % 8,3 Firmicutes, % 8,3 WWE1, % 6,5 Choloroflexi üyesi görülmektedir. Cins düzeyinde değerlendirildiğinde % 10,5 *Bacteroidales_f_g*, % 6,8 *SB1_g*, % 5,4 *Cloacamonaceae W5*, % 4 *Fervidobacterium*, % 4 Anaerolineaeceae T78 içermektedir. Tür düzeyinde ise % 10,5 *Bacteroidales_f_g_s*, % 6,8 *SB1_g_s*, % 5,4 *Cloacamonaceae W5_s*, % 4 *Fervidobacterium s.*, % 4 Anaerolineaeceae T78 içermektedir.

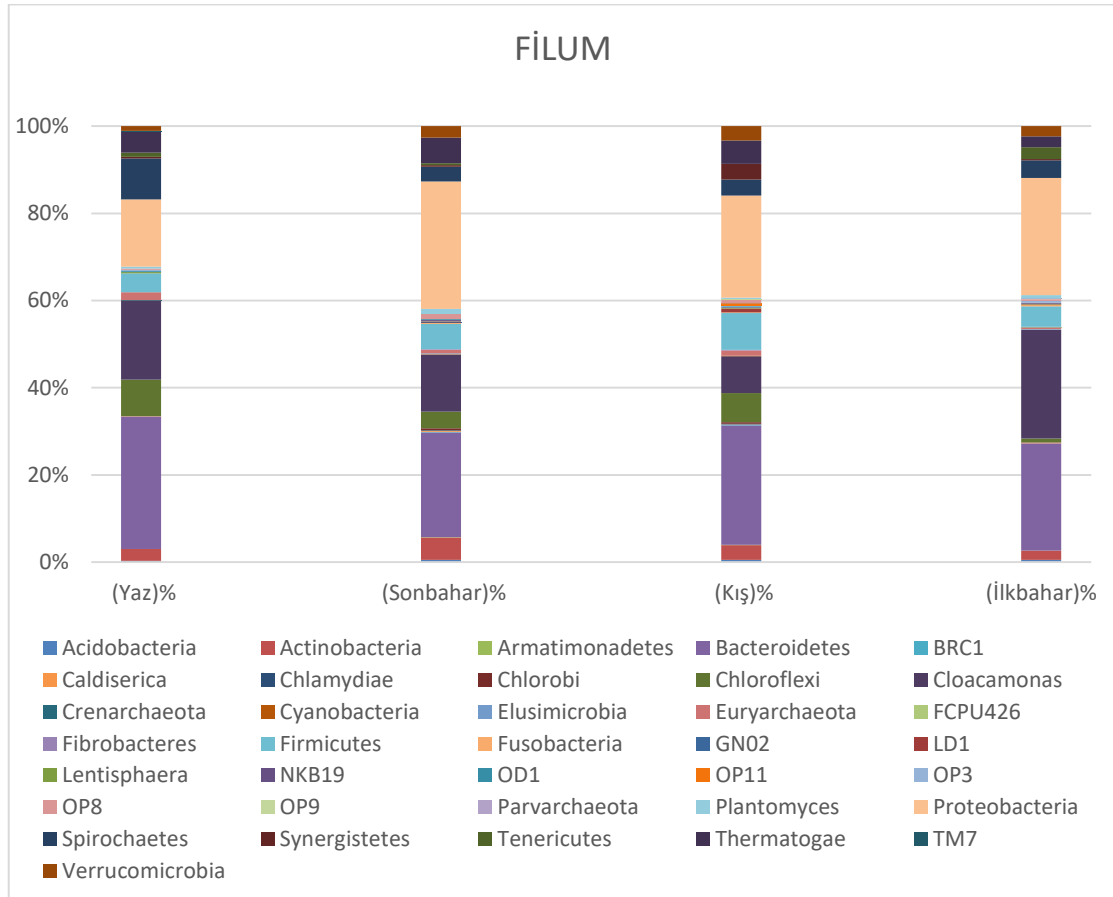
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü ilkbahar örnekleme Arkea taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde % 0,3 Euryarchaeota, %0,1 Parvarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde %0,1 *Methanobacteriales;fWSA2;g*, % 0,1 *Parvarchaea;oWCHD3-30;f;g* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde % 0,1 *Methanobacteriales;fWSA2;g;s*, % 0,1 *Parvarchaea;oWCHD3-30;f;g;s* oluşturmaktadır.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü ilkbahar örnekleme Bacteria taksonomik kompozisyonu filum düzeyinde % 26,6 Proteobacteria, % 24,5 WWE-1, % 24,4 Bacteroidetes, % 4,7 Firmicutes oluşturmaktadır. Cins düzeyinde % 22,1 *Colacomonas*, %7,6 *Bacteroidales_f_g*, % 4,6 *Syntrophus* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde ise %22,1 *Cloacomonas sp.*, %7,6 *Bacteroidales_f_g_s*, %4,6 *Syntrophus sp.* oluşturmaktadır.

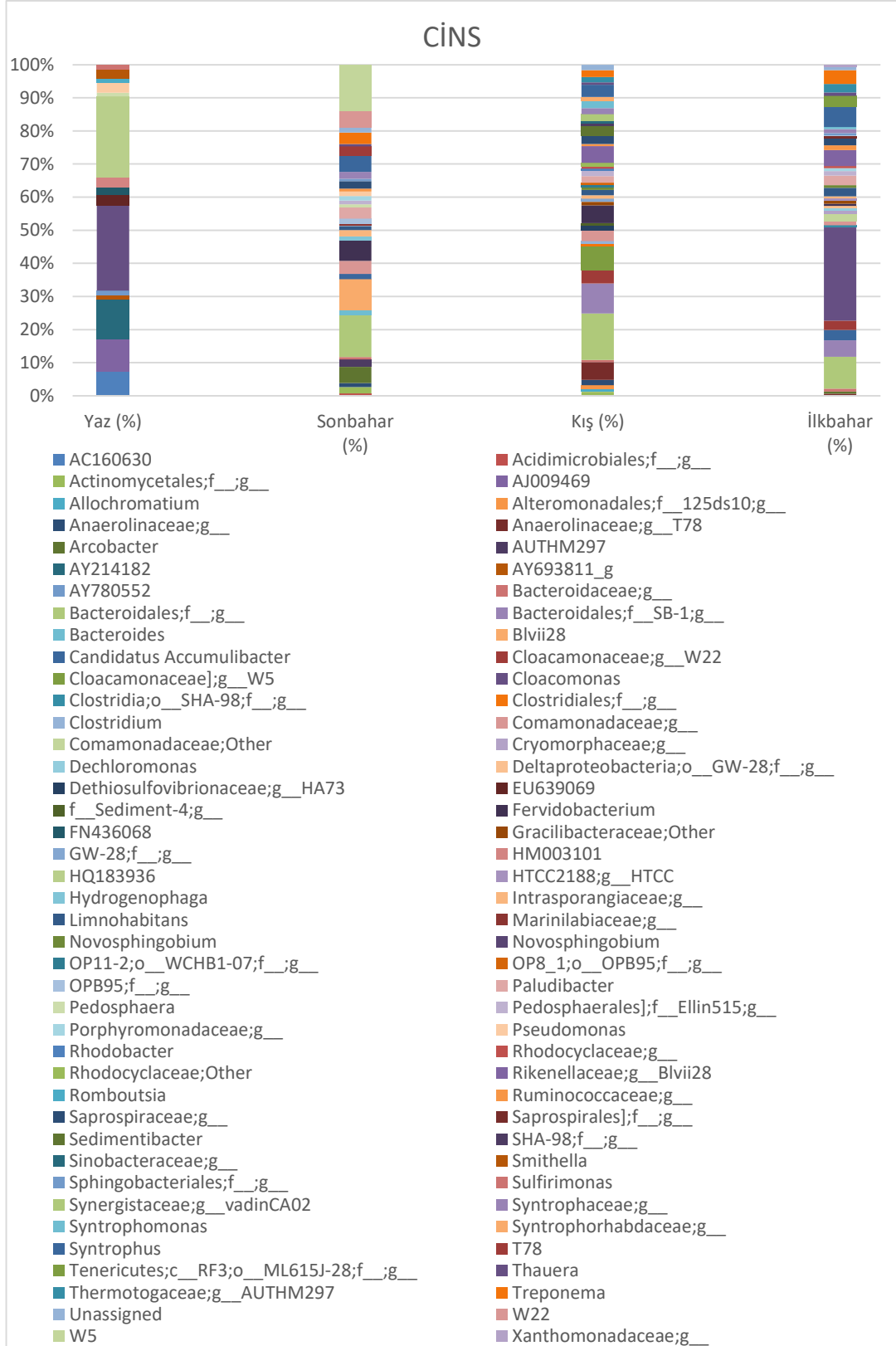
Özetlemek gerekirse anaerobik çürütücü ortalama mikrobiyal kompozisyonunu Archaea domaini için Euryarchaeota filumu üyeleri oluşturmaktadır. Sınıf düzeyinde Methanomicrobia, Thermoplasmata, Methanobacteriia ordo düzeyinde Methanosarcinales, Methanobacteriales, Methanomicrobiales, Thermoplasma, familya düzeyinde Methanosaetaceae, Methanomassiliicoccaceae, Methanobactericeae,

Methanomicrobiaceae, cins düzeyinde *Methanosaeta*, *Methanoculleus*, *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* oluşturmaktadır. Tür düzeyinde temsilciler örnek verecek olursak; *Methanosaeta concilii*, *Methanoculleus receptaculi*, *Methanobrevibacter smithii* gibi türler verilebilir.

Bacteria domaini için ise Şekil 3.81’de görüldüğü gibi Bacteroidetes, Cloacomonas, Proteobacteria, Spirochaetes, Chloroflexi, Thermatogae, Firmicutes ve Actinobacteria filumu üyeleri baskındır. Sınıf düzeyinde ise Bacteroidia, Cloacomonas, Spirochaetes, Anaerolinea, Betaproteobacteria, Thermatogae_c, Clostridia, Actinobacteria, Deltaproteobacteria bulunmaktadır. Ordo düzeyinde Bacteroidales, Cloacomonas_o, Thermatogales, Anaerolinales, Burkholderiales baskındır. Familya düzeyinde Cloacomonadaceae, Acetobacteroidetes, Spirochaetaceae, Anaerolinecae, cins düzeyinde ise Şekil 3.82’de görüldüğü gibi *Cloacomonas*, *Syntrophus*, *Arcobacter* üyeleri baskındır.



Şekil 3.81. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü mikrobiyal çeşitliliğinin filum düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

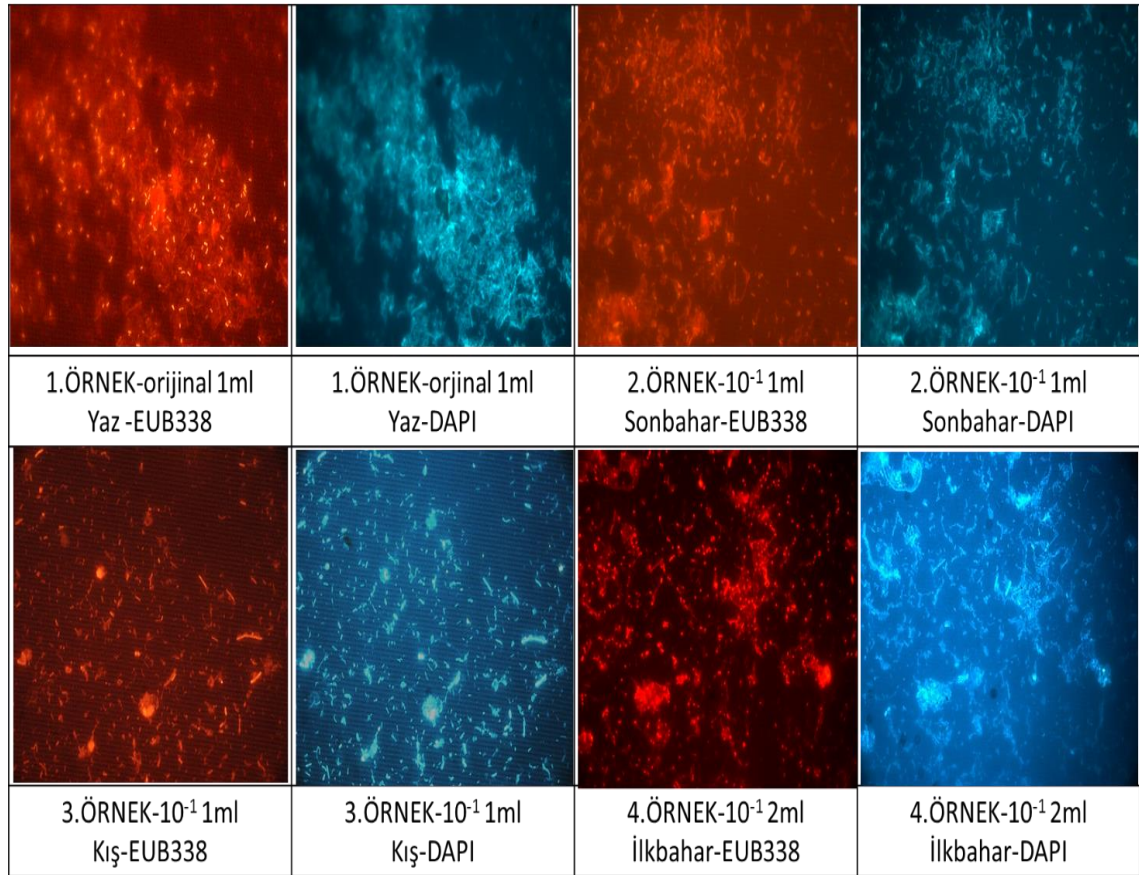


Şekil 3.82. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik çürütücü mikrobiyal çeşitliliğinin cins düzeyinde mevsimsel değerlendirilmesi

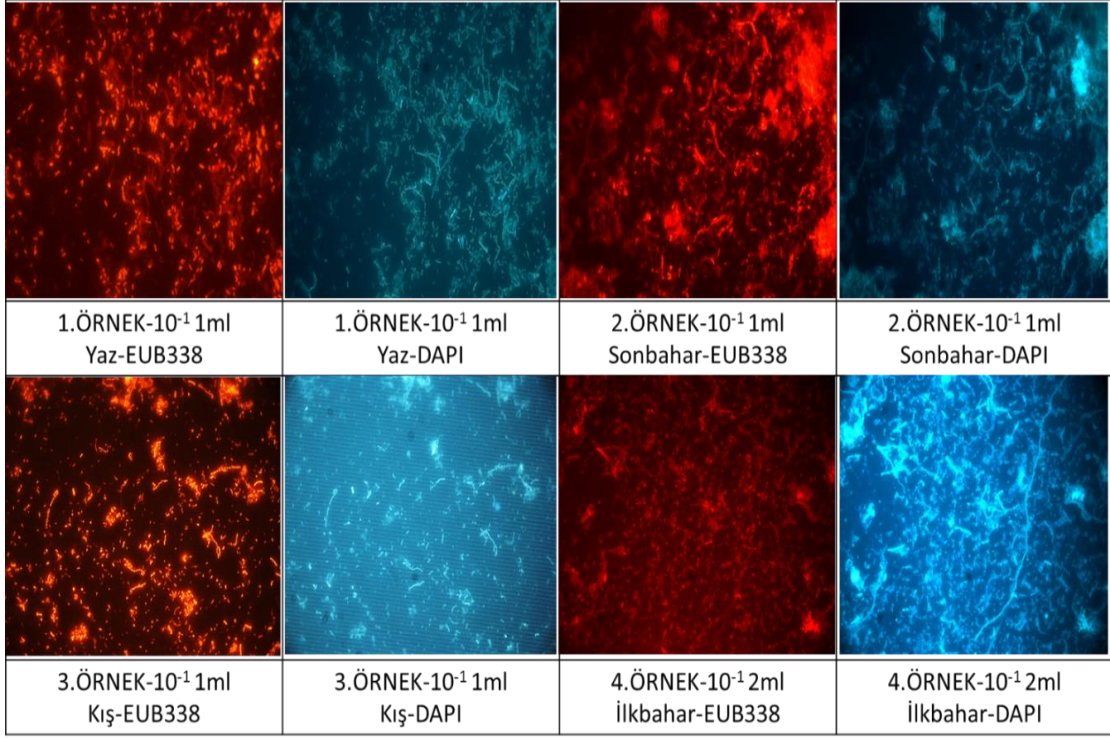
3.6.5. Floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve DAPI (4',6'-diamidino-2-fenilindol-dihidroklorur) boyama

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ve Belediye Atık Su Arıtma Tesisi mikrobiyal kominite analizi için 4 mevsim boyunca farklı örnekleme noktalarından alınan örneklerden Bacteria sayımı gerçekleştirmek için Eub 338, Archaea sayımını gerçekleştirmek için Arc 344 ve Arc 915 problemleri kullanılmıştır. Hibridizasyon sonrası elde edilen veriler ile tüm örneklerde Bacteria domaini üyelerinin oldukça baskın olduğu belirlenmiştir. Archaea spesifik problemlerle yapılan hibridizasyon sonucu örneklerin çoğunda ışığa görülemezken bazı örneklerde de çok düşük sayıda ışığa olduğu belirlenmiştir. Yani bazı örneklerden Archeae sinyali alınamamıştır.

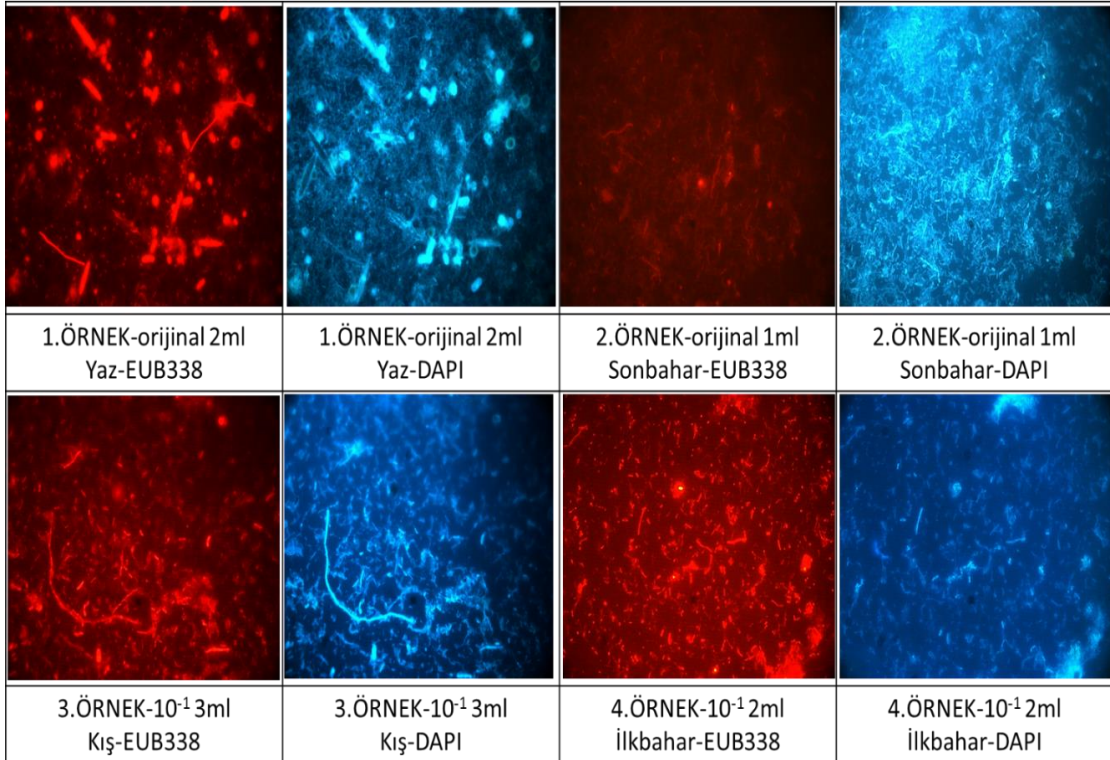
Aşağıdaki Şekiller 3.83-3.92'de bu problemlere ait floresan mikroskopu görüntüleri, DAPI ile toplam hücre sayıları ve Bacteria hücre sayıları ise Tablo 3.17-3.26'da verilmiştir. Farklı morfolojilerde olduğu belirlenen hücre tipleri ise Şekil 3.93'de gösterilmiştir.



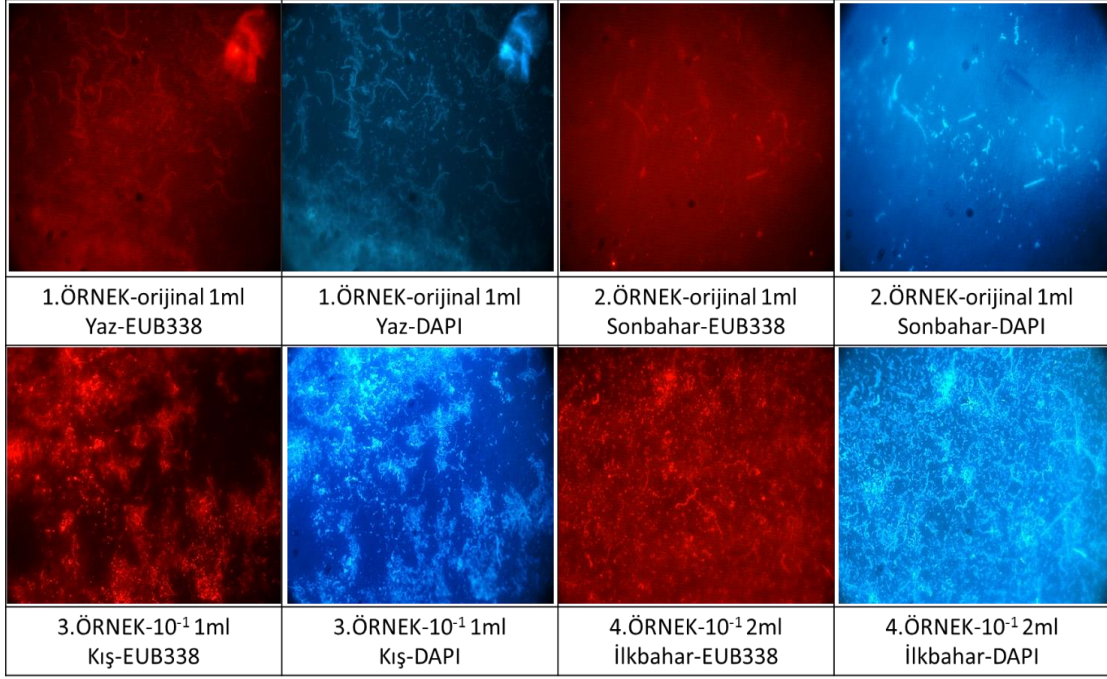
Şekil 3.83. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Kum Tutucu EUB-338 probu ve DAPI boyama



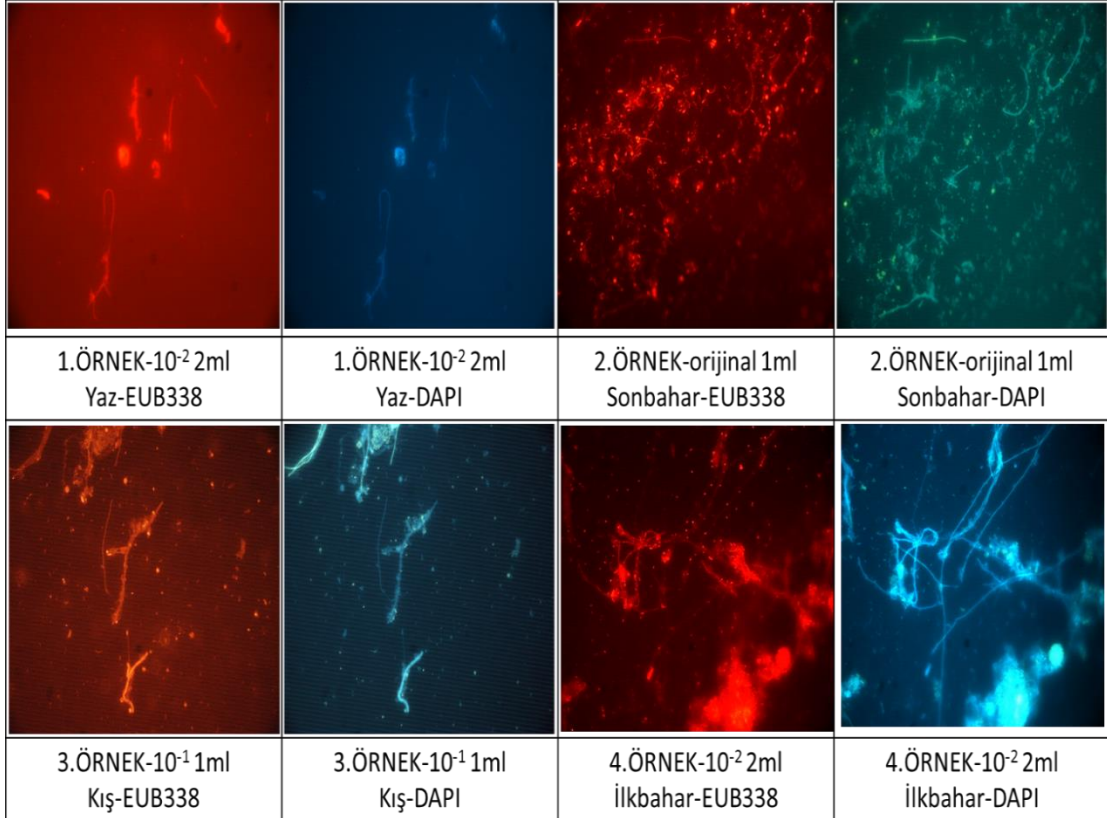
Şekil 3.84. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Kum Tutucu EUB-338 probu ve DAPI boyama



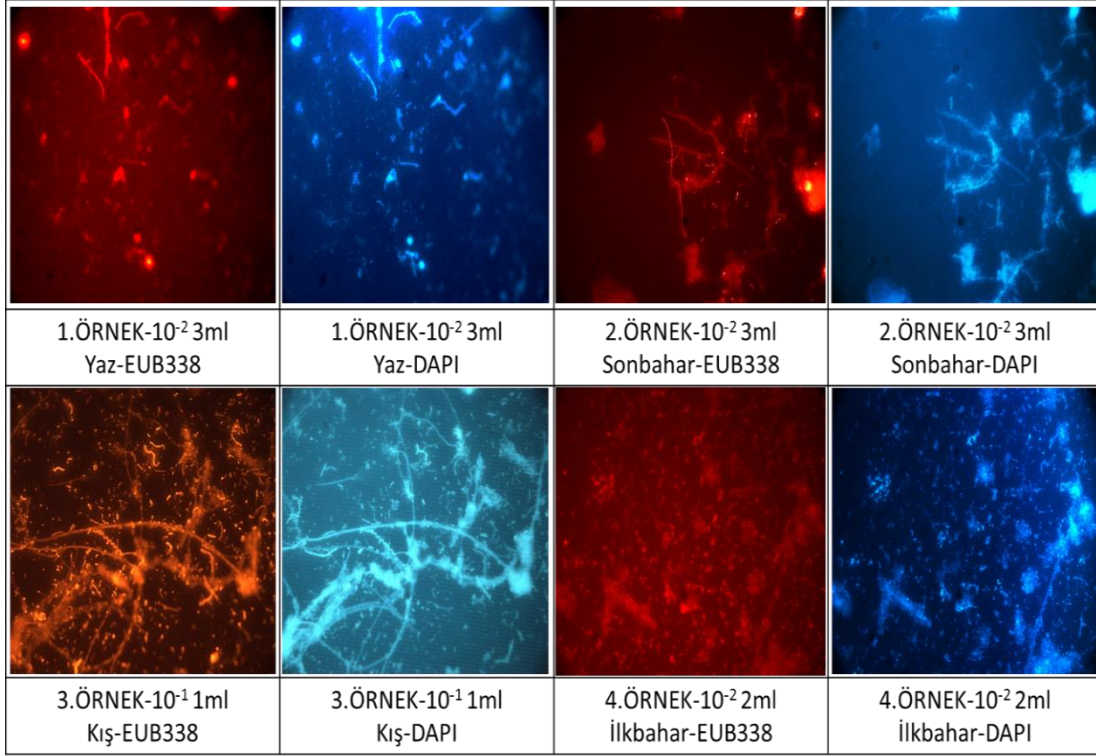
Şekil 3.85. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Ön çökeltim EUB-338 probu ve DAPI boyama



