

**Triklosan'ın Aktif Çamur Sistemindeki Akıbetinin
Araştırılması ve Mikrobiyal Kültür Değişimine
Etkisinin İncelenmesi**

Proje No: 112Y210

Prof.Dr. Filiz B. DİLEK
Aybala KOÇ

EYLÜL 2013
ANKARA

ÖNSÖZ

Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Çevre Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Filiz B. DİLEK'in yürütücüsü olduğu, TÜBİTAK tarafından desteklenen bu proje kapsamında; triklosan gibi günlük hayatta yoğun kullanım alanına sahip bir biositin su kaynaklarına yayılımının mümkün olan mertebede azaltılması, engellenmesi ve söz konusu biosit kaynaklı çevre kirliliğinin önüne geçilmesi amacıyla, triklosan içeren atıksuların biyolojik arıtılabilirliğine ilişkin kapsamlı bir laboratuvar çalışması yapılmıştır. 1 yıl süren ve beş iş paketinden oluşan projede, yürütücü ile beraber bir bursiyer yüksek lisans öğrencisi görev almıştır. Proje ile triklosanın aktif çamur sistemindeki akıbeti, farklı düzeylerde triklosan içeren atıksuların arıtılması, triklosanın tek başına substrat olarak bulunması halinde ve/veya ortamda kolay ayrışabilir substrat bulunması halinde triklosan ve/veya KOİ giderimi, mekanizması ve sistemin kinetik davranışı ortaya konmuştur. Ayrıca, aktif çamur mikrobiyal kültürünün triklosana adaptasyonunun kompozisyon üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Mikrobiyal kompozisyon belirleme çalışmaları için gerekli makine ve teçhizat için İstanbul Medeniyet Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü altyapı olanakları kullanılmış, moleküler biyolojik analizlerin gerçekleştirilmesinde Doç. Dr. Erkan Şahinkaya'dan destek alınmıştır.

Bu çalışma ile elde edilen veriler, triklosan içeren atıksuların aktif çamur sistemlerinde giderimini optimize etmek için kullanılabilir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
ŞEKİLLER LİSTESİ	III
TABLolar LİSTESİ	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR.....	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1. Ön Hazırlık	12
3.2. Analitik ölçümler	13
3.3. Sürekli Sistem Deneyleri	14
3.4. Kesikli Sistem Deneyleri (Kinetik Çalışma).....	18
3.5. Mikrobiyal Kompozisyon Belirleme	19
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	24
4.1 Sürekli Sistem Deneyleri	24
4.1.1 Aklime Kültür	24
4.1.2 Aklime Olmamış Kültür.....	28
4.1.3 Yan Ürün Analizi	33
4.2 Kesikli Sistem Deneyleri (Kinetik Çalışma).....	39
4.2.1 Pepton Varlığında TCS Giderim Kinetiği	39
4.2.2 Peptonsuz Ortamda TCS Giderim Kinetiği.....	46
4.3 Mikrobiyal Kompozisyon.....	50
5. SONUÇ.....	64
6. KAYNAKLAR	66
EKLER.....	69
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU.....	89

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Triklosan	7
Şekil 2. HPLC-UV cihazı	14
Şekil 3. Aklime kültür ile işletilen sürekli sistem reaktörü	16
Şekil 4. Soxhlet aparatı	17
Şekil 5. Sallamalı etüv	19
Şekil 6. PCR çoğalmasının basamakları (Somma, 2006).....	21
Şekil 7. Çamur numunelerinde bakteri kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla yürütülen moleküler analiz yöntemleri	22
Şekil 8. PCR ürünlerini kontrol etmek amacıyla yürütülen örnek bir agaroz jel elektroforeziz	23
Şekil 9. KOİ ve AKM değişimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür).....	24
Şekil 10. Kararlı hal atıksu ve çamur TCS konsantrasyonları, TCS biyogiderim verimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür).....	27
Şekil 11. TCS'nin atıksuda, çamurda ve biyogiderim olarak dağılım yüzdesi (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür)	28
Şekil 12. KOİ ve AKM değişimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür) 29	
Şekil 13. Kararlı hal atıksu ve çamur TCS konsantrasyonları, TCS biyogiderim verimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür)	32
Şekil 14. TCS'nin atıksuda, çamurda ve biyogiderim olarak dağılım yüzdesi (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür).....	32
Şekil 15. Reaktör çıkış suyu ve çamur örneklerinde TCS ölçümüne ait HPLC-UV kromatogramları (Giriş suyu TCS = 1, 10, 20, 50 ve 100 mg/L, aklime kültür)	35
Şekil 16. Reaktör çıkış suyu ve çamur örneklerinde TCS ölçümüne ait HPLC-UV kromatogramları (Giriş suyu TCS = 1, 10, 20, 50 ve 100 mg/L, aklime olmamış kültür)	36
Şekil 17. 2,4-DCP ve 2,4-DCA standartlarının HPLC-UV kromatogramları	37
Şekil 18 Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde KOİ'nin zamana bağlı değişimi	40
Şekil 19 Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde başlangıç substrat konsantrasyonuna karşılık gelen maksimum spesifik substrat kullanım hızı (q)	41
Şekil 20 Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için kesikli reaktörlerde TCS'nin zamana bağlı değişimi	43
Şekil 21 Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde μ ve q değerlerinin başlangıç S_0/X_0 değeri ile değişimi	44
Şekil 22 Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde μ , q ve Y değerlerinin başlangıç TCS değeri ile değişimi.....	45

Şekil 23 Peptonlu ortamda aklime ve aklime olmamış kültür için işletilen kesikli reaktörlerde spesifik TCS giderim hızının başlangıç TCS değeri ile değişimi	46
Şekil 24 Peptonsuz ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde TCS'nin zamana bağlı değişimi	47
Şekil 25 Peptonsuz ortamda aklime ve aklime olmamış kültür için işletilen kesikli reaktörlerde spesifik TCS giderim hızının başlangıç TCS değeri ile değişimi	48
Şekil 26 Peptonsuz ortamda aklime olmamış ve aklime olmuş kültür için işletilen kesikli reaktörlerde spesifik büyüme hızının başlangıç TCS değeri ile değişimi	49
Şekil 27 Genomik DNA (Ekstraksiyondan sonra Jel-Elektroforez görüntüsü)	50
Şekil 28 PCR sonrası ilgili DNA segmentinin Jel-Elektroforez görüntüsü	51
Şekil 29 DGGE jelinden kesilen bantların PCR sonrası Jel-Elektroforez görüntüsü .	52

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Yüzey sularında ve atıksularda tespit edilen TCS seviyeleri.....	5
Tablo 2. AAT'lerde TCS giderimi	6
Tablo 3. Projede kullanılan olan makine ve teçhizatlar	12
Tablo 4. Sentetik atıksu kompozisyonu	18
Tablo 5. TCS'ye aklime olmuş kültürle işletilen reaktörün kararlı hal değerleri.....	24
Tablo 6. KOİ giderim verimi (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür).....	25
Tablo 7. TCS'ye aklime olmuş mikrobiyal kültürle işletilen reaktör için oluşturulan TCS kütle dengesi	26
Tablo 8. TCS'ye aklime olmamış kültürle işletilen reaktörün kararlı hal performans değerleri (1 mg/L-100 mg/L TCS aşısı konsantrasyonları)	29
Tablo 9. KOİ giderim verimi (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür).....	29
Tablo 10. TCS'ye aklime olmamış mikrobiyal kültürle işletilen reaktör için oluşturulan TCS kütle dengesi	31
Tablo 11. Aklime ve aklime olmamış kültürler için yan ürün konsantrasyonları	38
Tablo 12 Peptonlu Ortamda Kesikli Reaktörlerde KOİ Giderimi	42
Tablo 13. DGGE jelinden kesilen bantların PCR sonrası Jel-Elektroforez görüntüsündeki rakamların temsil ettiği çamur örnekleri.....	53
Tablo 14. Çamur örnekleri mikrobiyal kompozisyonu	55

ÖZET

Biyositler, kişisel bakım ve ev temizlik ürünlerine koruyucu ya da antiseptik amaçlı eklenmekte olup, günlük hayatta sıklıkla kullanılmakta ve böylece evsel atıksuların deşarjı sonucunda yüzeysel ve yeraltı su kaynaklarına ulaşmaktadır. Dolayısıyla, son yıllarda triklosan (TCS) gibi sıklıkla kullanılan biyositlere yüzey ve yeraltı sularında rastlanmış olup, bu durum söz konusu biyositlerin çevrede birikimi, etkisi ve arıtma sistemlerinde giderimi üzerine detaylı araştırmalar yapılması ihtiyacını doğurmuştur. Bu bağlamda, bu projede, TCS içeren atıksuların biyolojik arıtılabilirliğine ilişkin kapsamlı bir çalışma yapılmış ve farklı konsantrasyonlarda (100 ng/L-100 mg/L) TCS içeren atıksuların aktif çamur sistemlerinde arıtımı incelenmiştir. Bu kapsamda; laboratuvar ölçekli aktif çamur reaktörleri TCS'ye aklime olmuş ve olmamış kültürler ile işletilmiştir. Kütle dengesi kurularak TCS'nin akıbeti üzerine çalışmalar yapılmış, muhtemel yan ürün oluşumu izlenmiştir. KOİ gideriminin artan TCS konsantrasyonları ile azaldığı, ancak mikrobiyal kültürün, TCS'ye adapte edildiği koşullarda, adapte edilmediği koşullara göre, KOİ gideriminin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. TCS'nin bir kısmının çamura adsorplandığı ve adsorplanma yüzdesinin TCS konsantrasyonu ile arttığı görülmüştür. TCS nin biyolojik olarak parçalanma sonrası yan ürün olarak 2,4-DCP ve 2,4-DCA'ye dönüştüğü ve konsantrasyonlarının aklimasyon ile azaldığı gözlenmiştir. Kesikli reaktörlerde yapılan biyokinetik çalışmalar, kolay parçalanabilir substrat (pepton) varlığında, TCS konsantrasyonun 1-20 mg/L arasında olduğu koşullarda, pepton kullanımını etkilemediği; 50 mg/L nin üzerinde olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir. TCS varlığı mikrobiyal metabolizmanın biyosentezden enerji metabolizmasına yöneltmiştir. Ayrıca, TCS'nin mikrobiyal topluluk üzerine etkisi incelenmiş ve toplam 106 tür tespit edilmiştir. Aklime ve aklime olmamış kültürlerde ortak tür sayısının fazla olması ve türlerin baskınlık durumunun bilinmiyor olması nedeniyle, etkin türler hakkında net bir sonuca varmak ve kinetik bulgularla doğrudan ilişkilendirmek mümkün olamasa da, kültürün TCS'ye aklimasyonuna bağlı olarak değişebildiği ve bu durumun TCS arıtım düzeyi, kinetiği ve yan ürün oluşumunda önemli bir faktör olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Triklosan, aktif çamur, KOİ giderimi, aklimasyon, kütle dengesi, mikrobiyal kompozisyon.

ABSTRACT

Biocides which are added as a preservative or antiseptic agent in consumer care and cleaning products are frequently used in daily life and in a way, they find their way to surface and ground waters via wastewater discharges. Therefore, in recent years, widely used biocides such as TCS, have been detected in several surface waters and groundwaters, and this situation brings about the need of detailed researches on the accumulation of these compounds in the environment, their effects and removal in the treatment systems. On account of this need, in the current project, a detailed investigation on the biological treatability of TCS bearing wastewaters (100 ng/L-100 mg/L) was conducted. A laboratory-scale activated sludge unit was operated for TCS-acclimated and unacclimated cultures. Fate of TCS was also studied by constructing mass balances. Possible by-product formation was monitored in this stage, as well. It was observed that COD removal declined with the increase in TCS, however, COD removals attained were higher with acclimated cultures than with unacclimated ones. Adsorption of TCS onto the biomass was evidenced with increased proportions at higher TCS concentrations. 2,4 DCP and 2,4 DCA were detected as by-products of TCS biodegradation and acclimation resulted in a lower by-product levels. Batch kinetic analysis conducted to give an insight to the biokinetics of the TCS removal put forward that TCS does not interfere with the utilization of biodegradable substrate (peptone) as long as TCS was kept below 20 mg/L. Presence of TCS resulted in microbial metabolism to shift from biosynthesis to energy metabolism. Moreover, the effect of TCS on the microbial population of the sludge was searched through molecular biological techniques. In total, 106 microbial species were detected. Although it could not be possible to draw a concrete conclusion and to relate them to biokinetic findings due to having too many common species and no information on their dominancy, it was evident that culture compositions vary with the acclimation which appears as an important factor for the TCS removal, its kinetics and by-product formation.

Keywords: Triclosan, activated sludge, COD removal, acclimation, mass balance, microbial composition.

1. GİRİŞ

Biyositler, Avrupa Birliği'nin 98/8/EC sayılı Biyosidal Ürünler Direktifi (98/8/EC) ile "herhangi bir zararlı organizmayı, yok etmek, engellemek, zararsız hale getirmek, hareketlerini önlemek ya da kimyasal veya biyolojik anlamda kontrol etmek için kullanılan bir veya daha fazla aktif maddeler içeren aktif maddeler ve müstahzarlar" şeklinde tanımlanmıştır. Biyositler, değişik amaçlarla geniş bir spektrumda kullanılmaktadır. Belli başlı kullanım alanları arasında kozmetik sanayi, deterjan sanayi, boya endüstrisi, ilaç sanayi, plastik sanayi, baskı mürekkepleri ve ahşap işleme sanayi yer almaktadır.

Triklosan (TCS) (5-kloro-2-[2,4-diklorofenoksi]-fenol) günlük hayatta en çok kullanılan antimikrobiyal biyositlerden olup; sabun, diş macunu, traş losyonu, deodorant ve deterjan gibi çeşitli farmasötik ve kişisel bakım ürünlerinde bulunmaktadır (Dann ve Hontela, 2011). Kozmetik ürünlerde belirli bir miktara kadar kullanımının sakıncalı olmadığına dair görüşler mevcuttur. Örneğin; Avrupa Komisyonu Tüketici Sağlığı Bilimsel Komitesi 22 Haziran 2010 tarihli bildirisinde TCS'nin kozmetik ürünlerde uygun oranlarda kullanılması halinde enfeksiyona karşı korunmada önemli bir rol üstlendiğini belirtmektedir. Bununla birlikte, Avrupa Birliği Kozmetik Direktifi (76/768/EEC), kozmetik ürünlerde TCS'nin %0,3 oranına kadar koruyucu etken madde olarak kullanımını onaylamaktadır. Ancak, farklı alanlarda farklı miktarlarda TCS kullanımı nedeniyle birçok çevresel ortamda değişen konsantrasyonlarda TCS'ye rastlanmaktadır. Bu durum, söz konusu çevresel ortamlarda TCS mevcudiyetinin olası etkilerinin araştırılması ve TCS giderimine yönelik yapılan çalışmaları tetiklemektedir. Son zamanlarda, TCS ve diğer biyositlerin gerek evsel atıksu arıtım sistemlerinde gerekse içme suyu arıtma tesislerinde giderimi üzerine birçok çalışma yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda farklı giderim verimleri rapor edilmiş olup, klorlu bir yapıya sahip olması nedeniyle aktif çamur sistemlerinde TCS'nin önemli bir kısmının adsorpsiyon ile giderildiği birçok çalışmada rapor edilmiştir (Singer vd., 2002; Bester, 2003; Heidler ve Halden, 2007).

Atıksu arıtma tesislerinde (AAT) TCS giderim verimi, kullanılan arıtma prosesine ve arıtma tesisindeki bekleme süresine göre değişkenlik göstermektedir. Ozonlama,

aktif karbon, membran filtrasyonu, fenton oksidasyonu ve aktif çamur sistemleri belli başlı TCS arıtma teknolojileri arasında yer almaktadır.

TCS'nin çevreye deşarj edildikten sonra fotodegradasyon veya biodegradasyona uğrayarak başka potansiyel toksik maddelere (dioksinler, kloroform, 2,4-diklorofenol ve 2,4,6-triklorofenol vb. klorlu organik maddelere) dönüşebildiği bilinmektedir (NICNAS, 2009; Orvos, 2002; Chen vd., 2011). Bu dönüşüm maddelerinden biri olan dioksinin az miktarlarda bile oldukça toksik özellik gösterdiği, hormon bozucu özelliğinin bulunduğu, vücuttan atılma hızının çok düşük olduğu ve de tabiatta uzun süre kaldığı bu durumun diğeri bir önemli boyutudur. Ayrıca, TCS'nin su ve atıksu arıtma tesislerinde uygulanan klorlama sonucunda, daha toksik yan ürünlere (klorlu fenoksi-fenol, klorlu fenoller ve trihalometanlar) dönüştüğü de rapor edilmektedir (Kanetoshi vd., 1987; Rule vd., 2005). Öte yandan, aktif çamur sistemlerinde adsorpsiyonla konsantre hale gelmesi sonucunda, TCS seviyesine bağılı olarak toprak ortamı olumsuz şekilde etkilenebilmektedir.

Diğeri taraftan, TCS bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanarak rezistans geliştirmesine sebep olmakta ve bu tür dirençli bakterilerin ortamda artması sonucunda bir takım alerjik vakaların artışı gözlenmektedir (Ying ve Kookona, 2007; Walsh vd., 2003; Fernández-Fuentes vd., 2012). Pek çok yüzeysel suda (0,16-2300 ng/L) ve özellikle AAT çıkış sularında (142-2100 ng/L) gözlenen TCS seviyelerinin alıcı ortam canlı hayatının korunumu için belirlenen toksik seviyelerin (50 ng/L toksik etkiye neden olmayan; 1,4-19 µg/L EC₅₀) üzerinde olması, çamurda yüksek oranda birikmesi (5,58-12,5 mg/kg) ve daha toksik yan ürünlere dönüşme potansiyelinin olması sebebiyle; bu kimyasalların biyolojik AAT'lerdeki arıtmaları ve akibetleri konusunda daha detaylı araştırma yapılması gerekmektedir.

TCS'nin biyolojik AAT'lerde giderimine yönelik bugüne kadar gerçekleştirilen çalışmalarda, mikrobiyal kültürün adaptasyonu göz önüne alınmamıştır. Literatürde birçok çalışmada (Yetis vd., 1999; Dilek vd., 1998; Sahinkaya ve Dilek, 2006 ve 2007; Silvestre vd., 2011; Vaiopoulou ve Gikas, 2012), adaptasyon sonucunda mikrobiyal kültürün arıtım potansiyelinin önemli oranda arttığı belirtilmiştir.

Dolayısıyla, bu projede, TCS içeren atıksuların biyolojik arıtılabilirliğine ilişkin kapsamlı bir çalışma yapılması ve bu doğrultuda TCS gibi bir biyositin aktif çamur sistemlerinde giderimini optimize etmek için kullanılacak verilerin elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda, gerçek bir biyolojik AAT'yi simüle etmek için çamur yaşı 8 gün olarak işletilen sürekli bir aktif çamur reaktörü, sentetik olarak hazırlanan evsel atıksu ile beslenmiştir. Sentetik atıksu içerisindeki TCS konsantrasyonu zamanla kademeli olarak artırılmış ve bu doğrultuda sistem; performansı, Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) giderimi, Askıda Katı Madde (AKM) ve Uçucu Askıda Katı Madde (UAKM) konsantrasyonu, çamur çökme özellikleri ve TCS giderimi açısından değerlendirilmiştir. Çıkış suyu ölçümleriyle birlikte çamura adsorbe edilen TCS miktar ve konsantrasyonu da belirlenerek, TCS için kütle dengesi kurulmuştur. Bu örneklerde ayrıca, TCS'nin biyolojik olarak bozunması sonucu oluşması muhtemel yan ürünlerin tespit çalışmaları yapılmıştır. Öte yandan, farklı TCS konsantrasyonlarında işletilen reaktörlerden alınan çamur numunelerinde; DNA ekstraksiyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Denatüran Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE) ve sekans analizi yapılarak çamurdaki dominant türlerin değişimi incelenmiştir. Aynı şekilde, kirletici ile aklimasyonun olmadığı durumlarda TCS giderimini ve bu durumun bahsi geçen diğer değişkenlere etkisinin incelenmesi amacıyla söz konusu sürekli sistem reaktörleri TCS'ye aklime olmamış çamur örnekleri ile de işletilmiştir. Ayrıca, kesikli reaktörler kurularak aklime olmuş ve aklime olmamış kültürün sistemin biyokinetik davranışı araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR

Biyositler (TCS, klorheksidin, benzalkonyum klorit vb.) günlük hayatta sıkça kullanılan sabun, diş macunu gibi kişisel bakım ürünleri, ev temizlik malzemeleri ve spor giysileri, ayakkabı, halı gibi tekstil ürünlerine koruyucu ya da antiseptik amaçlı eklenen kimyasallardır. Kozmetik ürünlerdeki konsantrasyonları %0,1-0,3 aralığında değişmektedir (Sabaliunas vd., 2003). Biyositler arasında en yaygın kullanım alanına sahip olan TCS'nin, sadece Avrupa'da yaklaşık 350 ton/yıl miktarda üretildiği birçok çalışmada rapor edilmektedir (Singer vd., 2002). Bu kadar geniş yelpazedeki ürünlere yüksek konsantrasyonlarda eklenmeleri ve yaygın olarak kullanılmaları, bu kimyasalların AAT'lere deşarj edilmeleri ile sonuçlanmakta ve daha sonra yüzeysel su kaynaklarına ulaşmalarına neden olmaktadır. Bu nedenle, son yıllarda, söz konusu ürünlerin kullanımındaki artışa paralel olarak biyositlerin çevresel sistemlerde ortaya çıkışları giderek artan bir olgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu kimyasalların yüzeysel sularda gözlenmesi AAT çıkış suları, kentsel yağmur suları ve tarımsal aktiviteler yoluyla olduğu rapor edilmektedir (NICNAS, 2009). Bu durum, dolayısıyla, bu biyositlerin çevreye olan etkilerinin araştırılması ihtiyacını doğurmaktadır.

Biyositlerin doğal çevredeki seviyelerine ilişkin çok az literatür verisi olmakla beraber, en yaygın biyosit olarak bilinen TCS'nin doğal çevre ve AAT'lerde tespitine ve bu tesislerdeki giderim miktarlarına yönelik yapılmış bazı çalışmalar bulunmaktadır. Çeşitli ülkelerde yapılan çevresel örneklerin analizlerinde ulaşılan TCS seviyeleri Tablo 1'de özetlenmektedir. Tablo 2'de ise AAT'lerde TCS giderimine yönelik bulgular yer almaktadır. Bu tablolardan görüleceği üzere, tespit edilen TCS seviyeleri: yüzey sularında 0,16-2300 ng/L arasında, atıksularda <0,87-562000 ng/L arasında, AAT çıkış sularında 142-269000 ng/L arasında değişmektedir. Bu değerler, TCS'nin çevresel sistemlerde oldukça geniş bir konsantrasyon aralığında gözlenebileceğini göstermektedir.

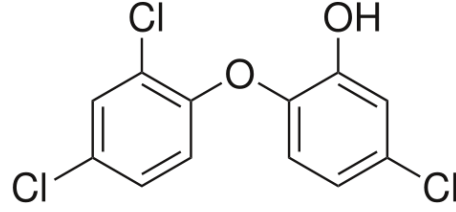
Tablo 1. Yüzey sularında ve atıksularda tespit edilen TCS seviyeleri

TCS miktarı	Örnek	Referans
29000 µg/kg	AAT çamuru- Washington State	US EPA, 2003
900-28200 µg/kg 12500 µg/kg (ort)	AAT çamuru-Kanada	Lee ve Peart, 2002
99,3 ng/L	Deniz suyu- Victoria Harbor	Wu vd., 2007
108 ng/L	Avustralya AAT	Ying ve Kookana, 2007
40 ng/L (ort) 2300 ng/L-max	Yüzey suları-A.B.D	Kolpin vd., 2002
75 ng/L	AAT'lerden beslenen nehirler- Avustralya	Ying ve Kookana, 2007
18-98 ng/L	Yüzey suları-İsviçre	Singer vd., 2002
5,58 mg/kg	Biyokütle-Avustralya	Ying ve Kookana, 2007
1,1-1,3 µg/L	AAT-Almanya	Bester, 2003
30-90 ng/L	Yüzey suları- Almanya	Wind vd., 2004
410 ng/L	AAT çıkış suyu (OH, A.B.D)	Hua vd., 2005
1284 µg/L	AAT-Portekiz	Silva ve Nogueira, 2008
16,2 ng/L	Deniz suyu- Hong Kong	Wu vd., 2007
26 ng/L	Nehir suyu-Sha Tin, Hong Kong	Wu vd., 2007
142 ng/L	AAT çıkış suyu-Sha Tin, Hong Kong	Wu vd., 2007
0,16-757,7 ng/L	Yüzey suları Ankara, Türkiye	Biohypho, 2010-12
< 0,87-11,44 ng/L	Atıksu, Ankara, Türkiye	Biohypho, 2010-12
16289-37189 µg/kg	AAT Çamur-Ankara, Türkiye	Biohypho, 2010-12
9,07 µg/L	Hastane AAT giriş-Yunanistan	Gatidou vd., 2007
1,12 µg/L	Hastane AAT çıkış-Yunanistan	Gatidou vd., 2007
2,3-562 µg/L	AAT giriş-İspanya	Mezcua vd., 2004
0,1-269 µg/L	AAT çıkış-İspanya	Mezcua vd., 2004

Tablo 2. AAT'lerde TCS giderimi

Atıksu Arıtma Prosesi	TCS			Kaynak
	Giriş (µg/L)	Çıkış (µg/L)	Giderim (%)	
Aktif çamur	21,9	1,1	95	Sabaliunas vd., 2003
	1,2	0,051	95,8	Bester, 2003
	5,21	0,24	95,4	McAvoy vd., 2002
	10,70	0,41	96,2	McAvoy vd., 2002
	0,67	0,032	95,2	Kanda vd., 2003
	1,1	0,027	97,5	Kanda vd., 2003
	562	269	52	Mezcua vd., 2004
Damlatmalı Filtre	7,5	0,34	95,5	Sabaliunas vd., 2003
	3,83	1,61	58	McAvoy vd., 2002
	16,6	2,10	86,1	McAvoy vd., 2002
	2,5	0,14	94,4	Kanda vd., 2003

Moleküler ağırlığı 289,5 g/mol, kimyasal formülü $C_{12}H_7Cl_3O_2$ olan ve beyaz kristal toz halinde bulunan TCS (Şekil 1) hidrofobik yapısı nedeniyle suda oldukça düşük çözünürlüğe sahiptir (10 mg/L, 20°C). Bu nedenle, katı fazlara adsorpsiyonu söz konusudur (Lee ve Peart, 2002; NICNAS, 2009). Nitekim aktif çamur prosesinde TCS giderim mekanizmasının kısmen çamura adsorpsiyon (%15-%50 arasında) olduğu rapor edilmektedir (Singer vd., 2002; Bester, 2003; Heidler ve Halden, 2007). Bununla birlikte, rapor edilen adsorpsiyon yüzdelerinin geniş aralığı dikkat çekmekte olup, dikkatlice irdelenmesi önem arz etmektedir. TCS'nin laboratuvarlarda kullanılan malzeme ve ekipmanlara (plastik kaplar, plastik borular, membran vs.) adsorblanabileceği; borosilikat cam gibi TCS'nin kalma eğiliminde olmadığı malzemelerin tercih edilmemesi halinde, değişik arıtım prosesleri (ozonlama, NF/RO sistemleri gibi) ile TCS gideriminin çalışılacağı deneysel çalışmalar sırasında elde edilen giderim verimlerinin gerçeği yansıtmayacağı da literatürde yer bulmuştur (Koc vd., baskıda).



Şekil 1. Triklosan

Thompson vd. (2005), AAT'lerde TCS gideriminin uygulanan arıtma prosesine ve AAT'deki bekleme süresine göre değişkenlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu durum, Tablo 2'de sunulan verilerden de açıkça görülmektedir; uzun bekleme süreleri (<15 sa) uygulanan aktif çamur sistemlerinde, genellikle, %95'in üzerinde giderim sağlanırken, damlatmalı filtre gibi kısa bekleme sürelerinin uygulandığı sistemlerde daha düşük ve değişken arıtma verimleri rapor edilmiştir.

Diğer taraftan, biyositlerin çevresel sistemlerdeki canlılar üzerine olumsuz etkileri söz konusudur. Bakteri, alg, fungus, maya ve protozoa gibi mikrorganizmaların saf kültürlerinin antimikrobiyal kimyasallara maruz bırakıldıklarında yapısal ve biyokimyasal değişikliklere yol açtığı bilinmektedir (Orvos vd., 2002; NICNAS, 2009). Örneğin, AAT çıkış sularının deşarj edildiği nehir ekosisteminde alglerin TCS'ye maruz kaldığında yapısal ve fonksiyonel değişikliklere uğrayabileceği ifade edilmiştir (Wilson vd., 2003). Biyositlere ilişkin en temel görüş bazı alg türleri (örneğin, *Scenedesmus subspicatus*) üzerinde yaratılan toksik etkiye yöneliktir (Orvos vd., 2002; NICNAS, 2009). Bu alg türü için, 500 ng/L TCS konsantrasyonunun herhangi bir olumsuz etki yaratmayacağı belirlenmiş ve genel olarak kabul gören güvenlik faktörü 10 göz önüne alındığında, "etki yapmayan öngörülen doz" olarak 50 ng/L kabul edilmiştir (CIBA, 1998; NICNAS, 2009). Orvos vd. (2002), bu değeri 690 ng/L olarak rapor etmişlerdir. Ayrıca, alglerin sucül organizmalar arasında TCS'ye karşı en hassas organizma olduğu ve 0,7-19 µg/L EC₅₀ değeri ile büyüme hızlarının engellendiği belirtilmektedir (NICNAS, 2009; Orvos vd., 2002). Buna ek olarak, balıklar için TCS'nin LC₅₀ değeri 0.26-0.54 mg/L olarak rapor edilmiştir (NICNAS, 2009).

Bu olumsuz etkilerin dışında, TCS çevreye deşarj edildikten sonra fotodegradasyon veya biodegradasyona uğrayarak başka potansiyel toksik maddelere (dioksinler, kloroform, 2,4- diklorofenol ve 2,4,6-triklorofenol vb. klorlu organik maddelere) dönüşebilmekte ve böylece ayrı bir çevresel ilgi alanı daha ortaya çıkmaktadır (NICNAS, 2009; Orvos, 2002; Chen vd., 2011). Ayrıca, su ve AAT'lerde uygulanan klorlama sonucunda, TCS'den daha toksik yan ürünlere (klorlu fenoksi-fenol, klorlu fenoller ve trihalometanlar) dönüştüğü de bilinmektedir (Kanetoshi vd., 1987; Rule vd., 2005).

Aynı zamanda, hidrofobik yapısı nedeniyle organizmalarda biyolojik birikimin söz konusu olduğu bilinmektedir (NICNAS, 2009). Samsøe-Peterson vd. (2003), TCS'nin balık dokularında 3700 ile 8400 kat birikiminin söz konusu olduğunu rapor etmiştir. Bu durum, AAT çıkış sularında TCS konsantrasyonu düşük olsa bile ekosistem canlılarının dokularında birikerek toksik seviyeye ulaşabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, biyolojik çamurların tarımsal arazilere uygulanması sonucunda da, TCS seviyesine bağlı olarak toprak ortamı olumsuz etkilenebilmektedir. Ying ve Kookona (2007), Avustralya'da çamurdaki TCS düzeyinin 0.09 mg/kg-16.79 mg/kg (ortalama 5.58 mg/kg kuru ağırlık bazında) arasında olduğunu ve bu düzeyde TCS içeren bir çamurun araziye uygulanması durumunda toprakta olumsuz etkiye yol açacağını belirtmişlerdir. Tablo 1'de sunulan değerlerden, AAT çamurlarında çok daha yüksek TCS içeriğinin (29 mg/kg - US EPA, 2003; 37 mg/kg - Biohygiene, 2010-12) söz konusu olabileceği anlaşılmaktadır.

Yukarıda sözü edilen olumsuz etkilerinin yanı sıra, çevrenin TCS gibi biyositler ile kirletilmesi, bakterilerin antibiyotik rezistans geliştirmesine neden olabilmektedir (Gaze vd., 2005). Bu nedenle, dirençli bakteriler artmakta ve bir takım alerjik vakaların artışına da neden olabilmektedir. Bu etkiler yatay gen transferi olgusu ile birlikte düşünüldüğünde, biyositler ile indüklenmiş antibiyotik rezistansının ileri boyutlara ulaşabileceği düşünülmektedir (Ying ve Kookona, 2007; Walsh vd., 2003; Fernández-Fuentes vd., 2012). Bu durumda TCS, çevre ve özellikle de alıcı ortamdaki suyu kullanan insanların sağlığını tehdit eden bir unsur olarak değerlendirilebilir. Nitekim Avrupa Birliği, Mart 2010'da, besin ile temas edebilecek herhangi bir üründe TCS kullanımını yasaklamıştır (APUA, 2011).

Pek çok yüzey suyunda (0,16-2300 ng/L) ve özellikle AAT çıkış sularında (142-2100 ng/L) gözlenen değerlerin alıcı ortam canlı hayatı için toksik seviyelerin (50 ng/L toksik etkiye neden olmayan; 1.4-19 µg/L EC₅₀) üzerinde olması ve çamurda yüksek oranda birikiyor olması (5,58-12,5 mg/kg), daha toksik yan ürünlere dönüşme potansiyeli bu kimyasalların biyolojik AAT'lerdeki arıtmaları ve akibetleri konusunda daha detaylı araştırma yapılması gereğini ortaya koymaktadır.

Öte yandan, TCS'nin biyolojik AAT'lerde giderimine yönelik bugüne kadar gerçekleştirilen çalışmalarda, mikrobiyal kültürün TCS'ye adaptasyonu göz önüne alınmadığı görülmektedir. Halbuki, biyolojik kültürlerin toksik etki yapan kirleticilere, belli bir aklımasyon protokolü dahilinde adaptasyonu ve bu yolla inhibisyon etkisinin azalması veya ortadan kalkması söz konusu olabilmektedir (Yetis vd., 1999; Dilek vd., 1998; Silvestre vd., 2011; Vaiopoulou ve Gikas, 2012).

AAT'lerin çalışmasını ve verimini etkileyen önemli faktörlerden birisi de biyokinetik parametrelerdir. Substrat kullanım oranı ve bakterinin büyüme hızı gibi parametrelerin bilinmesi, hem AAT'lerin dizayn aşamasında hem de işletme esnasında arıtma sistemindeki organik maddelerin akıbeti için önem arz etmektedir (Şahinkaya, 2006). Bu parametreler sayesinde özellikle biyolojik arıtma sistemi optimize edilerek veriminin artırılması mümkün olmaktadır (Grady vd., 1996). Söz konusu biyokinetik parametrelerin belirlenmesi için yaygın olarak Monod Modeli (Denklem 1) kullanılmaktadır.

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} \quad (1)$$

Burada; μ spesifik büyüme hızını (zaman⁻¹), μ_{\max} maksimum spesifik büyüme hızını (zaman⁻¹), S substrat konsantrasyonunu (kütle/birim hacim), K_s ise maksimum büyüme hızının yarısındaki substrat konsantrasyonunu (yarı doygun hız sabiti de denilmektedir) (kütle/birim hacim) belirtmektedir.

Bilindiği üzere, AAT'lere gelen suların muhtevasında genellikle birden çok karbon kaynağı ve toksik madde bulunmakta ve bu durumda da özellikle yüksek substrat konsantrasyonlarında bakteri büyümesinin engellenmesi söz konusu olmakta ve böyle bir durumda Monod Modeli yetersiz kalmaktadır (Genç, 2010). Bu doğrultuda;

Kompetitif (yarışmalı) inhibisyon (Denklem 2), Nonkompetitif (yarışmasız) inhibisyon (Denklem 3) ve Substrat inhibisyonu (Denklem 4) durumları gözlenmekte olup, sistemdeki bakterilerin ölçümlerinden elde edilen veriler doğrultusunda hangi durumun sisteme hakim olduğu belirlenerek o duruma özgü Monod Modelinin derivasyonundan elde edilen denklem yardımıyla sistemin biyokinetik parametreleri tayin edilmektedir.

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{\alpha K_s + S} \quad (2)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{\alpha(K_s + S)} \quad (3)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S + (S^2/K_I)} \quad (4)$$

Yukarıdaki denklemlerde α inhibisyon katsayısı, K_I kirletici inhibisyon katsayısı olup aralarında aşağıdaki denklemdeki gibi bir bağıntı bulunmaktadır.

$$\alpha = 1 + \frac{I}{K_I} \quad (5)$$

Burada I inhibitör maddenin konsantrasyonunu teşkil etmektedir.

TCS içeren atıksuların biyolojik arıtılabilirliğine ilişkin kapsamlı bir çalışma yapılması hedeflenen bu projenin özgün yanları aşağıdaki şekilde özetlenebilir;

Farklı düzeylerde TCS içeren atıksuların aktif çamur sistemlerinde arıtımının detaylı olarak incelenmesi: Literatürde TCS arıtımına yönelik çeşitli çalışmalar olmakla birlikte, sonuçlar birbiriyle çelişmektedir. Ayrıca, kademeli olarak artan TCS konsantrasyonlarının sistem performansına ve TCS giderimine etkisinin detaylı olarak çalışıldığı bir araştırmaya rastlanmamıştır.

TCS giderim düzeyi, giderim mekanizması, TCS'nin arıtma tesisinin KOİ giderim performansına etkisinin detaylı olarak incelenmesi: Literatürde TCS giderimine yönelik yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar sunmakta olup, TCS'nin aktif çamurdaki akıbeti, aklamasyonun sistem performansı etkisi detaylı olarak bu projede çalışılmış olup, bu anlamda özgün bir nitelik taşımaktadır.

Mikrobiyal kültürün TCS'ye adaptasyonunun ve mikrobiyal kompozisyondaki değişimin araştırılması: Literatürde kademeli olarak artan TCS konsantrasyonuna bağlı olarak mikrobiyal kompozisyondaki değişimin incelendiği detaylı bir çalışmanın olmaması, projeyi bu yönüyle özgün yapmaktadır.

Kesikli reaktörlerde TCS'nin aklime olmuş ve olmamış kültürün KOİ giderim performansına etkisi ve TCS'nin biyokinetik sabitler üzerindeki etkisinin araştırılması: Literatürde bu konu ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamış olup, bu yönüyle de proje özgün bir niteliğe sahip olmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Ön Hazırlık

Deney sırasında kullanılan reaktörler için, plastik şişeler yerine koyu renkli cam şişeler tercih edilmiştir. Bunun nedeni, yüksek oranda hidrofobik özellik gösteren TCS'nin plastik malzemelere adsorblanmasının önüne geçilmesi ve muhtemel fotodegradasyonun önlenmesidir.

Deney sırasında kullanılan kimyasallar; HPLC grade metanol (Merck, >%99,9 saflıkta), HPLC grade acetonitril (Merck), sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich, ≥%97 saflıkta), Proteous-pepton (Oxoid) ve sentetik atıksu mineralleri, TCS (Irgasan; Sigma-Aldrich, ≥%97 saflıkta), 2,4-diklorofenol (Sigma-Aldrich, %99 saflıkta), 4-klorokatekol (Sigma-Aldrich, %97 saflıkta), 4-dikloroanisol (Sigma Aldrich, %97 saflıkta) ve 4-klororesorkinol (Sigma Aldrich, %98 saflıkta) standartlarıdır.

Deneyler sırasında kullanılan TCS stok çözeltisi 0,04 M NaOH içeren ultra saf suda 100 mL hacimdeki borosilikat cam (Pyrex) kaplara hazırlanmış ve karanlık ortamda +4°C'de saklanmıştır.

Deneyler sırasında kullanılan makine ve teçhizatlar ile kullanım amaçları Tablo 3'de verilmektedir.

Tablo 3. Projede kullanılan olan makine ve teçhizatlar

Adı/Modeli	Kullanım Amacı
HPLC- SHIMADZU, LC 10AT	TCS analizleri
Saf-su Cihazı / Human Power I+ Scholer ve Millipore Simplicity 188	Hemen hemen bütün deney ve analizler için gerekli olan saf suyun elde edilmesi
Kül Fırını/ Lenton	Reaktörden alınan numunelerde UAKM analizi
Manyetik karıştırıcı / WiseStir, MSH-20A	Çözelti hazırlamada ve bazı analizlerde
Hassas Terazi / GEC AVERY	Çözeltilerin hazırlanması, AKM ve UAKM ölçümü.
Santrifüj / Hettic rotofix 32A	Reaktörden alınan numunelerde katı fazı sıvı fazdan ayırmak için
Buzdolabı	Reaktörlerde kullanılacak besin çözeltilerinin

Adı/Modeli	Kullanım Amacı
	özelliklerini kaybetmeden saklanması, çamur numunelerinin ve DNA numunelerinin korunması
HACH Reaktör	KOİ analizleri
HACH DR/2500 Spektrofotometre	KOİ analizleri
Soxhlet ekstraksiyon cihazı/ Gerhardt	Çamurdan TCS ekstraksiyonu
PCR cihazı (İstanbul Medeniyet Univ. Biyomühendislik Böl.)	Ekstrakt edilen DNA'nın çoğaltılması
DGGE cihazı (İstanbul Medeniyet Univ. Biyomühendislik Böl.)	PCR ile çoğaltılan DNA ların birbirinden ayrılarak denaturasyonu
Jel elektroforez cihazı (İstanbul Medeniyet Univ. Biyomühendislik Böl.)	PCR ile çoğaltılan DNA nın kalitesini kontrol etmek
Jel Görüntüleme Cihazı (İstanbul Medeniyet Univ. Biyomühendislik Böl.)	Jel elektroforez ve DGGE bantlarının görüntülenmesi

3.2. Analitik ölçümler

AKM ve UAKM ölçümleri Standard Methods (2540B) ve (2540E)'de (APHA, 1998) belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu çerçevede, reaktörden alınan 10 mL atıksu numunesi 0,45 µm por genişliğindeki filtreden vakum yardımıyla geçirilmiş, filtrede su kalmayınca kadar süzme işlemine devam edilmiş, filtre etüvde 105°C'de 1 saat süre ile kurutulmuştur. Havadaki nemden etkilenmemesi ve soğuması için filtre 30 dk boyunca desikatörde bekletilmiş ve ardından hassas terazide tartılarak AKM ölçümü yapılmıştır. Filtre ve üzerindeki kalıntı 550°C'de fırında 30 dk süresince yakılıp, desikatörde soğutulduktan sonra ise UAKM ölçümü gerçekleştirilmiştir.

KOİ ölçümleri Hach Lange kitleri ile EPA onaylı HACH 8000 metodu (HACH Water Analysis Handbook, 1992) uyarınca yapılmıştır. Bu kapsamda, vakum filtreden geçirildikten sonra 2 mL atıksu numunesi kitin içerisine eklenmiş, sonrasında kit HACH reaktöründe 2 saat boyunca ısıtılmış ve HACH DR/2500 Spektrofotometresi ile ölçüm yapılmıştır.

TCS konsantrasyonları yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı (HPLC-SHIMADZU, LC 10AT, Tokyo, Japonya) ile ölçülmüştür (Şekil 2). Nucleosil C18

kolonu (4,6 mm x 250 mm), LC-10Atvp çözücü taşıma modülü, SC/L0Avp sistem control ünitesi ve SPD-10Avp UV-VIS detektörü (280 nm) ile donatılı HPLC-UV cihazında yapılan ölçümlerde saf su (%25) ve asetonitril (%75) karışımı çözücü olarak kullanılmış ve 1,5 mL/dak debi ile cihaza beslenmiştir. Numune enjeksiyon hacmi 20 µL olarak ayarlanmıştır. Söz konusu metot ile TCS'nin gözlenme zamanı (pik verme zamanı) 5,3-5,6 dakikadır. Olası yan ürün oluşumu da HPLC-UV cihazı ile izlenmiştir.



Şekil 2. HPLC-UV cihazı

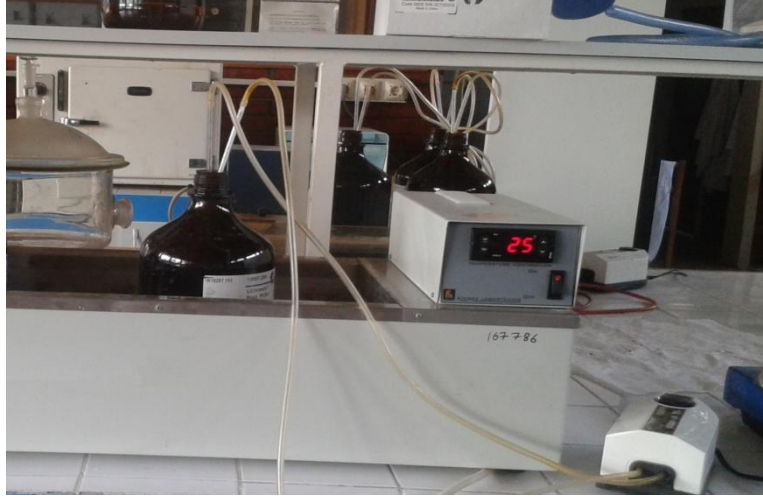
3.3. Sürekli Sistem Deneyleri

Sürekli sistem deneylerinde kullanılmak üzere ODTÜ Teknokent Membran Arıtma Tesisinin membran ünitesinden aşı çamur örneği alınmıştır. Söz konusu çamur örneği ile laboratuvar ölçekli biyolojik atıksu arıtma ünitesi işletilmiş olup, farklı konsantrasyonlarda (100 ng/L-100 mg/L arasında) TCS içeren ve kompozisyonu Tablo 4'de verilen sentetik atıksu ile günlük olarak besleme yapılmıştır. Sentetik atıksu musluk suyunda hazırlanmıştır. TCS konsantrasyon aralığı, çeşitli organizmalar için rapor edilmiş olan TCS toksik eşik değerleri (EC₅₀, LC₅₀ gibi) ve atıksularda bulunması muhtemel konsantrasyonlar göz önüne alınarak belirlenmiştir. Bu aşamada, Proje Başvuru Formu'nda çalışılması öngörülen TCS konsantrasyon aralığında (10 ng/L-10 mg/L) değişikliğe gidilmesi ihtiyacı doğmuştur. Bunun nedeni, HPLC-UV ile TCS ölçüm metodu oluşturma sırasında, metodun ölçüm sınır değerinin

(LOQ değerinin) 10 µg/L olduğunun tespiti ve dolayısıyla, bu değerin altında hassas ve ölçülebilir sonuçlar veremediğinin anlaşılmasıdır. Bu sebeple, çalışılacak alt konsantrasyon değerinin belirlenmesi için, 100 µg/L'den başlayarak arıtım sonrası ölçülebilir seviyeye düşecek (ya da denk gelecek) TCS başlangıç konsantrasyonunun tespit edilmesi yoluna gidilmiştir. Bununla beraber, mikrobiyal kültürün aklımasyonunun yavaş yavaş sağlanmasını mümkün kılmak adına, 100 µg/L'nin altındaki TCS konsantrasyonu olan 100 ng/L ile de besleme yapılmıştır. 100 µg/L ve 500 µg/L giriş suyu değeri ile yapılan deneyler, kararlı halde atıksu TCS çıkış konsantrasyon değerinin metod ölçüm sınırı altında kaldığını göstermiştir. Dolayısıyla; TCS giderim verimi, akıbeti ve kinetiği açısından söz konusu giriş TCS değerleri ile sağlıklı sonuçlar alınamayacağından 100 ng/L, 100 µg/L ve 500 µg/L konsantrasyonlarının mikrobiyal kültürün TCS'ye adaptasyonun izlenmesi ve aktif çamur genel performansı üzerine etkisi nezdinde kullanılabileceği anlaşılmıştır. Bu nedenle, 1 mg/L'den düşük giriş TCS konsantrasyonları için, reaktör kararlı hale ulaştığında, KOİ, UAKM, pH ve çamur hacim indeksi (ÇHI) ölçümleri; 1 mg/L'den yüksek giriş TCS konsantrasyonları için ise ilave olarak TCS ölçümleri yapılmıştır. Proje Başvuru Formu'nda çalışılması öngörülen üst TCS sınır değeri olan 10 mg/L'nin ise, reaktörün çalışma performansına göre, diğer bir deyişle, kaldıracılabileceği başlangıç TCS konsantrasyonunun tespit edilebilmesine yönelik, artırılmasına karar verilmiştir ve 100 mg/L üst TCS sınır değeri olarak çalışılmıştır.

Deneyler sırasında, karbon ve enerji kaynağı olarak proteous-peptone (Oxoid) kullanılmış olup, atıksuyun KOİ'si 500 mg/L olacak şekilde ilave yapılmıştır. Reaktör olarak 2,5 L (sıvı hacmi 2 L) koyu kahverengi cam şişeler kullanılmıştır (Şekil 3). Reaktördeki sıvı hacmi, 1 L çamur örneği ve 1 L sentetik atıksu ile sağlanmıştır. Aynı anda çok sayıda reaktör işletebilmek ve araştırma süresini mümkün olduğunca kısaltmak için, pompa gereksinimi vs. göz önüne alınarak sürekli sistem yerine yarı kesikli sistem (ani beslemeli ardışık kesikli reaktör (pulse-fed sequencing batch reactor)) ile çalışılmıştır. Reaktörler yarı kesikli mod ile 8 gün çamur yaşında (SRT) işletilmiştir. Söz konusu çamur yaşını sağlayabilmek için günlük olarak sırasıyla, reaktörden 250 mL atıksu dışarı atılmış, reaktör 30 dk çökelmeye bırakılmış, üstte kalan süzöntü suyunun 750 mL'si reaktörden uzaklaştırılmış ve 1 L sentetik atıksu

eklenerek reaktör hacmi 2 L'de sabit tutulmuştur. Reaktör 25 °C ortam sıcaklığında işletilmiş olup, havalandırma akvaryum hava pompaları ile sağlanmıştır.



Şekil 3. Aklime kültür ile işletilen sürekli sistem reaktörü

Günlük KOİ ve UAKM ölçümleri sonucunda reaktörün kararlı hale ulaştığı görüldüğünde, reaktörün giriş ve çıkışından alınan örneklerde TCS, KOİ, AKM, UAKM, pH ve ÇHI ölçümleri yapılmıştır. TCS gideriminin mekanizmasını anlamaya yönelik kararlı halde reaktörden alınan atıksu ve çamur örneklerinde HPLC-UV ile TCS analizi yapılarak, sistem için TCS kütle dengesi çıkarılmıştır. Bu amaçla, atıksu örnekleri 0,45 µm por genişliğindeki filtreden geçirildikten sonra TCS ölçümleri HPLC-UV ile gerçekleştirilmiştir. Ancak, çamur örnekleri Soxhlet aparatı (Şekil 4) kullanılarak metanol ile ekstraksiyon yapıldıktan ve akabinde 0,45 µm por genişliğindeki filtreden geçirildikten sonra TCS analizi yapılmıştır. Bu ölçümler sayesinde olası yan ürün oluşumu da izlenmiştir. Reaktörler kararlı durum halinde iken alınan çamur örneklerinde, ayrıca, mikrobiyal kompozisyon belirleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. Soxhlet aparatı

Yukarıda özetlenen reaktör çalışmaları, hem TCS'ye aklime olmuş hem de aklime olmamış kültürlerle gerçekleştirilmiştir. Aklime kültürle yapılan deneylerde, mikrobiyal kütlelerin TCS'ye adaptasyonu, TCS konsantrasyonunun yavaş yavaş, küçük artışlı kademeler şeklinde artırılması yoluyla sağlanmıştır. Bu doğrultuda, öncelikle TCS yokluğunda işletilen reaktörün kararlı şartlara ulaştığı görüldüğünde, 100 ng/L konsantrasyonda TCS içeren sentetik atıksu ile besleme işlemine geçilmiştir. Aynı şekilde, 100 ng/L TCS konsantrasyonu için reaktör dengeye ulaştığında, reaktör sırasıyla 100 µg/L, 500 µg/L, 1 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L ve 100 mg/L konsantrasyonda TCS içeren sentetik atıksu ile beslenmeye devam edilmiştir. 100 ng/L-100 µg/L TCS konsantrasyonu aralığı mikrobiyal kültürün aklimasyonunun sağlanması amacıyla çalışılmış olup, bu aralık için kütle dengesi oluşturulmamıştır. Bu şekilde, reaktör 6 ay süreyle işletilmiştir. Diğer taraftan, TCS'ye aklime olmamış kültürlerle gerçekleştirilen deneylerde, aynı koşullarda 5 ayrı reaktör 1 ay süre ile işletilmiş olup; her biri farklı TCS konsantrasyonu (1, 10, 20, 50 ve 100 mg/L) içeren sentetik atıksu ile ani dozlama (shock load) şeklinde beslenmiştir. Bu kültürlerde aklimasyon söz konusu olmadığından, 100 ng/L-100 µg/L TCS konsantrasyonu aralığı çalışılmamıştır.