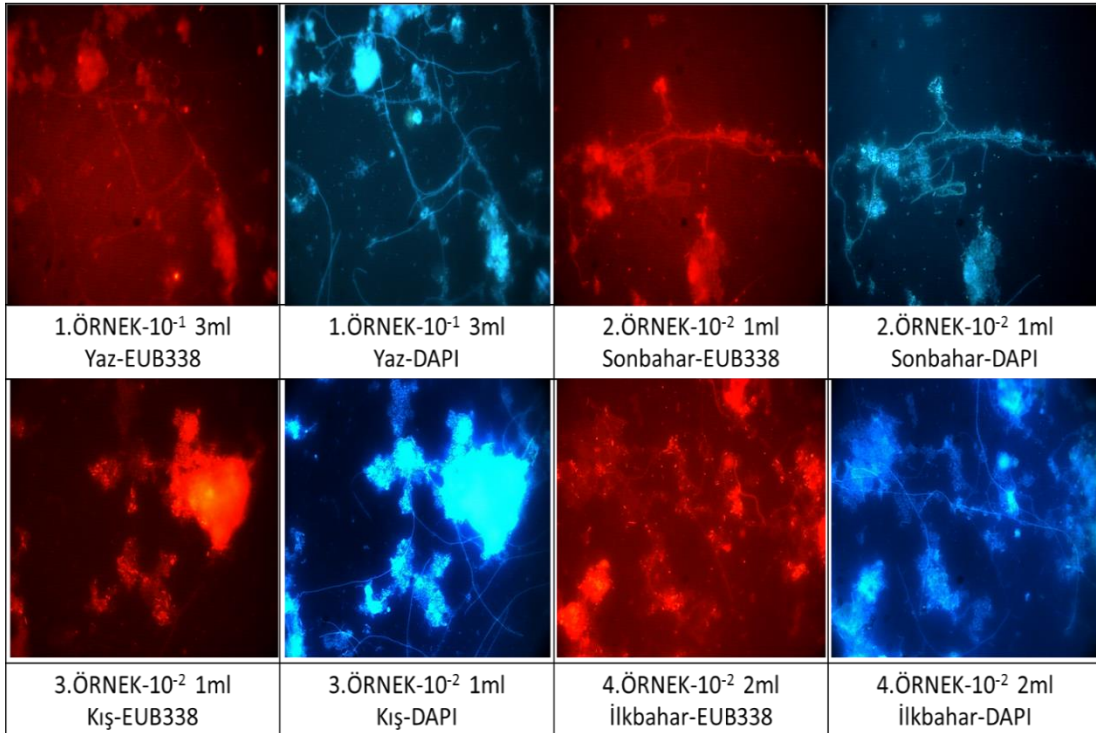
Şekil 3.86. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Ön çökeltim EUB-338 probu ve DAPI boyama



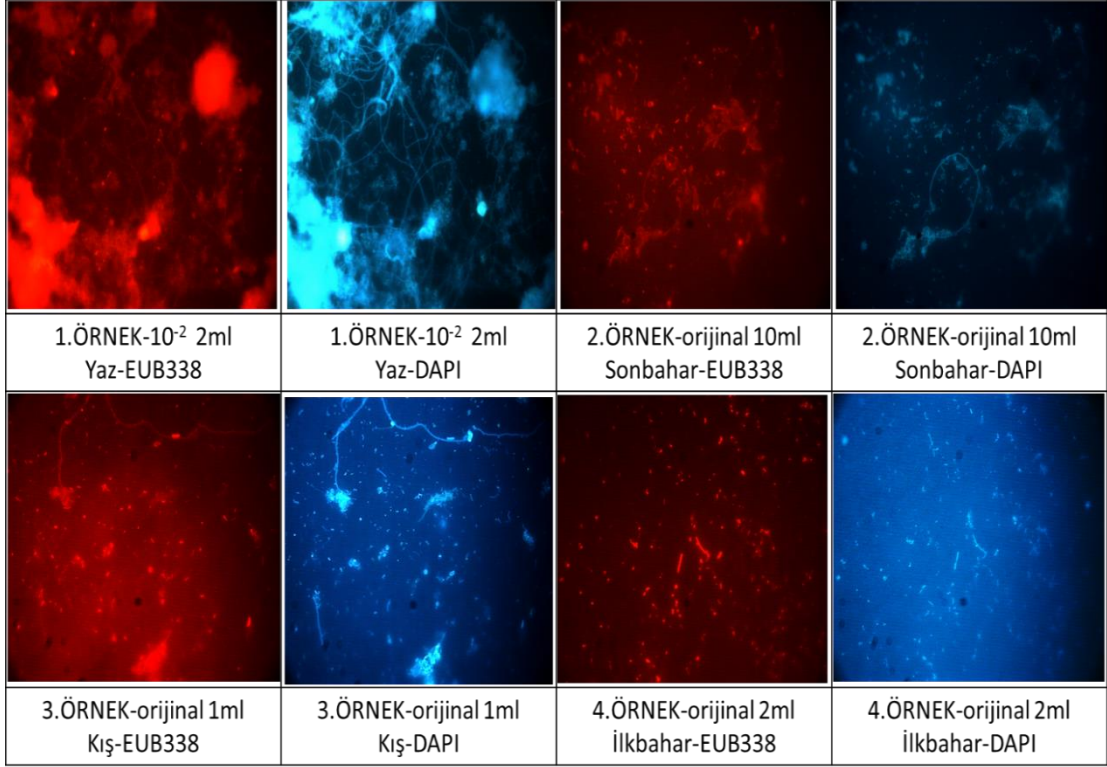
Şekil 3.87. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Havalandırma EUB-338 probu ve DAPI boyama



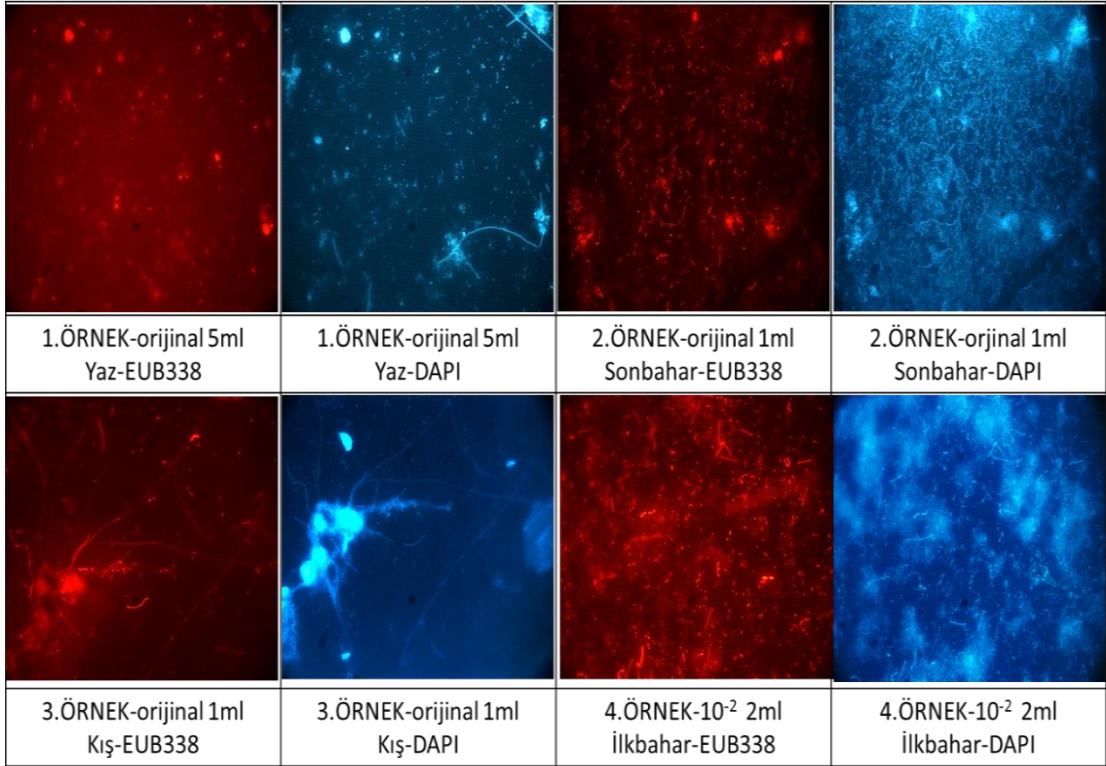
Şekil 3.88. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Havalandırma EUB-338 probu ve DAPI boyama



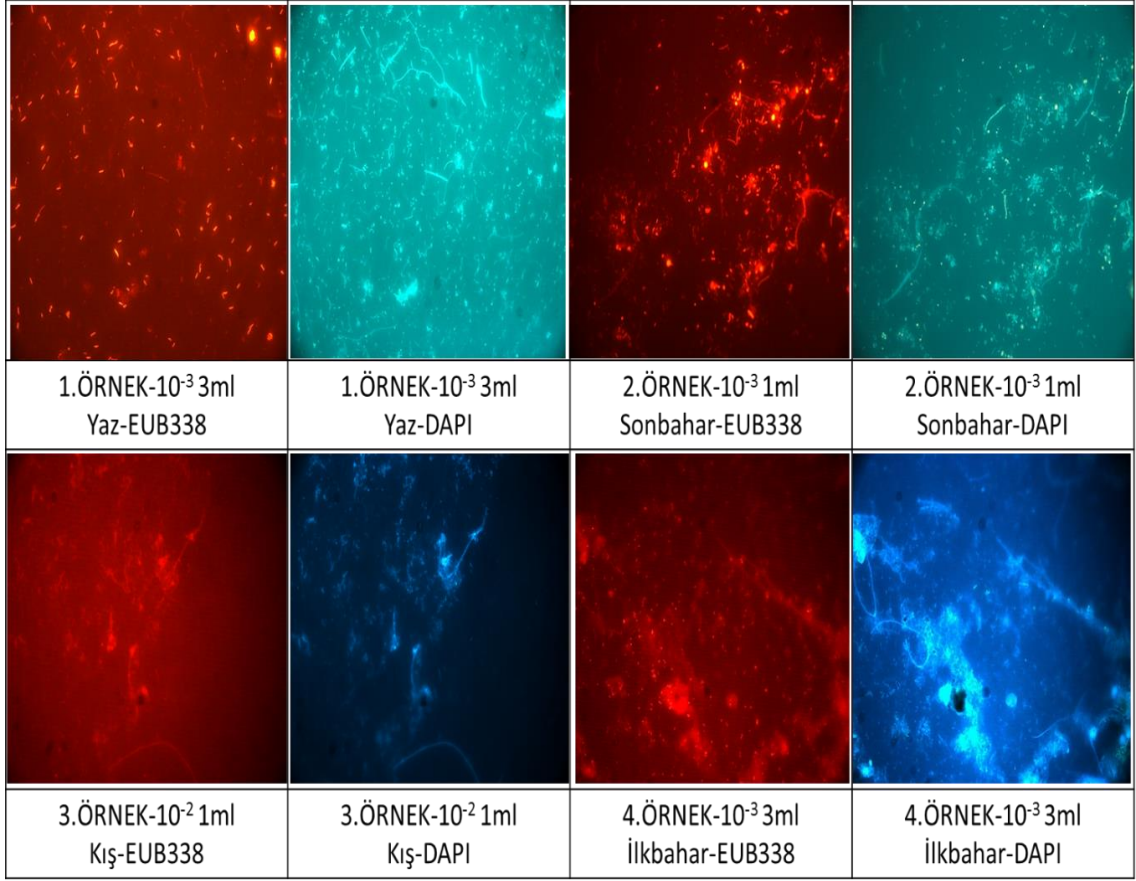
Şekil 3.89. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Geri Devir EUB-338 probu ve DAPI boyama



Şekil 3.90. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Son çökeltim EUB-338 probu ve DAPI boyama



Şekil 3.91. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi –Son çökeltim EUB-338 probu ve DAPI boyama



Şekil 3.92. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi –Anaerobik EUB-338 probu ve DAPI boyama

Tablo 3.17. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 1. Örnekleme-Yaz Mevsimi	2,1x10 ⁸	1,5 x10 ⁸	1,9 x10 ⁸	1,3 x10 ⁸
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 2. Örnekleme-Sonbahar Mevsimi	1,3 x10 ⁹	8,8 x10 ⁸	9,4 x10 ⁸	7 x10 ⁸
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 3. Örnekleme-Kış Mevsimi	1,2 x10 ⁹	4,8 x10 ⁸	9,8 x10 ⁸	1,8 x10 ⁸
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 4. Örnekleme-İlkbahar Mevsimi	9,1 x10 ⁸	2,5 x10 ⁸	6,3 x10 ⁸	2,3 x10 ⁸

Tablo 3.18. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 1. Örneklemeye-Yaz Mevsimi	1,84x10 ⁸	1,26x10 ⁸	6,75 x10 ⁷	2,91 x10 ⁷
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 2. Örneklemeye-Sonbahar Mevsimi	4,24 x10 ⁸	1,45 x10 ⁸	2,51x10 ⁸	8,72 x10 ⁷
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 3. Örneklemeye-Kış Mevsimi	6,36 x10 ⁸	1,02 x10 ⁸	3,59 x10 ⁸	9,28 x10 ⁷
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 4. Örneklemeye-İlkbahar Mevsimi	6,25 x10 ⁸	1,86 x10 ⁸	5,09 x10 ⁸	1,63 x10 ⁸

Tablo 3.19. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 1. Örneklemeye-Yaz Mevsimi	4,58x10 ⁸	2,07x10 ⁸	3,97 x10 ⁸	2,38 x10 ⁸
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 2. Örneklemeye-Sonbahar Mevsimi	1,36 x10 ⁸	6,02 x10 ⁷	1,15 x10 ⁸	4,26 x10 ⁷
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 3. Örneklemeye-Kış Mevsimi	5,80 x10 ⁸	4,47 x10 ⁸	4,44 x10 ⁸	2 x10 ⁸
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 4. Örneklemeye-İlkbahar Mevsimi	3,52 x10 ⁹	1,66 x10 ⁹	2,97 x10 ⁹	1,42 x10 ⁹

Tablo 3.20. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Geri Devir 1. Örneklemeye-Yaz Mevsimi	4,43x10 ⁸	1,53x10 ⁸	2,40 x10 ⁸	9,36 x10 ⁷
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Geri Devir 2. Örneklemeye-Sonbahar Mevsimi	1,05 x10 ¹⁰	7,11 x10 ⁹	4,08x10 ⁹	1,79 x10 ⁹
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Geri Devir 3. Örneklemeye-Kış Mevsimi	1,93 x10 ¹⁰	9,51 x10 ⁹	1,90 x10 ¹⁰	8,90 x10 ⁹
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Geri Devir 4. Örneklemeye-İlkbahar Mevsimi	8,78 x10 ⁹	3,21 x10 ⁹	4,73 x10 ⁹	1,81 x10 ⁹

Tablo 3.21. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 1. Örneklemeye-Yaz Mevsimi	1,14x10 ⁸	1,80x10 ⁷	5,92 x10 ⁷	1,21 x10 ⁷
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 2. Örneklemeye-Sonbahar Mevsimi	1,87 x10 ⁸	8,28 x10 ⁶	1,25x10 ⁸	3,80 x10 ⁶
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 3. Örneklemeye-Kış Mevsimi	7,82 x10 ⁷	1,61 x10 ⁷	4,65 x10 ⁷	2,01 x10 ⁷
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 4. Örneklemeye-İlkbahar Mevsimi	4,69 x10 ⁷	1,17 x10 ⁷	3,38 x10 ⁷	1,06 x10 ⁷

Tablo 3.22. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik ünite DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma) \pm	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma) \pm
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Anaerobik 1. Örneklemeye-Yaz Mevsimi	4,17x10 ¹⁰	7,68x10 ⁹	1,10 x10 ¹⁰	3,55 x10 ⁹
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Anaerobik 2. Örneklemeye-Sonbahar Mevsimi	1,98 x10 ¹¹	1,11 x10 ¹¹	1,15x10 ¹¹	5,70 x10 ¹⁰
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Anaerobik 3. Örneklemeye-Kış Mevsimi	1,64 x10 ¹⁰	8,47 x10 ⁹	1,19 x10 ¹⁰	4,27 x10 ⁹
Belediye Atık Su Arıtma Tesisi Anaerobik 4. Örneklemeye-İlkbahar Mevsimi	4,90 x10 ¹⁰	1,99 x10 ¹⁰	1,59 x10 ¹⁰	9,11 x10 ⁹

Tablo 3.23. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma) \pm	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma) \pm
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 1. Örneklemeye-Yaz Mevsimi	1,62x10 ⁹	7,8 x10 ⁸	9,61 x10 ⁸	3,04 x10 ⁸
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 2. Örneklemeye-Sonbahar Mevsimi	1,46 x10 ⁹	4,96 x10 ⁸	1,28 x10 ⁹	3,23 x10 ⁸
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 3. Örneklemeye-Kış Mevsimi	2,02 x10 ⁹	7,72 x10 ⁸	1,81 x10 ⁹	6,11 x10 ⁸
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Kum Tutucu 4. Örneklemeye-İlkbahar Mevsimi	1,31 x10 ⁹	1,17x10 ⁸	1,20 x10 ⁹	1,83 x10 ⁸

Tablo 3.24. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

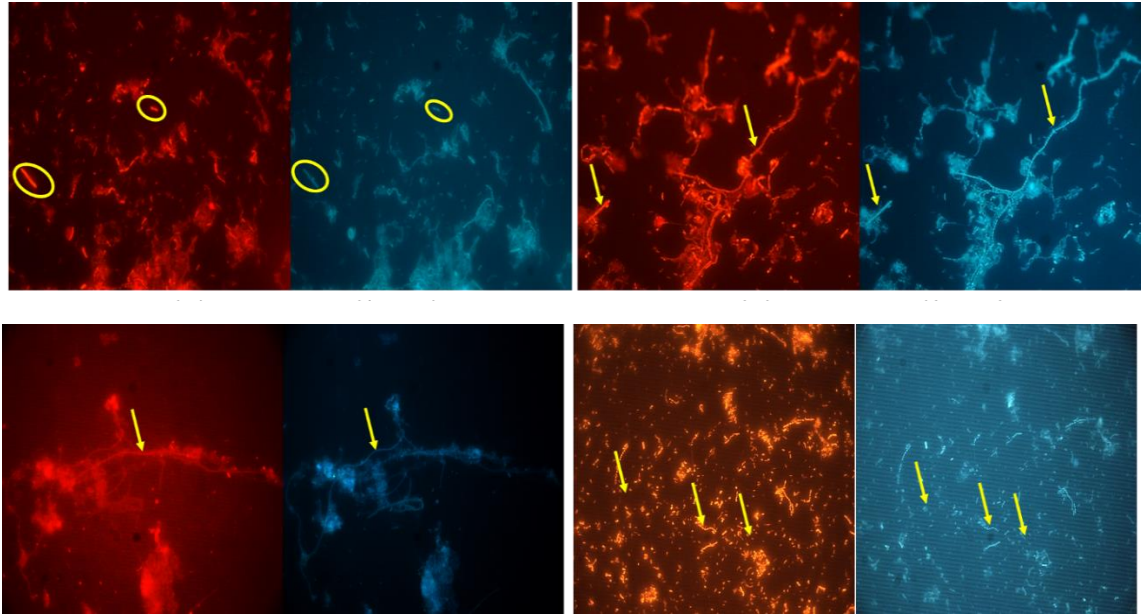
ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 1. Örneklem-Yaz Mevsimi	6,26x10 ⁸	2,31x10 ⁸	1,09 x10 ⁸	2,35 x10 ⁷
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 2. Örneklem-Sonbahar Mevsimi	7,07 x10 ⁷	5,44 x10 ⁷	2,54x10 ⁷	1,54 x10 ⁷
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 3. Örneklem-Kış Mevsimi	1,15 x10 ¹⁰	1,62 x10 ¹⁰	9,60 x10 ⁹	1,51 x10 ⁹
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Ön Çökeltim 4. Örneklem-İlkbahar Mevsimi	2,20 x10 ⁹	1,04 x10 ⁹	1,28 x10 ⁹	4,16 x10 ⁸

Tablo 3.25. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

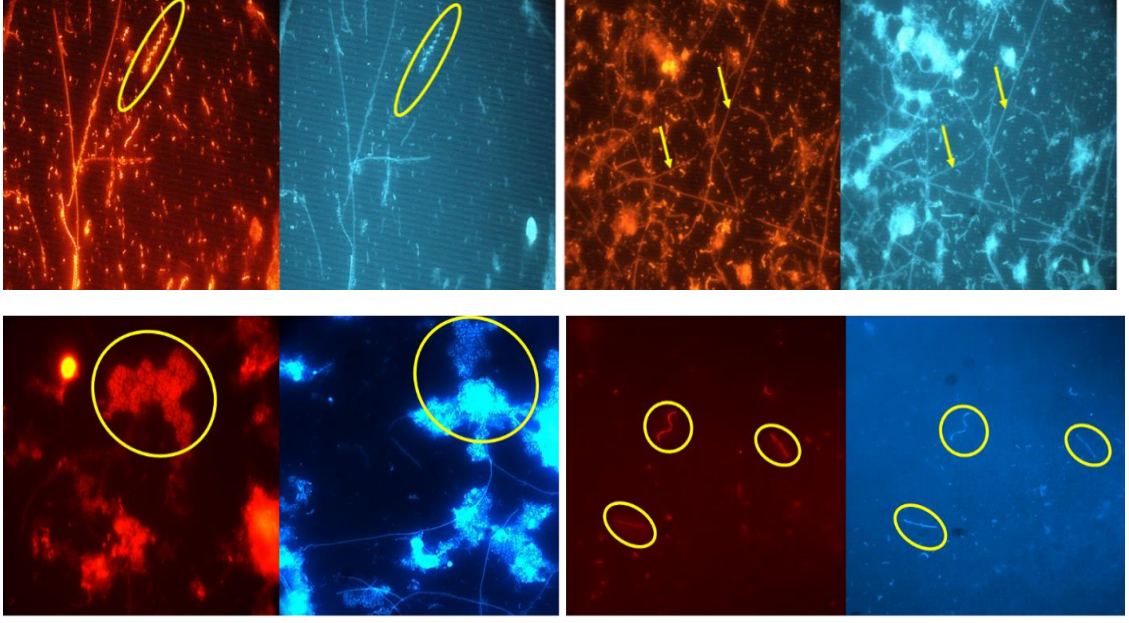
ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma)±
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 1. Örneklem-Yaz Mevsimi	3,02x10 ⁹	2,39x10 ⁹	2,15 x10 ⁹	2,43 x10 ⁹
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 2. Örneklem-Sonbahar Mevsimi	7,82 x10 ⁹	5,12 x10 ⁹	3,52 x10 ⁹	3,71 x10 ⁹
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 3. Örneklem-Kış Mevsimi	2,01 x10 ⁹	5,47 x10 ⁸	1,81 x10 ⁹	3,85 x10 ⁸
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Havalandırma 4. Örneklem-İlkbahar Mevsimi	1,10 x10 ¹⁰	1,44 x10 ⁹	8,22 x10 ⁹	1,79 x10 ⁹

Tablo 3.26. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi DAPI ve EUB 338 sayım sonuçları

ÖRNEK ADI	DAPI (hücre/ml)	SS (Standart Sapma) ±	EUB338 (hücre/ml)	SS (Standart Sapma) ±
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 1. Örneklem-Yaz Mevsimi	2,24x10 ⁷	5,12x10 ⁶	1,72 x10 ⁷	9,04 x10 ⁶
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 2. Örneklem-Sonbahar Mevsimi	1,67 x10 ⁹	1,50 x10 ⁹	1,89x10 ⁸	9,81 x10 ⁷
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 3. Örneklem-Kış Mevsimi	1,27 x10 ⁸	7,02 x10 ⁷	5,98 x10 ⁷	4,05 x10 ⁷
Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Son Çökeltim 4. Örneklem-İlkbahar Mevsimi	1,79 x10 ¹⁰	8,99 x10 ⁹	8,10 x10 ⁹	2,08 x10 ⁹



Şekil 3.93. Belediye Atıksu Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi EUB-338 probu ve DAPI boyama sonucu gözlemlenen çeşitli morfolojilerde hücreler



Şekil 3.93.(Devam) *Belediye Atıksu Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi EUB-338 probu ve DAPİ boyama sonucu gözlemlenen çeşitli morfolojilerde hücreler*

4. TARTIŞMA SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Atık sularda pH, BOD, Bazı Elementler ve Toplam Mezofilik Bakteri Sayısı Parametrelerinin Değerlendirilmesi

pH atık sudaki hidrojen iyonu yoğunlaşmasının parametresidir. İçme suyunun pH değeri 6–8 arasında, deniz suyunun 8, doğal suların 7 ve evsel atık suyun ise 7–8 arasındadır (http-5). pH özellikle atık suda önemli bir parametredir ve uygulanacak arıtım yönteminin belirlenmesinde önemlidir. Bulanıklığın uzaklaştırılması, dezenfeksiyon, su yumuşatma ve korozyon kontrolünde önemli bir değişkendir (Mandal, 2011). Bunun dışında bazı ağır metallerin atık sudan presipitasyonu da çeşitli pH değerlerine bağlıdır. Bu yüzden pH değerlerinin belirlenmesi ve kontrolü oldukça önemlidir (Alwan, 2008).

Biyolojik aktivite açısından ise atık su arıtma sistemlerinde bakteriler 6,8 ile 7,2 aralığında en etkili aktiviteyi göstermektedir. pH 6,0'ın altına düştüğünde veya 8,5'in üstüne çıktığında verim düşmektedir (http-6). Ayrıca pH değeri arıtılmış çıkış suyu içinde kritiktir. Geçerli atık su Deşarj Yönetmeliğine göre, tabiata atılacak suyun "pH" derecesi 6,5 ile 9,0 arasında olmalıdır (http-7).