HPLC-UV cihazında ortaya çıkan teknik arıza nedeniyle, aklime olmamış kültür deneyleri sırasında HPLC-UV software'inde yapılan değişiklikle kromotogram şablonu biraz değişmiş ve mevcut metot ile TCS'nin deteksiyon zamanı 5,5-5,8 dk olmuştur.

Tablo 4. Sentetik atıksu kompozisyonu

İçerik	Konsantrasyon (mg/L)
Proteous-pepton	470
NaCl	156,70
Na ₂ SO ₄	17,20
K ₂ HPO ₄	44,60
MgCl ₂ .6H ₂ O	3,70
FeCl ₂ .4H ₂ O	4,52
CaCl ₂	2,794
MnSO ₄ .H ₂ O	0,0638
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,0819
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,07525
CuSO ₄	0,0760
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,0338

3.4. Kesikli Sistem Deneyleri (Kinetik Çalışma)

Kesikli deneyler 500 mL hacimli Erlenmeyer beherlerde gerçekleştirilmiş olup, sıvı hacmi 250 mL olacak şekilde musluk suyu kullanılarak ayarlanmıştır. Beherlerin ağzı pamuk ile kapatılmıştır. Deneyler sallamalı etüvde, 25 °C'de ve 200 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir (Şekil 5). Kararlı hale gelen yarı kesikli reaktörlerden (sürekli sistem deneyleri) alınan çamur örnekleri 2 kez saf su ile yıkanarak, mikroorganizmaların yüzeylerinde adsorplanmış olan organik maddelerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Elde edilen kültürler saf su ile karıştırılarak, her bir beherde COD/biokütle oranı < 0,4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Deneyler pepton içeren ve içermeyen besin çözeltisi kullanılarak tekrarlanmış ve böylece, hem

TCS'nin tek karbon-enerji kaynağı olması durumu hem de diğer kolay parçalanabilir (proteous-pepton) karbon kaynağının kullanımına etkisi araştırılmıştır. Bu sırada, peptonun besin çözeltisinden çıkarılması ile ortaya çıkacak azot eksikliği NH_4Cl eklenerek karşılanmıştır. Bu şekilde toplamda 21 kesikli reaktör işletilmiştir (1 tane TCS içermeyen kontrol reaktörü; 5 farklı konsantrasyonda (1,10, 20, 50 ve 100 mg/L TCS) TCS'ye aklime olmuş, TCS ve proteous-pepton içeren 5 reaktör; 5 farklı konsantrasyonda (1,10, 20, 50 ve 100 mg/L TCS) TCS'ye aklime olmuş, karbon-enerji kaynağı olarak sadece TCS içeren 5 reaktör; 5 farklı TCS konsantrasyonunda (1,10, 20, 50 ve 100 mg/L TCS) ani dozlama yapılan, TCS ve proteous-pepton içeren 5 reaktör; 5 farklı TCS konsantrasyonunda (1,10, 20, 50 ve 100 mg/L TCS) ani dozlama yapılan, karbon-enerji kaynağı olarak sadece TCS içeren 5 reaktör). Belirli zaman aralıklarında alınan örneklerde KOİ, TCS, AKM ve UAKM analizleri gerçekteştirilmiş ve elde edilen veriler biyokinetik sabitlerin (q , μ , Y , K_s , K_i gibi) hesaplanmasında kullanılmıştır. Tüm deneyler 2 paralel işletilen sistemlerle gerçekteştirilmiştir.



şekil 5. Sallamalı etüv

3.5. Mikrobiyal Kompozisyon Belirleme

Mikrobiyal kompozisyon belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda; sistem kararlı hale geldiğinde ham çamur (TCS içermeyen), aklime (100 ng/L-100 mg/L TCS) ve aklime olmamış (1-100 mg/L) kùltürle işletilen sürekli sistem reaktörlerinden alınan çamur

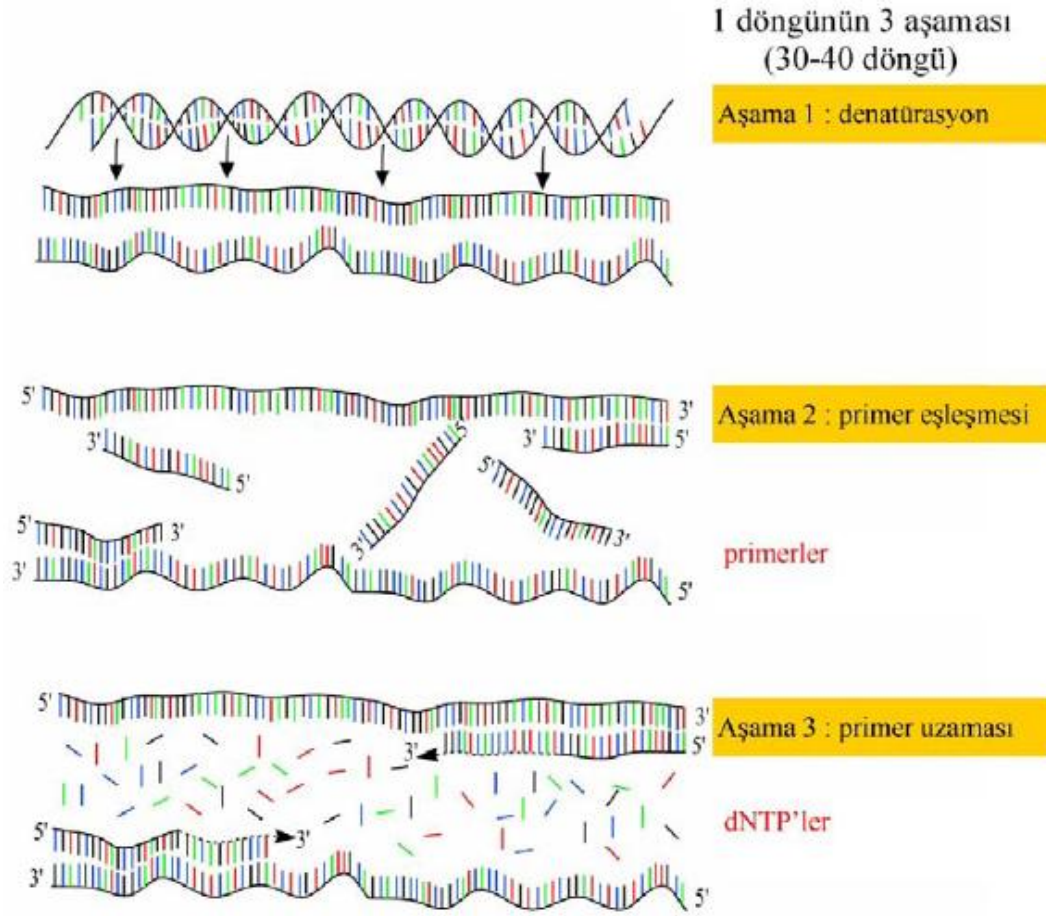
örneklerinde DNA ekstraksiyonu yapılmış ve akabinde universal primerler kullanılarak kültürden izole edilen 16SrDNA örneği birleştirilmiş PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. İkinci aşamada ise DGGE kullanılarak biyofilme ait bakteri kompozisyonundaki değişim belirlenmiştir. Deneyler sırasında kullanılan materyal ve metotlarla ilgili ayrıntılı bilgi aşağıdaki bölümlerde sunulmaktadır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Son zamanlarda çeşitli amaçlarla yaygın olarak kullanılan PCR, bir DNA zincirinin bilinen iki parçası arasında uzanan özel bir DNA bölümünün enzimatik olarak çoğaltıldığı in vitro bir tekniktir. PCR sayesinde, çok kısa bir süre içerisinde (birkaç saat kadar) tek bir gen kopyasından milyonlarca kopya çoğaltılması mümkün olabilmektedir (Somma, 2006).

PCR prensip olarak hücre içinde (in vivo) DNA'nın kendini eşlemesi mekanizmasına dayanmakta olup, bu aşamada, çift zincirli DNA (dsDNA) tek zincirli DNA (ssDNA) biçimine çözülmekte, kopyalanarak çoğaltılmakta ve tekrar bağlanmaktadır. Diğer bir ifadeyle, PCR 3 ana işlemde oluşmaktadır. Bunlardan ilki, çift sarmal DNA'nın yüksek sıcaklıkta çözülerek tek sarmal haline gelmesi yani denatürasyondur. İkinci işlem primer olarak kullanılan iki oligonükleotidin hedef DNA'ya bağlanması olarak bilinen primer eşleşmesidir. Son aşama ise, Mg²⁺ iyonlarının varlığında, katalizör olan DNA polimeraz ile primerlere nükleotid eklenmesi ve DNA zincirinin uzamasıdır (primer uzaması) (Somma, 2006). PCR yöntemindeki bu 3 ana işlem Şekil 6'da özetlenmektedir.

PCR yöntemi moleküler biyoloji ve moleküler tıp alanlarında sıklıkla kullanılmakta olup, diagnostik ve adli tıpta genlerin belirlenmesi, özel DNA parçalarının klonlanması amaçlarına hizmet etmektedir. Son yıllarda kullanım alanı genişlemiş olup, bakteri kontaminasyonu, genetiği değiştirilmiş DNA'nın varlığı ve gıda içeriklerinin özgünlüğünün kontrolü gibi alanlarda da uygulanmaya başlanmıştır (Somma, 2006).

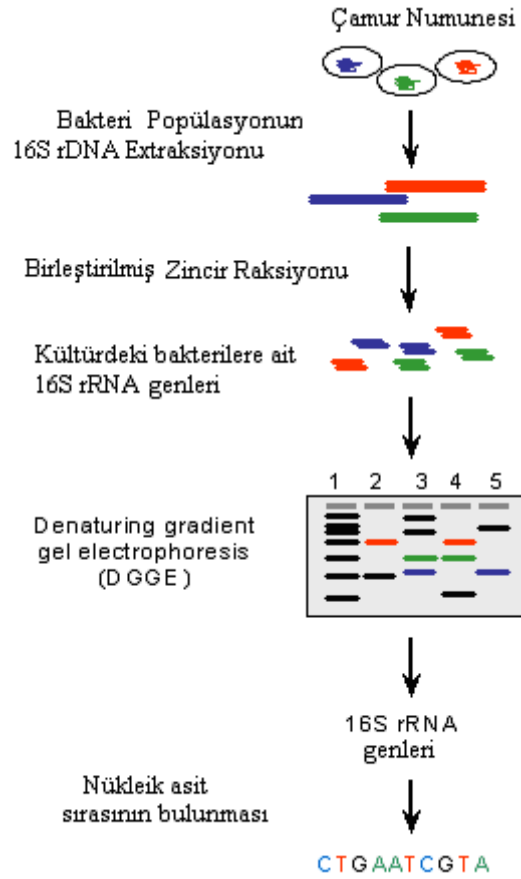


Şekil 6. PCR çoğalmasının basamakları (Somma, 2006).

Bu proje kapsamında da mikrobiyal kompozisyonun belirlenmesi sırasında PCR yöntemi kullanılmış olup, DGGE metodu ile sıkı bir şekilde birbirine bağlı olmasından dolayı aşağıdaki kısımda deneysel açıklamalarına yer verilmiştir.

Denatüran Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE)

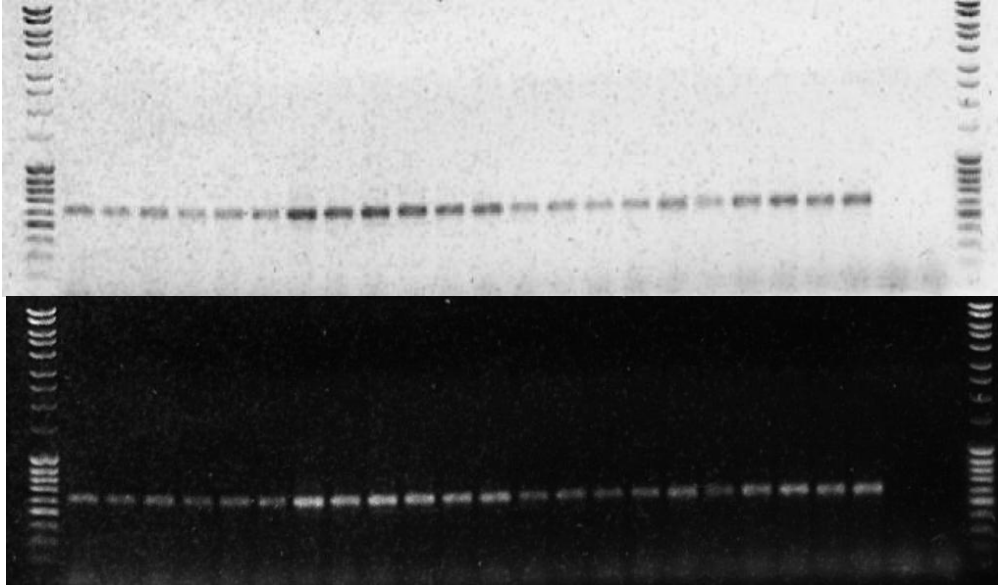
Sürekli sistem reaktörlerinin işletilmesi sırasında kararlı halde çamur numunesi alınarak moleküler biyoloji teknikleri kullanılmış ve bakteri popülasyonunda zamanla meydana gelen değişiklikler detaylı olarak belirlenmiştir. Bu amaçla, alınan numunelerde bakteri DNA'sı ekstrakt edilmiş, PCR ile 16SrRNA genleri çoğaltılmış ve DGGE kullanılarak popülasyon dinamiği incelenmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Çamur numunelerinde bakteri kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla yürütülen moleküler analiz yöntemleri

Çamurdan DNA ekstrakt etmek için DNA izolasyon kitleri kullanılmış olup, üretici firma tarafından verilen prosedüre göre ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstrakt edilen DNA numuneleri -20°C 'de muhafaza edilmiştir. *Escherichia coli* 16S rRNA genin 341-926 nükleotit sırasına karşılık gelen DNA parçaları (DNA fragments), GC-BacV3f (5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3') ileri ve 907r (5'-CCG TCA ATT CMT TTG AGT TT-3') geri primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Ayrıca, DGGE analizinde stabilizasyonu sağlamak amacıyla, kullanılan ileri primerin (forward primer) 5' ucunun sonuna 40 baz uzunluğunda bir GC dizisi bulunmaktadır (Muyzer et al., 1996). PCR'da DNA çoğaltma işlemi için PCR cihazında kullanılan program ise; 95°C 'de 5 dakika ilk denaturasyon (initial denaturation) ve arda arda toplam 30 döngü olacak şekilde 94°C 'de 30 saniye (denaturation), 50°C 'de 1 dakika primer bağlanması (primer annealing), 72°C 'de 2 dakika boyunca primere yeni nükleotitlerin bağlanması (primer extension) ve 30 döngünün tamamlanmasını takiben son olarak 72°C de 10 dakika boyunca son nükleotit eklenmesi (final extension) şeklinde çalışmaktadır. PCR

ürünlerinin mevcudiyeti etidium bromür ile boyanan %1 (w/v) lik agaroz jel elektroforeziz ile kontrol edilmiştir (Şekil 8'de örnek bir agaroz jel elektroforeziz gösterilmiştir). DGGE için INGENY phor U-2, Ingeny International BV kullanılmıştır. DGGE için hazırlanan jel; %35-60 arasında değişen bir gradiente (%100 lük denaturant 7 M üre, %40 Akrilamid bis (v/v) ve formamide içermektedir.) sahip olup 1XTAE tampon çözeltisi içinde %8 poliakrilamid gel içermektedir. DGGE işlemi 60°C ve 100 V da 22 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Elektroforezden sonra, jel SYBR Gold çözeltisinde (100µL/L TAE tampon çözeltisi) 35 dakika boyanmış ve 3UV Transilluminator ve Dijital Kamera ile fotoğrafı çekilmiştir.



Şekil 8. PCR ürünlerini kontrol etmek amacıyla yürütülen örnek bir agaroz jel elektroforeziz

DGGE analizinde elde edilen bantlar steril bir bistürü ile kesilerek içinde 20 µL DNA içermeyen su bulunan 1 mL'lik tüplere konulmuş ve -20°C'de dondurularak saklanmıştır. Kesilen DNA bantlarını PCR ile çoğaltmak için ileri primer olarak GC eki içermeyen 342f, geri primer olarak 907r kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin DNA sırasının belirlenmesi, diğer adıyla sekans analizi, projede hizmet alımı kapsamında ODTÜ Teknokent'de yer alan REFGEN Ltd. Şti.'ye yaptırılmıştır. Sekans analizi sonrasında, BLAST uygulaması ile mikrobiyal kompozisyon tayini yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

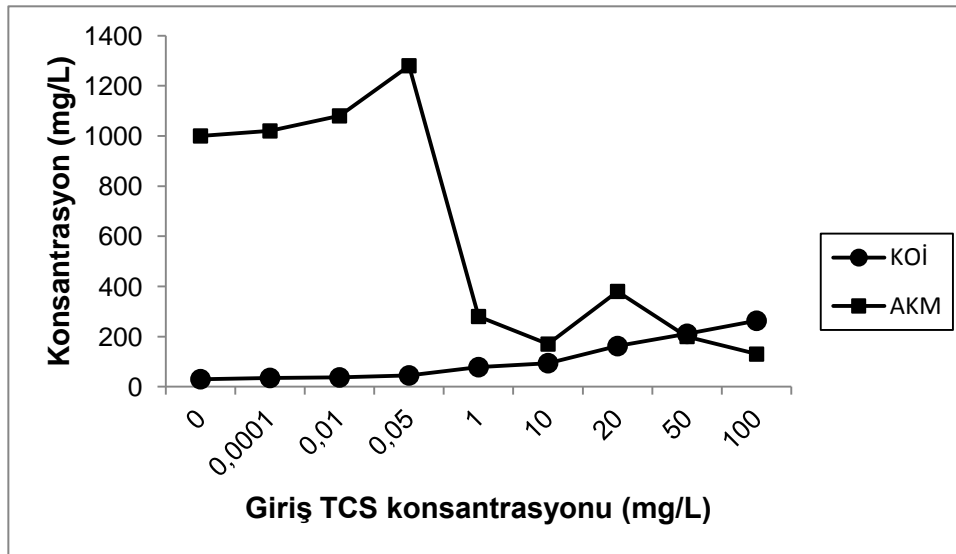
4.1 Sürekli Sistem Deneyleri

4.1.1 Aklime Kültür

100 ng/L-100 mg/L TCS konsantrasyon aralığında aklime edilmiş kültürle yarı kesikli modda 6 ay boyunca işletilen reaktörün denge halindeki KOİ, AKM, ÇHİ ve pH değerleri Tablo 5'de sunulmaktadır. Farklı giriş TCS konsantrasyonlarında sistemin kararlı hal durumunda KOİ ve AKM değişimi Şekil 9'da gösterilmektedir.

Tablo 5. TCS'ye aklime olmuş kültürle işletilen reaktörün kararlı hal değerleri

TCS	Çıkış KOİ (mg/L)	AKM (mg/L)	ÇHİ (mL/g)	pH
-	30	1000	54,17	7,40
100 ng/L	35	1020	53,10	7,39
100 µg/L	37	1080	54,01	7,39
500 µg/L	45	1280	52,08	7,40
1 mg/L	78	280	59,52	7,41
10 mg/L	94	170	122,55	7,48
20 mg/L	162	380	76,75	7,50
50 mg/L	211	200	93,75	7,51
100 mg/L	263	130	96,15	7,56



Şekil 9 KOİ ve AKM değişimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür)

TCS'nin sistemdeki KOİ giderimine etkisini görebilmek amacıyla giriş TCS giriş konsantrasyonu sonucu sistemin KOİ giderim yüzdesi Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6. KOİ giderim verimi (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür)

TCS Giriş Konsantrasyonu	KOİ giderimi (%)
0	94
100 ng/L	93
100 µg/L	92,6
500 µg/L	91
1 mg/L	84,4
10 mg/L	81,2
20 mg/L	67,6
50 mg/L	57,8
100 mg/L	47,4

Tablo 5 ve Şekil 9'dan görüleceği gibi, reaktördeki giriş TCS konsantrasyonu arttıkça kararlı halde gözlenen KOİ değeri de artmaktadır. Diğer bir deyişle, sistemin KOİ giderim verimi artan TCS konsantrasyonu ile birlikte azalmaktadır. Reaktöre hiç TCS sunulmadığında 30 mg/L olan çıkış KOİ değeri, TCS sunuldukça giderek yükselmektedir. 1 mg/L giriş TCS konsantrasyonuna kadar bu artış çok belirgin değilken, yüksek konsantrasyon dozlarında gözlemlenen KOİ değerinde belirgin artışlar görülmüştür. Aynı şekilde, reaktörde TCS bulunmazken %94 olan KOİ giderim verimi, 100 mg/L TCS varlığında tam anlamıyla yarısına (%47,4) kadar düşmektedir (Tablo 6). Bu durum, yüksek konsantrasyonlarda TCS'nin mikrobiyal kültür üzerinde toksik etki yarattığı, bu nedenle komünitenin ortam şartlarına duyarlı hale gelerek besini/substratı (proteous-pepton) kullanmadığı ve dolaylı bir şekilde sistemin KOİ gideriminin de olumsuz olarak etkilendiği yönünde yorumlanabilir. Buradan hareketle, AAT'lere TCS içeren girdilerin ulaşması, tesisin performansını etkileyerek istenen deşarj kriterlerinin sağlanamamasına ve alıcı ortam su kalitesinin bozulmasına neden olacağı dikkate alınması gereken bir gerçektir.

1 mg/L'den büyük TCS giriş konsantrasyonları için reaktör kararlı hale geldiğinde atıksu ve çamurda gerçekleştirilen TCS analizleri sonucunda, kütle dengesi çıkarılmıştır.

TCS kütle dengesi oluşturulurken aşağıdaki formül (Denklem 6) dikkate alınmıştır.

$$M_{in} = M_{out} + M_{\text{çamur}} + M_{\text{giderilen}} \quad (6)$$

Bu formülde; M_{in} reaktöre düzenli olarak beslenen giriş TCS miktarını (mg), M_{out} denge halinde sıvı fazda kalan TCS miktarını (mg), $M_{\text{çamur}}$ denge halinde aktif çamurda kalan TCS miktarını (mg), $M_{\text{giderilen}}$ ise sistemde biyolojik olarak giderilen/arıtılan (biyodegradasyon) TCS miktarını (mg) ifade etmektedir.

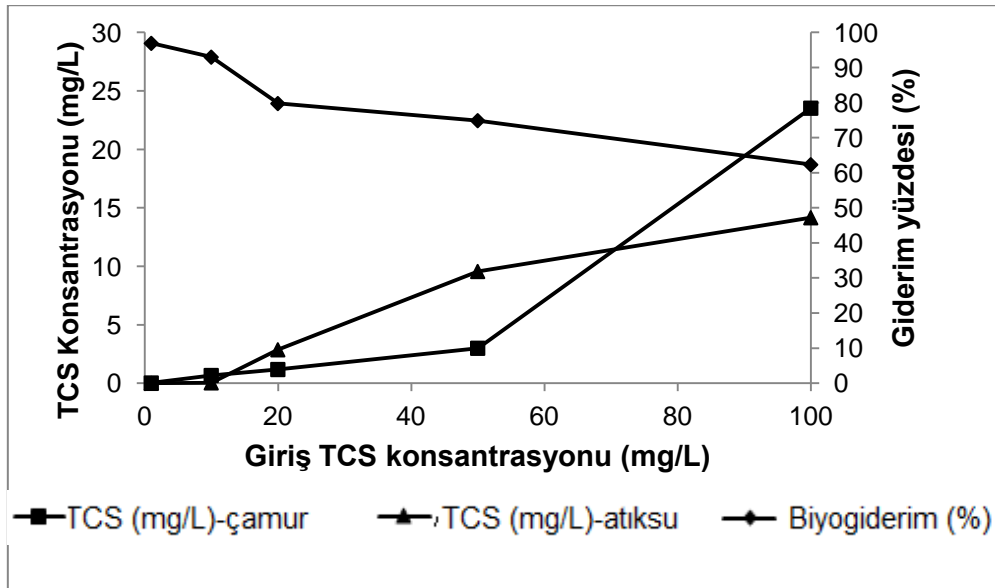
Yukarıda belirtildiği üzere, reaktöre beslenen farklı TCS konsantrasyonları için, reaktörün denge haline gelmesini takiben, çıkış suyu ve çamur örneklerinde TCS analiz sonuçlarını gösteren HPLC kromatogramları, "Yan Ürün Analizi" başlıklı bölümde (Böl. 4.1.3) sunulmuştur. Kromatogramlarda TCS'nin gözlenme zamanı 5,3-5,6 dk aralığında seyretmektedir.

Denklem 6'da verilen formül ve Böl. 4.1.3' de verilen reaktör çıkış suyu ve çamur kromatogram sonuçlarına dayanarak oluşturulan TCS kütle dengesi analizi Tablo 7'de verilmektedir.

Tablo 7. TCS'ye aklime olmuş mikrobiyal kültürle işletilen reaktör için oluşturulan TCS kütle dengesi

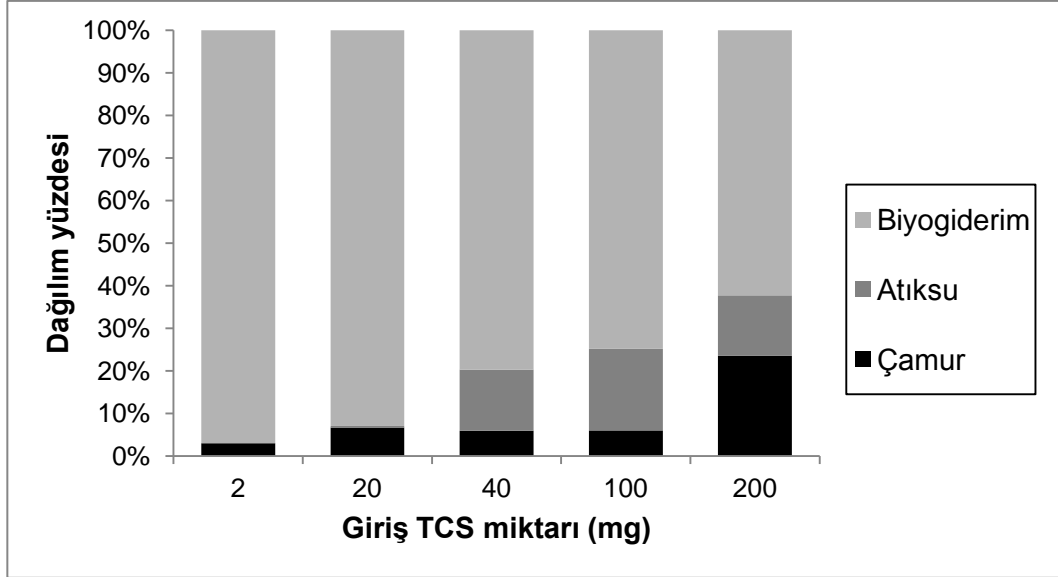
Giriş TCS		$M_{\text{çamur}}$		M_{out}		$M_{\text{giderilen}}$ (biyodegradasyon) (mg)	TCS Biyogiderimi, %	TCS Giderimi, % (sudan uzaklaştırılan)
mg	mg/L	mg	mg/L	mg	mg/L			
2	1	0,06	0,03	0,00	0,00	1,94	97	100
20	10	1,33	0,665	0,07	0,035	18,60	93	99,65
40	20	2,36	1,18	5,74	2,87	31,90	79,75	85,65
100	50	6,00	3,00	19,13	9,565	74,87	74,87	80,87
200	100	47,06	23,53	28,32	14,16	124,62	62,31	85,84

Tablo 7'den de görüleceği gibi, reaktöre beslenen giriş TCS miktarı arttıkça, sistemin biyolojik TCS giderim yüzdesi azalmaktadır. Örneğin, 1 mg/L TCS ile besleme yapıldığında söz konusu reaktör %97 oranında biyolojik TCS giderim performansına sahipken, 20 mg/L TCS reaktöre enjekte edildiğinde bu değer %80'lere kadar gerilemekte ve hatta 100 mg/L TCS ile besleme yapıldığında mevcut sistemin TCS biodegradasyon performansı gittikçe azalarak %62'lere kadar düşmektedir. Farklı giriş TCS konsantrasyonlarında, sistem denge haline geldiğinde, atıksu ve çamurda gözlemlenen TCS konsantrasyonları ile TCS biyogiderim verimleri Şekil 10'da görülmektedir. Sudan uzaklaştırılan TCS açısından bir değerlendirme yapıldığında ise, giriş suyundaki 1 mg/L TCS'nin %100 oranında giderildiği, bu oranın 20 mg/L ve 100 mg/L giriş TCS değerleri ile birlikte, %85'lere düştüğü görülmektedir. Literatürde de yapılan bir çok çalışmada TCS'nin hidrofobik karakteri göz ardı edilerek, arıtma tesisleri çıkışı alınan su örneklerindeki TCS analizi doğrultusunda yüksek giderim verimleri rapor edilmiştir. Ancak, çamura adsorplanmanın dikkate alınmayarak bu giderim verimlerinin sağlandığını söylemek gerçeği yansıtmamaktadır. Bu durum karşısında, AAT'lerde TCS giderimi izlenirken, hidrofobik yapısı nedeniyle TCS'nin çamura adsorbe olacağı gerçeğiyle çamurdaki miktarına da bakılmalı ve buna göre değerlendirme yapılmalıdır. Ayrıca, bilindiği gibi TCS başka toksik maddelere de dönüşebilmektedir ve bu giderim yüzdelерinin, "Yan Ürün Analizi" başlıklı bölümle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.



Şekil 10. Kararlı hal atıksu ve çamur TCS konsantrasyonları, TCS biyogiderim verimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür)

Sisteme ulaşan TCS miktarına bağlı olarak TCS'nin atıksu ve çamurda kalma yüzdeleri ile biyogiderim yüzdeleri Şekil 11'de verilmektedir.



Şekil 11. TCS'nin atıksuda, çamurda ve biyogiderim olarak dağılım yüzdesi (Sürekli sistem deneyleri, aklime kültür)

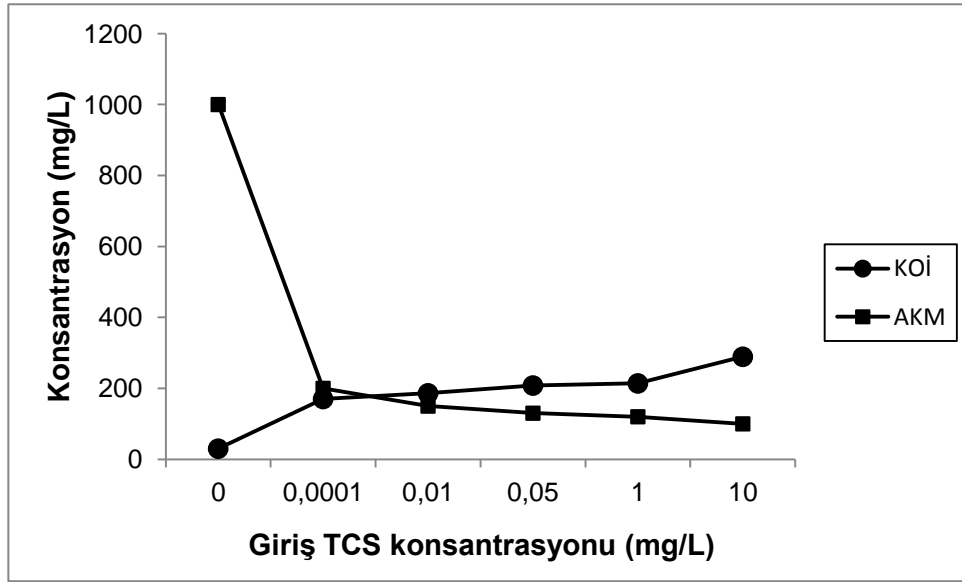
Şekil 11'den de görüleceği gibi giriş TCS miktarı arttıkça, giderim verimi azalmakta ve aerobik arıtma sonrasında atıksu fazında kalan TCS yüzdesi artmaktadır. Sisteme 2 mg (1 mg/L) TCS girişi olduğunda, arıtma sonrasında atıksuda TCS hiç gözlenmemekte, %3 TCS çamura adsorblanmakta ve %97 biyogiderim olmaktadır. Giriş TCS miktarı 200 mg (100 mg/L) olduğunda, azalan giderim verimi ile birlikte, başlangıçtaki TCS'nin yaklaşık %14'ü atıksuda kalmakta, %24'ü çamura adsorblanmakta; geriye kalan kısmı ise sistemde giderilmektedir. Giderimin yanı sıra, arıtma sırasında herhangi bir yan ürün oluşup oluşmadığı "Yan Ürün Analizi" başlıklı bölümde (Böl. 4.1.3) değerlendirilmiştir.

4.1.2 Aklime Olmamış Kültür

1 mg/L - 100 mg/L TCS konsantrasyon aralığında aklime olmamış kültürle yarı kesikli modda 1 ay süresince işletilen reaktörün denge halindeki KOİ, AKM, ÇHİ ve pH değerleri Tablo 8'de sunulmaktadır. Farklı giriş TCS konsantrasyonlarında sistem kararlı hal durumunda KOİ ve AKM değişimi Şekil 12'de gösterilmektedir.

Tablo 8. TCS'ye aklime olmamış kültürle işletilen reaktörün kararlı hal performans değerleri (1 mg/L-100 mg/L TCS aş konsantrasyonları)

TCS (mg/L)	KOİ (mg/L)	AKM (mg/L)	SVI (mL/g)	pH
-	30	1000	54,17	7,40
1	170	200	104,17	7,39
10	186	150	111,11	7,40
20	208	130	96,15	7,43
50	214	120	86,81	7,47
100	289	100	83,33	7,50



Şekil 12. KOİ ve AKM değişimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür)

Ani dozlama yapıldığında TCS'nin sistemdeki KOİ giderimine etkisini görebilmek amacıyla farklı giriş TCS konsantrasyonlarında sistemin KOİ giderim yüzdesi Tablo 9'da özetlenmiştir.

Tablo 9. KOİ giderim verimi (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür)

TCS Giriş Konsantrasyonu (mg/L)	KOİ giderimi (%)
-	94
1	66
10	62,8
20	58,4
50	57,2
100	42,2

Tablo 8 ve Şekil 12'den görüleceği gibi, reaktördeki giriş TCS konsantrasyonu arttıkça kararlı halde gözlenen KOİ değeri de artmaktadır. Diğer bir deyişle, aklime kültür deneylerinde olduğu gibi sistemin KOİ giderim verimi artan TCS konsantrasyonu ile birlikte azalmaktadır. TCS içermeyen ham çamur ile işletilen reaktörde KOİ giderim verimi %94 iken, ham çamura 1 mg/L TCS ile ani dozlama yapıldığında söz konusu giderim verimi %66'ya gerilemekte, 100 mg/L TCS ile karşı karşıya kaldığında ise verim ham çamura oranla yarısından fazla (%42,2) düşmektedir (Tablo 9). Bu durum, TCS'nin mikrobiyal kültür üzerinde toksik etki yarattığı, bu nedenle komünitenin ortam şartlarına duyarlı hale gelerek besini/substratı (proteous-pepton) kullanamadığı ve dolaylı bir şekilde sistemin KOİ gideriminin de olumsuz olarak etkilendiği yönünde yorumlanabilir. Söz konusu durumun günlük hayata yansımaları, AAT'lere ani veya kesikli deşarjlar ile TCS içeren girdilerin ulaşması sonucunda biyolojik ünitelerin çalışma performansının olumsuz yönde etkilenmesi ve sistemin giderim veriminin düşmesi şeklinde olacaktır.

Aklime olmuş kültürle kıyaslama yapıldığında, aklime olmamış kültür ile işletilen reaktörlerde sistemin KOİ gideriminde genel bir azalış görülmüştür. Bu azalış, çalışılan tüm TCS konsantrasyonlarında aklime ve aklime olmamış kültürlerle işletilen reaktörlerde rastlanmıştır. Ancak, yüksek TCS konsantrasyonlarında sistemin KOİ giderim verimi aklimesyondan daha az etkilenmiştir. Örneğin, 1 mg/L TCS ile aklime olmuş kültürü içeren reaktörde %84 oranında KOİ giderilebilirken, aynı TCS konsantrasyonunda ani dozlama yapılan reaktörde bu oran %66'lara düşmüştür. Diğer taraftan, 100 mg/L TCS ile aklime olmuş kültürü içeren reaktör %47,4 KOİ giderim verimine sahipken, aynı TCS konsantrasyonunda aklime olmamış kültürle işletilen reaktörde bu verim %42'lerde seyretmiştir. Bu da belli bir kirletici konsantrasyon değerinden sonra, aklimesyonun, biyolojik olarak işletilen sistemin KOİ giderimine nispeten daha az etki ettiği şeklinde yorumlanabilir. Yine de, aklimesyon halinde gözlemlenen KOİ giderim verimlerinin aklimesyonun olmadığı şartlara nazaran daha yüksek olması, literatürde bahsedilen açıklamaları destekler niteliktedir. Yani belli bir adaptasyon protokolü halinde sistemin giderim verimi kirleticiden olumlu yönde etkilenebilmektedir.

Farklı TCS konsantrasyonlarında aklime olmamış kültürle işletilen reaktörlerin denge haline gelmesini takiben, çıkış suyu ve çamur örneklerinde TCS analiz sonuçlarını gösteren HPLC-UV kromatogramları, “Yan Ürün Analizi” başlıklı bölümde (Böl. 4.1.3) sunulmuştur. Kromatogramlarda TCS'nin gözlenme zamanı 5,5-5,8 dk aralığında seyretmektedir.

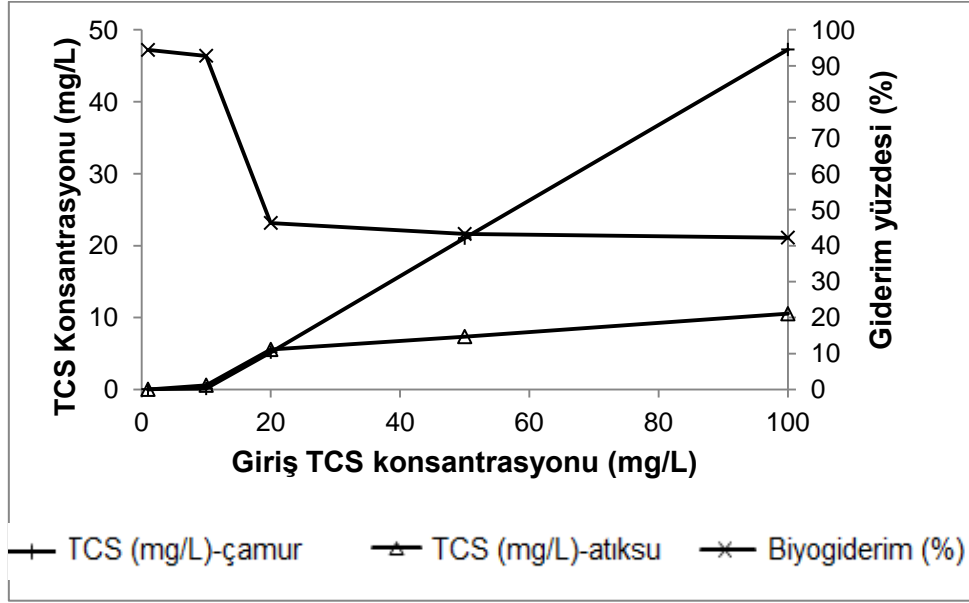
Denklem 6'da verilen formül ve Böl. 4.1.3'de verilen reaktör çıkış suyu ve çamur kromatogram sonuçlarına dayanarak oluşturulan TCS kütle dengesi analizi Tablo 10'da verilmektedir.

Tablo 10. TCS'ye aklime olmamış mikrobiyal kültürle işletilen reaktör için oluşturulan TCS kütle dengesi

Giriş TCS		M _{çamur}		M _{out}		M _{giderilen} (biyodegradasyon)	TCS Biyogiderimi, %	TCS Giderimi, % (sudan uzaklaştırılan)
mg	mg/L	mg	mg/L	mg	mg/L	(mg)		
2	1	0,072	0,036	0,04	0,02	1,888	94,40	98,00
20	10	0,264	0,132	1,18	0,59	18,556	92,78	94,10
40	20	10,36	5,18	11,12	5,56	18,52	46,30	72,20
100	50	42,06	21,03	14,70	7,35	43,24	43,24	85,30
200	100	94,52	47,26	21,05	10,525	84,43	42,22	89,48

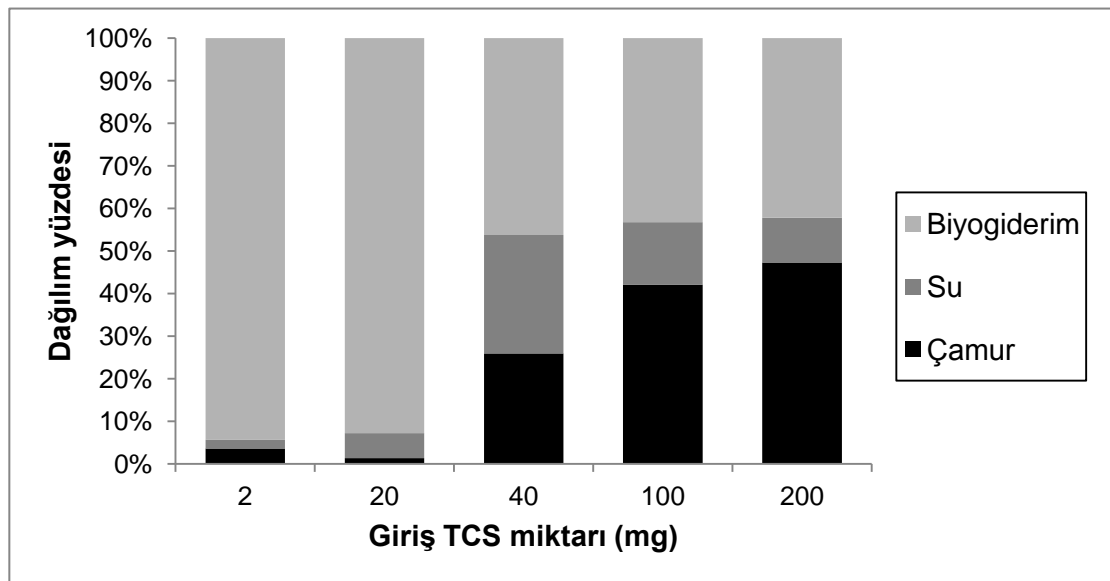
Tablo 10'dan da görüleceği gibi, reaktöre ani dozlama yapılan giriş TCS miktarı arttıkça, sistemin biyolojik TCS giderim yüzdesi önemli ölçüde azalmaktadır. Örneğin, 1 mg/L TCS ile ani dozlama yapıldığında reaktörün biyolojik TCS giderim performansı %94 civarında iken, 10 mg/L TCS reaktöre enjekte edildiğinde bu değer az bir düşüşle %93'lere yaklaşmaktadır. Ancak, 10 mg/L ve 20 mg/L TCS konsantrasyonlarında şok dozlanan reaktörlerde gözlemlenen biyolojik TCS giderim verimlerinde belirgin bir fark meydana gelmiş ve ciddi denebilecek düşüşler gözlemlenmiştir. Bu durumda, %93'lere yaklaşan giderim verimi yarı oranında bir düşüşle %46'lara kadar gerilemiştir. Buradan çıkarılabilecek olan sonuç, 10-20 mg/L konsantrasyon aralığında TCS'nin, aklimasyonun olmadığı koşullarda, biyolojik sistemdeki belirli bir mikrobiyal komünite üzerinde ani (akut) toksik etki yarattığı, bu mikroorganizmalar tarafından kullanılamayıp giderilemediği ve toplamda reaktörün

giderim veriminin azaldığıdır. Farklı giriş TCS konsantrasyonlarında, sistem denge haline geldiğinde, atıksu ve çamurda gözlemlenen TCS konsantrasyonları ile TCS biyogiderim verimleri Şekil 13’de görülmektedir. Yalnız bu giderim değerlerinin, “Yan Ürün Analizi” başlıklı bölümle (Böl. 4.1.3) ile birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.



Şekil 13. Kararlı hal atıksu ve çamur TCS konsantrasyonları, TCS biyogiderim verimleri (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür)

Sisteme ulaşan TCS miktarına bağlı olarak TCS’nin atıksu ve çamurda kalma yüzdeleri ile biyogiderim yüzdeleri Şekil 14’de verilmektedir.



Şekil 14. TCS’nin atıksuda, çamurda ve biyogiderim olarak dağılım yüzdesi (Sürekli sistem deneyleri, aklime olmamış kültür)

Şekil 14'den de görüleceği gibi ani dozlama yapılan TCS miktarı artıkça, giderim verimi önemli oranda azalmış ve çamura adsorplanan TCS yüzdesi artmıştır. Sisteme 2 mg ani TCS girişi olduğunda, arıtma sonrasında TCS'nin %3'ü atıksuda kalmış, %3,6'sı çamura adsorblanmış ve %94,4'ü biyolojik olarak giderilmiştir. TCS miktarı 200 mg olduğunda ise, azalan giderim verimi ile birlikte, başlangıçtaki TCS'nin yaklaşık %11'i atıksuda kalmış, %47'si çamura adsorblanmış; geriye kalan kısmı ise sistemde giderilmiştir. Giderimin yanı sıra, arıtma sırasında herhangi bir yan ürün oluşup oluşmadığı "Yan Ürün Analizi" başlıklı bölümde (Böl. 4.1.3) ele alınmıştır.

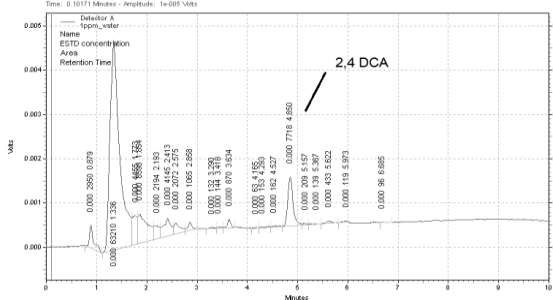
Aklime olmuş kültürle kıyaslama yapıldığında, aklime olmamış kültür ile işletilen reaktörlerde daha düşük TCS giderimi elde edilmiştir. Bu durum, çalışılan tüm TCS konsantrasyonlarında gözlenmiştir. Ayrıca, aklime olmamış kültürle işletilen reaktörlerde 1 mg/L ve 100 mg/L TCS ile yapılan dozlamalarda, sistemin TCS biyogiderim yüzdesinde çok daha keskin bir düşüş yaşanmıştır (%94,4:%42,2). Diğer taraftan, aklime kültürde söz konusu konsantrasyonlarda sistemin TCS biyogiderim performansı daha az etkilenmiştir (%97:%62,31).

4.1.3 Yan Ürün Analizi

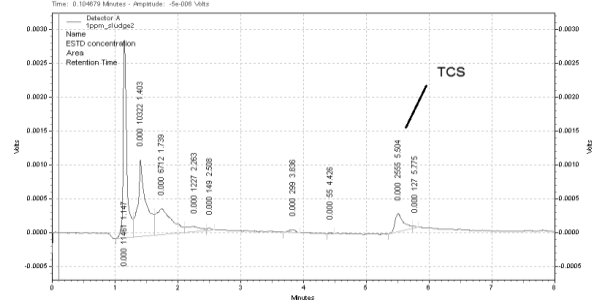
Bilindiği üzere, TCS'nin biyolojik olarak bozunması sonucunda diğer yan ürünlere dönüşme ihtimali söz konusudur. Konuya ilişkin olarak literatürde TCS'nin özellikle AAT'lerde uygulanan klorlama işleminden sonra daha toksik maddelere (klorlu fenoller, trihalometanlar-THM), çevre ortamında ise dioksinler, 2,4-diklorofenol, 2,4,6, triklorofenoller gibi maddelere dönüştüğü bildirilmektedir (Kanetoshi vd., 1987; Rule vd., 2005). Bu bulgular ışığında incelenmesi önem arz etmekte olan TCS'nin biyolojik bozunmasından kaynaklanan yan ürünler, aklime ve aklime olmamış kültürle işletilen sürekli sistem reaktörlerinin kararlı hale gelmesini takiben alınan çamur ve çıkış suyu örneklerindeki TCS seviyelerinin belirlenmesi kapsamında elde edilen HPLC-UV kromatogramları kullanılarak incelenmiştir (Şekil 15 ve Şekil 16).

Şekil 15 ve Şekil 16'da sunulan kromatogramların incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, sistemler kararlıyken alınan reaktör çıkış suyunda ve çamurda, TCS'den başka, farklı piklerin mevcut olduğu görülmektedir. Bu maddelerin tayin edilmesi

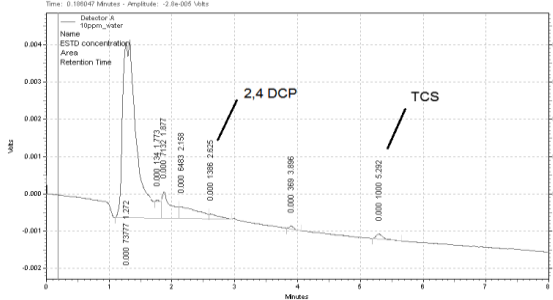
amacıyla literatür taraması ve olası yan ürünlerin tespit çalışmaları gerçekleştirilmesi için 2,4-diklorofenol (2,4-DCP), 4-klorokatekol (4-CC), 4-klororesorkinol (4-CR), 2,4-dikloroanisol (2,4-DCA) standartları temin edilmiştir. Bu standartların, HPLC-UV cihazında kromatogramları elde edilmiş ve pik verdikleri zamanlar belirlenmiştir. Böylelikle, standartların pik zamanları ile deneyler sonunda elde edilen piklerin zamanlarının karşılaştırılması yapılmıştır.