Örnekleme noktalarının pH değerleri değerlendirildiğinde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nde 7,13-8,32 arasında iken Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi pH değerleri 5,4 ile 7,74 arasında değişmektedir. Tüm örneklemelerde havalandırma ünitesinde pH 7,1 ile 7,4 arasındadır ve mevsimsel olarak sabittir. Bu değerler biyolojik aktivite için uygun değerlerdir.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nde pH değerleri mevsime bağlı çok büyük sapmalar göstermemektedir. Ortalama 7-7,5 civarındadır. Sadece kum yağ tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde pH 8 civarındadır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde ise bazı noktalarda mevsime göre pH değişmektedir. Özellikle kum tutucu ünitesinde pH yaz mevsiminde daha asidik iken (5,4), sonbahar ve ilkbahar mevsiminde 6,5'in üzerinde, kış mevsiminde ise 7,24'tür. Ön çökeltim ünitesinde 6,5-7 arası, son çökeltim ünitesinde ise 7,5-8 arasındadır. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi karşılaştırıldığında özellikle kum yağ tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde farklılıklar bulunmaktadır. Belediye atık su arıtma tesisi değerleri 8 civarı iken Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde 6 civarıdır. Bu farklılıklar da atık tipinden ve tesisinin operasyonel şartlarından kaynaklanmaktadır.

Örneklerin biyolojik oksijen ihtiyacını ölçmek için manometrik ölçüm yapan Oxitop şişeler kullanılmıştır. Biyolojik oksijen ihtiyacı organik maddenin biyokimyasal oksidasyonu sırasında mikroorganizmalar tarafından tüketilen oksijen miktarının bir göstergesidir. Bu değer ile organik karbon miktarı, organik yükler ve giderim için gerekli zaman belirlenebilir. Ancak kullanılan yöntemin bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Tekrarlanabilirliği ve duyarlılığı sorun yaratmaktadır. Ayrıca 5 günde sonuç alındığından zaman alıcı bir yöntemdir. BOİ değeri ışık, organik madde tipi, toksik maddeler, karıştırma, tanecik boyutu gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (http-8).

Örneklerin ölçülen BOİ değerleri incelendiğinde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nde tüm mevsimlerde havalandırma ve geri devir çamur ünitesi 1000 mg/L olarak ölçülmüştür. Kum yağ tutucu ünitesinde ortalama 400 mg/L olarak belirlenirken, ön çökeltim ünitesinde 300mg/L'dir. Son çökeltim havuzunda ise sonbahar mevsimi örnekleme için BOİ değeri 100 mg/L olarak belirlenirken, kış ve ilkbahar mevsimi örnekleme sonucu 40 mg/L olarak ölçülmüştür. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde ise tüm mevsimlerde kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde 900-1000 mg/L civarında iken, havalandırma ünitesinde yaz ve ilkbaharda 1000 mg/L, kış ve sonbahar mevsiminde ise 180 mg/L olduğu belirlenmiştir. Son çökeltim ünitesinde ise sonbahar ve kış mevsimi örnekleme sonuçları 120 mg/L, ilkbahar mevsimi örnekleme sonuçları 280 mg/L olarak belirlenmiştir.

BOİ değeri ile ilgili düzenlemeler bölge ve ülkelere göre değişiklik göstermekle birlikte çevreye direk deşarj sınırı maximum değeri 10mg/L'dir. Kanalizasyon sistemlerine deşarj değeri ise 300mg/L'dir (http-9).

Atık su arıtımında amaç geri kazanılacak maddelerin geri kazanılması, çökebilir maddelerin çöktürülmesi, organik maddelerin ise mikroorganizmalar tarafından tüketilmesini sağlamaktır. Havalandırma ünitesinde mikroorganizmalar aktiftir ve organik maddeyi besin olarak kullanmaktadır. Organik maddelerin büyük yüzdesi aktif çamur sisteminde giderilmektedir. Kum yağ tutucu ünitesi, kum çakıl gibi inorganik maddelerin atık sudan arıtılmasını sağlar, yağ tutucular ise yoğunluğu sudan az olan yağ ve benzeri maddelerin ayrılmasını sağlar. Ön çöktürme ünitelerinin ise organik içeriği oldukça zengindir ve BOİ giderimi % 25-40 oranında yapılabilmektedir. Burada biyolojik arıtma ünitesinde arıtılacak organik yük azaltılır. Son çöktürme ünitesinde ise arıtılan su ya ileri arıtma ünitelerine (dezenfeksiyon, filtrasyon vb.) iletilir ya da deşarj edilir (http-10).

Bu durumda giriş suyu, ara işlemler ve son çökeltim ünitesi örnekleri arasında BOİ değerleri farklı olacaktır. Bizim çalışmamızda elde edilen veriler incelendiğinde havalandırma ve mikrobiyal aktivitenin fazla olduğu havalandırma ünitesinde bu değer çok yüksek çıkmıştır. Yine giriş suyunun ilk işleme sokulduğu ünitelerden biri olan kum yağ tutucularda da BOİ değerleri oldukça yüksektir. Bu da organik yükün ve kirliliğin fazla olduğu anlamına gelmektedir. Belediye Atık su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum yağ tutucu üniteleri karşılaştırıldığında BOİ değeri Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde 2 kat daha fazladır. Deşarj sınır değerleri ve arıtım verimliliğini belirlemek için son çökeltim ünitesi BOİ verileri değerlendirildiğinde ise Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kış ve ilkbahar verilerinin direk çevreye deşarj verilerine yakın olduğu, sonbahar verisinin ise biraz yüksek olduğu belirlenmiştir. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde ise bu değerler Belediye Atık Su Arıtma Tesisinden daha yüksektir. Fakat yine de kirlilik yükleri dikkate alındığında arıtımın veriminin yüksek olduğu söylenebilir ve kanalizasyon sistemine deşarj edilebilir düzeydedir.

4 mevsim boyunca yapılan tüm örneklere içerdikleri bazı elementlerin belirlenmesine yönelik ICP analizi yapılmıştır. Bu sonuçlar incelendiğinde ise genel olarak tüm örneklerde Na^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonlarının baskın iyonlar olduğu belirlenmiştir. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi karşılaştırıldığında iki tesisin farklı özellik gösterdiği sonucuna varılmıştır. Özellikle Na^+ iyonu açısından çok büyük farklılık görülmektedir. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi Na^+ oranı Belediye Atık Su Arıtma Tesisinden 5-6 kat daha fazladır. Farklılık görülen bir diğer iyon ise Ca^{+2} iyonudur. Bu iyon da Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde fazladır. Diğer elementler açısından değerlendirdiğimizde 4 mevsim boyunca her iki tesisin tüm örneklemelerinde birim ppb olsa da Zn^{+2} belirlenmiştir. Tesis olarak değerlendirdiğimizde ise Belediye Atık Su Arıtma Tesisinde yaz mevsimi örneklemelerinde Mn^{+2} (ppb düzeyinde) belirlenirken, diğer mevsimlerde bazı örneklerde mevcuttur. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde ise iz ve ağır metallere daha fazla rastlanmıştır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden yapılan tüm örneklemelerde Ni, Cr ve Al^{+3} belirlenmiştir. Ayrıca yaz mevsimi örneklemelerinde de Co ve Cd tespit edilmiştir.

Örneklerin ICP değerleri mevsimsel olarak incelendiğinde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum yağ tutucu, ön çökeltim, havalandırma, son çökeltim ve Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitelerinde ilkbahar mevsimi örneklemelerinde Mg^{+2} , Ca^{+2} ve Na^+ gibi değerler artmıştır. Endüstriyel Atık Su Arıtma

Tesisi ön çökeltim ünitesinde diğer mevsimlere göre Fe^{+2} değerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Son çökeltim ünitesinde ise yaz mevsimi örneklemeinde Cu, Mn^{+2} ve Cd belirlenmiştir. Belediye atık su arıtma tesisi anaerobik ünite de ise yaz mevsimi örneklemeinde Zn^{+2} değerinin diğer mevsim örneklemeine göre yaklaşık 10 kat fazla olduğu tespit edilmiştir.

Atıksularda bu parametrelerin belirlenmesi son derece önem taşımaktadır. Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} gibi iyonlar tuzluluğun ölçüsüdür. Sularda bir miktar tuzun bulunması normal iken, evsel tarımsal ve endüstriyel suların atıksulara karışması tuzluluğu artırır. Örneğin evsel atıksuların tuzluluğunu yumuşatıcı, deterjan, temizlik ürünleri, şampuan gibi atıklar arttırmaktadır. Birkez çözülmüş tuzlar atıksu arıtma tesisine ulaştığında uzaklaştırılması son derece zordur. Atıksuyun çok fazla tuz içermesi ekosistemi ve su kalitesini bozar. Yüksek maliyetli atıksu arıtma sistemlerinin kurulmasını gerektirir (http-11). İlave olarak NaCl konsantrasyonu biyolojik arıtım performansını etkilemektedir. Yapılan çalışmalara göre NaCl ilavesi solunum oranının artmasına sebep olurken, belli bir konsantrasyondan sonra azalmaya sebep olur. Ayrıca bu oran floklaşma üzerine de etkilidir (Wang ve ark., 2005).

Yüksek tuz konsantrasyonları kommunitate yapısını değiştirmektedir. Yüksek tuz konsantrasyonlu atık sular tuza toleranslı mikroorganizmaların aktivitesini gerektirir. Çünkü normal mikrobiyal popülasyon yüksek ozmotik basınç altında hayatta kalamaz. Ayrıca yüksek tuz konsantrasyonları azot ve fosfor giderimini de etkiler. Pek çok çalışmada tuz konsantrasyonu %1'i aştığında kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), N ve P giderimini engellendiği gösterilmiştir (Bassin ve ark., 2011).

Atık su analizinde bir diğer önemli parametre ise iz ve ağır metal kontaminasyonunun tespit edilmesi basamağıdır. Çünkü bu elementlerin belirlenmesi insan ve çevre sağlığı açısından önemli bir basamaktır (Baysal ve ark., 2013). Toksik ağır metaller, en ciddi kirleticilerdir ve maden işleme, rafineri, metal işleme, boyalar, alışımlar, pestisit ve koruyuculardan kaynaklanabilmektedir. Endüstriyel ve evsel atıklar krom, nikel, bakır, çinko gibi pek çok ağır metal içermektedir. Fakat bunlar degrade edilemezler ve son derece toksik ve kanserojendir. Cu, Zn^{+2} , Fe, Co, Mn^{+2} ve Mo gibi metaller insanların gıda tüketimlerinden ortama katılırken, bazıları ise ev temizliği ajanlarından katılabilir. Atık su toksisitesi, arıtım ve dezenfeksiyon prosesine bağlıdır ve pH, sıcaklık, sertlik, alkalinite, çözülmüş oksijen toksisiteyi etkiler (Al-Zarah, 2014). Elektro kaplama endüstrisi ve yüzey kaplama uygulamaları kadmiyum, çinko, kurşun,

krom, nikel, bakır, vanadyum, gümüş ve titanyum gibi metallerin ana kaynağıdır. Ağır metallerin diğer bir önemli kaynağı ise baskı devre kartları (PCB) endüstrisidir. Kalay, kurşun, nikel lehimli plakalar en yaygın kullanılanlarıdır. Diğer kaynaklar ise ağaç işleme endüstrisi (arsenik içeren atıklar), inorganik pigment üretimi (krom, kadmiyum sülfid), petrol rafinerileri ve fotografik işlemlerdir. Bu metallerim USEPA standartlarına göre limitleri Cd:0.01 mg/L, Cr:0.05 mg/L, Co:0.25 mg/L, Ni:0.20 mg/L, Zn:0.80 mg/L'dir (Barakat, 2011). Aşağıdaki Tablo 4.1'de ise karışık endüstriyel atıksuların deşarj limitleri verilmiştir (http-12).

Tablo 4.1. Karışık endüstriyel atıksuların deşarj limitleri

PARAMETRE	BİRİM	KOMPOZİT NUMUNE 2 SAATLİK	KOMPOZİT NUMUNE 24 SAATLİK
KİMYASAL OKSİJEN İHTİYACI (KOİ)	(mg/L)	400	300
ASKIDA KATI MADDE (AKM)	(mg/L)	200	100
YAĞ VE GRES	(mg/L)	20	10
TOPLAM FOSFOR	(mg/L)	2	1
TOPLAM KROM	(mg/L)	2	1
KROM (Cr⁺⁶)	(mg/L)	0.5	0.5
KURŞUN (Pb)	(mg/L)	2	1
TOPLAM SİYANÜR (CN⁻)	(mg/L)	1	0.5
KADMİYUM (Cd)	(mg/L)	0.1	-
DEMİR (Fe)	(mg/L)	10	-
FLORÜR (F⁻)	(mg/L)	15	-
BAKIR (Cu)	(mg/L)	3	-
ÇİNKO (Zn)	(mg/L)	5	-
CİVA (Hg)	(mg/L)	-	0.05
SÜLFAT (SO ₄)	(mg/L)	1500	1500
TOPLAM KJELDAHL-AZOTU (*)	(mg/L)	20	15
BALIK BİYODENEYİ (ZSF)	-	10	10
pH	-	6-9	6-9
(Ek satır:RG-24/4/2011-27914)	(Pt-Co)	280	260
Renk			

Tesisleri bu parametreler açısından değerlendirdiğimizde Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi tuzluluk değerleri özellikle de Na⁺ değeri Belediye Atık Su Arıtma Tesisinden fazladır. Bunun nedeni atık tipi olabilir. Ayrıca Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi 'nde ppb değerinde de olsa çeşitli metallerin varlığı belirlenmiştir. Bu durumda Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ve Belediye Atık Su Arıtma Tesisinin mikrobiyal kompozisyonunun farklı olması beklenmektedir. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi' nde tuza toleranslı ve ağır metallere dirençli veya giderebilen mikroorganizmalar bulunabilir. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi organize sanayi bölgesinde bulunduğu ve farklı

endüstrilerin atıklarını da içerdiğinden ağır metaller bulunabilir. Karışık endüstriyel atıksuların deşarj limitleri ile kıyasladığımızda belirlenen değerler bu değerlerin altında kalmaktadır.

4 mevsim boyunca yapılan örneklemelelere toplam mezofilik bakteri sayımı yapılmıştır. Sayım sonuçları değerlendirildiğinde 10^5 ile 10^7 cfu/ml arasındadır. Oda sıcaklığı ve $37\text{ }^\circ\text{C}$ ' de sayım gerçekleştirilmiştir. Mevsimsel, tesis tipi, örnekleme noktaları ve sıcaklığa göre değerlendirdiğimizde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinde mevsimsel ve inkübasyon sıcaklığına bağlı olarak sayısal bir değişim gözlemlenmemiştir ve 10^6 cfu/ml sayılmıştır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinde ise oda sıcaklığında yapılan sayım sonucu kış mevsimi ve ilkbahar mevsiminde fazladır. Ayrıca Belediye Atık Su Arıtma Tesisinden sayısal olarak daha fazladır ve 10^7 cfu/ml sayılmıştır. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesinde inkübasyon sıcaklığına göre fark bulunmamaktadır. Yaz mevsiminde 10^7 cfu/ml, kış mevsiminde ise 10^5 cfu/ml sayılmıştır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi' nde ise 10^7 cfu/ml sayılmıştır. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi sonuçları değerlendirildiğinde sonbahar ve kış mevsimi sayım sonuçlarının oda sıcaklığında daha fazla olduğu belirlenmiştir. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde ise mevsimsel ve inkübasyon sıcaklıklarına göre sonuç değişmemekle birlikte Belediye atıksu arıtma tesisinden daha fazladır. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesi ile Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi karşılaştırıldığında fark bulunmamaktadır. Belediye Atık su Arıtma Tesisinde oda sıcaklığında inkübasyon sonucu kış ve ilkbahar mevsimi örneklemelelerinde sayım sonuçları fazla bulunmuştur. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesinde tüm mevsim ve inkübasyon sıcaklıklarında hücre sayısı 10^6 cfu/ml olarak bulunmuştur. Anaerobik ünite ise inkübasyon sıcaklıklarının farklı olması sonuçları değiştirmemiştir fakat ilkbahar mevsimi örneklerinde sonuç daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda toplam mezofilik bakteri sayısının belirlenmesi amacıyla PCA (Plate Count Agar) kullanılmıştır. Sonuçlar FISH sonuçları ile karşılaştırıldığında hücre sayısının kültür bağımlı sayım yönteminde daha az olduğu belirlenmiştir. Yapılan pek çok çalışma kültür bağımsız metodların temsiliyet gücünün fazla olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte bizim çalışmamızda kültür bağımlı ve kültür bağımsız yöntemler birlikte kullanılmıştır. Fakat kültür bağımlı metodlar ileriki çalışmalarda kullanılacak mikrobiyal materyal sağlamasına karşın besiyeri seçiciliği ve kültür koşulları gibi sınırlamaları bulunmaktadır (Al-Awadhi ve ark., 2013). Seçilen besiyeri ve kültür

koşulları sebebiyle sonuçlar FISH sonuçları ile farklılık göstermektedir. Fakat kültürel sayım yöntemleri atık su arıtma tesisleri açısından önem arz etmektedir. Canlı hücre sayısı arıtım süreçleri açısından önemlidir. Ayrıca kültürel yöntemler patojenik bakterilerin belirlenmesi ve sayımı amacıyla da kullanılabilir (El-Lathy ve ark., 2009).

4.2. Kültür Bağımlı Çalışmalar

Kültür bağımlı çalışmalar kapsamında atıksularda mikrobiyal çeşitliliğin fazla olmasından dolayı sadece belli grup mikroorganizmaların kültürel çalışmaları yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda da biyodegradasyon yapan türlerin belirlenmesine yönelik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında fenolü kullanabilen veya bunları parçalayabilen mikroorganizmaların izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Fenol ilave edilerek bir seçici zenginleştirme yapılmış ve sonrasında aynı besiyerinin katı hali kullanılarak yayma plak yöntemi uygulanmıştır. İnkübasyon sonrası farklı olduğu düşünülen izolatlar saflaştırılmış ve tanımlama çalışmaları gerçekleştirilmek üzere stoklanmıştır. Çalışma sonucu 4 mevsim boyunca Belediye Atık Su Arıtma Tesisinden fenollü besiyerinden toplamda 100 izolat belirlenmiş (Yaz:15, Sonbahar:21, Kış:36, İlkbahar:28) tanımlama amacıyla kurulan 16S rRNA hedefli PZR sonucu 78 izolattan pozitif sonuç alınmıştır (Yaz:6, Sonbahar:21, Kış:36, İlkbahar:15). Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden ise toplamda 106 izolat belirlenmiş (Yaz:32, Sonbahar:15, Kış:26, İlkbahar:32) tanımlama amacıyla kurulan 16S rRNA hedefli PZR sonucu 105 izolattan pozitif sonuç alınmıştır.

Ayrıca fenol degradasyonu yapan izolatların belirlenmesi amacıyla temsili spesifik gen olarak fenol hidroksilaz geni seçilmiştir. Bu amaçla kurulan spesifik PZR reaksiyonları sonucu izolatların büyük çoğunluğunun fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir. Belediye Atık Su Arıtma Tesisinden pozitif sonuç alınan 78 izolat için fenol hidroksilaz spesifik PZR kurulmuş ve toplamda 73 izolat için pozitif sonuç alınmıştır (Yaz:4, Sonbahar:21, Kış 34, İlkbahar:14). Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden ise 105 izolattan 96 izolatın fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir (Yaz:29, Sonbahar:13, Kış:22, İlkbahar:32)

Kültürel çalışmalar kapsamında biyodegradasyon potansiyelini belirlemeye yönelik deney planlaması yapılmıştır çünkü bu atık su arıtımında son derece ilgi çeken bir konudur. Biyodegradasyon, genellikle, organik bileşiklerin mikroorganizmalar tarafından daha fazla hücre biyokütlesi ve daha az karmaşık bileşiklere ve suya parçalanmasını içerdiğinden son derece ekolojik bir yöntemdir. Genetik potansiyel, sıcaklık, pH gibi

çevresel faktörler, azot ve fosfor kaynağı gibi pek çok faktör biyodegradasyon verimliliğini etkilemektedir. Bu yüzden degradasyon oranı ve kapasitesi açısından genetik modifiye edilmiş mikroorganizmaların kullanımı büyük ilgi uyandırmaktadır. Bununla birlikte genetik modifiye mikroorganizmaların çevre ve ekoloji açısından testi zorunludur (Joutey ve ark., 2013). Bu yüzden daha verimli biyodegradasyon yapabilen yeni doğal türlerin keşfi bu alana büyük yenilik getirebilir. Ayrıca biyolojik arıtım yöntemlerinin çevreye etkileri daha azdır ve diğer yöntemlerle kıyaslandığında maliyeti daha düşüktür, organik kirleticileri yok etme kapasitesi daha fazladır ve işlem uygulanmış sedimentlerde faydalanma imkânı bulunmaktadır (Santisi ve ark., 2015). Hidrokarbonlar (örneğin yağ), poliklorlu bifeniller (PCB), poliaromatik hidrokarbonlar (PAH), radyonüklidler, pestisitler, boyalar ve metaller gibi pekçok bileşik biyodegrade edilebilir (Joutey ve ark., 2013). Çalışma kapsamında biyodegrade edilebilir bileşikler arasından hidrokarbonlardan bir temsilci seçilmiştir. Fenolün seçilme sebebi atık sularda yaygın olarak bulunmasıdır.

Fenol ve türevleri toksik ve tehlikelidir. Bu yüzden atık sularda sınırlı miktarda bulunmalıdır. Klorofenol, benzen, toluen, etilbenzen ve ksilen gibi aromatik hidrokarbonlar petrokimyasal ürünlerde, çoğunlukla benzin ve endüstriyel çözücülerin bünyesinde bulunmaktadır (Yılmaz, 2005). Kömür işleme tesislerinde, tekstil fabrikası çıkış sularında, petrol rafinerileri atık suları, kâğıt hamuru ve kâğıt ağartma tesisleri, reçine, pestisid endüstrileri atık sularında bulunmaktadır. Demir çelik fabrikalarında, kâğıt, ilaç endüstrisinde bulunmaktadır (Yener ve Aksu, 1999). 5-500 mg/L aralığı içinde fenol içeren atık suların biyolojik proseslerde arıtılması uygun olarak kabul edilir (Yılmaz, 2005). Biyolojik arıtmada mikroorganizmalar görev alır ve bu bileşiği karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilirler. Bu mikroorganizmalar aerobik veya anaerobik olabilir. Fenol biyodegradasyonunda aerobik yolun ilk adımında fenol hidroksilaz enzimi görev almaktadır. Fenol hidroksilaz fenolün katekole dönüşümünden sorumludur (Zhang ve ark., 2004).

Fenol giderimi yapan organizmalar *Alcaligenes sp.*, *Acromobacter sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Rhodococcus erythropolis*, *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus thermoleovorans* gibi bazı bakteriler, *Candida tropicalis* ve *Candida maltosa* gibi mayalar, *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* ve *Graphium* gibi funguslardır (Tziotziou ve ark., 2005).

Tablo 4.2. Farklı çalışmalardan fenol degrade eden bakteriler

İzole edilen ortam	Türler	Referanslar
Belediye atık su arıtma tesisi geri devir çamur ünitesi (Ohdaira, Kamaishi, Iwate, Japonya)	<i>Valivorax paradoxus</i> <i>Psychroserpens burtonensis</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Nocardioides simplex</i> <i>Xanthomonas albilineans</i> <i>Pseudomonas flavescens</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i>	Watanabe ve ark., 1998, s.4396-97
Endüstriyel kok atık su arıtma tesisi havalandırma tankı (Taiyuan, Çin)	<i>Alcaligenes sp.</i>	Zhang ve ark., 2004,s.369
Jurong Endüstriyel Atık İşleme Tesisi aktif çamur (Singapur)	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Geng ve ark., 2006,s.728
Petrol kimya tesisi atıksu ve aktif çamur	<i>Acinetobacter sp.</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Comamonas sp.</i>	Ren ve ark., 2008,s.482
Güney İsfahan atıksu arıtma tesisi	<i>Pseudomonas putida</i>	Movahedyan ve ark., 2009,s.115
Çin Kuzeybatı bölgesi fenol kirlenmiş topraklar ve aktif çamur	<i>Acinetobacter sp.</i> <i>Sphingomonas sp.</i>	Liu ve ark., 2009,s.187
Manas yağından toprak örneği.(Hindistan'da endüstriyel bir alan)	<i>Streptococcus epidermis</i>	Mohite ve ark., 2010,s.61
Kok sanayileri atık sularının aerobik ve anaerobik havuzlarından aktif çamur	<i>Pseudomonas monteilii</i> <i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	Cao ve ark., 2011,s.560
Petrol üreticisi Petrobras (Brezilya) iki farklı rafineri atık su arıtma tesislerinden çıkan çamur örnekleri.	<i>Diaphorobacter</i> <i>Pseudomonas Thauera</i> <i>Comamonas</i>	Silva ve ark., 2012,s.1-2
Yüksek fenol içerikli endüstriyel atıksular	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Liu ve ark., 2012,s.258
Kok tesisinden aktif çamur	<i>Sphaerobacter</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Comamonas testosterone</i> <i>Novospingobium naphthalenivorans</i>	Chen ve ark., 2012,s.3956
Güney Afrika'da aktif çamur tesisleri.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kumari ve ark., 2013,s.947
Hindistan Durgâpur çelik tesisinin kok fırını atık suyu	<i>Alcaligenes faecalis</i>	Subhasis ve ark., 2013,s.6058
Biyoremidasyon alanı aktif çamuru, Ulusal Tarım Araştırma Merkezi, İslamabad, Pakistan ve Endüstriyel alanda kombine drenajdan gelen çamur.	<i>Rhodococcus</i> <i>Stenotrophomonas</i> <i>Lysinibacillus,</i> <i>Comamonas,</i> <i>Microbacterium</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Halomonas</i>	Ahmad ve ark., 2015,s.219
TCE ve fenol ile kontamine toprak örneği (Pudong, Şangay, Çin).	<i>Bordetella</i> <i>Stenotrophomonas sp.</i> <i>Sinorhizobium sp.</i> <i>Variovorax sp.</i> <i>Sphingobium sp.</i>	Li ve ark., 2015,s.1222
Atık su arıtma tesisinden atık su örneği (Hindistan)	<i>Citrobacter freundii</i>	Das ve Kumar, 2015,s.1150

Fenol toleransı ve fenol degrade eden bakterilerle ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (Tablo 4.2). Movahedyan ve ark., (2009), fenol degrade eden türlerin ve *Pseudomonas putida*'nın belirlenmesi üzerine çalışmıştır. Giti ve ark., (2005), fenol degrade eden türler üzerine kapsamlı bir çalışma yapmıştır. Kontamine toprak, petrol hidrokarbonlar, petrol rafinerisi atık suyu, kömür katranı atık suyu, nehir suyu ve aktif çamurdan izolasyon yapılmıştır. 25 izolat elde edilmiş ve 2 izolat *Pseudomonas putida* olarak tanımlanmıştır. Farklı çalışmalarda farklı kaynaklardan da izolasyon yapılmıştır. Örneğin Kobayashi ve ark., (2012), deniz canlılarının bağırsaklarından *Acinetobacter* türleri ve *Cobetia marinabacteria* bakterilerini izole etmiştir. Haddadi ve Shavandi, (2013), aşırı tuzlu toprak örneğinden fenol degrade eden halofilik bir bakteri izole etmiştir ve *Halomonas sp.* olarak tanımlamıştır.