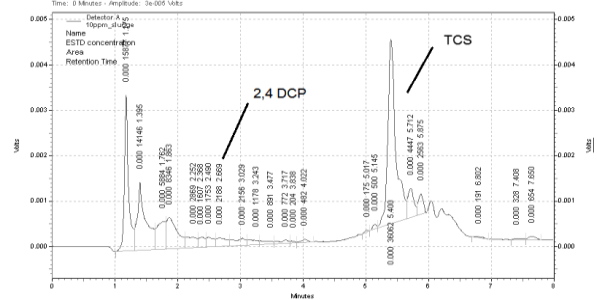
1 mg/L-Çıkış Suyu



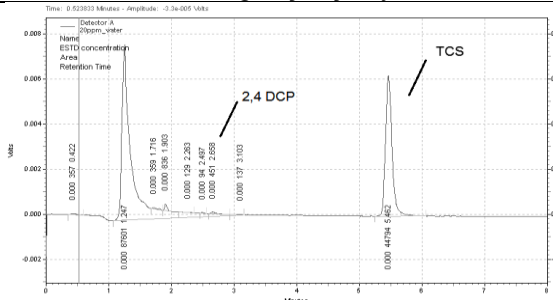
1 mg/L-Çamur



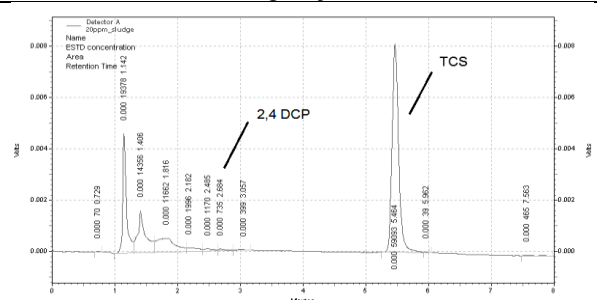
10 mg/L-Çıkış suyu



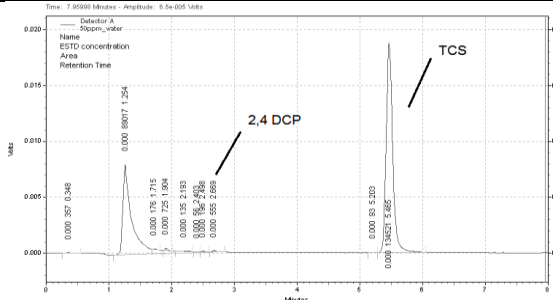
10 mg/L-Çamur



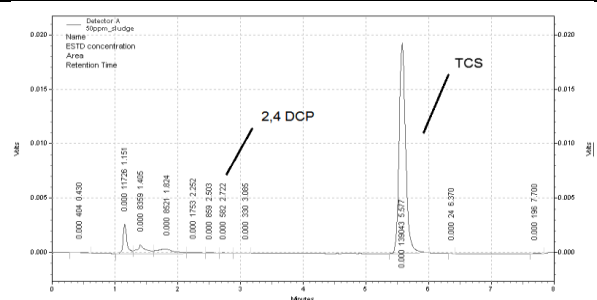
20 mg/L-Çıkış suyu



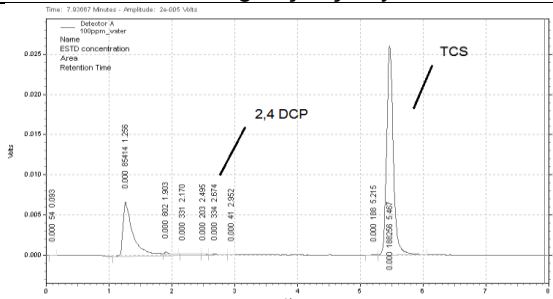
20 mg/L-Çamur



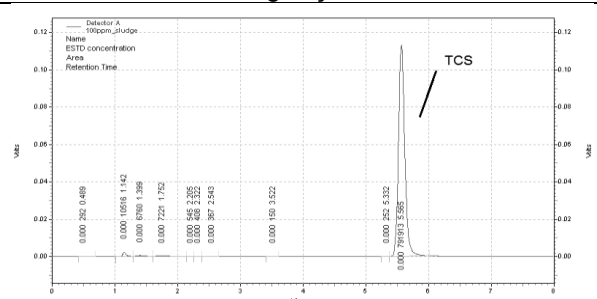
50 mg/L-Çıkış suyu



50 mg/L-Çamur

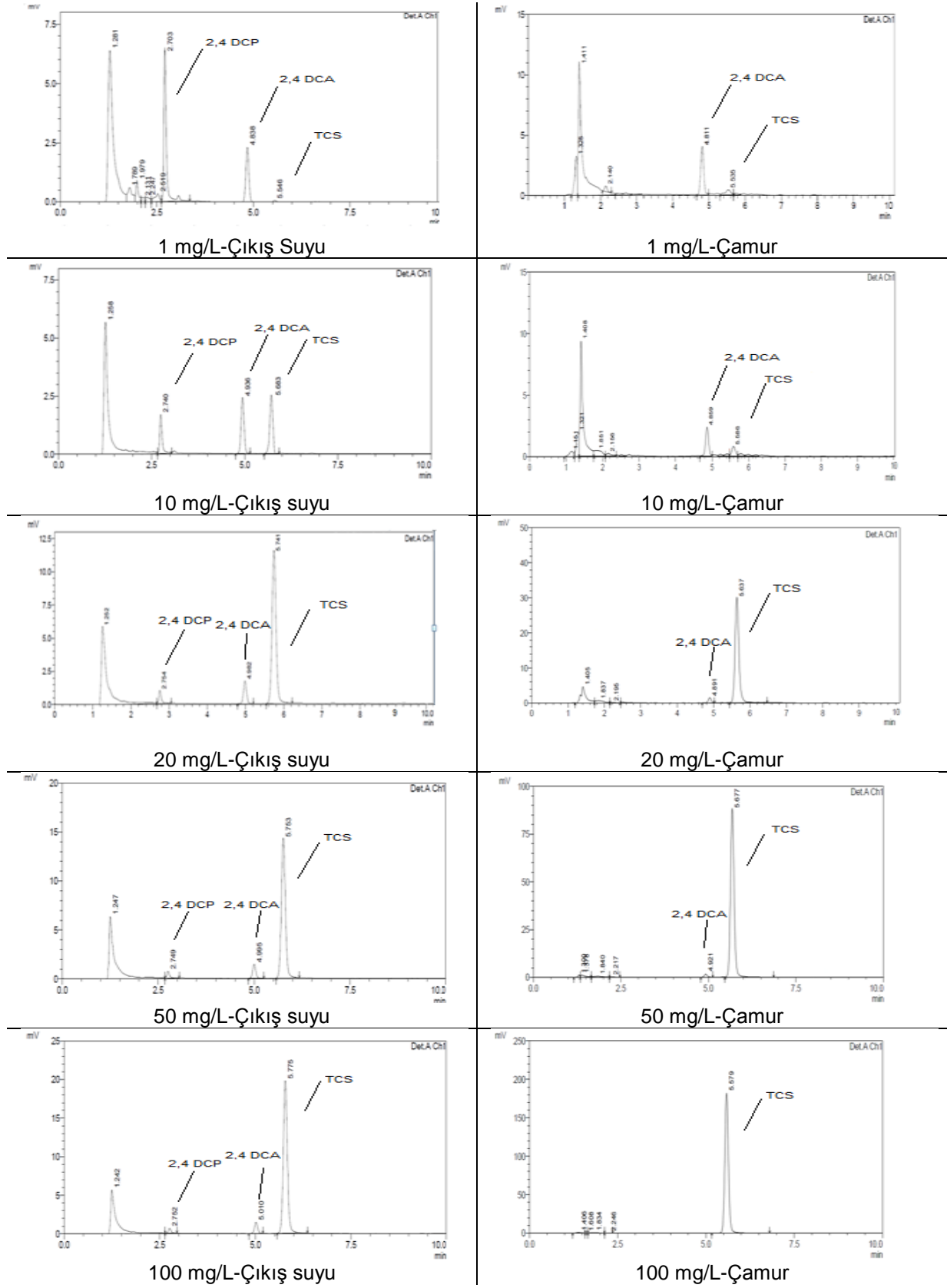


100 mg/L-Çıkış suyu



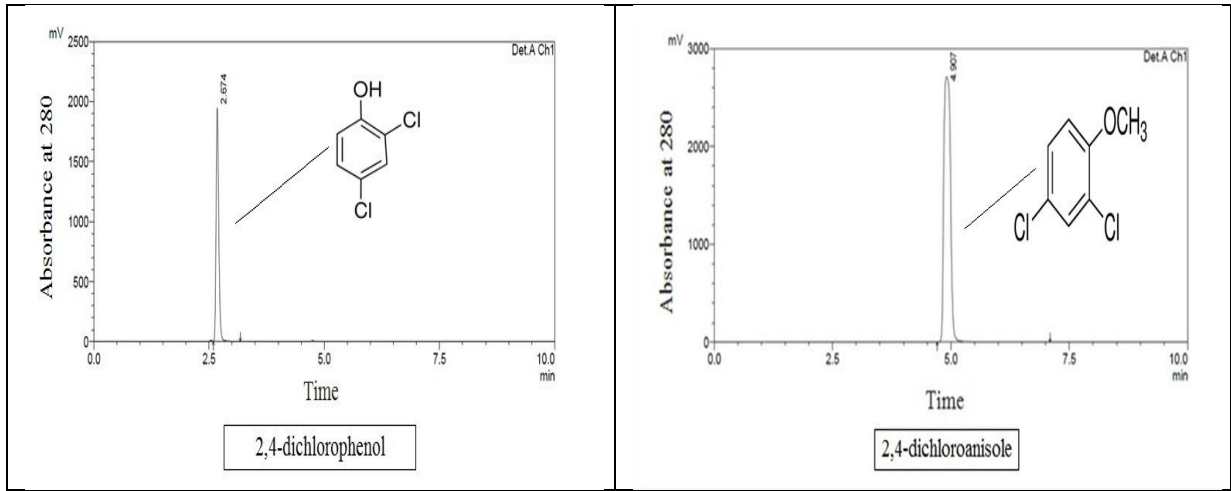
100 mg/L-Çamur

Şekil 15. Reaktör çıkış suyu ve çamur örneklerinde TCS ölçümüne ait HPLC-UV kromatogramları (Giriş suyu TCS = 1, 10, 20, 50 ve 100 mg/L, aklime kültür)



Şekil 16. Reaktör çıkış suyu ve çamur örneklerinde TCS ölçümüne ait HPLC-UV kromatogramları (Giriş suyu TCS = 1, 10, 20, 50 ve 100 mg/L, aklime olmamış kültür)

Standartların tespit edilen pik verme süreleri; 2,4-DCP (2,6-2,7 dakika), 4-CC (1,9-2,0 dakika), 4-CR (1,85 dakika), 2,4-DCA (4,9-5,0 dakika) olarak belirlenmiştir. Deney sonuçlarından elde edilen Şekil 15 ve Şekil 16'daki kromatogramlarda görülen ve 2,7 ile 4,9 dakikalarında tespit edilen piklerin, standart ölçümlerinde elde edilen 2,4-DCP ve 2,4-DCA pikleri (Şekil 17) ile aynı zamanda geldiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında; 2,4-DCP ve 2,4-DCA'nın TCS'nin biyolojik olarak bozunmasından oluşan yan ürünler olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 17. 2,4-DCP ve 2,4-DCA standartlarının HPLC-UV kromatogramları

Söz konusu yan ürünlerin oluşma durumları dikkate alındığında, aklime kültürle işletilen sürekli sistem reaktöründe 1 mg/L TCS konsantrasyonu hariç tüm çıkış suyu ölçümlerinde 2,4-DCP'nin oluştuğu, 1 mg/L TCS konsantrasyonunda ise TCS'nin suda hiç kalmadığı ve sadece 2,4-DCA'nın oluştuğu gözlemlenmektedir. Aklime kültür çamur örneklerinde ise 100 mg/L TCS konsantrasyonu hariç tüm TCS konsantrasyonlarında 2,4-DCP'nin oluştuğu belirlenmiştir. Bu kapsamda, aklime olan bir kültürün TCS'ye maruz kalması durumunda suda ve çamurda biyolojik bozunma sonucunda 2,4-DCP'nin oluşabileceği ağır basmakla birlikte, çıkış suyunda 2,4-DCA'nın oluşma ihtimali de mevcuttur.

Öte yandan, aklime olmamış kültürle işletilen sürekli sistem reaktörlerinde oluşan yan ürünler incelendiğinde ise, tüm çıkış suyu örneklerinde 2,4-DCP ve 2,4-DCA'ya rastlanmıştır, çamur örneklerinde ise 100 mg/L TCS hariç tüm örneklerde 2,4-DCA'nın

oluştugu tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, TCS'ye aklime olmamış sistemlere ani TCS girişi olduğunda, TCS'nin biyolojik olarak bozunarak 2,4-DCP ve 2,4-DCA'ya dönüşmesi muhtemeldir.

Tablo 11'de söz konusu yan ürünlerin konsantrasyonları verilmektedir. Bu tablodan görüldüğü üzere, aklime olmamış kültürlerde yan ürün konsantrasyonları, aklime olmuş kültürlerle göre daha yüksek gözlenmiştir. TCS konsantrasyonu arttıkça yan ürün konsantrasyonu azalma eğilimi göstermiştir. Aklime kültürde 2,4 DCA çamur ya da çıkış suyunda (1 mg/L TCS için hariç) gözlenmemiştir. Diğer taraftan, hem çıkış suyu hem de çamurda en yüksek 2,4 DCA konsantrasyonları aklime olmamış kültürlerde oluşmuştur. Aklime olmamış kültürlerde, 2,4 DCP'nin çamurda birikimi gerçekleşmezken, çıkış suyunda, giriş TCS konsantrasyonuna bağlı olarak 10-60 µg/L arasında değişmiştir.

Bu bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, aklimesyonun olumlu etkisi net olarak görülmektedir.

Tablo 11. Aklime ve aklime olmamış kültürler için yan ürün konsantrasyonları

Numune –TCS (mg/L)	2,4 DCP (µg/L)		2,4 DCA (µg/L)	
	Çıkış Suyu	Çamur	Çıkış Suyu	Çamur
Aklime kültür-1	-	-	90,66	-
Aklime kültür-10	6,61	8,24	-	-
Aklime kültür-20	4,73	5,28	-	-
Aklime kültür-50	4,95	4,98	-	-
Aklime kültür-100	4,47	-	-	-
Aklime olmamış kültür-1	62,73	-	153,14	277,50
Aklime olmamış kültür-10	19,88	-	160,26	168,57
Aklime olmamış kültür-20	13,22	-	112,93	100,19
Aklime olmamış kültür-50	12,09	-	95,97	134,83
Aklime olmamış kültür-100	10,07	-	96,80	-

4.2 Kesikli Sistem Deneyleleri (Kinetik Çalışma)

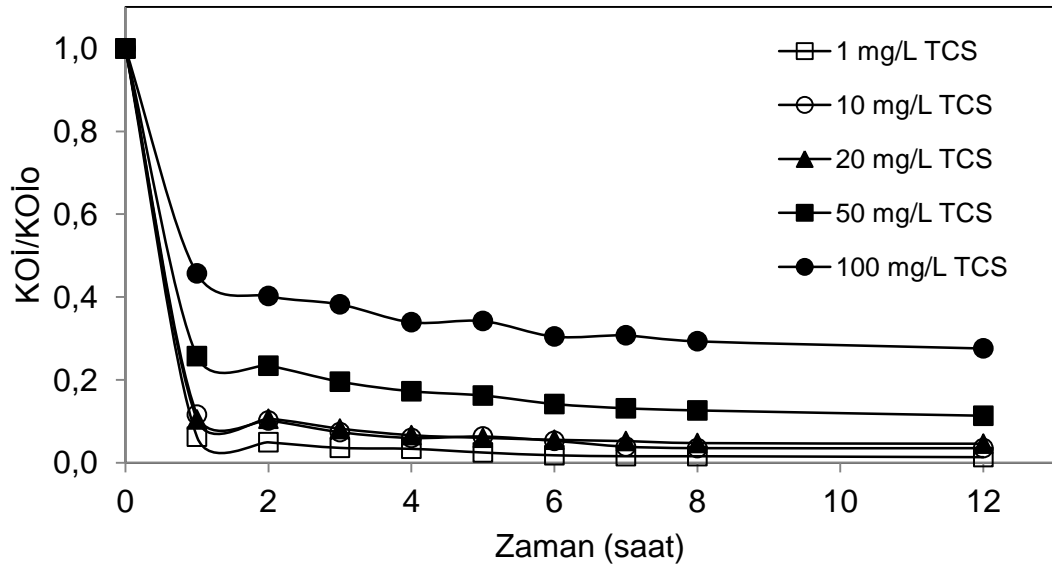
Kesikli sistem deneyleleri sırasında başlangıç biyokütle konsantrasyonu olabildiğince yüksek tutularak (minimum 215 mg/L), hem degradasyonun hızlandırılması ve mikrobiyal kültürün ortam şartlarına aklımasyon periyodunun (lag phase) mümkün mertebede azaltılarak ek bir adaptasyona maruz kalmasının önlenmesi, biyokütle konsantrasyon değişiminin minimumda tutulması ve böylece gözlenen kinetik sabitlerin etkilenmemesi hedeflenmiştir. Sözü edilen minimum başlangıç biyokütle konsantrasyonu, aklime kültür deneylelerinde, TCS/biyokütle oranının (KOİ bazında) <0,28; aklime olmamış kültür deneylelerinde ise <0.36 değerine karşılık gelmektedir.

İlk olarak, ham çamurda TCS yokluğunda pepton degradasyonu çalışılmış olup, bu sayede TCS ilavesi ile sistemin Yield (Y, g UAKM/g giderilen substrat) katsayısı, diğer bir deyişle, giderilen substrat miktarına bağlı üretilen katı madde miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. TCS yokluğunda işletilen bu kontrol reaktörünün Y katsayısı 0,3488 g UAKM/g KOİ olarak bulunmuştur.

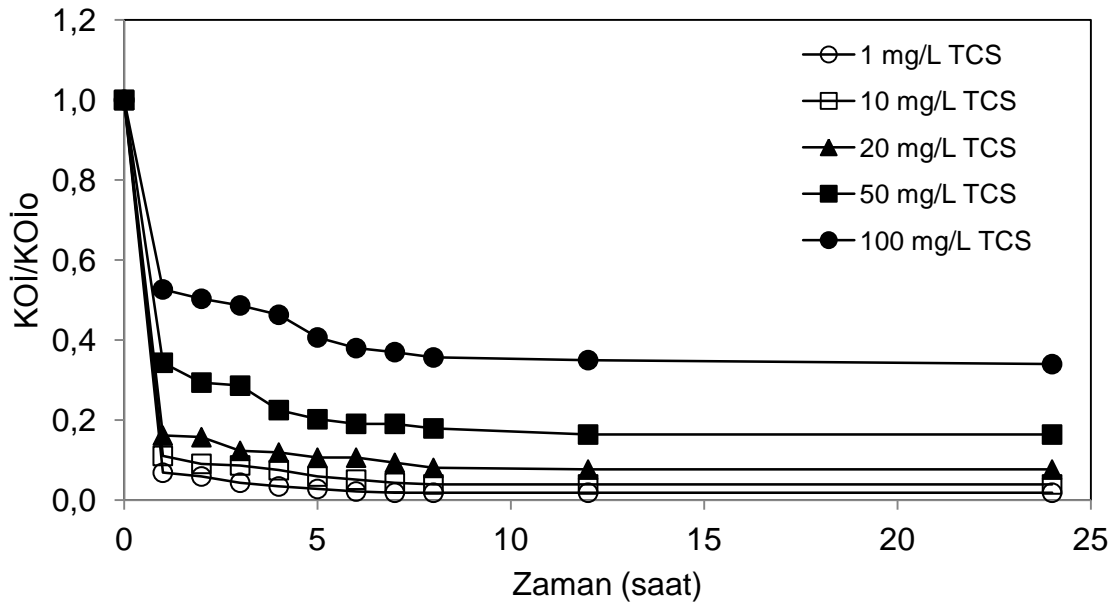
4.2.1 Pepton Varlığında TCS Giderim Kinetiği

Kolay parçalanabilir substrat kaynağı olan peptonun yanısıra TCS'nin ikincil substrat kaynağı olarak bulunduğu kesikli sistem deneyleleri aklime ve aklime olmamış kültür ortamlarında gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar aşığıda ele alınmıştır.

Peptonlu ortamda aklime kültür ve aklime olmamış kültür için işletilen kesikli reaktörlerde zamana bağlı KOİ değişimi, Şekil 18'de sunulmaktadır.



(a)

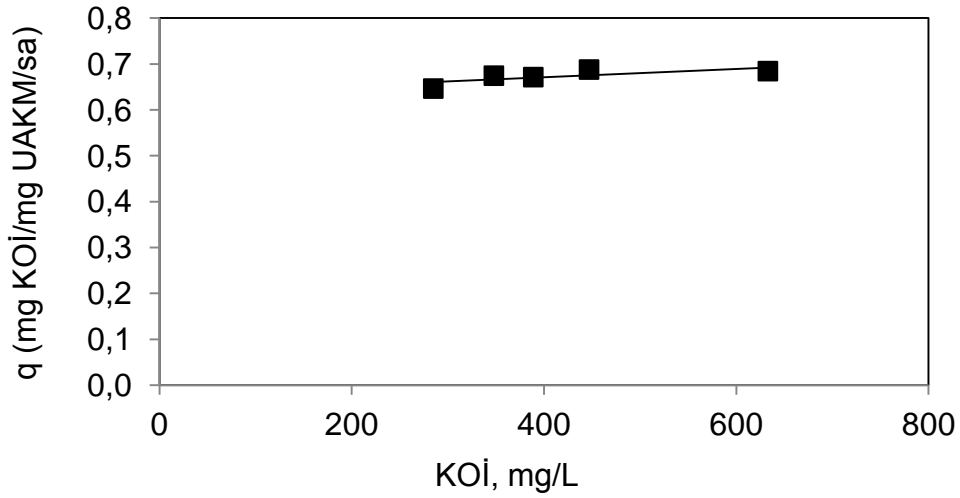


(b)

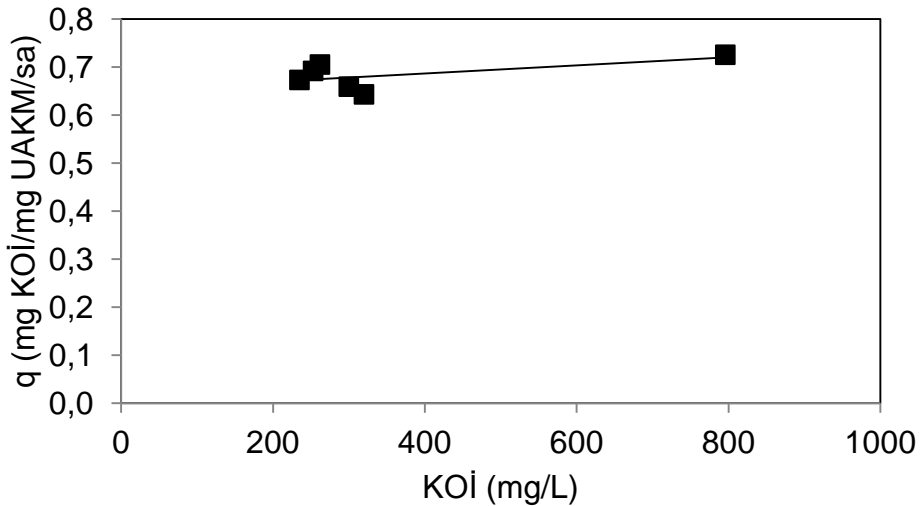
Şekil 18 Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde KOI'nin zamana bağlı değişimi

Şekil 18'de görüldüğü üzere, hem aklime hem de aklime edilmemiş kültür için, KOİ ilk 1 saatte hızlı bir düşüş sergilemektedir. TCS konsantrasyonu arttıkça, KOİ giderim verimi düşmektedir (Tablo 12). Bu durum, hernekadar, işletme koşullarındaki farklılıktan kaynaklı, giderim yüzde değerleri farklılık gösterse de, eğilim bağlamında

sürekli sistem bulguları ile paralellik göstermektedir. TCS konsantrasyonun 1-20 mg/L arasında olduğu koşullarda, TCS'nin pepton kullanımını etkilemediği açıkça görülmektedir. Bununla beraber, 50 mg/L nin üzerinde TCS, pepton kullanımını olumsuz yönde etkilemektedir. Her ne kadar TCS varlığında KOİ giderim verimi düşse de, maksimum KOİ giderim hızı TCS varlığında değişmemiş olup, ortalama maksimum KOİ giderim hızı TCS konsantrasyonundan bağımsız olmak üzere aklime kültür için $0,682 \pm 0,026$ mg KOİ/(mgMLVSS.sa), aklime edilmemiş kültür için $0,683 \pm 0,031$ mg KOİ/(mgMLVSS.sa) olarak hesaplanmıştır.



(a)



(b)

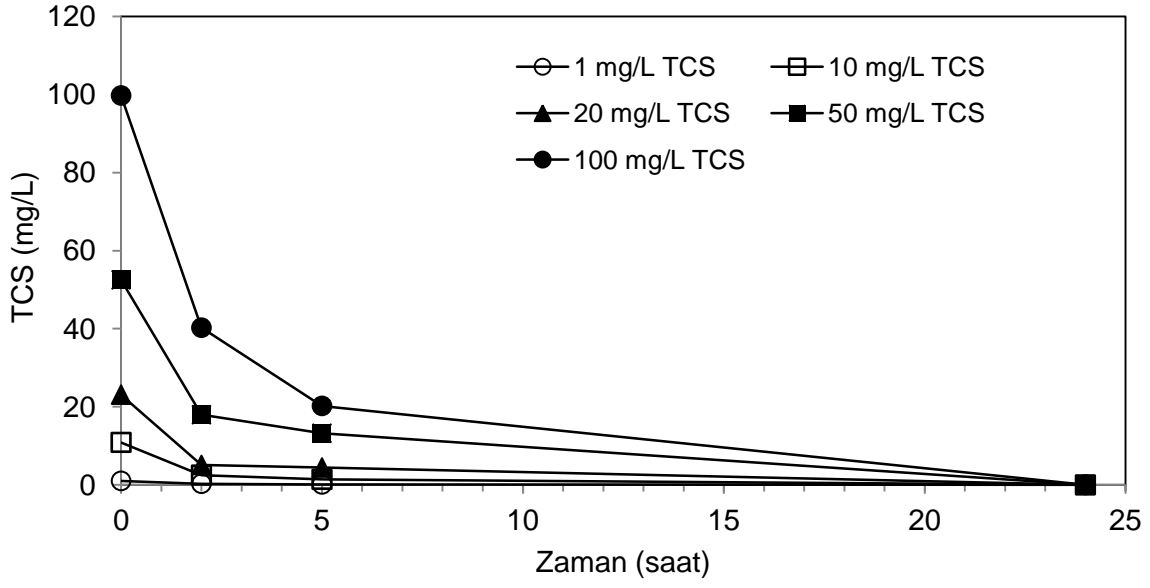
Şekil 19. Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde başlangıç substrat konsantrasyonuna karşılık gelen maksimum spesifik substrat kullanım hızı (q)

Şekil 19, başlangıçtaki substrat konsantrasyonuna karşılık gelen maksimum spesifik substrat kullanım hızı (q) değişimini göstermektedir.

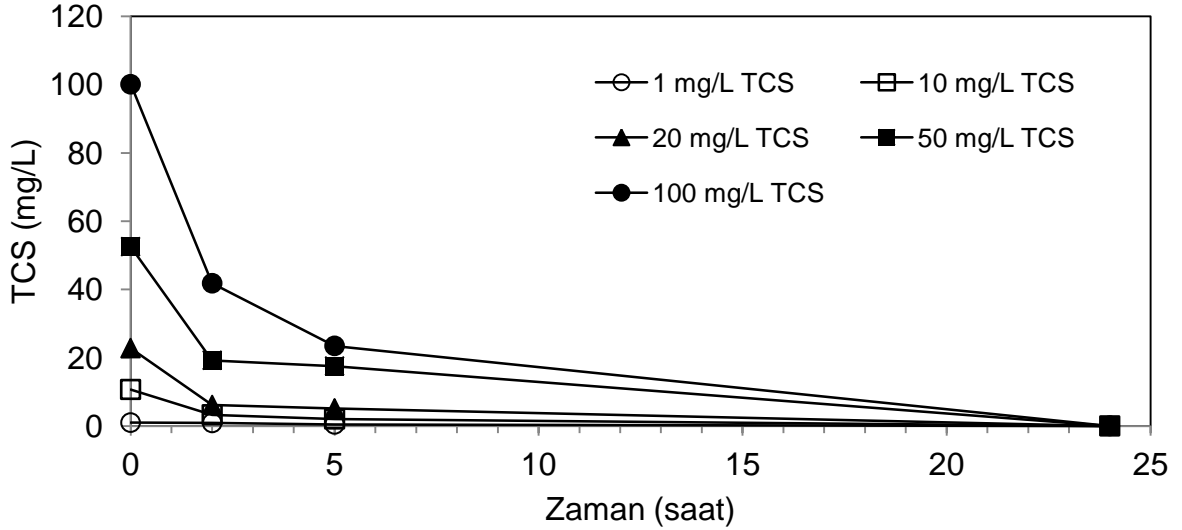
Tablo 12. Peptonlu Ortamda Kesikli Reaktörlerde KOİ Giderimi

TCS , mg/L	KOİ Giderimi, % (aklime)	KOİ Giderimi, % (aklime olmamış)
0	99	99
1	99	98
10	96	96
20	95	92
50	89	84
100	72	66

Kesikli reaktörlerde TCS konsantrasyonun zamana bağlı değişimi ise Şekil 20’de gösterilmektedir. Bu şekilden, her iki kültür için de, tüm çalışılan TCS konsantrasyonlarında, 24 saat sonunda TCS’nin tamamen giderildiği görülmektedir. Sistemde aynı oranda TCS giderimi sağlanması için gereken süre, beklendiği üzere, artan TCS konsantrasyonuna paralel olarak artmaktadır. İlk 1 saat içerisinde TCS konsantrasyonu hızlı bir şekilde düşmekte, 2 saat sonunda ise TCS giderimi hemen hemen tamamlanmaktadır. TCS’nin ilk 1 saat içerisindeki hızlı düşüşü takiben göreceli daha yavaş bir hızla giderimi, TCS’nin biokütle tarafından adsorplanarak daha sonra metabolize edilmekte olduğuna işaret etmektedir. Bu durum, TCS’nin hidrofobik karakteri ve yukarıda sunulan sürekli sistem bulguları ile paralellik göstermektedir.



(a)

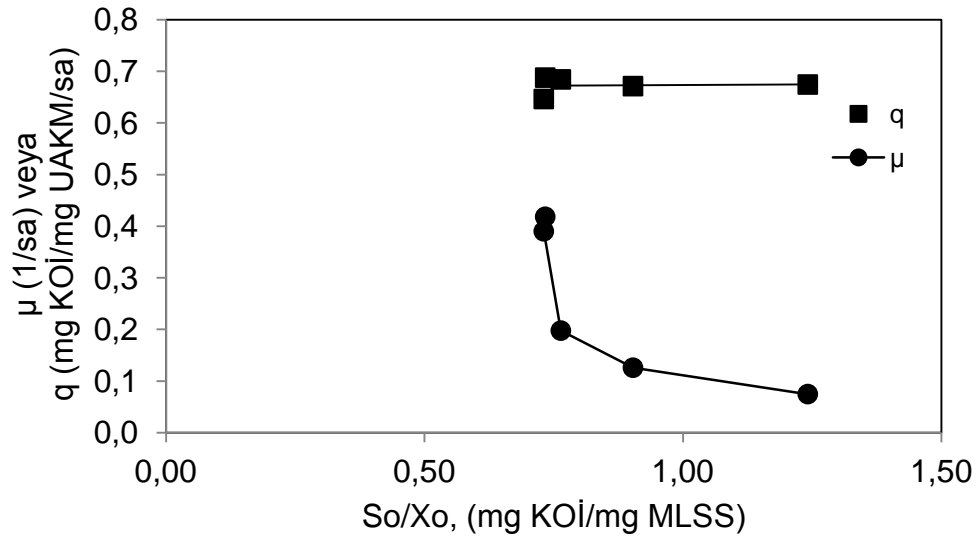


(b)

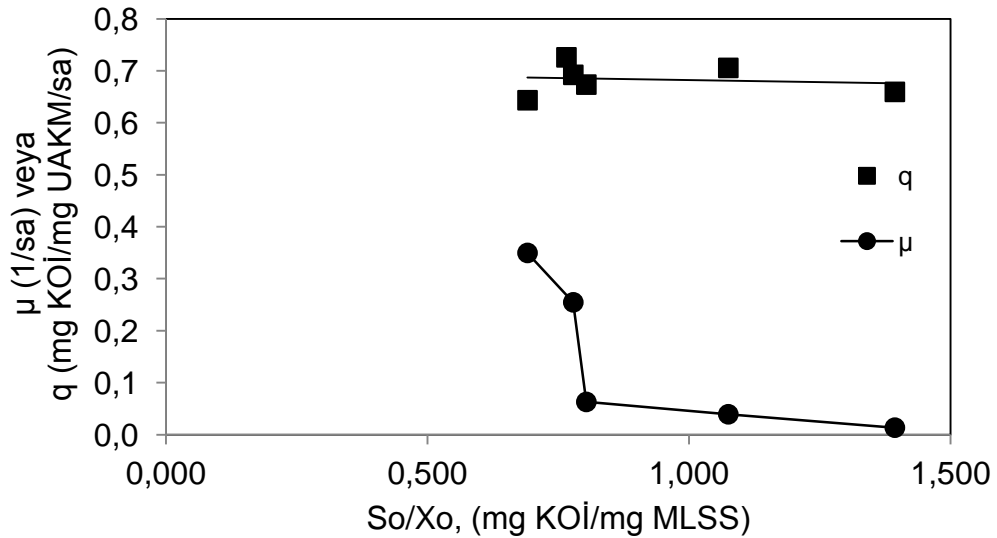
Şekil 20. Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için kesikli reaktörlerde TCS'nin zamana bağlı değişimi

Şekil 21, spesifik büyüme hızının (μ) başlangıç substrat/biyokütle oranı (S_0/X_0) ile değişimini göstermektedir. Başlangıçta TCS'nin biyokütle tarafından adsorplanması göz önüne alındığında, hesaplanan μ değerlerinin tam olarak substrat metabolizmasını yansıtamayabileceği gerçeği saklı tutularak, μ değerlerinin S_0/X_0 oranı ile azalmasının, TCS'nin kolay parçalanabilen substrat kullanımını inhibe ettiğini gösterdiğini söylemek mümkündür. Bu durumu destekler nitelikte olmak

üzere, Şekil 22, q , μ ve Y değerlerinin TCS konsantrasyonu ile değişimini göstermektedir. Bu şekilde görüldüğü üzere, başlangıç q (KOİ bazında) değerleri TCS ile değişmezken, μ ve Y değerleri değişmektedir. 1 ve 10 mg/L TCS konsantrasyonlarında, 0 mg/L TCS'ye göre artış gözlenirken, 10 mg/L'nin üzerinde, düşüş gözlenmektedir. Bu durumu, TCS'nin düşük konsantrasyonlarda, pepton kullanımı üzerine stimulan bir etkisi olduğu şeklinde yorumlamak mümkündür. Artan TCS konsantrasyonlarında, Y değerlerindeki düşüş, biyokütle'nin sentez metabolizmasından içsel enerji metabolizmasına döndüğünü göstermektedir.

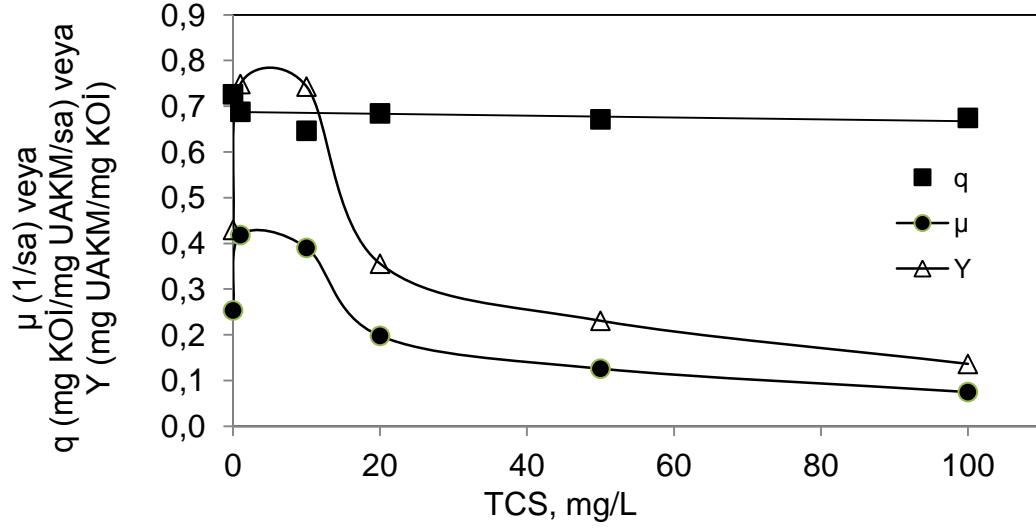


(a)

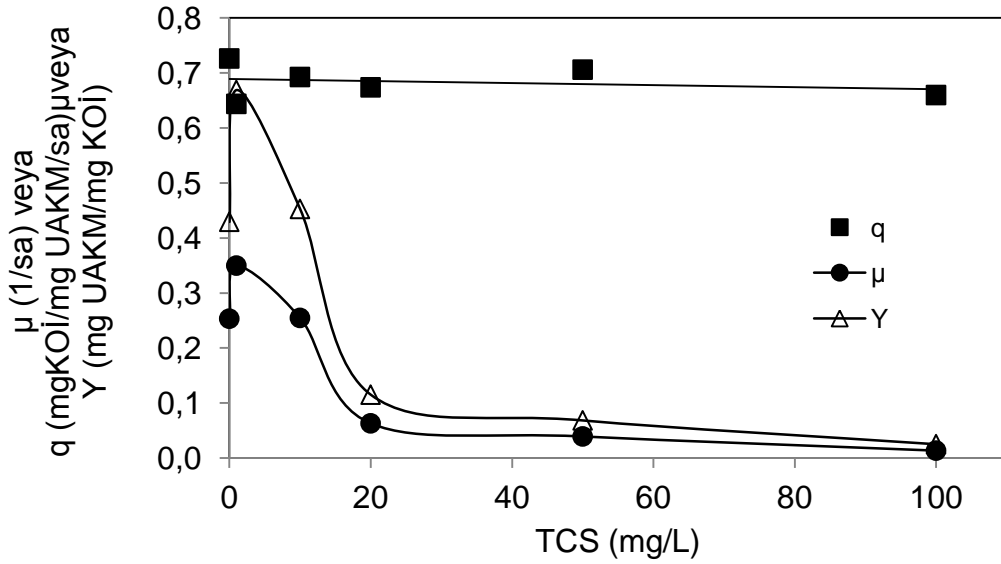


(b)

Şekil 21. Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde μ ve q değerlerinin başlangıç So/Xo değeri ile değişimi



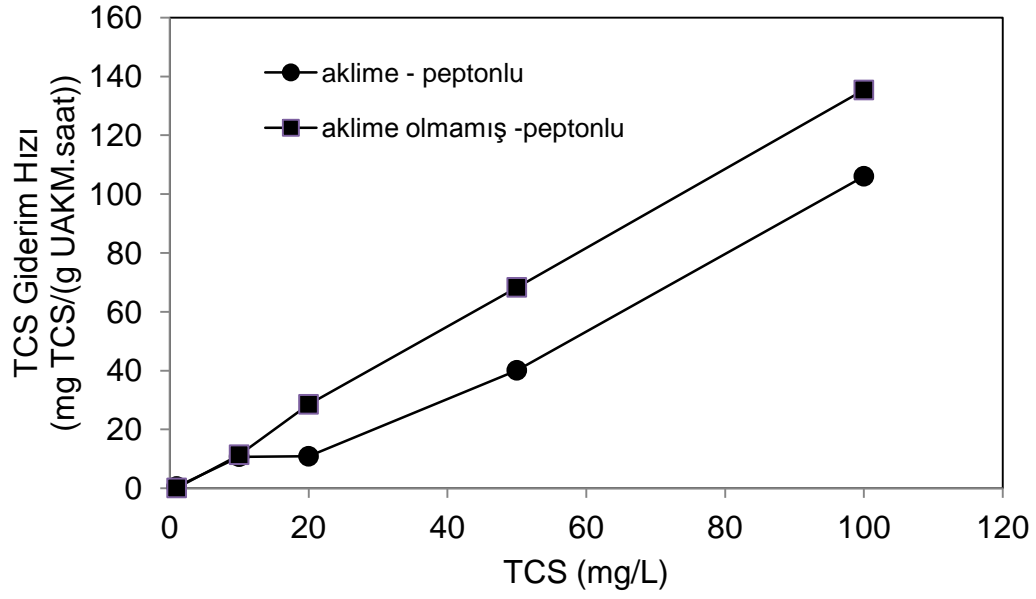
(a)



(b)

Şekil 22 Peptonlu ortamda aklime (a) ve aklime olmamış (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde μ , q ve Y değerlerinin başlangıç TCS değeri ile değişimi

Şekil 23 aklime ve aklime olmamış kültürlerin spesifik TCS giderim hızlarını karşılaştırmalı olarak vermektedir. Görüldüğü üzere, spesifik TCS giderim hızı TCS konsantrasyonu ile doğru orantılı artmakta ve kültürün aklime olmuş ya da olmamış olması kayda değer bir fark yaratmamaktadır.

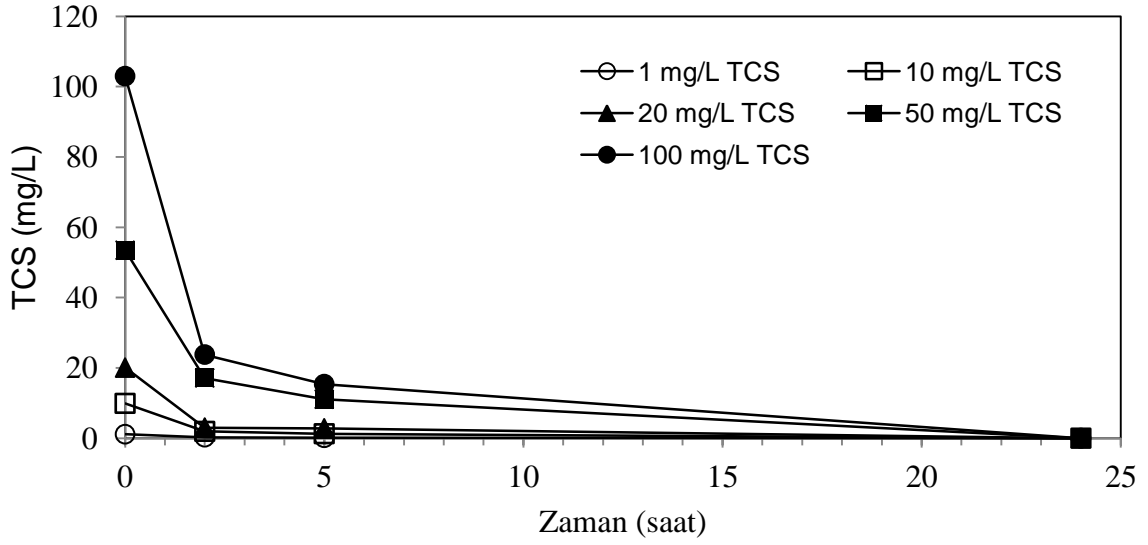


Şekil 23. Peptonlu ortamda aklime ve aklime olmamış kültür için işletilen kesikli reaktörlerde spesifik TCS giderim hızının başlangıç TCS değeri ile değişimi

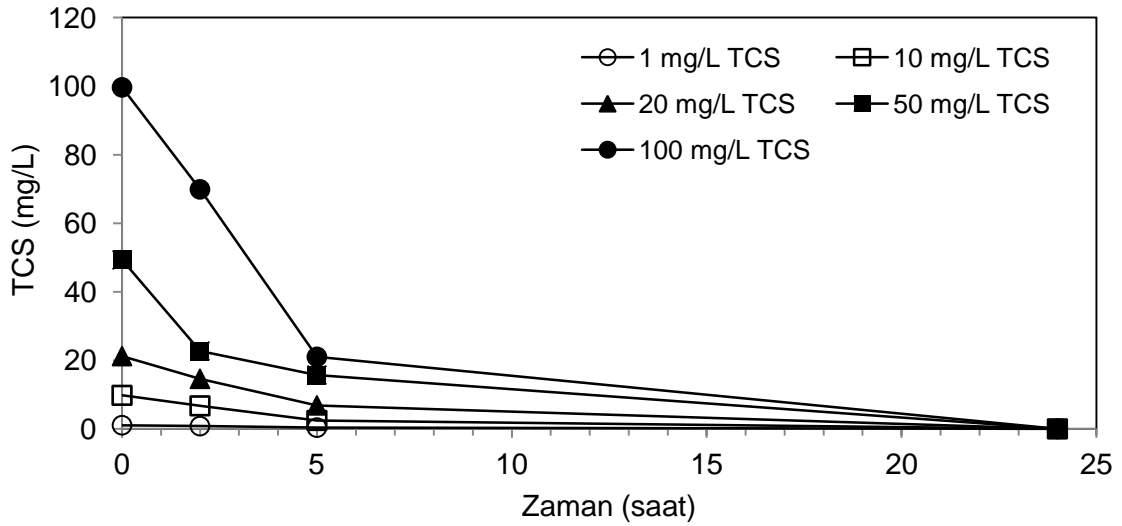
4.2.2 Peptonsuz Ortamda TCS Giderim Kinetiği

Peptonsuz ortamda ya da diğer bir deyişle TCS'nin tek substrat kaynağı olarak bulunduğu kesikli sistem deneyleri aklime ve aklime olmamış kültür ortamlarında gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar aşağıda ele alınmıştır.

Peptonsuz ortamda aklime kültür ve aklime olmamış kültür için işletilen kesikli reaktörlerde zamana bağlı TCS değişimi, Şekil 24'de sunulmaktadır.



(a)



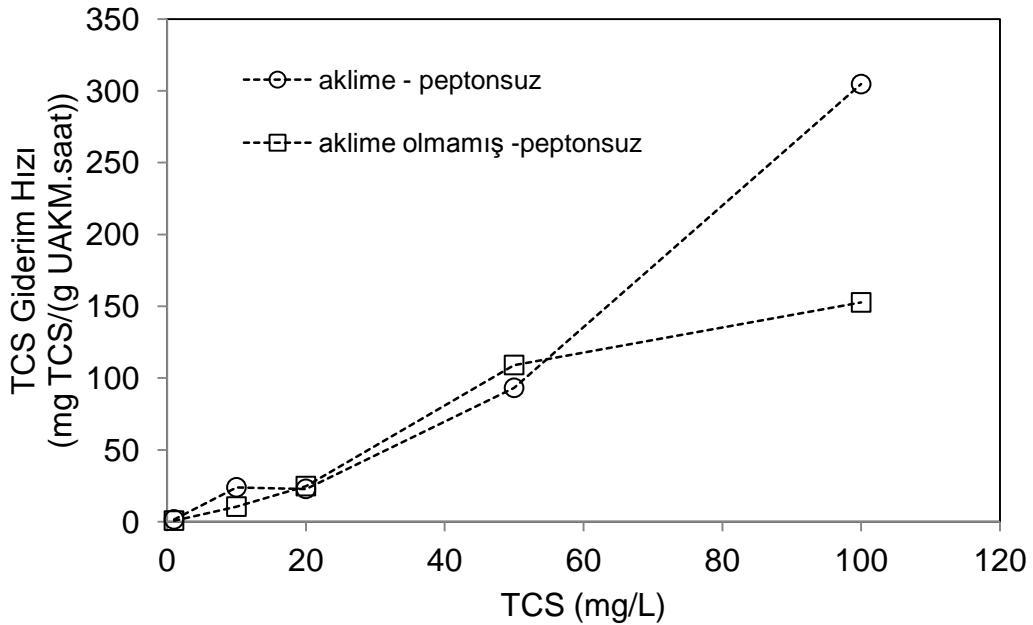
(b)

Şekil 24. Peptonsuz ortamda aklime (a) ve aklime olmamiş (b) kültür için işletilen kesikli reaktörlerde TCS'nin zamana bağlı değişimi

Peptonlu ortamda olduğu gibi, her iki kültür için de, tüm çalışılan TCS konsantrasyonlarında, 24 saat sonunda TCS'nin tamamen giderildiği görülmektedir. Bununla beraber, peptonlu ortamın aksine, peptonsuz ortamda, TCS giderim hızı aklimesyon durumuna göre farklılık sergilemektedir. Şekil 24 a ve b nin karşılaştırılması, aklimesyonun TCS giderimi üzerine olumlu etkisini net olarak göstermektedir. Aklime olmamiş kültür ile TCS gideriminin önemli bir kısmı ilk 5 saat

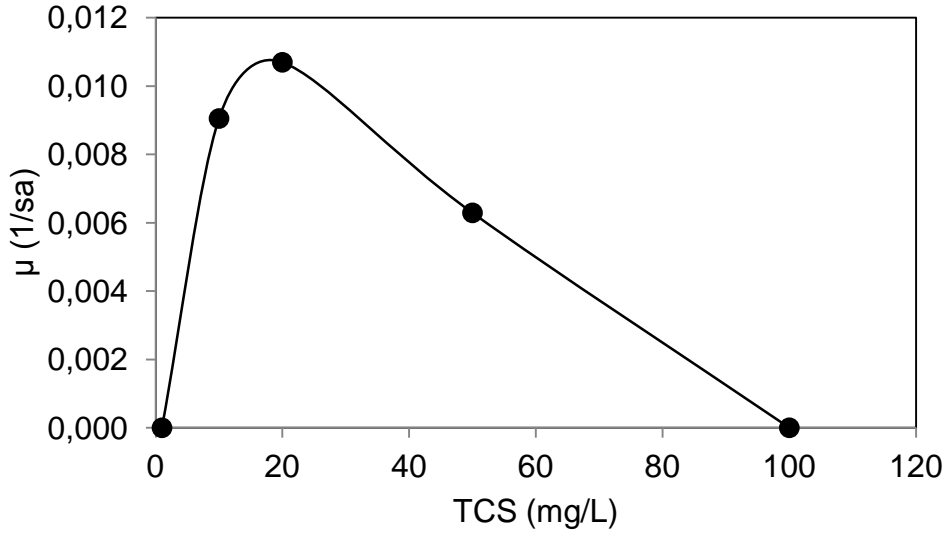
içerisinde gerçekleşirken, aklime kültür ile aynı giderime ilk 2 saat içerisinde ulaşılmaktadır. Bu durum, peptonsuz ortamda, peptonlu ortamın aksine, aklimasyonun önemine işaret etmektedir.

Şekil 25 aklime ve aklime olmamış kültürlerin spesifik TCS giderim hızlarını karşılaştırmalı olarak vermektedir. Görüldüğü üzere, spesifik TCS giderim hızı TCS konsantrasyonu ile doğru orantılı artmakta ve 50 mg/L TCS konsantrasyonuna kadar kültürün aklime olmuş ya da olmamış olması herhangi bir etkiye neden olmamıştır; ancak, 50 mg/L'nin üzerine çıkıldığında, aklime kültürün spesifik TCS giderim hızı, aklime olmamış kültüre göre çok daha hızlı (yaklaşık 3 kat) gerçekleşmiştir.

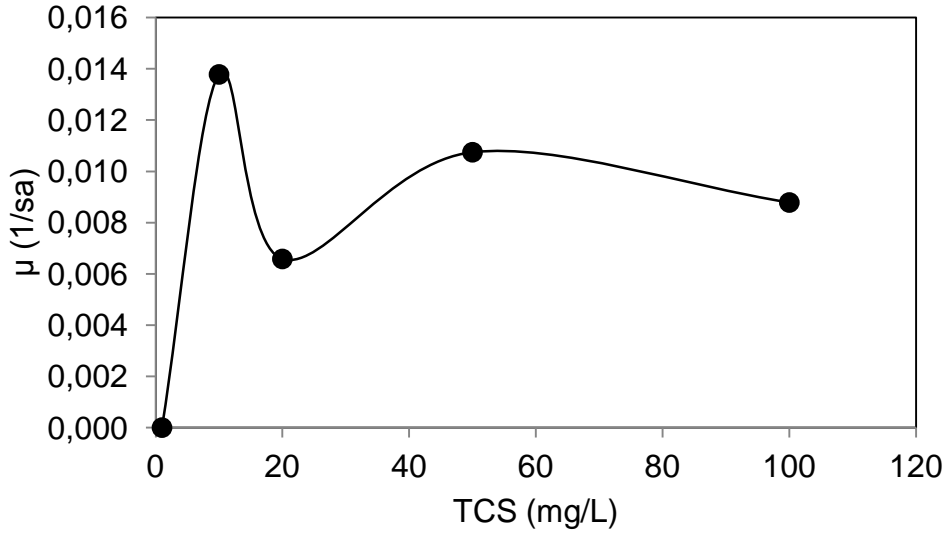


Şekil 25 Peptonsuz ortamda aklime ve aklime olmamış kültür için işletilen kesikli reaktörlerde spesifik TCS giderim hızının başlangıç TCS değeri ile değişimi

Aklime kültür ve aklime olmamış kültür ile işletilen kesikli reaktörler için elde edilen μ değerlerinin TCS konsantrasyonu ile değişimi Şekil 26'da sunulmaktadır.