Çalışmamızda iki tesisten toplamda 206 izolat elde edilmiş ve 183 izolattan PZR sonucu alınmıştır. Ayrıca 169 izolatın da fenol hidroksilaz geni spesifik PZR sonucu fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu gen, fenol degrade eden bakterilerin fonksiyonel ve genetik farklılıklarını tespit etmek için, moleküler markır olarak kullanılmaktadır (Watanabe ve ark., 1998). Fenol degrade eden izolatlar *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas citronellolis*, *Burkholderia multivorans*, *Ideonella sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Pseudomonas nitroreducens*, *Pseudomonas linyingensis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus sp.*, *Acinetobacter baumannii* olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma çevreden fenol degrade etme yeteneği olan bakterilerin belirlenmesiyle faydalı sonuçlar sağlamaktadır. Sonuçlarımız, karbon ve enerji kaynağı olarak tek başına fenol kullanabilen yeni bakteriyel türler ortaya çıkarmıştır. Özellikle *Pseudomonas* türleri baskın tür olarak tanımlanmıştır. İzolatların %70'ini *Pseudomonas* türleri oluşturmaktadır. Farklı çalışmalarda genellikle fenol degrade eden bakteri olarak *Pseudomonas putida* tanımlanmıştır. (Watanabe ve ark., 1998; van Schie and Young, 2000; Giti ve ark., 2005; Kargı ve Eker, 2005; Hasan ve ark., 2007; Movahedyan ve ark., 2009; Silva ve ark., 2012). Bununla birlikte fenol degrade edebilen farklı *Pseudomonas* türleri de belirlenmiştir. *Pseudomonas resinovorans* Tayvan'ın güney bölgesinde bulunan ve pentaklorofenol ile kontamine topraktan izole edilmiştir (Yang and Lee, 2007).

Çalışmamız farklı *Pseudomonas* türlerinin bulunması ve baskın olarak varlığıyla diğer çalışmalardan ayrılmaktadır. *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas citronellolis*, *Pseudomonas nitroreducens*, *Pseudomonas linyingensis* tanımlanan *Pseudomonas* türleridir.

Çalışmamıza metot olarak benzer çalışmalar da mevcuttur. Fenol işlenen aktif çamurdan 16S ribozomal DNA (rDNA) ve fenol hidroksilaz geninin büyük alt ünitesini kodlayan gen hedefli (LmPH) PZR ve TGGE (Termal gradient jel elektroforezi) uygulanmıştır. İzolatların nükleotid dizileri belirlenmiştir ve *Nocardioides simplex*, *Variovorax paradoxus*, *Acinetobacter sp.*, *Xanthomonas albilineans*, *Brevibacterium linens* olarak tanımlanmıştır (Watanabe ve ark., 1998). Singapore Jurong Endüstriyel Su İşleri'nden çamur örneği, fenol içeren besiyerine aktarılmış ve sonrasında izolasyon gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA dizi analizi sonucu izolat *Acinetobacter calcoaceticus* olarak tanımlanmıştır (Geng ve ark., 2006). Bizim çalışmamıza benzer bir çalışma olan ve Dong ve ark., (2008), tarafından gerçekleştirilen çalışmada 6 fenol degrade eden bakteri izole edilmiştir. Ayrıca 16S ribozomal DNA (rDNA) ve fenol hidroksilaz geninin büyük alt ünitesini kodlayan gen hedefli (LmPH) PZR uygulanmıştır. Bu bakteriler *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Comamonas* and *Cupriavidus* olarak tanımlanmıştır.

Çalışma kapsamında *Pseudomonas* türleri dışında diğer tanımlanan türler *Burkholderia multivorans*, *Alcaligenes sp.*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus sp.*, *Acinetobacter* türleridir. Bu izolatların da fenol degrade edebilme yeteneklerine ilişkin pek çok çalışma bulunmaktadır. (Singh ve ark., 2009 ; Enan, 2006; Gunasundari ve Muthukumar, 2013; Han ve ark., 2010; Rehfuss ve Urban, 2005; Li ve ark., 2015)

Ayrıca çalışmamızda *Ideonella sp.* fenol degrade eden izolatlar arasında tanımlanmıştır. *Ideonella* az bilinen ve fenolik bileşikleri degrade edebilme yeteneği açısından çalışılmamış bir mikroorganizmadır. Çalışmamızda hem Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nden hem de Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nden izole edilmiştir.

Çalışmamızda fenol degrade eden pek çok tür belirlenmiştir. İzole edilen türler biyoteknolojik açıdan büyük önem taşımaktadır. Fenolün gideriminde biyolojik arıtımda kullanım potansiyelleri dışında farklı maddelerin arıtımında ve farklı proseslerde de görev alabilirler. Özellikle *Pseudomonas* cinsi üyeleri çok çeşitli metabolizmalara sahip olduğundan farklı özellikler gösteren ortamlarda hayatta kalabilmekte ve farklı özellikler sergilemektedirler (He ve ark., 2012). Örneğin *Pseudomonas citronellolis* polihidroksialkalonat biyosentezi (Choi ve Yoon, 1994), *Pseudomonas nitroreducens* ise polihidroksibüturat biyosentezi yapabilmektedir (Yao ve ark., 1999). *Pseudomonas denitrificans* ise endüstriyel vitamin B12 üretiminde kullanılmaktadır (Xia ve ark., 2015). Ayrıca bazı türler biyosüperfektan üretme yeteneğine de sahiptir (de Sousa ve Bhosle, 2012).

4.3. Kültür Bağımsız Çalışmalar

4.3.1. Aerobik arıtım yapan sistemlerin mikrobiyal çeşitliliğin değerlendirilmesi

Çevresel mikroorganizmalar atık su arıtımı, toprak remediasyonu (iyileştirilmesi) gibi biyoprosesler için önemli bir kaynaktır. Bu yüzden bu mikroorganizmaların belirlenmesi önemlidir (Saunders ve ark., 2016). Özellikle aktif çamur sistemi hem evsel hem de endüstriyel atık suyun arıtımı için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve bu proseste performans ve istikrarın, mikrobiyal topluluk yapısı ve çeşitliliğinden etkilendiği genel olarak kabul edilmektedir (Gao ve ark., 2016). Bu sebeplerden dolayı çalışmamızda mevsimsel olarak belediyeye ait ve endüstriyel olmak üzere iki farklı tesisin kommunitate yapısı incelenmiştir. Bulgularımız, bu atık su arıtma tesislerinde çok çeşitli mikroorganizmaların yaşadığını göstermiştir.

Endüstriyel atık su arıtma tesislerini incelediğimizde ve mikrobiyal kommunitate yapısını değerlendirdiğimizde, buradaki atık su kompozisyonunu ve mikrobiyal içeriği karışan atık tiplerinin etkilediği düşünülmektedir. İnceleme yapılan endüstriyel atık su arıtma tesisi sanayi bölgesi'nde yer almaktadır. Organize sanayi bölgesindeki işletmeler değerlendirildiğinde makina, kâğıt-ambalaj, plastik-metal, otomatik, cam, kimya, yemek-gıda ve demir-çelik üzerine firmalar bulunmaktadır. İşletmelerde yapılan işlemler değerlendirildiğinde ise makine sanayinde talaşlı imalat, plastik enjeksiyon yöntemiyle plastik parça üretimi ve boyama, çimento ve akrilik bazlı yapı kimyasalları üretimi, susam, tahin, haşhaş üretimi, katı ve sıvı formda çikolata, sıvı ve katı diğer kakao ürünleri üretimi, poliüretan sünger üretimi, su bazlı tutkal üretimi, süt ve süt ürünleri ile ilgili gıda maddeleri üretimi, döküm işleri, kâğıt, karton ve oluklu mukavva imalatı, selülozik ve sentetik boya, muhtelif vernik, tiner, alkit reçine imalatı, şekerleme üretimi, yoğurt, peynir, ayran, tereyağı, krema imalatı yapıldığı belirlenmiştir (http-13). Bu sektörlerden metal, döküm sektörü gibi sektörlerle, talaşlı imalat, plastik enjeksiyon yöntemiyle parça üretimi gibi teknolojiler daha çok katı atık oluşturmaktadır. Ancak süt endüstrisi, şekerleme endüstrisi, kâğıt endüstrisi, beyaz eşya endüstrisi ve boya endüstrisi sıvı atıklar da oluşturmaktadır. Süt endüstrisi atıkları yağsız süt, yayık altı, peynir altı suyu gibi sular olabilmektedir. Ayrıca kapların yıkanmasından ve genel temizlik işlerinden kaynaklanan sularda atık sulardır. Bu atık suların özellikleri değerlendirildiğinde atıklar taze olduklarında zayıf alkali veya nötr özellik gösterir. Ancak kısa zamanda, atıksuda bulunan laktozun laktik aside dönüşmesi ile ortamın pH değeri 4,0-4,5'e kadar düşer. Süt

endüstrisi atıkları bulanık, beyazımsı sarımtırak renkte görünür, yüksek BOI değerine sahiptir (http-14).

Süt işletmelerinde ortalama bir litre süte karşılık 2-6 litre atık oluşmaktadır. Yüksek organik ve tuz içeriğine sahiptir (Koyuncu ve Tunçtürk, 2014). Kâğıt endüstrisinde ise kâğıdın tipine ve yapılan işleme göre atıksular çok farklı kirletici içerebilir. Örneğin hamur yıkama ve kâğıt üretiminde kloroform ve klorlu fenolik bileşikler, aseton vb. oluşmaktadır (http-15).

Metal endüstrisi atık suları ise yapılan işleme göre değişiklik göstermektedir. Örneğin metal kaplama endüstrisinde kirleticiler solvent, yağ ve gres, organik bileşikler, krom, bakır, çinko, kurşun, nikel ve demir gibi ağır metaller, diğer anyon ve katyonlar olabilir (Çay, 2013). Şekerleme endüstrisi atık suları ise asidik karakterli ve yüksek organik madde içeriklidir. Bu suların direkt deşarjı çevre yönetmeliklerine uygun değildir (Karagül, 2012).

Tüm bu verilerden yola çıkılarak incelenen endüstriyel atık su arıtma tesisinin atık kompozisyonu pek çok işletmeden gelen işlem ve kanalizasyon atıklarıdır. Tesis yetkililerince verilen bilgilerden de yola çıkılarak arıtma tesisinin kompozisyonun ağırlıklı olarak süt üretim ve işleme tesislerinin atıkları olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

İşletmenin mikrobiyal kompozisyonuna bakıldığında ise kum tutucu ünitesinde en yoğun görülen cinsler *Lactococcus*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Arcobacter* üyeleridir. Ön çökeltim ünitesinde ise *Arcobacter*, *Cloacibacterium*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Lactococcus*, *Sulfurospirillum*, *Brachymonas*, *Pseudomonas* üyelerine rastlanmaktadır. Havalandırma havuzu örneklemelerinde ise *Zoogloea*, *Defluviococcus*, *Saccharimonas*, *Afifella*, *Ferribacterium*, *Desulfobulbus*, *Geobacter*, *Thiothrix* üyeleri görülmüştür. Son çökeltim havuzu örneklemeleri sonucunda ise *Saccharimonas*, *Aquabacterium*, *Streptococcus*, *Cloacibacterium*, *Arcobacter* belirlenmiştir.

Lactococcus cinsi üyeleri dominant olarak tespit edilmiş cinslerdendir. Özellikle *Lactococcus chungangensis* türü belirlenmiştir. Bu bakterinin yaşam alanının sadece su arıtma tesisinin aktif çamur köpüğünde olduğu bilinmektedir. Ancak bakterinin bu yaşam alanına süt metabolizmasından atık olarak girdiği düşünülmektedir (Chao ve ark., 2008). Bu sonuç da örnekleme yaptığımız endüstriyel atık suyun içeriğinin süt endüstrisi ağırlıklı olduğunu güçlendirmektedir. *Prevotella* ise asetojen olarak bilinir ve düşük pH

değerlerinde gelişebilir. Bu yüzden bu bakteri degradasyon işleminin ilk basamağında organik bileşikleride degrade edebilir (Mannina, 2017).

Veillonella cinsi ise daha önce metanojenik granüler çamurdan izole edilmiştir. *Veillonella* anaerobik, mezofilik, gram negatif, hareketsiz bir bakteridir. Ayrıca laktatı propionat ve asetatı parçalayabilir (Slobodkin ve Verstraete, 1993). *Veillonella*'nın bazı suşları tarafından polisakkarit-lipid kompleksleri içeren ekstraselüler bir yapı ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca *Streptococcus* türleriyle birlikte biyofilm oluşturduğu rapor edilmiştir (Vesth ve ark., 2013). Sonuçları incelediğimizde örneklerimizde hem *Streptococcus* hem de *Veillonella* baskın olarak belirlenmiştir. Özellikle *Streptococcus equinus* türüne örneklerde dominant olarak rastlanmıştır. Gram pozitif bir laktik asit bakteri cinsidir. *Streptococcus equinus* grubu mikroorganizmalar fekal indikatör olarak da nitelendirilmektedir (Sinton ve ark., 1993). Çalışmada görülen bir diğer cins *Arcobacter* ise hayvan kökenli gıdalardan, özel olarak kanatlı etinden izole edilmişse de bunlar, yeraltı suyu, yüzey suyu, atık su ve deniz suyu da dahil olmak üzere çeşitli su türlerinde de tespit edilmiştir (Gonzalez ve ark., 2007). Bazı *Arcobacter* türleri enfeksiyona sebep olmaktadır ve türlerin büyük çoğunluğu memelilerden izole edilememiştir. Sığırlar, kümes hayvanları, küçük ruminantlar, domuzlar ve vahşi yaşayan kuşlar da dahil olmak üzere geniş bir dizi hayvan, *Arcobacter* türlerinin taşıyıcısıdır ve dışkılarıyla atmaktadır. Bu yüzden konakların tümü potansiyel gıda ve su kontaminasyon kaynağı olabilir. Özel bir örnek olarak ise süt işleme zincirinde *Arcobacter* türleri izole edilmiştir. Özellikle süt hayvanlarının dışkı örnekleri, sıralı süt filtreleri, inek ve manda sütü, peynirler ve peynir işleme ortamından izole edilmişlerdir (Giacometti ve ark., 2015).

Cloacibacterium cinsinden özellikle *Cloacibacterium normanense*, arıtılmamış ve insanlar tarafından kullanılan atık suda bulunan gram-negatif bir bakteridir. Atık suyun içinde bu bakterinin yüksek miktarda bulunması ve insan dışkısında bulunmaması göz önüne alındığında, biyolojik fosfat giderilmesine katkıda bulunabilir (Gay ve ark., 2016). Atık su örneklerinin çoğunda *Pseudomonas* üyelerine rastlanmıştır. *Pseudomonas* türleri, çeşitli ortamlarda bulunan Pseudomonaceae ailesine ait Gram negatif hareketli çubuklardır. Besinlerin yokluğunda hayatta kalmanın yanı sıra karbon ve enerji kaynağı olarak farklı organik bileşiklerden faydalanma kabiliyeti, genetik çeşitliliği ve su, toprak ve rizosfer de dahil olmak üzere çok çeşitli ekolojik nişlere adapte olma yeteneği bulunmaktadır. *Pseudomonas spp.* çevrelerinde o derece iyi adapte olmuşlar ki 4 °C ile

43 °C arasındaki sıcaklıklar ve zayıf iyon konsantrasyonlarının bulunduğu ortamlar gibi aşırı ortamlarda bile yaşamlarını sürdürebilmektedirler (Igbinsa ve ark., 2012).

Arıtımda en önemli işlemlerin gerçekleştiği havalandırma ünitesindeki mikrobiyal cinsler incelendiğinde ise kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinden farklı olarak *Zoogloea*, *Defluviococcus*, *Saccharimonas*, *Afifella*, *Ferribacterium*, *Desulfobulbus*, *Geobacter*, *Thiothrix* üyeleri belirlenmiştir. Atık su arıtma sistemlerinde *Zoogloea*'nın aşırı büyümesi çamur susuzluğunun azaltılmasına da neden olur. Bu durumdan sorumlu organizma flok oluşturucu *Zoogloea ramigera*'dır. Bu dendiritik flok oluşturucunun aşırı üremesi çamur çökmesi sorunlarına ve çamur kabarması problemlerine sebep olur. *Zoogloea*, belirli organik asitler ve alkollerin varlığında veya düşük oksijen koşulları nedeniyle ortaya çıkar (Richard ve ark., 2003). *Defluvicoccus* glikojen akümüle eden bir organizmadır ve aktif çamurdan izole edilmiştir (Maszenan ve ark., 2005). *Thiothrix* türleri sülfid oksitleyici filamentöz bakterilerdir ve akuatik biyofilmlerin bileşenleri olarak bulunurlar (Brigmon ve ark., 1997). Süt endüstrisi atık su arıtma tesislerinde performans kaybından *Thiothrix* türlerinin yol açtığı filamentli kabarmasından sorumludur. *Thiothrix*, yüksek organik yükleme oranları, düşük moleküler ağırlıklı yağ asidi konsantrasyonları ve indirgenmiş kükürt bileşikleri, düşük çözünmüş oksijen (DO) konsantrasyonları ve besin eksiklikleri ile karakterize olan atık sularda gelişir. Süt endüstrisi deşarj suları yüksek KOİ içeriğine katkıda bulunan yüksek konsantrasyonda laktoz, yağ ve protein ile karakterizedir. Arıtma tesisindeki oksijen tüketimi çoğu sanayi tarafından çoğu zaman enerji maliyetlerini düşürmek için asgari düzeyde tutulduğundan, COD bakımından zengin süt atıksuları sıklıkla filamentöz bakterilerin büyümesine neden olur (Henriet ve ark., 2017).

Tesislerdeki mikrobiyal kommunité yapısını ünitelere ve mevsimlere göre karşılaştırdığımızda bazı farklılıklar bulunmaktadır. Ön çökeltim ünitesinde cins düzeyinde tüm mevsimlerde *Lactococcus*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Enterobacter* üyeleri bulunmaktadır ve sonbahar, kış ve ilkbahar mevsimi kommunité kompozisyonu birbirine benzemektedir.

Kum tutucu ünitesinde ise tüm mevsimlerde *Streptococcus* cinsi üyelerine rastlanmaktadır. Ancak bu cinsin oranı yaz ve kış aylarında daha yüksektir. *Veillonella* ve *Aeromonas* cinsine de tüm mevsimlerde rastlanmıştır. *Brachymonas* cinsi üyeleri ise sadece tek mevsimde görülmüştür. *Prevotella* cinsi üyelerine ise kış mevsimi hariç tüm

mevsimlerde rastlanmıştır. Mikrobiyal içerik açısından mevsimler birbirine benzemektedir.

Havalandırma ünitesinde ise tüm örneklemelerde *Zooglea* görülmektedir. Ancak yoğunluğu yaz mevsiminde oldukça yüksektir. Örneklem zamanlarını karşılaştırdığımızda ise örneklemelerinin içeriği farklılıklar göstermektedir.

Son çökeltim ünitesinde mevsimsel olarak farklılıklar görülmektedir. Özellikle sonbahar örneklemeinde *Streptococcus*, *Cloacibacterium* ve *Arcobacter* yoğundur. Yaz mevsimi örneklemeinde ise *Saccharimonas* ve *Aquabacterium* yoğundur.

Tesisin farklı ünitelerinin taksonomik içeriğini karşılaştırdığımızda ise genellikle kum tutucu ve ön çökeltim ünitesinin mikrobiyal çeşitliliği benzerdir. Havalandırma ünitesinin ise mikrobiyal içeriği ise son derece farklıdır.

Bunların sebeplerini açıklamak gerekirse kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinde kaba partiküllerin uzaklaştırılması amaçlanmaktadır ve bu yüzden bu ünitelerde atık su arıtım tesisine gelen atık sular mikrobiyal yükleriyle ve yüksek organik içerikle analiz edilmektedir. Havalandırma ünitesinde ise biyolojik arıtım yapılır ve bu ünite mikroorganizma içerir. Dolayısıyla havalandırma ünitesindeki mikrobiyal çeşitlilik, organik atık tipi ve yüküne göre ve oksijenlenme oranına göre değişecektir. Örneğin *Zooglea* ve *Thiothrix* gibi cinslerin varlığı operasyonel koşullardan kaynaklanmaktadır. Bu bakteriler işletme problemlerine sebep olur. Bu mikroorganizmaların yoğunluğu çözünmüş oksijen azlığında ve organik yük arttığında artmaktadır.

Belediyeye ait atık su arıtma sistemi ve mikrobiyal kommünite yapısı incelendiğinde ise belediye atık suyunun çoğunlukla sudan (% 99,9), nispeten küçük askıda ve çözünmüş organik ve inorganik katı maddelerden oluştuğu belirlenmiştir. Kanalizasyonda bulunan organik maddeler arasında, karbonhidratlar, lignin, yağlar, sabunlar, sentetik deterjanlar, proteinler ve bunların parçalanma ürünleri yanı sıra proses endüstrilerinden çeşitli doğal ve sentetik organik kimyasallar bulunur. Belediye atık suları arsenik, kadmiyum, krom, bakır, kurşun, cıva, çinko vb. potansiyel olarak toksik elementlerin de bulunduğu çeşitli inorganik maddeler içerir (Pescod, 2013). Belediyeye ait atık su arıtma tesislerinde arıtılan sular ağırlıklı olarak evsel atık içermekle birlikte endüstriyel kaynaklı atıklarda içermektedir. Evlerden çıkan atık su ve kirletici maddelerin miktarı değişkendir. Bu varyasyonlar iklim, sosyo-ekonomik faktörler, ev teknolojisi ve diğer faktörlerden etkilenmektedir. Evsel atıklar söz konusu olduğunda atık su ve katı atık kompozisyonu, ev içindeki çeşitli kaynaklardan gelen katkıların bir sonucu olduğu

unutulmamalıdır. Örneğin mutfak atıkları önemli miktarda organik madde içerir. Çamaşır ve banyodan çıkan atık su sadece bir miktar kirlilik yükü taşır, bunun bir kısmı, bu atık fraksiyonun bileşimi ve yükünü etkileyebilen ev kimyasallarından gelir (Henze ve Comeau, 2008). Tüm durumlar dikkate alındığında buradaki atık su kompozisyonunu ve mikrobiyal içeriği şehirde yaşam oranı (yaz-kış; tatil dönemleri, eğitim dönemi; öğrenci sayısı vb.), mevsimsel değişiklikler (yağmurlu dönemler, hava sıcaklığı), evsel- endüstriyel atık su kompozisyonu ve yük değişimleri şekillendirmektedir.

İşletmenin mikrobiyal kompozisyonuna bakıldığında ise kum tutucu ünitesinde en yoğun ve ortak görülen cinsler *Pseudomonas* ve *Arcobacter*, ön çökeltim ünitesinde ise *Arcobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*'tır. Havalandırma ünitesinde *Accumulibacter*, *Saprospiraceae*, *Moraxellaceae* gibi üyelere rastlanmıştır. Geri devir ünitesinde *Bacillus*, *Microthrix*, *Accumulibacter*, *Moraxellaceae* üyeleri belirlenmiştir. Son çökeltim ünitesinde de *Arcobacter*, *Saccharimonas*, *Saprospiraceae*, *Rheinheimera* üyeleri bulunmaktadır.

Mevsimsel olarak karşılaştığımızda kum yağ tutucu ünitesinde dominant grup yaz, sonbahar ve mevsiminde *Arcobacter*'dir. Ayrıca yaz ve sonbahar mevsiminde bir diğer baskın grup ise *Pseudomonas*' tır. Özellikle tür düzeyinde *Arcobacter cryaerophilus* ve *Pseudomonas hunanensis*'in yoğun olduğu belirlenmiştir. Daha önce *Campylobacter* cinsine dahil olan ve aerotolerant türlerden oluşan *Arcobacter* cinsi üyeleri enteropatojenler ve potansiyel zoonotik ajan olarak kabul edilir (Figueras ve ark., 2014). *Arcobacter spp.* çevrede her yerde görülmekte ve içme suyu, akan su ve durgun su olarak kullanılan kontamine yeraltı suları da dahil olmak üzere çeşitli su kaynaklarından izole edilmiştir. *Arcobacter spp.* İspanya, Güney Afrika, İtalya, ABD ve Almanya'da evsel atık sudan da izole edilmiştir. Evsel atık suyun mikrobiyal popülasyonu, yerel insan popülasyonunun dışkı florasının temsilcisi olarak alınır, *Arcobacter spp.* insanlar arasında oldukça yaygındır yorumu yapılabilir (Merga ve ark., 2014). *Pseudomonas hunanensis* ise Çin'in Hunan Eyaletinde uzun süreli manganez kirliliğine maruz kalan bir toprak örneğinden, bir Gram-negatif, polar kutuplu, çubuk şeklinde bakteri olarak izole edilmiştir (Gao ve ark., 2014). İlkbahar mevsiminde ise kum yağ tutucu ünitesinin kompozisyonu diğer mevsimlerden son derece farklıdır. *Caprococcus*, *Haloferax*, *Blautia*, *Ruminococcaceae* ve *Lachnospiraceae* üyeleri son derece yoğundur. 13 farklı kanalizasyon suyuyla yapılan bir çalışmada "fokal bakteri" grubunda, *Bacteroides* cinsinden OTU'lar, *Blautia*, *Roseburia* ve *Faecalibacterium*, *Lachnospiraceae* ve

Ruminococcaceae ailelerinden gelen bilinmeyen cinsler bulunduğu belirlenmiştir (Shanks ve ark., 2013). *Haloferax* cinsi ise halofilik bir arkea'dır ve p-hidroksibenzoik asit ve aromatik substratlar üzerinde tek karbon ve enerji kaynağı olarak büyüyebilir ve yüksek tuzlulukta gelişebilir (Zhuang ve ark., 2010).

Ön çökeltim üniteleri mevsimsel karşılaştırıldığında ise yaz mevsimi dışında diğer mevsimler birbirine benzemektedir. *Arcobacter* yaz mevsimi dışında tüm örneklemelerde görülmüştür. *Pseudomonas* cinsi üyeleri yaz ve ilkbahar mevsiminde yoğun görülürken, *Acinetobacter* üyelerine kış ve sonbahar mevsiminde rastlanmıştır. *Acinetobacter spp.* doğada yaygın olup, su, toprak, canlı organizmalar ve hatta insan derisinden elde edilebilir. Bu cinsin bazı suşlarının bifenil ve klorlu bifenil, amino asitler, fenol, benzoat, ham petrol, asetonitril gibi farklı kirleticilerin, fosfat veya ağır metallerin giderilmesinde rolü olduğu bilinmektedir (Abdel-El-Haleem, 2003). Bununla birlikte, *Acinetobacter*'in sadece düşük organik yüklü atık su arıtma tesislerinde dominant organizma olduğu gösterilmiştir (Bitton, 2005).

Havalandırma ünitesi ise mevsimsel olarak karşılaştırıldığında kış ve ilkbahar mevsiminin benzer olduğu yaz ve sonbahar mevsimlerinin farklı olduğu görülmüştür. Yaz mevsiminde *Sulfuritalea*, *Microthrix parvicella* ve *Accumulibacter phosphatis* yoğun olarak görülmüştür. *Sulfuritalea* azotlu kükürt bileşiklerinin ve hidrojenin oksidasyonu ile anoksik koşullar altında kemotototrofik olarak büyür. Organik asitlerin varlığında heterotrofik büyüme oluşur (Kojima ve Fukui, 2011). Muhtemelen *Sulfuritalea* cinsinin varlığı kükürt ve aromatik bileşiklerin varlığına bağlıdır. *Microthrix parvicella* ise aktif çamur arıtım tesisindeki köpük oluşumunda en sık görülen filamentöz bakterilerden biridir. *M. parvicella*'nın gelişimi, düşük sıcaklık, lipidler ve uzun zincirli yağ asitleri varlığında artmaktadır (Xie ve ark., 2007). *Accumulibacter phosphatis* atık su arıtma tesislerinde biyolojik fosfor gideriminde önemli rol oynar. Fosfat konsantrasyonları, arıtma tesislerinde *Accumulibacter* topluluğunu etkiler. Buna ek olarak, bir reaktördeki fosfat konsantrasyonları genellikle aerobik dönem boyunca, özellikle de aralıklı aerobik / anaerobik sıralamalı toplu işlem sırasında dalgalanmaktadır (Nurmiyanto ve ark., 2017). Sonbahar mevsiminde de AY212627, *Accumulibacter phosphatis*, *Tetrasphaera elongata* ve OM27 baskındır. AY212627, 16S rDNA klon kütüphanesi oluşturularak, at gübresi yığımından dışkı kaynaklı bakterilerin saptanması için yapılan çalışmadan elde edilen bir kültüre edilmemiş bakteridir (Simpson ve ark., 2004). *Tetrasphaera elongata* ise biyolojik fosfor giderme aktivitesi gösteren bir aktif

çamur reaktöründen izole edilmiştir. Hücre içi polifosfat granülleri bulunmaktadır ve izolat, çeşitli şekerler, şeker alkoller ve organik asitlerden yararlanabilen bir aerobik kemoheterotroftur (Hanada ve ark., 2002). Kış ve ilkbahar mevsimlerinde ise Saprospiraceae ve Moraxellaceae familyası üyelerinin baskın olduğu belirlenmiştir. Saprospiraceae familyası Bacteroidetes filumu içerisinde Sphingobacteriales ordosunda yer alan bir familyadır. Saprospiraceae, *Saprospira*, *Lewinella*, *Haliscomenobacter*, *Aureispira*, *Rubidimonas* ve *Portibacter* cinslerini kapsamaktadır. Çoğu, ağırlıklı olarak denizle ilişkili su ortamlarından izole edilir, aynı zamanda tatlı su ve aktif çamurdan da izole edilmişlerdir (McIlroy ve Nielsen, 2014). Moraxellaceae ailesi ise *Acinetobacter*, *Moraxella* ve *Psychrobacter* cinsini kapsayan Gammaproteobacteria sınıfı Pseudomonadales ordosunun bir üyesidir ve daha yakın zamanda önerilen *Alkanindiges*, *Paraperlucidibaca* ve *Perlucidibaca* cinslerini içerir. Ayrıca çok çeşitli doğal yaşam alanlarına dağılmış ve ekolojik ve klinik önemi olan heterojen bir bakteri grubundan oluşmaktadır. Örneğin *Acinetobacter* cinsi üyeleri, atık suların ve atıkların biyolojik giderilmesi, petrokimyasalların bozunması, biyopolimerlerin ve biyolojik koruyucu ürünlerin üretimi, biyokütle üretimi ve bağışıklık adjuvanlarının üretimi gibi geniş endüstriyel uygulamalar içerebilir (Teixeira ve Merquior, 2014).

Geri devir ünitesi mevsimsel olarak incelendiğinde ise havalandırma ünitesinin mikrobiyal kompozisyonu ve değişimine son derece benzer olduğu görülmektedir. Son çökeltim ünitesi incelendiğinde ise genelde sonbahar mevsimi hariç havalandırma ve geri devir ünitelerinde var olan üyelerden oluşmaktadır. Ancak mevsimler arası içerik farklıdır. Yaz mevsiminde *Arcobacter*, *Microthrix*, *Sulfuritalea* baskın cinslerdir. Sonbahar mevsiminde ise JF421159, *Saccharimonas aalborgensis*, EU135380 ve AM991231 baskındır. *Saccharimonas aalborgensis* TM7 filumu için önerilmiştir. Bakteriler, Aalborg Üniversitesi'ndeki bir aktif çamur biyoreaktöründe geliştirilmiştir. *Candidatus Saccharimonas aalborgensis* "çapı 0,7 µm olan bir kok morfolojisine sahiptir, zorunlu fermentatif metabolizma, glikoz ve diğer şekerleri fermente etme ve laktat üretme özelliğine sahiptir (Albertsen ve ark., 2013). JF421159 kültüre alınmamış ve petrolle kontamine olmuş tuzlu-alkali topraktan izole edilmiştir (http-16). AM991231 ise yine kültüre alınmamış bir klondur karstik kaynak suyundan izole edilmiştir (http-17).

Tesisin farklı ünitelerinin taksonomik içeriğini karşılaştırdığımızda ise genellikle kum tutucu ve ön çökeltim ünitesinin mikrobiyal çeşitliliği benzerdir. Havalandırma ünitesinin ise mikrobiyal içeriği ise son derece farklıdır. Havalandırma ünitesi ve geri

devir ünitesinin içeriği birbirine benzemektedir. Son çökeltim ise benzerliklerle beraber farklılıklara da sahiptir.

Mikrobiyal kompozisyon farklılığının sebepleri değerlendirildiğinde bu farklılığın pek çok farklı değişkene bağlı olabileceği düşünülmektedir. Örneğin tesisin farklı ünitelerinde BOİ değerleri farklıdır. BOİ değeri havalandırma ve geri devir ünitesinde yüksek iken kum ve yağ tutucuda, havalandırma ve geri devir ünitesindeki değerin yarısı kadar iken, son çökeltimde ise son derece düşüktür. Elementel analiz değerleri incelendiğinde yaz mevsimi örneklerinde mangan neredeyse tüm örneklerde görülmektedir. Sonbahar ve yaz mevsimi değerleri arasında büyük sapmalar yoktur. Kış mevsiminde ise sodyum ve potasyum oranı diğer mevsimlere göre düşüktür. İlkbahar mevsiminde ise magnezyum oranı diğer mevsimlerden neredeyse 2 kat fazla iken, kalsiyum oranı yaklaşık 3 kat artmış durumdadır.

Yapılan diğer çalışmalardan elde edilen sonuçları inceleyecek olursak; endüstriyel atık sularla yapılan çalışmalar daha çok kömür madeni atık suları, koklaştırma endüstrisi atık suları, petrol rafinerisi atık suları üzerinedir (Ma ve ark., 2015a; Ma ve ark., 2015b; Figuerola ve Erijman, 2007). Ma ve ark., (2015a), (2015b) çalışmalarında dominant olarak Proteobacteria üyeleri bulunduğunu, diğer bol bulunan filumların ise Bacteroidetes, Firmicutes, Acidobacteria, Planctomycetes olduğunu belirlemişlerdir. Cins düzeyinde ise her iki çalışmada da *Thiobacillus*, *Comamonas*, *Thauera*, *Azorcus* dominanttır. Endüstriyel atık sular üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada endüstriyel sistemlerin farklı oldukları karakteristik bir profil paylaşmadıkları sonucuna ulaşılmıştır. Evsel atık su arıtımı yapan sistemlerin endüstriyel sistemlerden daha fazla çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiş ve evsel atık su ile endüstriyel atık suda ortak bulunan bir cins belirlenmemiştir. Bazı mikroorganizma gruplarının varlığı spesifik bileşikleri degrade edebilme yeteneğiyle açıklanabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı daha ayrıntılı bir yorum ve sonuca ulaşmak için endüstriyel atık suyun çok daha ayrıntılı karakterizasyonuna ihtiyaç vardır. Çünkü içerisinde pek çok organik karışımı içermektedir (Ibarbalz ve ark., 2013).

Belediyeye ait atık su arıtma tesislerindeki mikrobiyal çeşitlilik çalışmaları değerlendirildiğinde bir çalışmada, Çin Şanghay'daki dört tam ölçekli belediye atık su arıtma tesisinden aktif çamur numunelerinin mikrobiyal topluluk kompozisyonunu ve çeşitliliğini incelemek için yüksek verimlilikte dizi analizi uygulanmıştır. Proteobacteria filumunun en dominant filum olduğu belirlenmiştir. Diğer dominant iki filum ise sırasıyla

Bacteroidetes ve Firmicutes'tir. Acidobacteria, Chloroflexi, Verrucomicrobia ve Planctomycetes diğer bulunan filumlardır. Tüm örneklemelerde ortak bulunan cinsler ise *Zooglea*, *Dechloromonas*, *Thauera*, *Nitrospira*, *Arcobacter*, *Ferruginibacter*, *Sulfuritalea* cinsleridir (Gao ve ark., 2016). Zhang ve ark., (2012) 'de yaptıkları çalışmada 454 pirosekanslama ile 14 arıtma tesisinden mikrobiyal kommunité analizi yapmıştır. Çalışmada geleneksel metodlarla örnekler arası farklılıkların vurgulanmasının zor olduğu belirtilmektedir. Tüm örneklerde Proteobacteria'nın dominant olduğu belirlenmiştir. Diğer dominant filumlar Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria'dır. Bunların dışında Verrucomicrobia, Chloroflexi, Acidobacteria, Planctomycetes gibi majör diğer filumlarda mevcuttur. *Zooglea*, *Dechloromonas*, *Caldilinea*, *Tricoccus*, *Prostheco bacter* tüm örneklerde bulunan ortak cinslerdir. *Zooglea* hücre kümelerinin oluşumundan sorumludur ve floklaşmada temel ajandır. Bu yüzden aktif çamurda bulunmaları normaldir. Bazı cinslerin dağılımı da sıcaklığa bağlıdır. Örneğin *Tricoccus* düşük sıcaklıkta gelişmektedir. Tuzluluk, güneş ışığı maruziyeti, endüstriyel atık su karışması, pH, sıcaklık, çözülmüş oksijen gibi durumlar cinslerin dağılımlarını etkilemektedir (Zhang ve ark., 2012). Bu çalışmaya çok benzer bir çalışma yine Çin'in 4 şehrinde bulunan 14 atık su arıtma sisteminin havalandırma ünitesinden aktif çamur örneği alınarak gerçekleştirilmiştir. Analiz için Roche 454 FLX kullanılmıştır. Dominant filumlar sırasıyla Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, Chloroflexi'dir. En az 10 örnekte ortak bulunan cinsler ise *Ferruginibacter*, *Prostheco bacter*, *Zooglea*, *Gp4*, *Gp6*'dır (Wang ve ark., 2012). Hu ve ark., (2012) ise 12 belediyeye ait tesisten 16 aktif çamur örneği almıştır. 3 örnekte Proteobacteria'nın dominant olduğunu bazı örneklerde ise Bacteroidetes'in dominant olduğunu belirlemişlerdir. Aktif çamurun karakterinin toprak karakterine benzerlik gösterdiği ve farklı atık su arıtma sistemlerinde mikrobiyal kommunitenin yapısının benzer olmadığını ortaya çıkarmışlardır. Ayrıca bu alanda çalışmamıza benzerlik gösteren mevsimsel ve çok yıllık mikrobiyal kommunité çalışmaları da mevcuttur. Ju ve Yang, (2015), çalışmalarında belediyeye ait bir atık su arıtma sistemi aktif çamur numunelerinde 5 yıl boyunca inceleme yapmışlar ve mevsimsel çok büyük bir değişim gerçekleşmediğini, bazı varyasyonların olduğunu belirlemişlerdir. Kış aylarında havalandırma ünitesinde filamentli bakterilerin daha yoğun bulunduğu belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ise belediyeye ait atık su arıtma tesisinden 4 yıl boyunca aktif çamur örneği alınmıştır. Diğer çalışmalarda olduğu gibi Proteobacteria en dominant filumdur. Ardından Actinobacteria, Bacteroidetes,

Chloroflexi ve Firmicutes gelmektedir. Actinobacteria'nın kış mevsiminde yaz mevsimine göre daha yoğun olduğu belirlenmiştir. Nitrospirae, Cyanobacteria, Acidobacteria ve Spirochaetes filumlarının ise yaz mevsiminde kış mevsiminden daha yoğun olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Cins düzeyinde ise *Mycobacterium* ve *Nitrospira* en dominant 2 cinstir. Diğer yoğun görülen cinsler fosfat biriktiren *Tetrasphaera*, denitrifiye edici cinsler *Rhodobacter* ve *Paracoccus*, çeşitli organik bileşikleri kullanan fermentatif cinsler *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Rhodobium*, kabarma ve köpürmeye neden olan cinsler *Candidatus Microthrix*, *Nocardioides* ve *Tetrasphaera*'dır (Ju ve ark., 2014). Ye ve Zhang, (2013) çalışmalarında, çalışmamıza benzer şekilde belediyeye ait atık su arıtma tesisinin farklı ünitelerinden örnekleme yapmışlardır. Aktif çamurun yüksek çeşitliliğe sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Dominant filum tüm örneklerde Proteobacteria'dır. Çıkış suyu ve aktif çamurda 2. bol bulunan filum Actinobacteria iken, girişte Firmicutes yoğundur. Tüm örneklerde ortak görülen filumlar Proteobacteria, Actinobacteria, Planctomycetes, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes, Verrucomicrobia ve TM7'dir. Örnekler arası dominant grupların farklı olduğu belirlenmiş ve bunun nedeninin muhtemelen girişteki bazı bakteri popülasyonlarının aktif çamurda çoğalamaması yorumu yapılmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Belediyeye ait bir atık su arıtma tesisi olan Belediye Atık Su Arıtma Tesisi aktif çamur örneklerinde 4 mevsim boyunca dominant filum Proteobacteria'dır. Bunu Bacteroidetes ve Actinobacteria izlemektedir. Diğer ortak bulunan filumlar ise Verrucomicrobia, Firmicutes'tir. Cins düzeyinde ise *Sulfuritalea*, *Microthrix*, *Accumulibacter*, *Arcobacter*, *Tetrasphaera*, *Caldilinea*, *Dechloromonas* üyelerine rastlanmıştır.

Yukarıdaki çalışmalardan da görüldüğü gibi atık su arıtma sistemlerinde dominant filum Proteobacteria'dır. Sonra Bacteroidetes, Acidobacteria ve Chloroflexi gelir. Ototrofik ve heterotrofik bakteriler arasındaki değişiklikler atık su karakteristiklerinden, coğrafi bölgeden, kullanılan teknolojik sistem ve operasyon koşullarından etkilenir. Tür kompozisyonu farklılıklar gösterse de *Zooglea*, *Dechloromonas*, *Prostheco bacter*, *Caldilinea* ve *Tricoccus* tüm atık su arıtma tesislerinde bulunmaktadır. Filamentli bakteriler ise atık sularda mikrobiyal yapı oluşumu için düşük miktarda bulunmaktadır. Aşırı gelişimleri çamur kabarmasına sebep olur. Kabarma olduğunda *Microthrix parvicella* dominanttır. *Microthrix*'in yoğunluğu Proteobacteria'dan Actinobacteria'ya

doğru kaymaya sebep olur. Genellikle atık su arıtma sistemlerinde *Nostocola limicola*, *Mycobacterium fortuitum*, *Microthrix parvicella*, tip 1863 *Acinetobacter* bulunmaktadır. Amonyak okside eden arke ve bakteri yoğunluğunu amonyum konsantrasyonu ve sıcaklık etkilemektedir. Düşük sıcaklık ve yüksek SRT *Nitrosospira* için tercih edilen bir ortamdır. *Nitrosospira* ise düşük çözünmüş oksijen ve kısa SRT olduğunda gelişir. *Nitrobacter* yoğunluğu da çözünmüş oksijen yüksek olduğunda kışın artar. Ayrıca atık su arıtma sistemlerinde *Thauera sp.* gibi nitrifiye edicilere rastlanır. En yaygın görülen fosfat biriktiren organizma ise *Accumulibacter sp.*'dir ve fosfat gideriminde rol alır. *Tetrasphaera* da yoğun görülmektedir (Cyzdik-Kwiatkowska ve Zielińska, 2016).

4.3.2. Anaerobik çürütücüdeki mikrobiyal çeşitliliğin değerlendirilmesi

Kültür bağımsız çalışmalar kapsamında atık su arıtma tesislerinin mikrobiyal kommunitte yapısı mevsime bağlı olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla 16S rRNA geni marker gen olarak kullanılarak metagenomik analiz uygulanmıştır. Atık sulardaki mikrobiyal kommunitte yapısı değerlendirilirken belediyeye ait Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nden hem aerobik arıtım yapan ünitelerden hem de anaerobik arıtım yapan üniteden örnekleme yapılmıştır. Anaerobik üniteyi temsil etmek için anaerobik çürütücüden 4 mevsim örnekleme yapılarak buranın mikrobiyal kommunitte yapısı ortaya çıkarılmıştır.

Anaerobik arıtım teknolojisi, işleme maliyetini düşürme ve organik atıklardan 'biyogaz' (metan) olarak enerji üretme potansiyeli sunan, oksijene ihtiyaç duymadan organik atık ve atık suyun biyolojik arıtımıdır (Narihiro ve Sekiguchi, 2007). Bu teknolojinin en büyük uygulaması, belediye atık su arıtma tesislerinde yaygın olarak kullanılan bir çamur çürütücü gibi çamurun dengelenmesidir.

Organik maddelerin biyogaza anaerobik olarak dönüştürülmesi birçok farklı bakteri ve arkea türü arasındaki etkileşimleri içeren çok adımlı bir süreci içerir. Mikrobiyal süreçler, hidroliz, asidogenezis, asetogenezis ve metanogenezin ardışık adımları ile tanımlanabilir (Venkiteshwaran ve ark., 2015). Bu adımların her biri bir mikroorganizma grubu tarafından gerçekleştirilir ve hızlı ve istikrarlı arıtımı sağlamak için basamaklar veya gruplar arasında dengeli bir reaksiyon oranını korumak kritik önem taşır.

Bu sebeplerle son yıllarda teknolojiyle ilişkili en gelişmiş alanlardan biri de anaerobik arıtım süreçlerinin mikrobiyolojisidir. Çünkü biyolojik süreçleri daha iyi

kontrol etmek için bu süreçlerdeki mikrobiyal toplulukların ekolojisi ve fonksiyonu hakkında detaylı bilgi gerekmektedir. Özellikle 16S rRNA genini hedefleyen analizler aracılığıyla, topluluk kompozisyonlarının detaylı yapıları ortaya çıkarılabilmektedir.

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde anaerobik atık ve atık su çamurlarında çoğunlukla 20'den fazla bakteri filumu tespit edilmiştir. Örneğin, elde edilen 16S rRNA gen klonları yoğun olarak Proteobacteria (özellikle Deltaproteobacteria sınıfı), Chloroflexi, Firmicutes, Spirochaetes ve Bacteroidetes gibi çeşitli prokaryotik taksonlarda yer almaktadır. Benzer şekilde, Archaea domaininde de Methanomicrobia, Methanobacteria ve Thermoplasmata sınıflarındaki klonlar, bu tür çamurlarda bulunan tipik klonlarıdır (Narihiro ve Sekiguchi, 2007). Ayrıca çeşitli kültüre edilmemiş taksonomik gruplara da oldukça sık rastlanmaktadır. Kültüre edilmemiş Archae ile ilgili olarak, archaeal 16S rRNA gen klonlarından takson WSA2 belirlenmiştir. Bu taksona mezofilik metanojenik çürütücüde bol miktarda rastlanmıştır (Chouari ve ark., 2005).

Yapılan çalışmalarla sonuçlarımız kıyaslandığında benzerlik görülmektedir. Tam ölçekli biyogaz üretim reaktörlerinde mikrobiyal çeşitlilik metagenomik çalışmalar kullanılarak rapor edilmiştir (Nelson ve ark., 2011; Sundberg ve ark., 2013; Yang ve ark., 2014). Çoğu çalışmada sonuçlar benzerlik göstermektedir. Guo ve ark., (2015), Bacteria üyelerinin dominant olduğunu % 93 oranında DNA dizisi elde edildiğini göstermiştir ve anaerobik çamurda Archaea'nın oranının % 5,6 olduğunu belirlemiştir. Euryarchaeota filumuna ait sekanslar % 1,1 oranındadır. Filum seviyesinde, en bol bakteri popülasyonlarının Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes ve Actinobacteria üyesi olduğu belirlemiştir. Euryarchaeota filumundaki en büyük sınıf Methanomicrobia'dır. Methanomicrobia'nın baskınlığı, Methanosaeta ve Methanosarcina'nın bulunmasıyla ilişkili olduğunu belirtmiştir. Cins seviyesinde, *Candidatus Cloacamonas* anaerobik çamurunun en baskın taksonudur. Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bacteria domaini üyeleri baskındır. Archaeae taksonomik kompozisyonunu ise filum düzeyinde baskın olarak Euryarchaeota oluşturmaktadır. Cins düzeyinde ise *Methanobacteriales_f_WSA2_g*, *Methanomicrobiales_f_g*, *Methanoculleus*, *Methanospirillum*, *Methanosaeta*, *Methanobrevibacter* baskın türler arasındadır. Bacteria taksonomik kompozisyonunu filum düzeyinde Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Thermotogae, Actinobacteria üyeleri oluşturmaktadır. Cins düzeyinde *Cloacomonas*, *Syntrophus*, *Arcobacter* üyeleri baskındır.

Elde ettiğimiz sonuçlardaki mikroorganizmaları görev aldıkları ekolojik basamaklardaki rollerine göre değerlendirirsek; hidrolitik bakteriler filogenetik olarak çeşitlidir, bununla birlikte, iki filum, yani Bacteroidetes ve Firmicutes, bilinen türlerin çoğunu içerir. Metanojenlerle karşılaştırıldığında, hidrolitik bakteriler hızla büyür ve pH ve sıcaklık gibi çevresel faktör değişikliklerine karşı daha düşük duyarlılığa sahiptir. Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes ve Proteobacteria, asidojenik bakterilerin en belirgin türlerini içeren filumlardır. Asidogenez genellikle hızlıdır, bu da aşırı organik yük, toksik madde veya hızlı sıcaklık değişimi nedeniyle asit kullanımı inhibe edildiğinde veya çok yavaş olduğunda uçucu yağ asitlerinin birikmesine ve pH düşüşüne neden olabilir. pH düşüşü, metanogenez tamamen inhibe edebilir (Venkiteshwaran ve ark., 2015). Normal koşullar altında, sintrofik asetogenez sadece H₂'nin kısmi basıncı 10⁻⁴ atm'den düşükse gerçekleşir. Hidrojenotrofik metanojenler ve / veya diğer H₂ kullananlar, asetojenler ile birlikte sintropi içinde yaşarlar.

Anaerobik arıtımda propionat bozunumuna katılan ve en yaygın görülen sintrofik asetojenler *Pelotomaculum*, *Smithella* ve *Syntrophobacter* gibi cinslere aittir. Butirat ve diğer yağlı asitlerin oksidasyonu, *Syntrophus* ve *Syntrophomonas*'a ait asetojenler tarafından gerçekleştirilir (Venkiteshwaran ve ark., 2015). Sintrofik asetogenez, hızlı, kararlı anaerobik arıtım operasyonunun stabil gerçekleşmesi için kritik ve genellikle hız sınırlayıcı bir adımdır, çünkü bazı uçucu yağ asitleri özellikle de propionat, metanogenez, nötr pH'da bile yüksek oranda inhibe eder. Sintrofik asetojenler genel anaerobik arıtım sürecinde kritik bir rol oynamaktadır, ancak saf kültürlerin muhafaza edilmesinin güçlüğü nedeniyle kısmen incelenmiştir (Barredo ve Evison, 1991; Demirel ve Yenigun, 2002; Nielsen ve ark., 2007; Mathai ve ark., 2015).

Biyometan üretiminin son adımı olan metanogenez, metanojenler olarak adlandırılan Archaea'ya ait özel bir mikroorganizma grubu tarafından gerçekleştirilir. Metanojenlerde bilinen üç tip vardır: asetoklastik, hidrojenotrofik ve metilotropik. Hidrojenotrofik metanojenler, H₂ uzaklaştırma kabiliyeti ve kısmi basıncın düşük tutulması nedeniyle anaerobik arıtımda kritik öneme sahiptir. *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanoculleus*, *Methanospirillum* ve *Methanothermobacter* anaerobik çürütücülerde en sık görülen hidrojenotrofik metanojenlerdir. Asetoklastik metanojenler iki ana gruba aittir: *Methanosaeta* ve *Methanosarcina*. *Methanosaeta* zorunlu asetoklastik metanojenlerdir ve sadece substrat veya elektron donörü olarak asetat veya direkt elektron taşıma özelliğini kullandığı bilinmektedir. *Methanosaeta*'nın

filament morfolojisi, granül oluşumunda önemli bir rol oynayabilir, çünkü filamentler, granülün birlikte tutulmasına yardımcı olan bağlayıcılar gibi hareket eder (Hori ve ark., 2006; Conklin ve ark., 2006).

Ayrıca bazı koşullar altında, bazı anaerobik çürütücülerde CH₄ üretimi için asetattan alternatif bir yol izlenmiştir. Bu yolda, asetat H₂ ve CO₂'ye dönüştürülür, daha sonra hidrojenotrofik metanojenler ile CH₄'e dönüştürülen asetat, oksitleyici bakterilerle birleştirir. H₂ tüketen metanojenlerle birlikte sintrofik asetat oksidasyonunu gerçekleştiren sadece birkaç mikroorganizma türü tespit edilmiştir: *Clostridium ultunense*, *Thermacetogenium phaeum*, *Tepidanaerobacter acetatoxydans*, *Thermotoga lettingae* ve *Syntrophaceticus schinkii* (Venkiteshwaran ve ark., 2015).

Çalışmamızda baskın olarak görülen, Proteobacteria üyeleri anaerobik arıtım sürecinde önemli mikroorganizmalardır, çünkü Alfa, Beta, Gamma ve Deltaproteobacteria üyelerinin çoğu glikoz, propiyonat, bütirat ve asetat kullanan mikrobiyal topluluklardır (Ariesyady ve ark., 2007). Firmicutes filumuna ait üyelerin çoğu, çoğu zaman aktif çamur sistemlerinde ve anaerobik çürütücülerde saptanan çeşitli uçucu yağ asitlerini parçalayabilen sintrofik bakterilerdir (Garcia-Peña ve ark., 2011).

Clostridia sınıfı, fermentörlerde oldukça yaygın karşılaşılan bir bakteri grubudur. Anaerobik çamurda Clostridia'nın baskınlığı yüksek bir hidroliz oranı ile ilişkilidir. Bacteroidetes'e ait Bacteroidaceae familyası, anaerobik arıtım sırasında organik materyallerin hidrolize edilmesi ve fermente edilmesi ve organik asitler, CO₂ ve H₂'nin üretilmesinde genellikle önemli bir rol oynayan fermentatif bakterileri de içermektedir (Traversi ve ark., 2012).