(a)



(b)

Şekil 26 Peptonsuz ortamda aklime olmamış ve aklime olmuş kültür için işletilen kesikli reaktörlerde spesifik büyüme hızının başlangıç TCS değeri ile değişimi

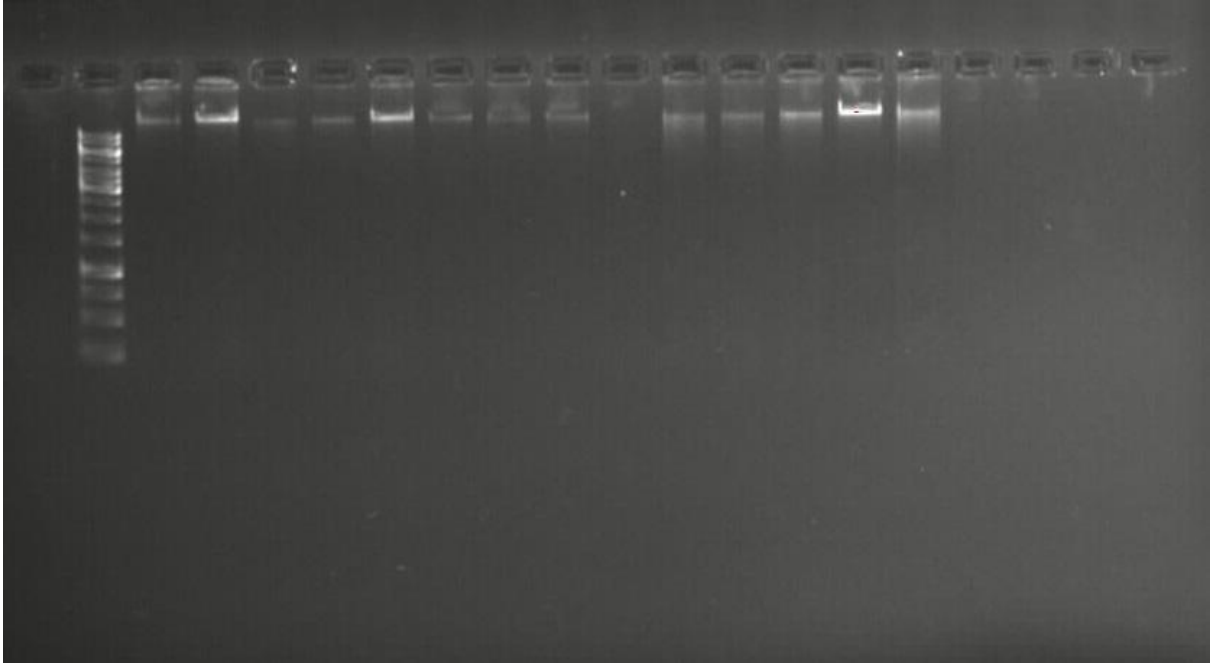
Şekil 26'da görüldüğü üzere, aklime olmamış kültür durumunda elde edilen grafik, substrat inhibibisyonunu işaret etmektedir. TCS konsantrasyonunun 20 mg/L nin üzerine çıkarılması, μ değerinde düşüşe neden olmakta ve 100 mg/L'de mikrobiyal sentez tamamen durmaktadır. Diğer taraftan, 100 mg/L de dahi TCS gideriminin gözlenmiş olması metabolizmanın biyosentezden enerji metabolizmasına döndüğünü göstermektedir. Şekil 26 a'dan kabaca, K_s ve K_i değerlerinin 5 ve 60 mg/L dolayında

olduğunu söylemek mümkündür. Aklime olmuş kültürde ise, inhibisyon etkisinin azaldığı ve substrat inhibisyonunun Monod modeline doğru yaklaşım içerisinde olduğu görülmektedir (Şekil 26 b). Bununla beraber, 20 mg/L TCS'de gözlenen sapma ya da salınım tam açıklanamamıştır.

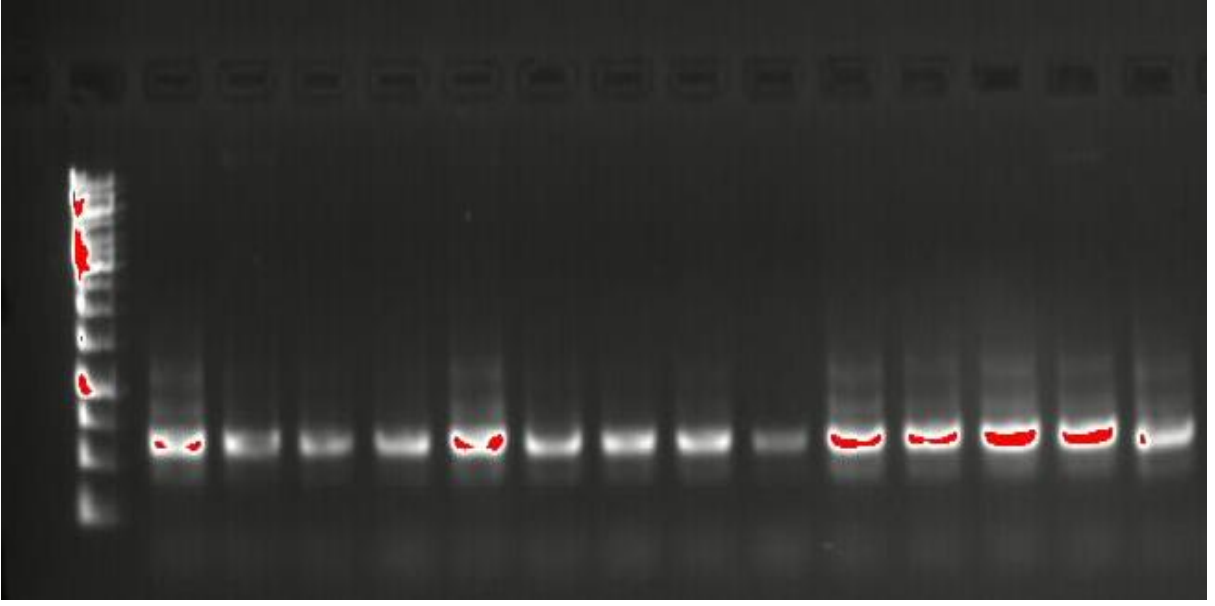
4.3 Mikrobiyal Kompozisyon

Ham çamur, aklime kültür ve aklime olmamış kültür ile işletilen sürekli sistem deneyleri kapsamında, her bir TCS konsantrasyonunda sistemin kararlı hale ulaşması sonrasında saklanan çamur örneklerinde mikrobiyal kompozisyon belirleme maksadıyla yapılan PCR ve DGGE yöntemleri sonrası elde edilen çıktılar aşağıdaki şekillerde sunulmaktadır (

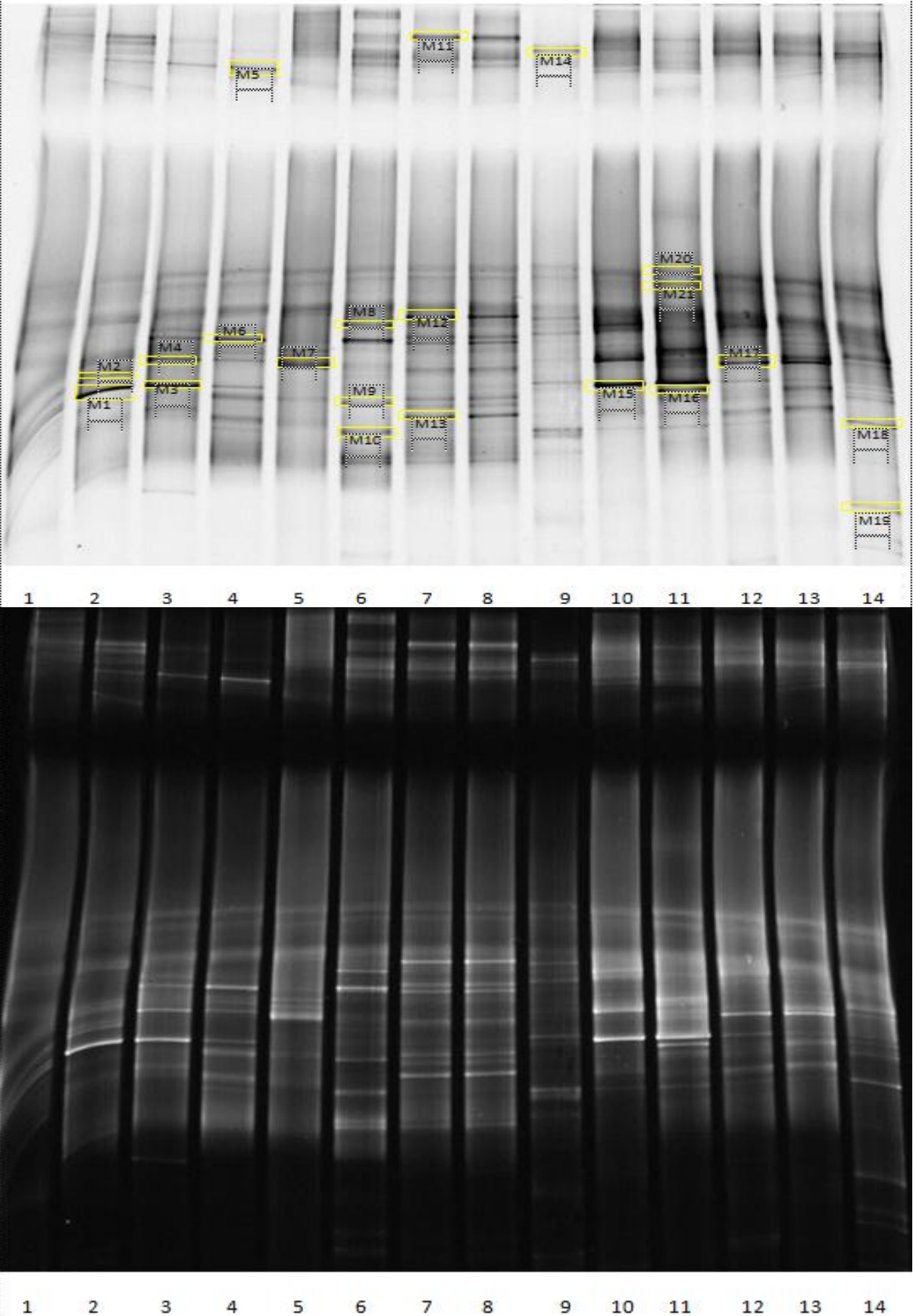
Şekil 27,
Şekil 28, Şekil 29).



Şekil 27 Genomik DNA (Ekstraksiyondan sonra Jel-Elektroforez görüntüsü)



Şekil 28 PCR sonrası ilgili DNA segmentinin Jel-Elektroforez görüntüsü



Şekil 29 DGGE jelinden kesilen bantların PCR sonrası Jel-Elektroforez görüntüsü

Şekil 29'da kesilen bantlar M1, M2 gibi sembollerle gösterilmektedir. Şekil 29'daki bantların altında yer alan rakamların temsil ettiği çamur numuneleri Tablo 13'de verilmektedir. Şekil 29'da bazı çamur örneklerinde işaretli bant görünmemektedir. Bu durum, bu örneklerde tür tayini yapılmadığı anlamına gelmemelidir. DGGE de DNA dizilimindeki G ve C ye göre denaturasyon olduğundan aynı çizgide bulunan bantlar aynı bakteri türüne ait olmaktadır. Bu nedenle, tüm bantların her numune için kesilmesine gerek olmamakla birlikte, eğer bir bant kesilip tanımlanmış ve o bant başka bir numunede de mevcut ise, bu türün diğer numunede de olduğu düşünülmelidir. Örnek olarak, M20 bandı bir yerden kesilerek tanımlanmış olup, bütün numunelerde bu bant belirgin ve mevcuttur.

Tablo 13. DGGE jelinden kesilen bantların PCR sonrası Jel-Elektroforez görüntüsündeki rakamların temsil ettiği çamur örnekleri

Rakam	Çamur Örneği
1	Aklime kültür-1 mg/L TCS
2	Aklime kültür-10 mg/L TCS
3	Aklime kültür-20 mg/L TCS
4	Aklime kültür-50 mg/L TCS
5	Aklime kültür-100 mg/L TCS
6	Aklime kültür-100 ng/L TCS
7	Aklime kültür-100 µg/L TCS
8	Aklime kültür-500 µg/L TCS
9	Aklime olmamış kültür-1 mg/L TCS
10	Aklime olmamış kültür-10 mg/L TCS
11	Aklime olmamış kültür-20 mg/L TCS
12	Aklime olmamış kültür-50 mg/L TCS
13	Aklime olmamış kültür-100 mg/L TCS
14	TCS içermeyen kontrol kültürü

Söz konusu rakamların temsil ettiği çamur örneklerinde kesilen bantlarda (M1, M2 vb.) sekans sonrası mikrobiyal kompozisyon belirlemeye yönelik BioEdit adlı program ile gerçekleştirilen Blast sonuçları Ek 1'de verilmektedir. Blast sonuçlarından da

görülebileceği üzere M12 bandı için mikrobiyal kompozisyon belirlenememiştir. Bunun en önemli nedeni ise, tek bant olarak görülen bant içerisinde birden fazla bant ve dolayısıyla tür olmasıdır. Sekans yapılırken aynı anda birden çok baz için pik elde edilmekte ve DGGE denaturasyon oranı %20-80 arasında yapılmaktadır. Bazı durumlarda G-C dizilimleri çok yakın olan bantlar birbirine yakın düşmekte ve tek bir bant gibi görünmektedir. Söz konusu bantları ayırt etmek için çok daha dar bir jel yoğunluğunda bu bölgeye bakmak; diğer bir deyişle, %30-40 ya da %75-80 aralıklarında jel hazırlayarak sadece bu banda bakmak gerekebilmektedir. Ancak, proje kapsamında mikrobiyal kompozisyon belirleme çalışmaları yapılan İstanbul Medeniyet Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nde belirtilen jel yoğunluklarında çalışma olanağının olmaması nedeniyle, M12 bandı için tür tayini yapılamamıştır.

EK-1'den de görüleceği gibi BioEdit programı mikrobiyal komüniteyi kromozom özeline kadar tayin edebilmektedir. Ancak, sonuçların yorumlanabilirliğini sağlamak ve farklı koşullarda (aklime ve aklime olmaksızın) farklı konsantrasyonlarda TCS'ye maruz bırakılan çamur örneklerindeki mikrobiyal kompozisyon değişimini görebilmek amacıyla tayin edilen tür bazında (ilk isim) değerlendirme yapılmış olup, elde edilen sonuçlar Tablo 13'de özetlenmektedir. Bu tablodan görüldüğü üzere mikrobiyal tür bazında toplam 106 mikroorganizmanın varlığı tespit edilmiştir. Bunlardan, 31 adedi, hem ham çamurda, hem TCS'ye maruz bırakılan çamurlarda, aklime olmuş ya da olmamış farketmeksizin, tüm TCS konsantrasyonlarında ortak gözlenmiştir. Aklime olmamış kültürlerde gözlenen bazı türlerin, aklime kültürlerde ortamdaki elendikleri tespit edilmiştir. Aklime olmamış kültürlerde gözlenmeyen 18 türün ise, aklime edilen kültürlerde de tutunabildikleri görülmüştür. Ancak, bazı türlerin aklime olmamış kültürlerde yüksek TCS konsantrasyonlarda gözlenmesine rağmen düşük konsantrasyonlarda gözlenmemesi ve ayrıca, yüksek TCS konsantrasyonlarında aklime olmamış kültürlerde gözlenen bazı türlerin aklime edilen kültürlerde düşük TCS konsantrasyonlarında dahi gözlenmemesi açıklanamamıştır. Aşağıdaki paragraflarda, olası nedenler irdelenmektedir.

Tablo 14. Çamur örnekleri mikrobiyal kompozisyonu

	TCS (mg/L)	Aklime Kültür									Aklime Olmamış Kültür				
		0	0,0001	0,1	0,5	1	10	20	50	100	1	10	20	50	100
Bant	Microbiyal Kompozisyon														
M1,M2, M3,M5, M6,M20, M21*	<i>Comamonas sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Acidovorax sp. (M9, M10)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Alicyciphilus sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Ramlibacter sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Methylibium sp. (M9, M10)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Delftia sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Rubrivivax sp. (M9, M10)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Leptothrix sp. (M9, M10)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Rhodoferax sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Burkholderiales sp. (M9, M10)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Variovorax sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Verminephrobacter sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Polaromonas sp. (M9)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Azoarcus sp.</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
<i>Burkholderia sp. (M10, M15)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	
M4	<i>Aeromonas sp. (M7, M17)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√		√	√	√	√
	<i>Cronobacter sp.</i>	√				√	√	√	√						
	<i>Shewanella sp. (M7, M17)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√		√	√	√	√
	<i>Klebsiella sp.</i>	√				√	√	√	√						
	<i>Pseudomonas sp. (M13)</i>	√		√	√	√	√	√	√	√				√	√

	TCS (mg/L)	Aklime Kültür									Aklime Olmamış Kültür				
		0	0,0001	0,1	0,5	1	10	20	50	100	1	10	20	50	100
Bant	Microbiyal Kompozisyon														
	<i>Enterobacter sp.</i>	√				√	√	√	√						
	<i>Yersinia sp.</i>	√				√	√	√	√						
	<i>Citrobacter sp.</i>	√				√	√	√	√						
M7,M17**	<i>Pseudoalteromonas sp.</i>	√	√	√	√					√		√	√	√	√
	<i>Tolumonas sp.</i>	√	√	√	√					√		√	√	√	√
M8	<i>Paenibacillus sp.</i>	√	√	√								√	√	√	√
	<i>Bacillus sp.</i>	√	√	√								√	√	√	√
	<i>Desulfitobacterium sp.</i>	√	√	√								√	√	√	√
	<i>Thermobacillus sp.</i>	√	√	√								√	√	√	√
	<i>Geobacillus sp.</i>	√	√	√								√	√	√	√
	<i>Brevibacillus sp.</i>	√	√	√								√	√	√	√
	<i>Anoxybacillus sp.</i>	√	√	√								√	√	√	√
M9	<i>Herbaspirillum sp. (M10)</i>	√	√	√	√				√	√	√				
	<i>Thiomonas sp. (M10)</i>	√	√	√	√				√	√	√				
M10	<i>Janthinobacterium sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√
	<i>Hermiimonas sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√
	<i>Methylotenera sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√
	<i>Nitrosospira sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√
	<i>Gallionella sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√
	<i>Dechlorosoma sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√
	<i>Thauera sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√

	TCS (mg/L)	Aklime Kültür									Aklime Olmamış Kültür				
		0	0,0001	0,1	0,5	1	10	20	50	100	1	10	20	50	100
Bant	Microbiyal Kompozisyon														
	<i>Methylobacillus sp. (M15)</i>	√	√						√		√	√	√	√	√
	<i>Candidatus sp. (M15, M19)</i>	√	√					√	√		√	√	√	√	√
	<i>Collimonas sp.</i>		√						√		√				
	<i>Dechloromonas sp.</i>		√						√		√				
M11	<i>Lacinutrix sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Aequorivita sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Flavobacterium sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Gramella sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Cellulophaga sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Zunongwangia sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Myroides sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Nonlabens sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Krokinobacter sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Maribacter sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Capnocytophaga sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Ornithobacterium sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Zobellia sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Weeksella sp. (M14)</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Psychroflexus sp.</i>	√	√	√	√	√	√	√				√	√	√	√
M12															
M13	<i>Pseudoxanthomonas sp.</i>			√	√				√	√				√	√

	TCS (mg/L)	Aklime Kültür									Aklime Olmamış Kültür				
		0	0,0001	0,1	0,5	1	10	20	50	100	1	10	20	50	100
Bant	Microbiyal Kompozisyon														
	<i>Stenotrophomonas sp.</i>			√	√				√	√				√	√
	<i>Xylella sp.</i>			√	√				√	√				√	√
	<i>Methylophaga sp.</i>			√	√				√	√				√	√
	<i>Methylomonas sp.</i>			√	√				√	√				√	√
	<i>Coxiella sp.</i>			√	√				√	√				√	√
	<i>Thioalkalivibrio sp.</i>			√	√				√	√				√	√
	<i>Methylococcus sp.</i>			√	√				√	√				√	√
	<i>Frateuria sp. (M19)</i>	√		√	√				√	√	√			√	√
	<i>Xanthomonas sp. (M19)</i>	√		√	√				√	√	√			√	√
	<i>Rhodanobacter sp. (M19)</i>	√		√	√				√	√	√			√	√
M14	<i>Pedobacter sp.</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
	<i>Mucilaginibacter sp.</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
M15	<i>Methylovorus sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Sideroxydans sp.</i>	√									√	√	√	√	√
M16	<i>Paracoccus sp.</i>	√											√		√
	<i>Ketogulonigenium sp.</i>	√											√		√
	<i>Rhodobacter sp.</i>	√											√		√
	<i>Ruegeria sp.</i>	√											√		√
	<i>Phaeobacter sp.</i>	√											√		√
	<i>Roseobacter sp.</i>	√											√		√
	<i>Jannaschia sp.</i>	√											√		√

		Aklime Kültür									Aklime Olmamış Kültür				
		0	0,0001	0,1	0,5	1	10	20	50	100	1	10	20	50	100
	TCS (mg/L)														
Bant	Microbiyal Kompozisyon														
	<i>Dinoroseobacter sp.</i>	√										√		√	
	<i>Parvibaculum sp.</i>	√										√		√	
M18	<i>Clavibacter sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Leifsonia sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Intrasporangium sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Microbacterium sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Arthrobacter sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Isoptericola sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Cellulomonas sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Beutenbergia sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Micrococcus sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Streptomyces sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Frankia sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Cellvibrio sp.</i>	√									√	√	√	√	√
	<i>Kocuria sp.</i>	√									√	√	√	√	√
M19	<i>Caldicellulosiruptor sp.</i>	√							√		√				
	<i>Terriglobus sp.</i>	√							√		√				
	<i>Nitrosococcus sp.</i>	√							√		√				
	<i>Granulicella sp.</i>	√							√		√				
	<i>Hippea sp.</i>	√							√		√				
	<i>Conexibacter sp.</i>	√							√		√				

		Aklime Kültür									Aklime Olmamış Kültür				
		0	0,0001	0,1	0,5	1	10	20	50	100	1	10	20	50	100
	TCS (mg/L)														
Bant	Microbiyal Kompozisyon														
	<i>Leptospirillum sp.</i>	√						√			√				
	<i>Acidobacterium sp.</i>	√						√			√				
	<i>Geobacter sp.</i>	√						√			√				

* Tür bazında değerlendirme yapıldığında; M1, M2, M3, M5, M6, M20, M21 bantları birbirinin tamamen aynıdır.

** Tür bazında değerlendirme yapıldığında; M7 ve M17 bantları birbirinin tamamen aynıdır.

Tablo 14'den de görüldüğü üzere, farklı bantlarda tespit edilen mikrobiyal kompozisyon aynı olabilmektedir. Bu açıdan bakıldığında; M1, M2, M3, M5, M20 ve M21 bantları cins özelinde incelendiğinde birbirinin tamamen aynısı olmakla birlikte diğer bantlarla da ortak mikroorganizma içerebilmektedir. Örneğin; *M1, M2, M3, M5, M20 ve M21 bantlarında tespit edilen "Comamonas sp., Acidovorax sp., Alicyclophilus sp., Ramlibacter sp., Methylibium sp., Delftia sp., Rubrivivax sp., Leptothrix sp., Rhodoferrax sp., Burkholderiales sp., Variovorax sp., Verminephrobacter sp., Polaromonas sp."* aynı zamanda M9 bandında da tayin edilmiştir. Aynı şekilde, M7 ve M17 bandı da aynı mikrobiyal komüniteyi temsil etmektedir; dolayısıyla, birbirinin aynısıdır.

M14, M20 ve M21 bantları, TCS'ye aklime olmuş ve olmamış çamur örneklerinde ve ham çamurda, diğer bir deyişle, tüm çamur numunelerinde tespit edilmiştir. Buradan çıkarılabilecek en önemli sonuç, aklimasyona bağlı olup olmaksızın, bu bantlarda tespit edilen mikroorganizmaların TCS'ye karşı dayanıklı olduğu ve yüksek TCS konsantrasyonlarında bile ortamda kalabildiğidir. Proje kapsamında çalışılan konsantrasyon aralığında (100 ng/L-100mg/L), TCS'nin bu bantlarda tespit edilen mikrobiyal komünite üzerinde toksik etkisinin bulunmadığı da çıkarımlar arasındadır. Aklime edilse de edilmese de ortamda bu mikroorganizmalar sabit kalmış ve yaşamını sürdürmeye devam etmiştir (Örnek: *Pedobacter sp., Mucilagibacter sp., Lacinutrix sp., Aequorivita sp., Flavobacterium sp., Gramella sp., Cellulophaga sp., Zunongwangia sp., Myroides sp., Nonlabens sp., Krokinobacter sp., Maribacter sp., Capnocytophaga sp., Ornithobacterium sp., Zobellia sp., Weeksella sp. Comamonas sp., Acidovorax sp., Alicyclophilus sp., Ramlibacter sp., Methylibium sp., Delftia sp., Rubrivivax sp., Leptothrix sp., Rhodoferrax sp., Burkholderiales sp., Variovorax sp., Verminephrobacter sp., Polaromonas sp., Azoarcus sp., Burkholderia sp.*).