Sonuçlar mevsimsel olarak karşılaştırıldığında, mevsimlere göre mikroorganizmaların çeşitliliğinde çok büyük sapmalar görülme de yüzdeleri değişiklik göstermektedir. Anaerobik çürütücüdeki mikrobiyal kominitenin yapısını çevresel parametreler etkilemektedir. Çevresel parametreler özellikle metanojenez için önemlidir. Bakterilerle karşılaştırıldığında, metanojenler daha düşük bir büyüme oranına sahiptirler ve pH düşüşü, yüksek miktarda uçucu yağ asidi ve amonyak konsantrasyonları gibi çevre bozulmalarına duyarlıdır. pH, sıcaklık, substrat konsantrasyonu, substrat bileşimi ve toksik veya inhibe edici bileşiklerin varlığı gibi çevresel parametreler metanojenik kominite yapısında bir değişikliğe neden olabilir ve genel arıtım sürecini etkileyebilir (Chen ve ark., 2008). Sıcaklığı psikrofilik değerlere indirgemek, mikrobiyal kominitenin yapısının asetoklastikten hidrojenotrofik metanojenlere doğru

değiştirebilir. Substrat konsantrasyonu ve bileşimindeki değişiklikler metanojenik topluluğu ve onun faaliyetini etkileyebilir. Farklı substrat tipleri farklı metanojenik toplulukların oluşmasına neden olabilir (Lee ve ark., 2009). Çoğu büyük ölçekli endüstriyel veya belediye anaerobik arıtıcıda, atık su akışlarındaki değişkenlikten dolayı alt katman konsantrasyonunda veya substrat aşırı yükünde meydana gelen değişiklikler, çürütücü kararsızlığının en yaygın nedenidir. Dört trofik fazdan hidroliz ve asidogenez, asetogenezis ve metanogenezden daha hızlı ilerleyebilir. Substratın aşırı yüklenmesi sırasında, uçucu yağ asitleri ara ürünlerinin oluşma oranı, metan dönüşümü oranından daha yüksektir. Bu nedenle, uçucu yağ asitleri çürütücüde yüksek konsantrasyonlara kadar birikir ve verimli metanojenik aktivite için pH 7-8'in tipik optimal değerlerinden düşüşüne neden olurlar (Çater ve ark.,2013). Birçok çalışma, metanojenik süreci ciddi şekilde engelleyebilecek çok çeşitli çevresel ve besleyici faktörleri araştırmıştır. Amonyak, sülfat / sülfid ve hafif metal iyonları, ağır metal iyonlarına bağlı toksisite anaerobik proseslerin olumsuz etkilenmesine neden olabilecek faktörlerdir. Bununla birlikte, metal iyonlarının metanojeniz için gerekli eser elementler olduklarını ve yeterli konsantrasyonlarda gerekli olduğunu not etmek önemlidir.

4.3.3. FISH sonuçlarının yorumlanması

Günümüzde aktif çamur sistemleri pekçok ülkede atık su arıtımında büyük ölçüde kullanılmaktadır. Operasyon başarısı için de farklı koşullar altında mikroorganizmalar ve aktivitelerini anlamak anahtar rol oynamaktadır. Bir aktif çamur sisteminin verimliliği mikrobiyal çeşitliliğe, atık tipine, çevre koşullarına ve operasyon koşullarına bağlıdır. Atıksu arıtım tesislerinde mikrobiyal çeşitliliğin incelenmesi filamentli bakterilerin sebep olduğu kabarma ve köpürmenin kontrolünde de son derece önemlidir. Bu yüzden bu mikroorganizmaların tanımlanması ve komünitedeki dinamiklerinin belirlenmesi gerekmektedir.

1989 yılından beri floresan etiketli rRNA hedefli oligonükleotid probalar mikroorganizmaların sayılması ve tanımlanması amacıyla kültür bağımsız olarak kullanılan ortak bir yöntem haline gelmiştir (Wagner, Horn ve Daims, 2003).

En Muhtemel sayı yöntemi (MNP) gibi kültürel sayım yöntemleri atık sulardan mikroorganizma tanımlanması ve izolasyonu için kullanılmaktadır. Bununla birlikte petride sayım ve MNP teknikleri daha seçicidir ve komünite yapısını doğru olarak yansıtmamaktadır (Kim ve ark., 2004). Bu yüzden FISH temelli yöntemlerin

kullanılmaya başlaması aktif çamurun mikrobiyal kompozisyonu ve morfolojisi üzerine yapılan araştırmalara yeni bir yön kazandırmıştır (Domanska ve ark., 2014).

Bununla birlikte yöntemin hem genel hem de atık su ve çamur örneklerine uygulanması sırasında sınırlamaları bulunmaktadır. Genel sınırlamalardan biri kullanılan tek etiketli oligonükleotid problemlerin düşük ribozom içerikli hücreler için yetersiz kalmasıdır. Ayrıca kültüre alınmamış mikroorganizmalar için rRNA hedefli problemlerin özel hibridizasyon ve yıkama koşulları tam olarak tespit edilememesi, bakteriyel ve arkeal hücrelerin standart bir fiksasyon protokolü ile oligonükleotid problemlere geçirgenlik göstermemesi de diğer sınırlamalardandır. Hatalı pozitif ve hatalı negatif sonuçlar da yöntemin dezavantajları arasındadır. Siyanobakteriler, maya, küf ve metanojenler gibi otofloresan özellik gösteren hücreler hatalı pozitif sonuçlara neden olurken, düşük rRNA içeriği, fotoğraflama süresince probun sinyal yoğunluğunun azalması da hatalı negatif sonuçlara neden olmaktadır. Bunun dışında sayım da manuel olduğunda karmaşık ve zaman alıcı olabilmektedir (Wagner, Horn ve Daims, 2003).

FISH methodu temiz ve ayrı durumda bulunan saf örneklerde uygulanırken, mikroorganizmaların doğal yaşam ortamlarında ekoloji ve çeşitliliğinin incelenmesinde ve kültüre alınamayan mikroorganizmaların sayım ve tanımlanmalarında avantajlı bir yöntemdir. Fakat atık su ve çamur örneklerine uygulanırken bir dizi ekstra problem yaşanabilmektedir. Örnekler yüksek organik ve inorganik madde içeriği sebebiyle yüksek arka plan ışınması yaratmaktadır ve prob ışınma sinyallerinin algılanmasında zorluk yaşanmaktadır. Bazı basamaklar da sert uygulamalar içerdiğinden flokları parçalayabilmektedir ve hücre etkileşimleri incelenememektedir. Bu yüzden saf hücreler için geliştirilen protokoller bu örnekler için uygun değildir (Örmeci ve Linden, 2008). Bu sebeple çalışmada FISH protokolü uygulanırken oldukça fazla optimizasyon çalışması yapılarak sonuçlar elde edilmiştir. Optimizasyon çalışmaları kapsamında hücrelerin farklı oranlarda seyreltilmeleri, sonikasyonlu su banyosu ile muamele, PBS ile hücre ve filtrelerin yıkanması, vortexlenerek homojenizasyon sağlanması, fiksasyon esnasında formamid oranlarının değiştirilmesi ve hibridizasyon sürelerinin uzatılması gibi pek çok deneme yapılmış ve mümkün olan optimum sonuçlar elde edilmeye çalışılmıştır.

Yapılan optimizasyon çalışmalarına rağmen FISH protokolünün uygulanması sırasında yine de çözümlenemeyen birkaç sorun yaşanmıştır. Bu sorunların başında bazı örneklerde azaltılmaya çalışılsa da giderilemeyen organik ve inorganik kirlilik ve filtrasyon sonucunda flok oluşumu gibi sebepler dolayısıyla homojen dağılmayan

hücreler bulunmaktadır. Bu sorunlar da sayım alanlarında hücre sayılarının hatalı hesaplanması, temsili seçilen 20 alanda hücrelerin farklı farklı hesaplanmasına ve oldukça yüksek değerde standart sapmalara sebep olmaktadır.

Atık su ve çamur örneklerine FISH metodunun daha da iyileştirilmesi amacıyla optimizasyon ve yeni uygulamalar geliştirme çalışmalarına devam edilebilir. Çünkü geliştirilen yöntem, seçilen boya ve etiketleme tekniği arka plan ışımayı ve spesifik olmayan bağlanmayı azaltabilmektedir. Daha hassas problemlerin seçilmesi ve sentezlenme işleminin daha hassas yapılması sağlanabilir. Süreçler flokların yapısına zarar vermektedir. Bu yüzden ara basamaklarda uygulamalar modifiye edilebilir (Örmeci ve Linden, 2008). Organik ve inorganik maddeler açısından kirli olan örnekler için enzimatik muamele gerekebilmektedir (Domanska ve ark., 2014)

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi olmak üzere farklı özellik gösteren iki atık su arıtma tesisinden 4 mevsim boyunca yapılan örneklemler ile gerçekleştirilen FISH uygulaması sonucunda Archaea spesifik Arc 344 ve Arc 915 problemleriyle verimli sonuçlar elde edilememiş, sinyal bazı örneklerden hiç alınamamış, bazı örneklerden ise oldukça az sayıda hücre pozitif sonuç vermiştir. Eub338 probuyla ise pozitif sinyaller alınmış ve Bacteria domain üyelerinin hücre sayısının oldukça fazla olduğu tespit edilmiştir.

Bacteria spesifik Eub338 probu ile pozitif sinyal alınan hücrelerin morfolojik yapıları incelendiğinde hücre yoğunluğu ve morfolojilerinin mevsime, tesis tipine ve örnekleme noktalarına göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak örneklerde gözlemlenen morfolojiler incelendiğinde uzun, kısa ve kıvrılmış çeşitli büyüklük ve uzunluklarda basiller, farklı diziliş ve boyutlarda koklar, spiral şeklinde hücreler, otofloresan özellik gösteren hücreler ve filamentli hücreler gözlemlenmiştir. Tesis tipine göre ayrıldığında Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nde farklı uzunluklarda basiller ve filamentli mikroorganizmalar baskın iken, Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde koklar ve kısa basiller baskın olarak tespit edilen hücrelerdir.

Mevsimsel olarak incelendiğinde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinde yaz ve sonbahar mevsimi örneklerinde uzun ve kısa basiller yoğun iken, kış ve ilkbahar örneklemlerinde kısa basiller ve koklar bulunmaktadır. Ön çökeltim ünitesinde ise bütün mevsimlerde çeşitli şekillerde basil şeklinde hücreler yoğun iken koklar da görülmektedir. Ayrıca yaz mevsiminde otofloresan özellik gösteren hücreler de saptanmıştır. Havalandırma ünitesinde ise tüm mevsimlerde genellikle flok oluşumu

gözlemlenmiştir. Ayrıca filamentli hücreler, uzun ve kısa basiller, koklar ve otofloresan özellik gösteren hücrelerde görülmektedir. Geri devir ünitesinde de yoğun olarak filamentli mikroorganizmalar ve flok oluşumu görülmektedir. Mevsimsel olarak incelendiğinde ise yaz mevsimi örneklemeinde kısa basiller yoğun iken diğer tüm örneklemeinde kok benzeri hücreler yoğun olarak görülmektedir. Son çökeltim ünitesinde ise tüm mevsimlerde filamentli hücreler, kok ve basiller görülmektedir. Anaerobik ünitelerden yapılan tüm örneklemeindeki hücre morfolojileri incelendiğinde uzun, kısa ve kıvrık basiller, filamentli hücreler ve koklar yoğun olarak bulunmaktadır.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesinde ise yaz mevsimi örneklemeinde otofloresan özellik gösteren hücreler, koklar ve özellikle de kısa basiller yoğun olarak görülmektedir. Sonbahar dönemi örneklemeinde ise uzun ve kısa basiller, zincir yapmış kok şekilli hücreler ve *Cyanobacteria* olduğu düşünülen hücreler gözlenmektedir. Kış ve ilkbahar örneklemeinde de kok şekilli hücreler oldukça yoğun olarak bulunurken, basiller de mevcuttur. Ön çökeltim ünitesinde uzun ve kısa basiller ve koklar tüm örneklemeinde görülürken, kış ve ilkbahar örneklemeinde yoğun olarak koklar bulunmaktadır. Havalandırma ünitesinde ise tüm örneklemeinde uzun ve kısa basiller ve kok şekilli hücreler yoğun olarak görülmektedir. Kış örneklemeinde ise filamentli mikroorganizmalar, S şeklinde kıvrık hücreler ve spiral şekilli hücreler görülmektedir. Son çökeltim ünitesinde tüm örneklemeinde yine diğer örnekleme noktalarında olduğu gibi koklar ve kısa basiller baskın durumdadır. Yaz ve kış mevsimi örneklemeinde filamentli mikroorganizmalar da görülmektedir.

Veriler sayım sonuçları açısından, tesis tipi, örnekleme noktaları ve mevsimsel açıdan değerlendirildiğinde toplam hücre sayısı 10^7 - 10^{11} hücre/ml arasında değişiklik göstermektedir. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi sayım sonuçları değerlendirildiğinde mevsimsel olarak ünitelerdeki toplam hücre sayıları çok büyük değişiklikler göstermemektedir. Farklı ünitelerin hücre yoğunluğu karşılaştırıldığında ise geri devir ünitesi ve anaerobik ünite (çürütücü) hücre yoğunluğunun diğer ünitelerden fazla olduğu belirlenmiştir.

Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi sayım sonuçları değerlendirildiğinde ise mevsimsel olarak bazı ünitelerdeki hücre sayılarının değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle ön çökeltim ve son çökeltim ünitelerinde hücre sayıları artış ve azalmalar göstermektedir. Ayrıca ilkbahar mevsimi örneklemei daha yoğun hücre içermektedir.

Farklı ünitelerin hücre yoğunluğu karşılaştırıldığına ise kum tutucu ve havalandırma ünitelerinin hücre yoğunluğunun diğer ünitelerden biraz daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi hücre yoğunlukları açısından karşılaştırıldığında benzer oldukları ancak havalandırma ve son çökeltim ünitesi hücre yoğunluklarının Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. İstisna olarak bazı örnekleme noktalarının mevsimler kıyaslamalarında da Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde hücre sayılarının fazla bulunduğu belirlenmiştir.

FISH üzerine yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde metodun hem genel hem de spesifik grupların incelenmesi amacıyla da kullanıldığı görülmüştür. Domuz ahır atık suyundan yapılan bir çalışmada FISH metodu ile nitrifiye edici mikrobiyal kominitenin analizi amacıyla FISH metodu uygulanmıştır. Çalışmada Eub338 probu, α , β ve γ -Proteobacteria spesifik probalar, AOB (amonyak okside eden bakteriler) ve NOB (nitrit okside eden bakteriler), denitrifiye edici bakteriler için probalar kullanılmıştır. *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio*, *Nitrosolobus*, *Rhodobacter*, *Rhodovulum*, *Roseobacter* ve *Paracoccus* gibi cinslerin varlığı incelenmiştir (Kim ve ark., 2004). Bir diğer çalışmada bira fabrikası atık suyu ile çalışılmış ve metanojenlere spesifik probalar kullanılarak bu gruba yönelik çalışma gerçekleştirilmiştir (Saiki ve ark., 2002). Farklı pek çok çalışma yine nitrifikasyon yapan mikroorganizmaların araştırılması üzerine gerçekleştirilmiştir (Okabe, Stoh, Watanabe, 1999; Benkova ve Wanner, 2013). FISH metodu sülfat indirgeyen bakterileri belirlemek için de kullanılmıştır (Hesham ve Alamri, 2012)

Bizim çalışmamızda ise FISH metodu diğer çalışmalara ek olarak destekleyici bir metod olarak uygulanmıştır. Çalışmada Bacteria ve Archaea için daha genel probalar kullanılarak bu domainlerin kominitede baskınlığı belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca mikroorganizmaların morfolojileri, mevsimsel dağılımları ve sayısal verileri üzerine sonuçların elde edilmesi amaçlanmıştır.

Yapılan pek çok çalışma sonucu aktif çamur sistemlerinde Beta-, Alpha- ve Gammaproteobacteria, Bacteroidetes ve Actinobacteria üyelerinin baskın bir şekilde bulunduğu belirlenmiştir. Filamentli bakterilerin belli sayıda bulunması flok oluşumu için gerekliyken, fazlası sorunlara sebep olduğu saptanmış ve yapılan çalışmalarda evsel atıksu arıtma tesisinde 30'dan fazla morfotip belirlenirken, endüstriyel atıksu arıtma tesislerinde 40 morfotip daha belirlenmiştir. *Nitrosomonas europaea*, *Nitrosomonas*

eutropha, *Nitrosococcus mobilis*, *Nitrosomonas marina* üyeleri gibi amonyum ve nitrit okside ediciler, *Nitrospira* benzeri nitrit okside ediciler, *Acinetobacter* gibi fosfat gideriminde rolü olan mikroorganizmalar, *Rhodocyclus* gibi polifosfat biriktiren mikroorganizmalar atık sularda yaygın olarak bulunmaktadır (Wagner ve Loy, 2002).

Çalışma sonucunda örnekleme noktalarında pek çok farklı morfolojide hücreler gözlemlenmiştir. Bu hücrelerin diğer çalışmalarla ve 16S rRNA çeşitlilik verileriyle de ilişkilendirildiğinde yoğun olarak Proteobacteria, Bacteroidetes ve Firmicutes'e ait olduğu düşünülmektedir. Diğer çalışmalarda görülen filamentli mikroorganizmalar çalışmamızdaki örnekleme alanlarında da tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmaların *Nocardia spp.*, *Microthrix parvicella*, *Nocardia amarae*, *Nostocoida limicola*, *Alcaligenes paemba*, *Alcanivorax borkumensis*, *Thiothrix spp.*, *Sphaerotilus natans*, *Beggiatoa spp.* ve *Haliscomenobacter hydrossis* gibi yaygın görülen bakterilerden olabileceği düşünülmektedir. Özellikle 16S rRNA çeşitlilik verileriyle örtüştürüldüğünde *Nocardia spp.*, *Microthrix parvicella*, *Thiothrix spp.* ve *Sphaerotilus* türlerinin daha yaygın olduğu sonucuna varılabilmektedir. Yine atıksularda yaygın bulunan Enterobacteriaceae üyesi koliformların olabileceği de düşünülmektedir. Örneklerimizde kok ve kokobasil şeklinde hücreler belirlenmiştir. Ayrıca örneklerde flok oluşumu da gözlemlendiğinden bu oluşumlardaki morfolojiler *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Citromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* ve *Zoogloea* üyelerine ait olabilir. Bazı örneklerde görülen spiral şekilli hücreler ise *Spirillum*, *Leptospira* veya *Spirochaeta* cinsi üyelerine ait olabilir (Gerardi, 2006).

Khan ve Faeem'in 2013'te yaptıkları çalışmada Dubai'de bulunan atık su arıtma tesisinden çamur örnekleri olarak FISH tekniğini uygulanmıştır. Prob olarak Eub338, Proteobacteria ve Firmicutes spesifik proplar kullanmışlardır. Dominant grup olarak γ -Proteobacteria belirlenmiştir. Ayrıca bizim çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde hücrelerin büyük oranı EUB probları ile hibridize olmuştur. Bunun dışında filamentli bakteriler ve örneklerin çoğunda geniş kok kümeleri gözlemlenmiştir. Enterobacteriaceae olabileceği düşünülen uzun ve kısa çubuklar gözlemlenmiştir. Ayrıca pekçok örnekte farklı kok kümelerinin bulunduğu tetrad, diplokok, streptokok, stafilokok olduğu belirlenmiştir (Khan ve Faeem, 2013). Bu yüzden bu çalışmanın sonuçları morfolojik sonuçlar incelendiğinde bizim çalışmamız ile örtüşmektedir.

Sayısal veriler ve kompozisyonlar değerlendirildiğinde tesis tipi, mevsim ve örnekleme noktalarına göre farklılıklar görülmektedir. Bu farklılıkların bulunması

oldukça normal sonuçlardır. Bu sonuçlar pek çok sebeple ilişkilendirilebilmektedir. Atık su arıtım süreci açısından sistemsel olarak değerlendirilecek olursa bu sürecin pek çok kontrol parametresi bulunmaktadır. Bunların bazılarını özetlemek gerekirse BOD değeri, pH değeri aktif çamur yaşı, çözünmüş oksijen oranı, besin gereklilikleri, mikroorganizmaların yapısı ve popülasyonları, sistemin çalışma verimi, sisteme giren atık yapısı ve özellikleri, sistemin elementel değerleri, mevsimlerin ortalama yağış oranları ve yağış değerleri, nüfus artış ve azalması gibi pek çok parametre sayılabilir. Bu parametreler de mikrobiyal yapıyı etkilemekte ve değiştirmektedir. Örneğin toksik şoklar aktif çamur sürecinde bazı problemlere sebep olabilir. Ayrıca bazı bileşiklerin toksisitesi de pH bağımlıdır. Dolayısıyla pH değeri de önemli bir kriter haline dönüşmektedir. Bazı toksik atıklar filamentli mikroorganizmaların çoğalmasına ortam sağlar. Belli türlerin varlığının belirlenmesi toksisite indikatörü olabilir. Ayrıca özellikle ilkbaharda havaların ısınmaya başlamasıyla nitrifikasyon süreci ile bağlantılı olarak filamentli mikroorganizmaların sebep olduğu çamur kabarması süreci görülebilir. Nitrifikasyon ve düşük alkalinite sebebiyle düşük pH'da bir diğer problemidir (Yaklaşık 6 civarı). Bu durum bulanıklığa ve zayıf flok oluşumuna sebep olur. Filamentli bakterilerin yetersiz olması düşük kalitede flok oluşumuna sebep olurken, fazlası problemlere ve çamur kabarma ve köpürmesine yol açmaktadır. Bu filamentli mikroorganizmaların tanımlanması ve sayıları çok önemlidir. Çünkü bütün türler sistemde sıkıntılara sebep olmaktadır. Bu yüzden sürekli izlenmeleri gerekmektedir (Richard, Brown ve Collins, 2003). Bu değişimleri, mikroorganizma türleri ve sayılarını FISH metodu ile mikroskopik olarak tespit edebilmekteyiz. Verilerimizi incelediğimizde Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma, geri devir, son çökeltim ve anaerobik ünitelerde filamentli hücreler görülmektedir. Özellikle geri devir ve bazı havalandırma ünitesi örneklerinde sayıları oldukça fazladır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde ise daha az yoğunlukta oldukları tespit edilmiştir. Bazı örneklerde de mikroskopik incelemeler sonucu Cyanobacteria olabileceği düşünülen hücreler mevcuttur. Bu mikroorganizmalar yüksek besin oranı, yüksek sıcaklık, ışık yoğunluğu gibi koşullarda dominant hale gelmektedir (Vasconcelos ve Preira, 2001).

Sayısal verileri ve kompozisyonu tesis tipine göre yorumladığımızda ise Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde farklılıklar belirlenmiştir. Çalışmamızda örnekleme yapılan iki tesisin arıtım yaptıkları atık tipi değişiklik göstermektedir. Belediye Atık su Arıtma Tesisi'nde sadece evsel atıkların arıtımı

yapılırken, Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde organize sanayi bölgesindeki tesislerden karışan sanayi atıklarının da arıtımı yapılmaktadır. Evsel ve endüstriyel atıksular arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'ne genellikle süt ve süt ürünleri endüstri atıkları karışmakta olup bunun yanında metal ve seramik endüstrisi atıkları, kağıt endüstrisi atıkları karışmaktadır. Ayrıca tesislerin pH değerleri incelendiğinde örnekleme mevsimine göre farklılık göstermektedir. Birlikte ortalama Belediye Atık Su Arıtma Tesisi için 7-8, Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi için 6-7 arasındadır. Elemental analiz sonuçları incelendiğinde Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} ve K^+ iyonları her iki tesis tipinde de yüksek oranlarda bulunmaktadır. Ancak bu oranlar Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisinde çok daha yüksektir (Na 5 kat daha fazla). Ek olarak Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde özellikle yaz mevsiminde Zn, Co, Ni, Cu, Pb, Cr, Al gibi metaller de bulunmaktadır. Bu farklılıklarda hücre kompozisyonu ve sayısının farklı olmasına neden olmuştur. Çalışmamız aynı zamanda mevsimsel örneklemler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın mevsimsel gerçekleştirilmesi çevresel faktörlerin mikrobiyal komünite yapısı ve fonksiyonlarının yapısını incelemek için alternatif bir yoldur. Fakat aktif çamur sistemleri sürekli olarak izlenen ve kontrol altında tutulan bir çevredir. Bu yüzden daha çok iç çevre faktörleri ve operasyonel farklılıkların değişim üzerine etkileri incelenebilmektedir. Çalışmamızda FISH sayım sonuçları değerlendirildiğinde Belediye Atık Su Arıtma Tesisinde mevsimsel olarak sayısal anlamda çok büyük değişiklikler yaşanmamıştır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde ise ilkbahar mevsiminde hücre sayısının daha yoğun olduğu belirlenmiştir.

Görüldüğü gibi FISH yöntemi atık su arıtma tesislerindeki mikrobiyal yük ve çeşitlilik üzerine çalışmalar yapmak üzere kullanılabilir. Ayrıca atık su arıtma parametrelerinin sağlanmasında da örneğin filamentli mikroorganizmaların izlenmesi ve morfolojik tanımlanmasında yararlanılabilir. Ancak nitrifikasyon, denitrifikasyon ve/veya fosfat giderimi yapabilen, amonyak oksidasyonu süreçlerinden sorumlu mikroorganizmalar, metanojenler, patojenler gibi spesifik grupların incelenmesi ve sayımı amacıyla çeşitli problemlardan yararlanılarak yöntem daha da hassas ve atık su arıtma sistemlerinde uygulanabilir bir hale getirilebilir.

Elde edilen tüm veriler incelendiğinde;

- Tesis tipine göre, örnekleme noktalarına göre ve mevsime göre pH, ICP, BOİ, toplam mezofilik bakteri sayısı ve mikrobiyal çeşitlilik gibi deney sonuçları farklılık göstermektedir.
- Tesislerin pH değerleri incelendiğinde örnekleme mevsimine göre farklılık göstermekle birlikte Belediye Atık Su Arıtma Tesisi için ortalama 7-8, Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi için 6-7 arasındadır.
- Toplam mezofilik bakteri sayıları hesaplandığında sayım sonuçları mevsim, tesis tipi örnekleme noktalarına göre değişkenlik göstermekle birlikte 10^4 - 10^8 cfu/ml arasında değişkenlik göstermektedir.
- Elemental analiz sonuçları incelendiğinde Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} ve K^+ iyonları her iki tesis tipinde de yüksek oranlarda bulunmaktadır. Ancak bu Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisinde çok daha yüksektir (Na^+ 5 kat daha fazla). Ek olarak Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde özellikle yaz mevsiminde Zn, Co, Ni, Cu, Pb, Cr, Al gibi metaller de bulunmaktadır.
- Kültür bağımlı çalışmalar kapsamında fenollü besiyerinden izole edilen izolatlar incelendiğinde fenollü besiyerinden izole edilen izolatların hemen hemen tümünün fenol hidroksilaz genine sahip olduğu belirlenmiştir.
- Kültür bağımsız çalışmalar kapsamında taksonomik kompozisyonu incelemek için gerçekleştirilen metagenomik analizler sonucu tesislerin kompozisyonun örnekleme dönemine göre değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ve Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nin taksonomik kompozisyonu da son derece farklıdır.
- Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde dominant olarak tüm mevsimlerde yüzdeleri değişmekle birlikte *Streptococcus* ve *Lactococcus* cinslerinin bulunduğu belirlenmiştir. Belediye Atık Su Arıtma Tesisi'nin taksonomik çeşitliliği ise değişiklik göstermektedir. Bunun sebebi Belediye Atık Su Arıtma Tesisinin evsel atıkları toplaması ve şehrin en büyük toplama tesisi olmasından kaynaklanmaktadır. Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ise organize sanayi bölgesinde yer almaktadır ve çeşitli endüstriyel kuruluşlardan atıksuları toplamaktadır. Özellikle süt endüstrisi atıkları bulunduğundan taksonomik kompozisyonunun bu şekilde olduğu düşünülmektedir.

- Mevsimsel olarak Belediye Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu ünitesi ilkbahar mevsimi diğer mevsimlerden farklıdır. Cins düzeyine inildiğinde ise kış ve ilkbaharın farklı olduğu görülmektedir.
- Belediye Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim ünitesi yaz mevsimi farklı, sonbahar, kış ve ilkbahar mevsimleri filum düzeyinde benzerdir. Cins düzeyinde kış ve ilkbahar mevsimleri benzerdir.
- Belediye Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi yaz ve sonbahar mevsimleri ile kış ve ilkbahar mevsimleri filum düzeyinde benzerdir, Proteobacteria ve Bacteroidetes hepsinde baskındır.
- Belediye Atık Su Arıtma Tesisi geri devir ünitesi yaz ve sonbahar mevsimleri filum düzeyi çeşitlilikleri fazladır. Ayrıca ilkbahar ve kış mevsimleri birbirine benzerdir. Cins düzeyinde ise farklıdırlar.
- Belediye Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesinin mevsimsel olarak filum ve cins dağılımları farklıdır.
- Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi kum tutucu filum komunitası tüm mevsimlerde benzerdir. Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes dominanttır. Cins düzeyinde sonbahar ve yaz mevsimleri benzerdir. *Streptococcus*, *Prevotella*, *Lactococcus*, *Veillonella*, *Aeromonas*, *Clostridium* tüm örneklerde görülen ortak cinslerdir. Kış mevsiminde ise *Cloacibacterium*, *Sulfurospirillum*, *Paludibacter*, *Thauera* gibi farklı gruplar görülmektedir.
- Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi ön çökeltim filum düzeyinde mevsimsel olarak benzerdir. Cins düzeyinde çeşitlilik açısından oldukça farklıdır.
- Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi havalandırma ünitesi yaz ve sonbahar mevsimleri son derece farklıdır fakat kış ve ilkbahar mevsimleri benzerdir. Yazın *Zooglea* baskın, sonbaharda ise *Afifella* baskındır.
- Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi son çökeltim ünitesinde filum ve cins düzeyinde sadece yaz mevsimi farklıdır diğer mevsimler özellikle kış ve ilkbahar mevsimleri benzerdir.
- FISH analizi sonucu da yoğun olarak tüm örneklerde Bacteria domaini üyeleri belirlenmiştir. Sayısal durum da mevsimlere göre değişmektedir. FISH sonuçları değerlendirildiğinde Endüstriyel Atık Su Arıtma Tesisi'nde yoğun olarak kok

şekilli hücreler gözlemlenirken, Belediye Atık Su Arıtma Tesisinde çubuk şekilleri hücreler dominanttır.

Yapılması planlanan çalışmalar;

- Biyodegradasyonda etkili olan genlerin (toplam DNA'dan ve bu genler açısından pozitif izolatlardan) mikroçeşitliliğinin incelenmesi planlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda klonlama ve TGGE makalelerde kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır.
- Biyodegradasyon sonrası fenol'ün parçalandıktan sonra bakteriler tarafından hangi ürünlere dönüştürüldüğünün belirlenmesi amaçlanmaktadır. İlk ürün ve son ürünlerin toksisitelerinin incelenmesi yapılacaktır. Bu amaç doğrultusunda HPLC,GC-MS gibi kimyasal analizlere gereksinim bulunmaktadır..
- Biyodegradasyon çalışmaları kapsamında küçük ölçekli bir model üzerinde izole edilen bakterilerle arıtım uygulamaları denenecektir. Biyoreaktörler bu amaçla kullanılabilir. Fakat daha basit bir sistemle atık suyun arıtımını bakteri ilave öncesi analizi ve bakteri ilave sonrası analizi ile kıyaslama yapılması planlanmaktadır.
- İzole edilen ve fenol degradasyonu yapan bakterilerin farklı maddeleri de karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığı test edilecektir. Bu maddeler ağır metaller, petrol hidrokarbonlar, pestisitler, kloroform olabilir.
- Shotgun dizileme ile metabolik yolların veya enzimlerin analizlerinin yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKÇA

- Abdel-El-Haleem, D. (2003). Acinetobacter: environmental and biotechnological applications. *African Journal of Biotechnology*, 2(4), 71-74.
- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., & Ibraheem, I. B. M. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(3), 257-275.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), (1998). Toxicological profile for phenol. Update. Atlanta, GA.
- Ahmad, N., Ahmed, I., Iqbal, M., Khalid, N., Mehboob, F., Ahad, K., Ali, G. M. (2015). Characterization and identification of phenol degrading bacteria isolated from industrial waste. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 52(1), 219-231.
- Al-Awadhi, H., Dashti, N., Khanafer, M., Al-Mailem, D., Ali, N., & Radwan, S. (2013). Bias problems in culture-independent analysis of environmental bacterial communities: a representative study on hydrocarbonoclastic bacteria. *SpringerPlus*, 2(1), 1.
- Albertsen, M., Hugenholtz, P., Skarshewski, A., Nielsen, K. L., Tyson, G.W., & Nielsen, P. H. (2013). Genome sequences of rare, uncultured bacteria obtained by differential coverage binning of multiple metagenomes. *Nature biotechnology*, 31(6), 533.
- Alwan, G. M. (2008). pH-control problems of wastewater treatment plants. *Al-Khwarizmi Eng. J*, 4(2), 37-45.
- Al-Zarah, A. I. (2014). Assessment of trace elements in wastewater effluent in Al-Hassa Eastern Province of the Kingdom of Saudi Arabia. *Research Journal of Environmental Sciences*, 8(8), 405.
- Amann, R. I., Binder, B. J., Olson, R. J., Chisholm, S. W., Devereux, R., & Stahl, D. A. (1990). Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Applied and environmental microbiology*, 56(6), 1919-1925.
- Amann, R. I., Ludwig, W., & Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological reviews*, 59(1), 143-169.
- Amann, R., Fuchs, B. M., & Behrens, S. (2001). The identification of microorganisms by fluorescence in situ hybridisation. *Current opinion in biotechnology*, 12(3), 231-236.
- Andersson, S. (2009). *Characterization of bacterial biofilms for wastewater treatment*. Doctoral dissertation, Stockholm: Kungliga Tekniska Högskolan.

- Anton, J., Llobet-Brossa, E., Rodriguez-Valera, F. and Amann, R. (1999), Fluorescence in situ hybridization analysis of the prokaryotic community inhabiting crystallizer ponds. *Environ. Microbiol.* 1:517-523.
- Antunes, S., Dionisio, L., Silva, M. C., Valente, M. S., Borrego, J. J., Lt, E., & Albufeira, E. (2007). Coliforms as indicators of efficiency of wastewater treatment plants. *Proceedings of the 3rd International Conference on Energy, Environment, Ecosystems and Sustainable development*, IASME/WSEAS, Agios Nikolaos, Greece, pp. 26-29.
- Ariesyady, H. D., Ito, T., & Okabe, S. (2007). Functional bacterial and archaeal community structures of major trophic groups in a full-scale anaerobic sludge digester. *Water research*, 41(7), 1554-1568.
- Ayhan, M. (2011) *Investigation of existence of denitrifying phosphate accumulating organisms at wastewater treatment plants in Turkey*. Thesis For The Degree Of Master Of Science In Environmental Engineering. Istanbul: Marmara University Institute For Graduate Studies In Pure And Applied Sciences.
- Barakat, M. A. (2011). New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, 4(4), 361-377.
- Barredo, M. S., & Evison, L. M. (1991). Effect of propionate toxicity on methanogen-enriched sludge, *Methanobrevibacter smithii*, and *Methanospirillum hungatii* at different pH values. *Applied and environmental microbiology*, 57(6), 1764-1769.
- Bassin, J. P., Pronk, M., Muyzer, G., Kleerebezem, R., Dezotti, M., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2011). Effect of elevated salt concentrations on the aerobic granular sludge process: linking microbial activity with microbial community structure. *Applied and environmental microbiology*, 77(22), 7942-7953.
- Baysal, A., Ozbek, N., & Akman, S. (2013). Determination of trace metals in waste water and their removal processes. *INTECH Open Access Publisher*.
- Benakova, A., and Wanner, J. (2013). Application of fluorescence in situ hybridization for the study and characterization of nitrifying bacteria in nitrifying/denitrifying wastewater treatment plants. *Environmental technology*, 34(16), 2415-2422.
- Bitton, G. (2005). *Wastewater microbiology*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Brigmon, R. L., Martin, H. W., & Aldrich, H. C. (1997). Biofouling of groundwater systems by *Thiothrix* spp. *Current microbiology*, 35(3), 169-174.

- Cao, J. W., Dong, C. M., Cao, H. B., Shao, Z. Z. (2011). Isolation of phenol-degrading bacteria from coking wastewater and their degradation gene. *Environmental Science* 32(2), 560-566.
- Caporaso J. G., Bittinger K., Bushman F. D., DeSantis T. Z., Andersen G. L. and Knight R. (2010a). PyNAST: a flexible tool for aligning sequences to a template alignment. *Bioinformatics*, 26, 266– 267.
- Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Peña A. G., Goodrich J. K., Gordon J. I., Huttley G. A., Kelley S. T., Knights D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P. J., Walters W. A., Widmann J., Yatsunencko T., Zaneveld J., Knight R. (2010b). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data, *Nature methods*, 7(5), 335-336.
- Caporaso J. G., Lauber C. L., Walters W. A., Berg-Lyons D., Lozupone C. A., Turnbaugh P.J., Fierer N., Knight R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 4516-4522.
- Caporaso J. G., Lauber C. L., Walters W. A., Berg-Lyons D., Huntley J., Fierer N., Owens S. M., Betley J., Fraser L., Bauer M., Gormley N., Gilbert J.A., Smith G., Knight R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME journal*, 6(8), 1621-1624
- Čater, M., Fanelj, L., & Logar, R. M. (2013). Microbial community analyses in biogas reactors by molecular methods. *Acta Chimica Slovenica*, 60(2), 243-255.
- Chen, X. H., Wei, G., Liu, S.Y., Sun, J. M., Wang, F. F., Li, H. Y. and Liu Y. J. (2012). Growth kinetics and phenol degradation of highly efficient phenol-degrading. *Huan Jing Ke Xue*. 33(11), 3956-3961.
- Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99(10), 4044-4064.
- Cho, S. L., Nam, S. W., Yoon, J. H., Lee, J. S., Sukhoom, A., & Kim, W. (2008). *Lactococcus chungangensis* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from activated sludge foam. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(8), 1844-1849.
- Choi, M. H., & Yoon, S. C. (1994). Polyester biosynthesis characteristics of *Pseudomonas citronellolis* grown on various carbon sources, including 3-methyl-branched substrates. *Applied and environmental microbiology*, 60(9), 3245-3254.

- Chouari, R., Le Paslier, D., Daegelen, P., Ginestet, P., Weissenbach, J., & Sghir, A. (2005). Novel predominant archaeal and bacterial groups revealed by molecular analysis of an anaerobic sludge digester. *Environmental Microbiology*, 7(8), 1104-1115.
- Cifuentes, A., Antón, J., Benlloch, S., Donnelly, A., Herbert, R. A., & Rodríguez-Valera, F. (2000). Prokaryotic diversity in *Zostera noltii*-colonized marine sediments. *Applied and environmental microbiology*, 66(4), 1715-1719.
- Conklin, A., Stensel, H. D., & Ferguson, J. (2006). Growth kinetics and competition between *Methanosarcina* and *Methanosaeta* in mesophilic anaerobic digestion. *Water Environment Research*, 78(5), 486-496.
- Cydzik-Kwiatkowska, A., & Zielińska, M. (2016). Bacterial communities in full-scale wastewater treatment systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(4), 66.
- Çay, Ş. (2013). *Bir metal son işlemleri endüstrisi atıksularında en uygun arıtma teknolojilerinin ve atıksu geri kazanmanın değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Tekirdağ: Namık Kemal Üniversitesi.
- Çelik, M. Ö. (2010) *The potential existence of ammonia-oxidizing archaea in wastewater treatment plants and its relevance to environmental samples*. M.Sc. Thesis. Istanbul: Istanbul Technical University, Institute Of Science And Technology.
- Çomoğlu, A. B. (2014). *İlaç sanayi atık sularının anaerobik arıtımı ve reaktördeki mikrobiyal çeşitliliğin araştırılması*. Doktora Tezi. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Genel Biyoloji Bilim Dalı.
- Daims, H., Stoecker, K. and Wagner, M. (2005). *Fluorescence in situ hybridization for the detection of prokaryotes*. In: Advanced methods in molecular microbial ecology, Osborn AM, Smith CJ, (ed.). Bios-Garland, Abingdon, UK, pp. 213-239.
- Das, N. R., ve Kumar, N. (2015). Assessment of phenol biodegradation capacity of indigenous bacteria isolated from sewage treatment plant. *African Journal of Microbiology Research*, 9(16), 1150-1161.
- de Sousa, T., & Bhosle, S. (2012). Isolation and characterization of a lipopeptide bioemulsifier produced by *Pseudomonas nitroreducens* TSB. MJ10 isolated from a mangrove ecosystem. *Bioresource technology*, 123, 256-262.
- Demirel, B., & Yenigün, O. (2002). The effects of change in volatile fatty acid (VFA) composition on methanogenic upflow filter reactor (UFAF) performance. *Environmental technology*, 23(10), 1179-1187.

- Diez, M. C. (2010). Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 244-267.
- Domańska, M., Kuhn, R., Łomotowski, J., ve Stańczyk, E. (2014). FISH method for identification of microbes in wastewater distribution systems. *Environment Protection Engineering*, 40(3), 151-160.
- Dong, X., Hong, Q., He, L., Jiang, X., ve Li, S. (2008). Characterization of phenol-degrading bacterial strains isolated from natural soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62(3), 257-262.
- dos Santos, A. L., Peixoto, R., & Rosado, A. S. (2009). New approaches to understanding microbial diversity in wastewater, landfills and leachate treatment. *Oecologia Brasiliensis*, 13(4), 631-648.
- Drysdale, G. D., Kasan, H. C., & Bux, F. (1999). Denitrification by heterotrophic bacteria during activated sludge treatment. *WATER SA-PRETORIA-*, 25, 357-362.
- El-Lathy, A. M., El-Taweel, G. E., El-Sonosy, M. W., Samhan, F. A., & Moussa, T. A. (2009). Determination of pathogenic bacteria in wastewater using conventional and PCR techniques. *Environmental Biotechnology*, 5, 73-80
- Enan, M. R., (2006). Isolation and molecular characterization of phenol-degrading gram-positive bacteria from oil-contaminated soil. *Research Journal of Microbiology* 1(4), 307-318.
- Erhan, H. E., Gill, K., Swann, S., & Lam, K. (2016). Potential impact of secondary wastewater treatment plant effluent on the concentration and antibiotic resistance of bacteria in river water. *Simon Fraser University Science Undergraduate Research Journal*, 1.
- Eschenhagen, M., Schuppler, M., & Röske, I. (2003). Molecular characterization of the microbial community structure in two activated sludge systems for the advanced treatment of domestic effluents. *Water Research*, 37(13), 3224-3232.
- Fang, H., Cai, L., Yu, Y., & Zhang, T. (2013). Metagenomic analysis reveals the prevalence of biodegradation genes for organic pollutants in activated sludge. *Bioresource technology*, 129, 209-218.
- Figueras, M. J., Levican, A., Pujol, I., Ballester, F., Rabada Quilez, M. J., & Gomez-Bertomeu, F. (2014). A severe case of persistent diarrhoea associated with *Arcobacter cryaerophilus* but attributed to *Campylobacter* sp. and a review of the clinical incidence of *Arcobacter* spp. *New microbes and new infections*, 2(2), 31-37.

- Figuerola, E. L., & Erijman, L. (2007). Bacterial taxa abundance pattern in an industrial wastewater treatment system determined by the full rRNA cycle approach. *Environmental microbiology*, 9(7), 1780-1789.
- Futamata, H., Harayama, S., Watanabe, K. (2001). Group-Specific Monitoring of phenol hydroxylase genes for a functional assessment of phenol-stimulated trichloroethylene bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10): 4671-4677.
- Gao, J., Li, B. Y., Wang, H. H., & Liu, Z. Q. (2014). *Pseudomonas hunanensis* sp. nov., isolated from soil subjected to long-term manganese pollution. *Current microbiology*, 69(1), 19-24.
- Gao, P., Xu, W., Sontag, P., Li, X., Xue, G., Liu, T., & Sun, W. (2016). Correlating microbial community compositions with environmental factors in activated sludge from four full-scale municipal wastewater treatment plants in Shanghai, China. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(10), 4663-4673.
- Garcia-Peña, E. I., Parameswaran, P., Kang, D. W., Canul-Chan, M., & Krajmalnik-Brown, R. (2011). Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: process and microbial ecology. *Bioresource Technology*, 102(20), 9447-9455.
- Gay, N. R., Fleming, E., & Oh, J. (2016). Draft genome sequence of *Cloacibacterium normanense* NRS-1 isolated from municipal wastewater. *Genome announcements*, 4(6), e01397-16.
- Geng, A., Soh, A. E. W., Lim, C. J., Loke, L. C. T. (2006). Isolation and characterization of a phenol-degrading bacterium from an industrial activated sludge. *Applied microbiology and biotechnology*, 71(5), 728-735.
- Gerardi, M. H. (2006). *Wastewater bacteria* (Vol. 5). New Jersey: John Wiley & Sons.
- Giacometti, F., Lucchi, A., Di Francesco, A., Delogu, M., Grilli, E., Guarniero, I., Stanchampiona, L., Manfreda, G., Marialdi, G. & Serraino, A. (2015). *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, and *Arcobacter skirrowii* circulation in a dairy farm and sources of milk contamination. *Applied and environmental microbiology*, 81(15), 5055-5063.
- Gilbride, K. A., Lee, D. Y., & Beaudette, L. A. (2006). Molecular techniques in wastewater: understanding microbial communities, detecting pathogens, and real-time process control. *Journal of microbiological methods*, 66(1), 1-20.

- Giti, E., Mehdi, H., Nasser, G. (2005). Development of a microtitre plate method for determination of phenol utilization, biofilm formation and respiratory activity by environmental bacterial isolates. *International biodeterioration & biodegradation*, 56(4), 231-235.
- González, A., Botella, S., Montes, R. M., Moreno, Y., & Ferrus, M. A. (2007). Direct detection and identification of *Arcobacter* species by multiplex PCR in chicken and wastewater samples from Spain. *Journal of food protection*, 70(2), 341-347.
- Gunasundari, D., Muthukumar, K. (2013). Simultaneous Cr (VI) reduction and phenol degradation using *Stenotrophomonas* sp. isolated from tannery effluent contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(9), 6563-6573.
- Guo, J., Peng, Y., Ni, B. J., Han, X., Fan, L., & Yuan, Z. (2015). Dissecting microbial community structure and methane-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing. *Microbial cell factories*, 14(1), 33.
- Gutell, R. R., Larsen, N., & Woese, C. R. (1994). Lessons from an evolving rRNA: 16S and 23S rRNA structures from a comparative perspective. *Microbiological reviews*, 58(1), 10-26.
- Güler, İ. (2008) *Atık sular da fenol ve türevlerinin biyolojik yöntemlerle gideriminin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Güler, N. (2006) *Identification of nitrifier diversity and activity in biological wastewater treatment systems*. Thesis For The Degree Of Master Of Philosophy. Istanbul: Marmara University, Institute For Graduate Studies In Pure And Applied Sciences, In Environmental Engineering Programme.
- Haddadi, A., Shavandi, M. (2013). Biodegradation of phenol in hypersaline conditions by *Halomonas* sp. strain PH2-2 isolated from saline soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 29-34.
- Han, H. J., Fang, F., Ma, W. C., Xun, C. Y., Wang, W., Li, H. Q. (2010). Phenoloxidase activity of phenol-degrading bacteria. in bioinformatics and biomedical technology (ICBBT), 2010 International Conference on (pp. 23-26). IEEE.
- Hanada, S., Liu, W. T., Shintani, T., Kamagata, Y., & Nakamura, K. (2002). *Tetrasphaera elongata* sp. nov., a polyphosphate-accumulating bacterium isolated from activated

- sludge. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(3), 883-887.
- Harms, G., Layton, A. C., Dionisi, H. M., Gregory, I. R., Garrett, V. M., Hawkins, S. A., ... & Sayler, G. S. (2003). Real-time PCR quantification of nitrifying bacteria in a municipal wastewater treatment plant. *Environmental science & technology*, 37(2), 343-351.
- Hasan, S. M., Golbang, N., Emtiazi, G. (2007). Isolation and molecular determination of phenol degrading bacteria. *Research Journal Of University Of Isfahan "Science"* 28 (2),1-8
- He, W. H., Wang, Y. N., Du, X., Zhou, Y., Jia, B., Bian, J., Liu S. J. ve Chen, G. C. (2012). *Pseudomonas linyingensis* sp. nov.: a novel bacterium isolated from wheat soil subjected to long-term herbicides application. *Current microbiology*, 65(5), 595-600.
- Henriet, O., Meunier, C., Henry, P., & Mahillon, J. (2017). Filamentous bulking caused by *Thiothrix* species is efficiently controlled in full-scale wastewater treatment plants by implementing a sludge densification strategy. *Scientific Reports*, 7(1), 1430.
- Henze, M., & Comeau, Y. (2008). *Wastewater characterization. Biological wastewater treatment: principles, modelling and design*. London:IWA Publishing, 33-52.
- Hesham, A. E. L., ve Alamri, S. A. (2012). Application of fluorescence in situ hybridization (FISH) to the analysis of sulfate reducing bacterial community in an oily bench scale reactor. *African Journal of Biotechnology*, 11(44), 10221-10226.
- Hori, T., Haruta, S., Ueno, Y., Ishii, M., & Igarashi, Y. (2006). Dynamic transition of a methanogenic population in response to the concentration of volatile fatty acids in a thermophilic anaerobic digester. *Applied and environmental microbiology*, 72(2), 1623-1630.
- Hu, M., Wang, X., Wen, X., & Xia, Y. (2012). Microbial community structures in different wastewater treatment plants as revealed by 454-pyrosequencing analysis. *Bioresourcetechnology*, 117, 72-79.
- Ibarbalz, F. M., Figuerola, E. L., & Erijman, L. (2013). Industrial activated sludge exhibit unique bacterial community composition at high taxonomic ranks. *Water research*, 47(11), 3854-3864.
- Igbinosa, I. H., Nwodo, U. U., Sosa, A., Tom, M., & Okoh, A. I. (2012). Commensal *Pseudomonas* species isolated from wastewater and freshwater milieus in the Eastern

- Cape Province, South Africa, as reservoir of antibiotic resistant determinants. *International journal of environmental research and public health*, 9(7), 2537-2549.
- Jiang, X. T., Guo, F., & Zhang, T. (2016). Population Dynamics of Bulking and Foaming Bacteria in a Full-scale Wastewater Treatment Plant over Five Years. *Scientific reports*, 6.
- Joutey, N. T., Bahafid, W., Sayel, H., ve El Ghachtouli, N. (2013). Biodegradation: involved microorganisms and genetically engineered microorganisms. *Biodegradation-life of science. InTech, Rijeka*, 289-320.
- Ju, F., & Zhang, T. (2015). Bacterial assembly and temporal dynamics in activated sludge of a full-scale municipal wastewater treatment plant. *The ISME journal*, 9(3), 683.
- Ju, F., Guo, F., Ye, L., Xia, Y., & Zhang, T. (2014). Metagenomic analysis on seasonal microbial variations of activated sludge from a full-scale wastewater treatment plant over 4 years. *Environmental microbiology reports*, 6(1), 80-89.
- Juretschko, S., Loy, A., Lehner, A., & Wagner, M. (2002). The microbial community composition of a nitrifying-denitrifying activated sludge from an industrial sewage treatment plant analyzed by the full-cycle rRNA approach. *Systematic and applied microbiology*, 25(1), 84-99.
- Kamışlı, S. (2014). *Atık su arıtma tesislerinden izole edilen gram negatif bakterilerin ağır metal ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Adana: Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Karagül, N. (2012). Şekerleme endüstrisinde proses ve kirlenme profili ile artırılabilirlik bazlı deneysel karakterizasyon. Doktora Tezi. İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kargi, F., Eker, S. (2005). Kinetics of 2, 4-dichlorophenol degradation by *Pseudomonas putida* CP1 in batch culture. *International biodeterioration & biodegradation*, 55(1), 25-28.
- Kerri, K. (1988). *Operation of Wastewater Treatment Plants*, Volume 1, 4th ed., Chapters 1, 2 and 3, Sacramento:Office of Water Programs, California State University.
- Khan, M. A., ve Faheem, S. M. (2013). Monitoring Bacterial Diversity in a full-scale Municipal Wastewater Treatment plant in Dubai by Fluorescence in situ hybridization Technique. *International Journal of Environmental Research*, 7(2), 479-484.

- Khusnuryani, A., Martani, E., Wibawa, T., & Widada, J. (2016). Molecular identification of phenol-degrading and biofilm-forming bacteria from wastewater and peat soil. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 19(2).
- Kim, D. J., Kim, T. K., Choi, E. J., Park, W. C., Kim, T. H., Ahn, D. H., Yuan, Z., Blackall, L. and Keller, J. (2004). Fluorescence in situ hybridization analysis of nitrifiers in piggery wastewater treatment reactors. *Water Science and Technology*, 49(5-6), 333-340.
- Kobayashi, F., Maki, T., Nakamura, Y. (2012). Biodegradation of phenol in seawater using bacteria isolated from the intestinal contents of marine creatures. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 69, 113-118.
- Kojima, H., & Fukui, M. (2011). *Sulfuritalea hydrogenivorans* gen. nov., sp. nov., a facultative autotroph isolated from a freshwater lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(7), 1651-1655.
- Koyuncu, M., & Tunçtürk, Y. (2014). Sütçülük atık sularının arıtılma gereksinimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2), 88-93.
- Kumari, S., Chetty, D., Ramdhani, N., Bux, F. (2013). Phenol degrading ability of *Rhodococcus pyridivorans* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from activated sludge plants in South Africa. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 48(8), 947-953.
- Kurt, H. (2013). *Amonyacı oksitleyen arkelerin atık su arıtımındaki rolünün moleküler tekniklerle belirlenmesi*. Doktora Tezi. İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Bilim Dalı.
- Lacko, N., Bux, F., & Kusan, H. C. (1999). Survey of filamentous bacteria in activated sludge plants in KwaZulu-Natal. *WATER SA-PRETORIA*-, 25, 63-68.
- Lagunas, R. (1982). What is meant by facultative anaerobes?. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 10(4), 141-142.
- Lane, D. J., Pace, B., Olsen, G. J., Stahl, D. A., Sogin, M. L., & Pace, N. R. (1985). Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(20), 6955-6959.
- Lee, C., Kim, J., Hwang, K., O'Flaherty, V., & Hwang, S. (2009). Quantitative analysis of methanogenic community dynamics in three anaerobic batch digesters treating different wastewaters. *Water Research*, 43(1), 157-165.

- Leitão, A. L. (2009). Potential of *Penicillium* species in the bioremediation field. *International journal of environmental research and public health*, 6(4), 1393-1417.
- Li, F., Song, W. J., Wei, J. P., Wang, S. Y., Liu, C. J. (2015). Rapid Isolation of Phenol Degrading Bacteria by Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Guang pu xue yu guang pu fen xi= Guang pu*, 35(5), 1222-1227.
- Li, H., Zhang, S. Y., Wang, X. L., Yang, J., Gu, J. D., Zhu, R. L., Wang, P., Lin, K. F., Liu, Y. D. (2015). Aerobic biodegradation of trichloroethylene and phenol co-contaminants in groundwater by a bacterial community using hydrogen peroxide as the sole oxygen source. *Environmental technology*, 36(5), 667-674.
- Liu, J., Wang, Q., Yan, J., Qin, X., Li, L., Xu, W. (2012). Isolation and Characterization of a Novel Phenol Degrading Bacterial Strain WUST-C1. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52, 258–265.
- Liu, Y. J., Zhang, A. N., Wang, X. C. (2009). Biodegradation of phenol by using free and immobilized cells of acinetobacter sp. XA05 and Spingomonas sp. FG03. *Biochemical Engineering Journal*, 44, 187-192.
- Liu, Z., Xie, W., Li, D., Peng, Y., Li, Z., & Liu, S. (2016). Biodegradation of Phenol by Bacteria Strain *Acinetobacter Calcoaceticus* PA Isolated from Phenolic Wastewater. *International journal of environmental research and public health*, 13(3), 300.
- Loy, A., Daims, H., & Wagner, M. (2002). Activated sludge: molecular techniques for determining community composition. *The Encyclopedia of environmental microbiology*. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, 26-43.
- Ma, Q., Qu, Y. Y., Zhang, X. W., Shen, W. L., Liu, Z. Y., Wang, J. W., Zhang, J. T., & Zhou, J. T. (2015)a. Identification of the microbial community composition and structure of coal-mine wastewater treatment plants. *Microbiological research*, 175, 1-5.
- Ma, Q., Qu, Y., Shen, W., Zhang, Z., Wang, J., Liu, Z., Li, D., Li, H., & Zhou, J. (2015)b. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing. *Bioresource Technology*, 179, 436-443.
- Madoni, P. (2011). Protozoa in wastewater treatment processes: A minireview. *Italian Journal of Zoology*, 78(1), 3-11.
- Manassra, R. I. (2006). Study of temperature effects on activated sludge floc stability. Master Thesis. Göteborg, Sweden: Chalmers tekniska högskola.

- Mandal, H. (2011). Influence of wastewater pH on turbidity. *J. Environ. Res. Develop*, 7(2), 105-114.
- Mannina, G. (Ed.). (2017). Process Performance and Microbial Community Structure of an ABR (Vol. 4). *Frontiers in Wastewater Treatment and Modelling: FICWTM 2017-*. Cham, Switzerland:Springer.
- Mara, D., & Horan, N. J. (Eds.). (2003). *Handbook of water and wastewater microbiology*. London: Academic press Elsevier.
- Margot, J., Lochmatter, S., Barry, D. A., & Holliger, C. (2016). Role of ammonia-oxidizing bacteria in micropollutant removal from wastewater with aerobic granular sludge. *Water Science and Technology*, 73(3), 564-575.
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W. E., Attiya, S., Bader, J. S., Bemben, L. A., ... & Dewell, S. B. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057), 376.
- Marinescu, M., Dumitru, M., & Lăcătușu, A. R. (2009). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in an artificial polluted soil. *Research Journal of Agricultural Science*, 41(2), 157-162.
- Maszenan, A. M., Seviour, R. J., Patel, B. K. C., Janssen, P. H., & Wanner, J. (2005). *Defluvicoccus vanus* gen. nov., sp. nov., a novel Gram-negative coccus/coccobacillus in the 'Alphaproteobacteria' from activated sludge. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(5), 2105-2111.
- Mathai, P. P., Zitomer, D. H., & Maki, J. S. (2015). Quantitative detection of syntrophic fatty acid-degrading bacterial communities in methanogenic environments. *Microbiology*, 161(6), 1189-1197.
- McIlroy, S. J., & Nielsen, P. H. (2014). The family saprospiraceae. *The Prokaryotes* Berlin Heidelberg: Springer
- Merga, J. Y., Royden, A., Pandey, A. K., & Williams, N. J. (2014). *Arcobacter* spp. isolated from untreated domestic effluent. *Letters in applied microbiology*, 59(1), 122-126.
- Mohite, B. V., Jalgaonwala, R. E., Pawar, S., Morankar, A., (2010). Isolation and characterization of phenol degrading bacteria from oil contaminated soil. *Innovative Romanian Food Biotechnology* 7, 61-65.
- Moura, A., Tacao, M., Henriques, I., Dias, J., Ferreira, P., & Correia, A. (2009). Characterization of bacterial diversity in two aerated lagoons of a wastewater

- treatment plant using PCR–DGGE analysis. *Microbiological research*, 164(5), 560-569.
- Movahedyan, H., Khorsandi, H., Salehi, R., Nikaeen, M., (2009). Detection of phenol degrading bacteria and *Pseudomonas putida* in activated sludge by polymerase chain reaction. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 6(2), 115-120.
- Muszyński, A., & Załęska-Radziwiłł, M. (2015). Polyphosphate accumulating organisms in treatment plants with different wastewater composition. *Architecture Civil Engineering Environment*, 8(4), 99-105.
- Muyzer, G., De Waal, E. C., & Uitterlinden, A. G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and environmental microbiology*, 59(3), 695-700.
- Na, J. G., Lee, M. K., Yun, Y. M., Moon, C., Kim, M. S., & Kim, D. H. (2016). Microbial community analysis of anaerobic granules in phenol-degrading UASB by next generation sequencing. *Biochemical Engineering Journal*, 112, 241-248.
- Narihiro, T., & Sekiguchi, Y. (2007). Microbial communities in anaerobic digestion processes for waste and wastewater treatment: a microbiological update. *Current opinion in biotechnology*, 18(3), 273-278.
- Nelson, M. C., Morrison, M., & Yu, Z. (2011). A meta-analysis of the microbial diversity observed in anaerobic digesters. *Bioresource technology*, 102(4), 3730-3739.
- Ng, W. J. and Kwang W. T. (2006). *Industrial wastewater treatment* (No. 628.30950 N5). London: Imperial College Press.
- Nielsen, H. B., Uellendahl, H., & Ahring, B. K. (2007). Regulation and optimization of the biogas process: propionate as a key parameter. *Biomass and Bioenergy*, 31(11-12), 820-830.
- Nogales, B., Moore, E. R., Abraham, W. R., & Timmis, K. N. (1999). Identification of the metabolically active members of a Bacterial community in a polychlorinated biphenyl-polluted moorland soil. *Environmental microbiology*, 1(3), 199-212.
- Nurmiyanto, A., Kodera, H., Kindaichi, T., Ozaki, N., Aoi, Y., & Ohashi, A. (2017). Dominant *Candidatus Accumulibacter phosphatis* Enriched in Response to Phosphate Concentrations in EBPR Process. *Microbes and environments*, 32(3), 260-267.

- Nyrén, P., Pettersson, B., & Uhlén, M. (1993). Solid phase DNA minisequencing by an enzymatic luminometric inorganic pyrophosphate detection assay. *Analytical biochemistry*, 208(1), 171-175.
- Okabe, S., Satoh, H., ve Watanabe, Y. (1999). In situ analysis of nitrifying biofilms as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Applied and environmental microbiology*, 65(7), 3182-3191.
- Oulas, A., Pavloudi, C., Polymenakou, P., Pavlopoulos, G. A., Papanikolaou, N., Kotoulas, G., ... & Iliopoulos, I. (2015). Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies. *Bioinformatics and biology insights*, 9, 75.
- Örmeci, B., & Linden, K. G. (2008). Development of a fluorescence in situ hybridization protocol for the identification of micro-organisms associated with wastewater particles and flocs. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 43(13), 1484-1488.
- Pace, N. R. (1997). A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science*, 276(5313), 734-740.
- Patil, S. S., & Jena, H.M. (2016). Isolation and characterization of phenol degrading bacteria from soil contaminated with paper mill wastewater. *Indian Journal of Biotechnology (IJBT)*, 15 (3).
- Pavlekovic, M., Schmid, M. C., Schmider-Poignee, N., Spring, S., Pilhofer, M., Gaul, T., Fiandaca, M., Löffler, F. E., Jetten, M., Schleifer, K. H. & Lee, N. M. (2009). Optimization of three FISH procedures for in situ detection of anaerobic ammonium oxidizing Bacteria in biological wastewater treatment. *Journal of microbiological methods*, 78(2), 119-126.
- Pescod, M. B. (2013). Wastewater characteristics and effluent quality parameters. Wastewater treatment and use in agriculture, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. (<http://www.fao.org/docrep/T0551E/t0551e03.htm#TopOfPage>. (Erişim tarihi: 22.01.2018)
- Rajendran, N. (Tarihsiz). *Microbial degradation potential of the environment*. Graduate School of Environment and Information Sciences, Yokohama National University, Yokohama, Japan. (<https://www.envismadrasuniv.org/v2.htm>).

- Rehfuss, M., Urban, J. (2005). *Alcaligenes faecalis* subsp. *phenolicus* subsp. nov. a phenol-degrading, denitrifying bacterium isolated from a graywater bioprocessor. *Systematic and applied microbiology*, 28(5), 421-429.
- Ren, H. S., Wang, Y., Zhao, H. B., Cai, B. L. (2008). Isolation and identification of phenol-degrading strains and the application in biotreatment of phenol-containing wastewater. *Huan Jing Ke Xue*. 29(2), 482-487.
- Richard, M., Brown, S., & Collins, F. (2003). Activated sludge microbiology problems and their control. *20th Annual USEPA National Operator Trainers Conference* (pp. 1-21).
- Ronaghi, M., Karamohamed, S., Pettersson, B., Uhlén, M., & Nyrén, P. (1996). Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release. *Analytical biochemistry*, 242(1), 84-89.
- Sabree, Z. L., Rondon, M. R., & Handelsman, J. (2009). Metagenomics. *Encyclopedia of Microbiology*, 622-632.
- Saiki, Y., Iwabuchi, C., Katami, A. ve Kitagawa, Y. (2002). Microbial analyses by fluorescence in situ hybridization of well-settled granular sludge in brewery wastewater treatment plants. *Journal of bioscience and bioengineering*, 93(6), 601-606.
- Saiqa, A., Roberto Fernandez-Lafuente, Don, A., Cowan (1998). Meta-pathway degradation of phenolics by thermophilic bacilli. *Enzyme and microbial Technology*, 23: 462-468.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. ve Maniatis, T. (1989), *Molecular cloning: A Laboratory Manual* 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, ColdSpring Harbor.
- Santegoeds, C. M., Ferdelman, T. G., Muyzer, G., & de Beer, D. (1998). Structural and functional dynamics of sulfate-reducing populations in bacterial biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3731-3739.
- Santisi, S., Cappello, S., Catalfamo, M., Mancini, G., Hassanshahian, M., Genovese, L., Giuliano ve Yakimov, M. M. (2015). Biodegradation of crude oil by individual bacterial strains and a mixed bacterial consortium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 377-387.
- Sanz, J. L., & Köchling, T. (2007). Molecular biology techniques used in wastewater treatment: an overview. *Process biochemistry*, 42(2), 119-133.
- Saunders, A. M., Albertsen, M., Vollertsen, J., & Nielsen, P. H. (2016). The activated sludge ecosystem contains a core community of abundant organisms. *The ISME journal*, 10(1), 11.

- Schultz, T. E. (2005). Biological wastewater treatment. *Chem. Eng*, 112(10), 44-48.
- Shah, M. P. (2014). Evaluation and analysis of bacterial communities from different waste water treatment plants by denaturing gradient gel electrophoresis with group specific 16s rRNA. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 2(3), 100-111.
- Shah, V., Zakrzewski, M., Wibberg, D., Eikmeyer, F., Schlüter, A., & Madamwar, D. (2013). Taxonomic profiling and metagenome analysis of a microbial community from a habitat contaminated with industrial discharges. *Microbial ecology*, 66(3), 533-550.
- Shanks, O. C., Newton, R. J., Kelty, C. A., Huse, S. M., Sogin, M. L., & McLellan, S. L. (2013). Comparison of the microbial community structures of untreated wastewaters from different geographic locales. *Applied and environmental microbiology*, 79(9), 2906-2913.
- Shendure, J., Porreca, G. J., Reppas, N. B., Lin, X., McCutcheon, J. P., Rosenbaum, A. M., ... & Church, G. M. (2005). Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science*, 309(5741), 1728-1732.
- Silva, C. C., Hayden, H., Sawbridge, T., Mele, P., Kruger, R. H., Rodrigues, M. V., Oliveira, V. M. (2012). Phylogenetic and functional diversity of metagenomic libraries of phenol degrading sludge from petroleum refinery wastewater treatment system. *AMB Express*, 2(1), 1-13.
- Simpson, J. M., Santo Domingo, J. W., & Reasoner, D. J. (2004). Assessment of equine fecal contamination: the search for alternative bacterial source-tracking targets. *FEMS microbiology ecology*, 47(1), 65-75.
- Singh, A., Chauhan, N. S., Thulasiram, H. V., Taneja, V., & Sharma, R. (2010). Identification of two flavin monooxygenases from an effluent treatment plant sludge metagenomic library. *Bioresource technology*, 101(21), 8481-8484.
- Singh, S., Singh, B. B., Chandra, R. (2009). Biodegradation of phenol in batch culture by pure and mixed strains of *Paenibacillus* sp. and *Bacillus cereus*. *Polish Journal of Microbiology*, 58(4), 319-325.
- Singka, D., Kumdhithahutsawakul, L., Rekkriangkrai, P., & Pathom-aree, W. (2012). A simple method for DNA extraction from activated sludge. *Chiang Mai Journal Of Science*, 39(1), 111-118.

- Sinton, L. W., Donnison, A. M., & Hastie, C. M. (1993). Faecal streptococci as faecal pollution indicators: a review. Part I: Taxonomy and enumeration. *New Zealand journal of marine and freshwater research*, 27(1), 101-115.
- Slobodkin, A., & Verstraete, W. (1993). Isolation and characterization of *Veillonella* sp. from methanogenic granular sludge. *Applied microbiology and biotechnology*, 39(4), 649-653.
- Snaidr, J., Amann, R., Huber, I., Ludwig, W., & Schleifer, K. H. (1997). Phylogenetic analysis and in situ identification of bacteria in activated sludge. *Applied and environmental microbiology*, 63(7), 2884-2896.
- Solomons, T. W. G., Fryhle, C. B. (2002). *Organik Kimya*. 7. Basımdan Çeviri (Editörler: Güral Okay, Yılmaz Yıldırım). İstanbul: Literatür Yayınları.
- Subhasis, M., Biswanath, B., Anuj, K., Dalia, D., Tamal, M., Siddhartha, D., Pinaki, B. A. (2013). Statistical approach for optimization of media components for phenol degradation by *Alcaligenes faecalis* using Plackett–Burman and response surface methodology. *Desalination and Water Treatment*, 51, 6058-6069.
- Sundberg, C., Al-Soud, W. A., Larsson, M., Alm, E., Yekta, S. S., Svensson, B. H., ... & Karlsson, A. (2013). 454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters. *FEMS microbiology ecology*, 85(3), 612-626.
- Tan, Y., & Ji, G. (2010). Bacterial community structure and dominant bacteria in activated sludge from a 70 C ultrasound-enhanced anaerobic reactor for treating carbazole-containing wastewater. *Bioresource technology*, 101(1), 174-180.
- Teixeira L. M., Merquior V. L. C. (2014) The Family Moraxellaceae. In: Rosenberg E., DeLong E. F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg (Teixeira, L. M., & Merquior, V. L. C. (2014). The Family Moraxellaceae. *The Prokaryotes* (pp. 443-476). Berlin, Heidelberg:Springer.
- Templeton, M. R., & Butler, D. (2011). *Introduction to wastewater treatment*. Bookboon.
- Traversi, D., Villa, S., Lorenzi, E., Degan, R., & Gilli, G. (2012). Application of a real-time qPCR method to measure the methanogen concentration during anaerobic digestion as an indicator of biogas production capacity. *Journal of environmental management*, 111, 173-177.
- Tziotzios, G., Teliou, M., Kaltsouni, V., Lyberatos, G., Vayenas, D. V. (2005). Biological phenol removal using suspended growth and packed bed reactors. *Biochemical Engineering Journal*, 26, 65–71.

- Ülger, Ergül, Z. (2016). *Ağır metal içeren atık sulardan izole edilecek bakteriler ile Cr (VI) biyoremediasyonu*. Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Van Haandel, A., & Van der Lubbe, J. (2007). *Handbook biological waste water treatment-design and optimisation of activated sludge systems*. Webshop Wastewater Handbook.
- Van Lier, J. B., Mahmoud, N., & Zeeman, G. (2008). Anaerobic wastewater treatment (pp.415-456). *Biological Wastewater Treatment*. London: IWA Publishing.
- Van Schie, P. M., Young, L. Y., (2000). Biodegradation of phenol: mechanisms and applications. *Bioremediation Journal*, 4(1), 1-18.
- Vaneechoutte, M., Rossau, R., Vos, P. D., Gillis, M. (1992). Rapid identification of bacteria of the Comamonadaceae with amplified ribosomal DNA-restriction analysis (ARDRA). *FEMS Microbiology Letters*, 93, 227–234.
- Vasconcelos, V. M., ve Pereira, E. (2001). Cyanobacteria diversity and toxicity in a wastewater treatment plant (Portugal). *Water Research*, 35(5), 1354-1357.
- Venkiteswaran, K., Bocher, B., Maki, J., & Zitomer, D. (2015). Relating anaerobic digestion microbial community and process function. *Microbiology insights*, 8(Suppl 2), 37.
- Vesth, T., Ozen, A., Andersen, S. C., Kaas, R.S., Lukjancenko, O., Bohlin, J., Nookaew, I., Wassenaar, T. M. & Ussery, D. W. (2013). Veillonella, firmicutes: microbes disguised as gram negatives. *Standards in genomic sciences*, 9(2), 431.
- Von Sperling, M. (2007). *Wastewater characteristics, treatment and disposal* (Vol. 1). London: IWA publishing.
- Wagner, M., Amann, R., Lemmer, H., & Schleifer, K. H. (1993). Probing activated sludge with oligonucleotides specific for proteobacteria: inadequacy of culture-dependent methods for describing microbial community structure. *Applied and environmental microbiology*, 59(5), 1520-1525.
- Wagner, M., Horn, M., ve Daims, H. (2003). Fluorescence in situ hybridisation for the identification and characterisation of prokaryotes. *Current opinion in microbiology*, 6(3), 302-309.
- Wagner, M., ve Loy, A. (2002). Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. *Current opinion in biotechnology*, 13(3), 218-227.
- Wang, J. L., Zhan, X. M., Feng, Y. C., & Qian, Y. (2005). Effect of salinity variations on the performance of activated sludge system. *Biomed Environ Sci*, 18(1), 5-8.

- Wang, X., Hu, M., Xia, Y., Wen, X., & Ding, K. (2012). Pyrosequencing analysis of bacterial diversity in 14 wastewater treatment systems in China. *Applied and environmental microbiology*, 78(19), 7042-7047.
- Watanabe, K., Teramoto, M., Futamata, H., Harayama, S. (1998). Molecular detection, isolation, and physiological characterization of functionally dominant phenol-degrading bacteria in activated sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(11), 4396-4402.
- Watanabe, K., Yamamoto, S., Hino, S., Harayama, S. (1998). Population dynamics of phenol-degrading bacteria in activated sludge determined by gyrB-targeted quantitative PCR. *Applied and environmental microbiology*, 64(4), 1203-1209.
- Xia, W., Chen, W., Peng, W. F., & Li, K. T. (2015). Industrial vitamin B12 production by *Pseudomonas denitrificans* using maltose syrup and corn steep liquor as the cost-effective fermentation substrates. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38(6), 1065-1073.
- Xie, B., Dai, X. C., & Xu, Y. T. (2007). Cause and pre-alarm control of bulking and foaming by *Microthrix parvicella*—a case study in triple oxidation ditch at a wastewater treatment plant. *Journal of hazardous materials*, 143(1), 184-191.
- Yalçın, S. 2016. *Atık sularından izole edilen Pseudomonas spp.'ların ekzopolisakkarit üretimlerine bazı ağır metallerin etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Nevşehir:Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Yang, C. F., Lee, C. M. (2007). Enrichment, isolation, and characterization of phenol-degrading *Pseudomonas resinovorans* strain P-1 and *Brevibacillus sp.* strain P-6. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59(3), 206-210.
- Yang, Y., Yu, K., Xia, Y., Lau, F. T., Tang, D. T., Fung, W. C., ... & Zhang, T. (2014). Metagenomic analysis of sludge from full-scale anaerobic digesters operated in municipal wastewater treatment plants. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(12), 5709-5718.
- Yao, J., Zhang, G., Wu, Q., Chen, G. Q. and Zhang, R. (1999). Production of polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas nitroreducens*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 75(4), 345-349.
- Ye, L., & Zhang, T. (2013). Bacterial communities in different sections of a municipal wastewater treatment plant revealed by 16S rDNA 454 pyrosequencing. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(6), 2681-2690.

- Ye, L., Shao, M. F., Zhang, T., Tong, A. H. Y., & Lok, S. (2011). Analysis of the bacterial community in a laboratory-scale nitrification reactor and a wastewater treatment plant by 454-pyrosequencing. *Water research*, 45(15), 4390-4398
- Ye, L., Zhang, T., Wang, T., & Fang, Z. (2012). Microbial structures, functions, and metabolic pathways in wastewater treatment bioreactors revealed using high-throughput sequencing. *Environmental science & technology*, 46(24), 13244-13252.
- Yener, J. ve Aksu, Z. (1999). Atıksulardaki fenol ve kloro fenollerin aktif karbon ve kurutulmuş aktif çamura adsorpsiyonu", *Tr. J. of Engineering and Environmental Science*, 23, 93-104.
- Yıldız, S., Namal, O. Ö., & Çekim, M. (2013). Atık Su Arıtma Teknolojilerindeki Tarihsel Gelişimler. *SÜ Mühendislik, Bilim ve Teknoloji Dergisi*.
- Yılmaz G. (2005). *Zararlı atık ve endüstriyel atıksu arıtımında kullanılan bakteri popülasyonlarının yüzey özelliklerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi. Ankara:Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Zhang, T., Jin, T., Yan, Q., Shao, M., Wells, G., Criddle, C., & P Fang, H. H. (2009). Occurrence of ammonia-oxidizing Archaea in activated sludges of a laboratory scale reactor and two wastewater treatment plants. *Journal of applied microbiology*, 107(3), 970-977.
- Zhang, T., Shao, M. F., & Ye, L. (2012). 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants. *The ISME journal*, 6(6), 1137.
- Zhang, X., Gao, P., Chao, Q., Wang, L., Senior, E., Zhao, L., (2004). Microdiversity of phenol hydroxylase genes among phenol – degrading isolates of alcaligenes sp. From an activated sludge system. *FEMS Microbiology Letters*, 237(2): 369-375.
- Zhuang, X., Han, Z., Bai, Z., Zhuang, G., & Shim, H. (2010). Progress in decontamination by halophilic microorganisms in saline wastewater and soil. *Environmental pollution*, 158(5), 1119-1126.
- Zielińska, M., Rusanowska, P., Jarzabek, J., & Nielsen, J. L. (2016). Community dynamics of denitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants. *Environmental technology*, 37(18), 2358-2367.
- http-1:<http://www.cityofdunbarwv.gov/wastewatertreatmentplant.html>. (Erişim tarihi: 09.09.2016)
- http-2: [https://www.csb.gov.tr/db/cygm/editordosya/aaep\(1\).pdf](https://www.csb.gov.tr/db/cygm/editordosya/aaep(1).pdf). (Erişim tarihi:02.07.2017)
- http-3:http://www.esart.com.tr/urun_detay.php?id=12. (Erişim tarihi:04.08.2017)

- http-4:http://suyonetimi.ormansu.gov.tr/Files/duyurular/Havza%20Koruma%20Eylem%20Planlar%C4%B1%20Taslak%20Raporlar%C4%B1/Sakarya/HKEP_Sakarya_Havzası_Taslak_Raporu.pdf. (Erişim tarihi: 02.07.2017)
- http-5: http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/At%C4%B1k%20Sular.pdf. (Erişim tarihi:08.09.2016)
- http-6:http://www.ragsdaleandassociates.com/Wastewater_System_Operators_Manual/Chapter%201%20-%20IntroToWWT.pdf. (Erişim tarihi:09.09.2016)
- http-7: <http://www.suvecevre.com/?pid=26799#.V9Fs8fmLRdg>. (Erişim tarihi:08.09.2016)
- http-8: <http://194.27.49.11/cevre/BO%C4%B0%20SUNUSU.pdf>. (Erişim tarihi:09.09.2016)
- http-9: <http://realtechwater.com/biochemical-oxygen-demand>. (Erişim tarihi:09.09.2016)
- http-10:www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/yonetmelik/9.5.13873%20ek.doc. (Erişim tarihi: 09.09.2016)
- http-11:<https://fntn.org/DocumentCenter/View/1190>. (Erişim tarihi:11.09.2016)
- http-12:<https://www.csb.gov.tr/db/cygm/editor/dosya/YON-25687SKKY.docx>- Resmi Gazete Tarihi: 31.12.2004 Resmi Gazete Sayısı: 25687. (Erişim tarihi: 02.02.2018)
- http-13: http://www.eosb.org.tr/isletmeler_ve_sektorler/sektor/.(Erişim tarihi: 10.01.2018)
- http-14: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/3505/mod_resource/content/0/Konu%2014%20%20S%C3%BCt%20%C4%B0%C5%9Fletmelerinde%20At%C4%B1klar%C4%B1n%C4%B1n%20De%C4%9Ferlendirilmesi%20ve%20S%C3%BCt%20End%C3%BCstrisinde%20Ar%C4%B1tma.pdf).(Erişim tarihi: 02.07.2017)
- http-15: https://www.csb.gov.tr/db/destek/editor/dosya/Lutfiye_DUMLU_Uzmanlik_Tezi.pdf.(Erişim tarihi: 09.09.2017)
- http-16:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AM991231>. (Erişim tarihi: 02.02.2018)
- http-17:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JF4211>. (Erişim tarihi: 02.02.2018)