M11 ve M14 bantlarında tespit edilen mikrobiyal komünitenin büyük oranda aynı olduğu görülmektedir. M14 bandının tüm çamur örneklerinde gözlemlendiği düşünülürse, M11 bandında yer alan mikroorganizmaların büyük çoğunluğunun da yine tüm örneklerde olabileceği açıktır. M11 bandı ham çamur örneğinde tespit edilmiş olup sırasıyla 100 ng/L, 100 µg/L, 500 µg/L, 1 mg/L, 10 mg/L ve 20 mg/L TCS ile aklime olmuş çamur örneklerinde de bu banda rastlanmıştır. Ancak, 50 mg/L ve 100 mg/L

TCS ile aklime edilen çamur örneklerinde söz konusu bant görülmemiş, dolayısıyla M14 bandı ile ortak olan türler hariç bu bantın temsil ettiği mikroorganizma (Örnek: *Psychroflexus sp.*) yüksek TCS ile karşı karşıya kaldığında öncesindeki aklimasyona rağmen varlığını sürdürememiş ve ortamdan elenmiştir. Bu nedenle, 50 mg/L ve 100 mg/L TCS dozlarının M14 bandı ile ortak olanlar hariç M11 bandının temsil ettiği mikroorganizmalar üzerinde toksik etki yarattığı söylenebilir.

M18 ve M15 bandı ham çamur örneğinde tespit edilmiş olup, TCS ile aklime edilen çamur örneklerinde gözlenmemiştir. Diğer taraftan, aklimasyon olmaksızın TCS ile beslenen reaktörlerden alınan çamur örneklerinin hepsinde (yüksek konsantrasyonlarda dahi) bu bantlar tespit edilmiştir. Bu nedenle, bu bantların temsil ettiği mikrobiyal komünite aklimasyonun olmadığı şartlara, ani kirletici deşarjlarının olduğu ortamlara uyum sağlayan, bu tür ortamlarda baskın olarak gözlenen mikroorganizmalar olarak karşımıza çıkmaktadır (Örnek: *Methylovorus sp.*, *Sideroxydans sp.*, *Clavibacter sp.*, *Leifsonia sp.*, *Intrasporangium sp.*, *Microbacterium sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Isopterocola sp.*, *Cellulomonas sp.*, *Beutenbergia sp.*, *Micrococcus sp.*, *Streptomyces sp.*, *Frankia sp.*, *Cellvibrio sp.*, *Kocuria sp.*).

M8 bandı ham çamur örneğinde gözlenmiş olup 100 ng/L ve 100 µg/L TCS ile aklime olmuş çamur örneklerinde de tespit edilmiştir. Ancak, aklime çamur örneklerinde 500 µg/L TCS dozu ile birlikte bu bant belirlenememiştir. Diğer bir ifadeyle, bu bandın temsil ettiği mikroorganizmalar 100 ng/L ve 100 µg/L TCS konsantrasyonuna dayanıklı, bu konsantrasyonlarda ortamda tutunabilen, ancak 500 µg/L ve daha büyük TCS konsantrasyonuna karşı duyarlı mikroorganizmalardır ve 500 µg/L TCS konsantrasyonu söz konusu komünitenin ortamdan elenmesi için yeterlidir (Örnek: *Paenibacillus sp.*, *Bacillus sp.*, *Desulfitobacterium sp.*, *Thermobacillus sp.*, *Geobacillus sp.*, *Brevibacillus sp.*, *Anoxybacillus sp.*).

Diğer taraftan, bazı mikroorganizmalar ham çamurda tespit edilmemesine rağmen aklime ve aklime olmamış çamur örneklerinde ratlanmıştır (Örnek: *Collimonas sp.*, *Dechloromonas sp.*, *Pseudoxanthomonas sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Xylella sp.*, *Methylophaga sp.*, *Methylomonas sp.*, *Coxiella sp.*, *Thioalkalivibrio sp.*,

Methylococcus sp.). Bu durum, şu şekilde açıklanmaktadır. Analizlerde toplam DNA ekstrakt edilip PCR ile belli bölgeler çoğaltılmaktadır. Ham çamurda klorlu bileşik parçalayan türler olduğu düşünüldüğünde ve de bu türün konsantrasyonu çok düşük olduğunda DGGE ile tespit etmek mümkün olmayabilmektedir. Böyle bir durumda, kesilen bant fazlasıyla silik olduğu için görülememektedir. Fakat klorlu bir bileşik vermeye başlayınca (TCS gibi) sayısı diğerlerinin milyonda biri olan tür, hızlıca çoğalarak dominant olmaktadır. Bu tür baskınlaşmaya başladıkça da DGGE de görülme şansı artmaktadır.

M4 bandında görülen *Cronobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Yersinia* ve *Citrobacter* türleri ham çamurda ve aklime kültürlerde görünmesine rağmen aklime olmamış kültürlerde rastlanmamıştır. Bu türlerin, aklimasyon sayesinde sistemde tutunabildikleri anlaşılmaktadır.

Başka bir araştırmaya göre, *Staphylococci*, *Streptococci*, *Mycobacteria*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Acinetobacter* türlerinin TCS'ye en hassas mikroorganizmalardır. Öte yandan, *Pseudomonas aeruginosa* ve genellikle hastanelerde karşılaşılan ve giderimi zor olan *Clostridium difficile* türlerinin ise TCS'den olumsuz etkilenmediği belirtilmektedir (APUA, 2011). Bu itibarla, her çalışmanın yapıldığı ortam şartlarının (sıcaklık, numune, TCS'nin hazırlandığı çözücü, kullanılan substrat vs.) farklı olması nedeniyle, elde edilen sonuçlar da birbirinden farklı olmakta ve TCS varlığında tespit edilen türler farklı olabilmektedir.

Yukarıda özetlenen mikrobiyal kompozisyon belirleme çalışmasından, hem aklime hem de aklime olmamış kültürlerdeki tür sayısının hemen hemen aynı olduğu, TCS'ye aklime edilmesi durumunda mikrobiyal tür sayısının azalmadığı, ancak hangi türlerin hangi TCS konsantrasyonlarında gözleendiğinin aklimasyon durumuna göre farklılık gösterebildiği anlaşılmıştır. Aklimasyon sonucu, bazı türlerin bazı TCS konsantrasyonlarında ortamdaki elimine oldukları, bazı türlerin aklimasyon sayesinde sistemde tutunabildikleri görülmüş olmakla birlikte, aklime olmuş ve olmamış kültürlerde çok fazla sayıda ortak tür gözlenmesi, hangi türün TCS gideriminde etkin ve baskın olduğuna ilişkin tam bir yorum getirmek mümkün olamamıştır. Bu duruma, tür bazında mikroorganizma sayısının tespit edilememiş olması ya da diğer bir

deyişle türlerin baskınlık durumunun bilinmiyor olması da etki etmiştir. Bununla beraber, aklımasyon sonucunda farklı türlerin ortamda yer alabildiğinin gözlenmesi ya da bir başka bir deyişle aklime ve aklime olmamış kültürlerde farklı türlerin gözlenmesini, yukarıdaki bölümlerde belirlenen TCS arıtım düzeyi, kinetiği ve yan ürün oluşum farklılığının nedeni olarak değerlendirmek mümkündür. Bununla beraber, bu bulgulardan elde edilebilecek bir diğer önemli çıkarım, mikrobiyal tür sayısının çok fazla olduğu aerobik sistemlerde mikrobiyal kompozisyonun tespit edilmesinin TCS arıtımında mikrobiyal türlerin önemi ve rolleri bağlamında net bir çıkarım elde etmenin mümkün olmadığını göstermektedir.

5. SONUÇ

TCS gibi yoğun kullanım alanına sahip biyositlerle kirlenmiş atıksuların arıtılması son zamanlarda araştırmacıların ilgisini çeken bir çalışma konusu haline gelmiştir. TCS içeren atıksuların biyolojik olarak arıtılabilirliğini konu alan bu proje ile, havalandırılmalı aktif çamur sistemlerinde, önemli ölçüde TCS gideriminin sağlanabileceği ve sistemin giderim veriminin kileticiye olan aklımasyon ve kirletici miktarı ile bağlı olarak değişkenlik gösterebileceği ortaya konulmuştur.

Öte yandan, kişisel bakım ürünlerinde ve ev temizlik ürünlerinde bulunan TCS seviyesinin (eser seviyede) arıtma sisteminin normal işleyişi üzerinde herhangi olumsuz bir etki yaratmayacağı bu çalışma ile desteklenmiştir. Ek olarak, atıksudaki yüksek TCS miktarının sistemdeki KOİ giderimini olumsuz yönde etkilediği ancak kirleticiye aklımasyonun şok durumlara nispeten daha iyi KOİ giderimi sağladığı sonucuna istinaden; gerçek hayatta kesikli çalışan ve ani deşarj yapan endüstrilerin atıksularının arıtma tesislerinin normal işleyişi için tehdit oluşturduğu ve istenilen performansta çalışmaları ile atıksuda istenilen deşarj standartlarının sağlanmasına engel teşkil edeceği oldukça açıktır.

Diğer taraftan, TCS gideriminin atıksudaki giderim ile sınırlı kalmadığı, yüksek oranda hidrofobik özellik göstermesi sebebiyle, arıtma çamurunda TCS'nin mutlaka kontrol edilmesi gerektiği de bu çalışmanın işaret ettiği bir diğer husustur. Nitekim TCS'nin kütle dengesi oluşturulması maksadıyla aklime olmuş ve olmamış çamur

örneklerinden alınan numunelerde önemli oranda TCS'ye rastlanmış, reaktöre verilen giriş TCS miktarının artması ile de arıtma sonrasında çamurda gözlenen TCS miktarında artış görülmüştür. Bu durum, konsantre TCS içeren atıksular ile beslenen arıtma tesislerinde çamura adsorplanmanın göz ardı edilmemesi gereken önemli bir TCS giderim mekanizması olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, çalışma sonuçları göstermiştir ki TCS aerobik arıtım sırasında başka yan ürünlere (2,4-DCA & 2,4-DCP) dönüşebilmektedir. Proje kapsamında tespit edilen yan ürünler, TCS'ye oranla polar olmakla birlikte daha az toksik ve biyobirikim özelliği göstermektedir. Yine de atıksu ve çamurda TCS'ye rastlanmamış olması TCS'nin sistemde tamamen giderildiği şeklinde düşünülmemeli, muhtemel yan ürün oluşumu mümkün mertebede izlenmeli ve takip edilmelidir.

Aklime ve aklime olmamış kültürlerde ortak tür sayısının çok fazla olması ve türlerin baskınlık durumunun bilinmiyor olması nedeniyle, etkin türler hakkında net bir sonuca varmak ve kinetik bulgularla doğrudan ilişkilendirmek mümkün olamasa da, mikrobiyal kültürün TCS'ye aklimasyonuna bağlı olarak, kompozisyonunun değişebildiği ve bu durumun TCS arıtım düzeyi, kinetiği ve yan ürün oluşumunda önemli bir faktör olduğu anlaşılmıştır.

6. KAYNAKLAR

1. APHA, Standard methods for the examination of water and wastewater, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, D.C, (1998).
2. APUA, Triclosan, White Paper prepared by The Alliance for the Prudent Use of Antibiotics (APUA), Boston, MA 02111, (2011).
3. BESTER K., Triclosan in a sewage treatment process—balances and monitoring data, *Water Research*, 37, 3891–6, (2003).
4. BIOHYPO, Confronting the clinical relevance of biocide induced antibiotic resistance, FP7 Cooperation Work Programme: Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnologies, FP7-KBBE-2008-2B, Acronym BIOHYPO, (2010-2012).
5. CHEN X., Nielsen J.L., Furgal K., Liu Y., Lolas I.B., Bester K., Biodegradation of triclosan and formation of methyl-triclosan in activated sludge under aerobic conditions, *Chemosphere*, 84(4), 452-6, (2011).
6. CIBA, Irgasan, Irgacare-Toxicological and ecological data; Official registration, Brochure 2521; Publication AgB2521e, Ciba Specialty Chemical Holding Inc., 1998. Cited in Tixier, C. Singer H.P., Canonica S., and Muller, R.S. (2002). Phototransformation of Triclosan in Surface Waters: A Relevant Elimination Process for This Widely Used Biocides Laboratory Studies, Field Measurements, and Modeling. *Environmental Science and Technology*, 36, 3482-9, (1998).
7. DANN A., Hontela A., Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action, *Journal of Applied Toxicology*, 31, 285-311, (2011).
8. DİLEK F.B., Gökçay C.F., Yetis U., Combined effects of Ni(II) and Cr(VI) on activated sludge, *Water Research*, 32, 303–12, (1998).
9. FERNÁNDEZ-FUENTES M.A., Morente E.O., Abriouel H., Pulido R.P., Gálvez A., Isolation and identification of bacteria from organic foods: Sensitivity to biocides and antibiotics, *Food Control*, 26(1), 73-8, (2012).
10. GATİDOU G., Thomaidis N.S. Stasinakis A.S., Lekkas T.D., Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1138, 32–41, (2007).
11. GAZE, W.H., Abdouislam N., Hawkey P.M., Wellington E.M.H., Incidence of class 1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49, 1802–7, (2005).
12. GRADY C.P.L. Jr., Smets B.F., Barbeau D.S., Variability in kinetic parameter estimates: a review of possible causes and a proposed terminology, *Water Research*, 30, 742–8, (1996).
13. GENÇ N., Fermentatif hidrojen üretim prosesinin modellenmesi, SAÜ, Fen Bilimleri Dergisi, 14 (2), 87-97, (2010).
14. HEİDLER J., Halden R.U., Mass balance assessment of triclosan removal during conventional sewage treatment, *Chemosphere*, 66 (2), 362-9, (2007).

15. HUA W., Bennett E.R., Letcher R.J., Triclosan in waste and surface waters from the upper Detroit River by liquid chromatography-electrospray-tandem quadrupole mass spectrometry, *Environment International*, 31, 621–30, (2005).
16. KANDA R., Griffin P., James H.A., Fothergill J., Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment work, *J Environ Monit*, 5, 823-30, (2003).
17. KANETOSHI A., Ogawa H., Katsura E., Kaneshima H., Chlorination of Irgasan DP300 and formation of dioxins from its chlorinated derivatives, *J. Chromatogr.*, 389, 139–53, (1987).
18. KOC A., Orhon K.B., Ogutverici A., Yilmaz L., Furi L., Oggioni M.R., Dilek F.B., Yetis U., Is Adsorption an Artifact in Experimentation with Triclosan?, *Desalination and Water Treatment*, Manuscript ID: 831780, baskıda.
19. KOLPIN D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M, Zaugg S.D., Barber L.B. and Buxton H.T., Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams 1999-2000: A national reconnaissance, *Environmental Science and Technology*, 36 (6), 1202-11, (2002).
20. LEE H. ve Peart, T.E., Organic contaminants in Canadian municipal sewage sludge. Part I. Toxic or endocrine-disrupting phenolic compounds, *Water Quality Research Journal of Canada*, 37 (4), 681-96, (2002).
21. MCAVOY D.C., Schatowitz B., Jacob M., Hauk A., Eckhoff W.S., Measurement of triclosan in wastewater treatment systems, *Environ Toxicol Chem.*, 21 (7),1323-9, (2002).
22. MEZCUA M., José Gómez M., Ferrer I., Aguera A., Dolores Hernando M., Fernández-Alba A.R., Evidence of 2,7/2,8-dibenzodichloro-p-dioxin as a photodegradation product of triclosan in water and wastewater samples, *Analytica Chimica Acta.*, 524, 241–7, (2004).
23. NICNAS. Triclosan, Priority Existing Chemical Assessment Report No. 30, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS), Australian Government, Department of Health and Ageing, Sydney, Australia, (2009).
24. ORVOS D. R., Versteeg D. J., Inauen J., Capdevielle M., Rothenstein A., Cunningham V., Aquatic toxicity of triclosan, *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 1338-49, (2002).
25. RULE K.L., Ebbett V.R., Vikesland P.J., Formation of chloroform and chlorinated organics by free-chlorine-mediated oxidation of triclosan, *Environmental Science and Technology*, 39, 3176–85, (2005).
26. SABALIUNAS D., Webb S.F., Hauk A., Jacob M, Eckhoff W.S., Environmental fate of Triclosan in the River Aire Basin, UK, *Water Research*, 37 (13), 3145-54, (2003).
27. SAMSOE-PETERSEN L, Winther-Nielsen M, Madsen T., Fate and effects of triclosan, Project 861, Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen, Denmark, (2003).
28. SILVA A.R.M. ve Nogueira J.M.F., New Approach on Trace Analysis of Triclosan in Personal Care Products, *Biological and Environmental Matrices*, *Talanta*, 74,1498–1504, (2008).

29. SİLVESTRE G., Rodríguez-Abalde A., Fernández B., Flotats X., Bonmatí A., Biomass adaptation over anaerobic co-digestion of sewage sludge and trapped grease waste, *Bioresource Technology*, 102 (13), 6830-36, (2011).
30. SINGER H., Müller S., Tixier C., Pillonel L., Triclosan: Occurrence and fate of a widely used biocide in the environment: Field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments, *Environmental Science and Technology*, 36, 4998-5004, (2002).
31. SOMMA, M., The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms, Edited by Querci M, Jermini M, Van den Eede, Guy. European commission, Joint research centre, (2006).
32. ŞAHİNKAYA, E., Modelling aerobic 4-chlorophenol and 2,4-dichlorophenol biodegradation-effect of biogenic substrate concentration, (Doktora Tezi), Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, (2006).
33. THOMPSON A., Griffin P., Stuetz R., Cartmell E., The Fate and Removal of Triclosan during Wastewater Treatment, *Water Environ. Res.*, 77, 63, (2005).
34. US EPA, Region/ORD workshop on emerging pollutants-Summary report, (2003) [http:// www.epa.gov/osp/regions/emerpoll_rep.pdf](http://www.epa.gov/osp/regions/emerpoll_rep.pdf)
35. VAİOPOULOU E. ve Gikas P., Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: A review, *Water Research*, 46 (3), 549-70, (2012).
36. WALSH S.E, Maillard J.-Y, Russell A.D., Catrenich C.E., Charbonneau D.L., Bartolo R.G., Development of bacterial resistance to several biocides and effects on antibiotic susceptibility, *Journal of Hospital Infection*, 55 (2), 98-107, (2003).
37. WILSON B.A., Smith V.H., Denoyelles Jr F., Larive C.K., Effects of three pharmaceutical and personal care products on natural freshwater algal assemblages, *Environmental Science and Technology*, 37, 1713–9, (2003).
38. WİND T., Werner U., Jacob M., Hauk, A., Environmental concentrations of boron, LAS, EDTA, NTA and Triclosan simulated with GREAT-ER in the River Utter, *Chemosphere*, 54, 1135-44, (2004).
39. WU J-L., Lam N.P., Martens D., Kettrup A., Cai Z., Triclosan determination in water related to wastewater treatment, *Talanta*, 72, 1650–4, (2007).
40. YETİŞ U., Demirer G.N., Gökçay C.F., Effect of chromium(VI) on the biomass yield of activated sludge, *Enzyme and Microbial Technology*, 25, 48–54, (1999).
41. YİNG G.-G. ve Kookana R.S., Triclosan in wastewaters and biosolids from Australian wastewater treatment plants, *Environment International*, 33 (2), 199–205, (2007).

EKLER

EK-1

m1

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Comamonas testosteroni CNB-2 chromosome, complete genome	588	1765	100%	1e-165	97%	NC_013446.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax ebreus TPSY chromosome, complete genome	588	1765	100%	1e-165	97%	NC_011992.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	588	1765	100%	1e-165	97%	NC_008782.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophylus denitrificans K601 chromosome, complete genome	571	1715	100%	1e-160	96%	NC_015422.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophylus denitrificans BC chromosome, complete genome	571	1715	100%	1e-160	96%	NC_014910.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. KKS102 chromosome, complete genome	560	1681	100%	3e-157	95%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/> Ramilbacter tataouinensis TT9310 chromosome, complete genome	549	549	100%	7e-154	95%	NC_015677.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	549	1648	100%	7e-154	95%	NC_015138.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax citrulli AAC00-1 chromosome, complete genome	549	1648	100%	7e-154	95%	NC_008752.1
<input type="checkbox"/> Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	532	532	100%	7e-149	94%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/> Delftia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	527	2637	100%	3e-147	94%	NC_015563.1
<input type="checkbox"/> Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	521	1565	100%	1e-145	94%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/> Delftia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	521	2609	100%	1e-145	93%	NC_010002.1
<input type="checkbox"/> Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	510	1021	100%	3e-142	93%	NC_012791.1
<input type="checkbox"/> Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	510	1532	98%	3e-142	93%	NC_008786.1
<input type="checkbox"/> Burkholderiales bacterium JOSHI_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	505	505	100%	1e-140	93%	NZ_CM001438.1
<input type="checkbox"/> Lentothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	499	999	100%	7e-139	92%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/> Rhodoferax ferrireducens T118 chromosome, complete genome	499	999	100%	7e-139	92%	NC_007908.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas naphthalenivorans CJ2 chromosome, complete genome	488	977	100%	2e-135	92%	NC_008781.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	483	483	100%	7e-134	91%	NC_007948.1
<input type="checkbox"/> Azoarcus sp. BH72 chromosome, complete genome	449	1799	100%	7e-124	90%	NC_008702.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia sp. CCGE1001 chromosome 2, complete sequence	444	1332	94%	3e-122	91%	NC_015137.1

m2

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Comamonas testosteroni CNB-2 chromosome, complete genome	675	2025	100%	0.0	97%	NC_013446.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax ebreus TPSY chromosome, complete genome	675	2025	100%	0.0	97%	NC_011992.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	675	2025	100%	0.0	97%	NC_008782.1
<input type="checkbox"/> Alloyciphilus denitrificans K601 chromosome, complete genome	668	1975	100%	0.0	96%	NC_015422.1
<input type="checkbox"/> Alloyciphilus denitrificans BC chromosome, complete genome	668	1975	100%	0.0	96%	NC_014910.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. KKS102 chromosome, complete genome	647	1942	100%	0.0	96%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/> Ramilbacter tataouinensis TT8310 chromosome, complete genome	636	636	100%	6e-180	95%	NC_015677.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	636	1909	100%	6e-180	95%	NC_015138.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax chullii AAC00-1 chromosome, complete genome	636	1909	100%	6e-180	95%	NC_008752.1
<input type="checkbox"/> Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	619	619	100%	6e-175	95%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/> Delftia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	614	3071	100%	3e-173	94%	NC_015563.1
<input type="checkbox"/> Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	608	1826	100%	1e-171	94%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/> Delftia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	608	3043	100%	1e-171	94%	NC_010002.1
<input type="checkbox"/> Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	597	1195	100%	3e-168	94%	NC_012791.1
<input type="checkbox"/> Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	597	1792	100%	3e-168	94%	NC_008786.1
<input type="checkbox"/> Burkholderiales bacterium JOSHI_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	592	592	100%	1e-166	93%	NZ_CM001438.1
<input type="checkbox"/> Lentothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	586	1173	100%	6e-165	93%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/> Rhodoferax ferrireducens T118 chromosome, complete genome	586	1173	100%	6e-165	93%	NC_007908.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas naphthalenivorans CJ2 chromosome, complete genome	575	1150	100%	1e-161	93%	NC_008781.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	569	569	100%	6e-160	92%	NC_007948.1
<input type="checkbox"/> Azoarcus sp. BH72 chromosome, complete genome	547	2190	100%	3e-153	91%	NC_008702.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia sp. CCGE1001 chromosome 2, complete sequence	538	1615	98%	2e-150	91%	NC_015137.1

m3

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
Comamonas testosteroni CNB-2 chromosome, complete genome	680	2042	100%	0.0	97%	NC_013446.1
Acidovorax ebreus TPSY chromosome, complete genome	680	2042	100%	0.0	97%	NC_011992.1
Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	680	2042	100%	0.0	97%	NC_008782.1
Allicyclophilus denitrificans K601 chromosome, complete genome	664	1992	100%	0.0	97%	NC_015422.1
Allicyclophilus denitrificans BC chromosome, complete genome	664	1992	100%	0.0	97%	NC_014910.1
Acidovorax sp. K3S102 chromosome, complete genome	652	1958	100%	0.0	96%	NC_018708.1
Ramilbacter tataouinensis TTB310 chromosome, complete genome	641	641	100%	0.0	96%	NC_015677.1
Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	641	1925	100%	0.0	96%	NC_015138.1
Acidovorax citrulli AAC00-1 chromosome, complete genome	641	1925	100%	0.0	96%	NC_008752.1
Methylobium petroleophilum PM1 chromosome, complete genome	625	625	100%	1e-176	95%	NC_008825.1
Deltia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	619	3098	100%	6e-175	95%	NC_015563.1
Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	614	1842	100%	3e-173	94%	NC_017075.1
Deltia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	614	3071	100%	3e-173	94%	NC_010002.1
Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	603	1206	100%	6e-170	94%	NC_012791.1
Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	603	1809	100%	6e-170	94%	NC_008786.1
Burkholderiales bacterium JOSH1_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	597	597	100%	3e-168	94%	NZ_CM001438.1
Leptothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	592	1184	100%	1e-166	93%	NC_010524.1
Rhodoferrax ferrireducens T118 chromosome, complete genome	592	1184	100%	1e-166	93%	NC_007908.1
Polaromonas naphthalenivorans CJ2 chromosome, complete genome	580	1161	100%	3e-163	93%	NC_008781.1
Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	575	575	100%	1e-161	93%	NC_007948.1
Azoarcus sp. BH72 chromosome, complete genome	542	2168	100%	1e-151	91%	NC_008702.1
Burkholderia sp. CCGE1001 chromosome 2, complete sequence	532	1598	97%	8e-149	91%	NC_015137.1

m4

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Aeromonas veronii B565 chromosome, complete genome	492	4923	100%	1e-136	89%	NC_015424.1
<input type="checkbox"/> Cronobacter turicensis z3032 chromosome, complete genome	486	3396	100%	6e-135	89%	NC_013282.2
<input type="checkbox"/> Shewanella sp. ANA-3 chromosome 1, complete sequence	486	4347	100%	6e-135	89%	NC_008577.1
<input type="checkbox"/> Klebsiella varicola At-22 chromosome, complete genome	481	3785	100%	3e-133	88%	NC_013850.1
<input type="checkbox"/> Pseudomonas fluorescens Pf0-1 chromosome, complete genome	481	2687	100%	3e-133	88%	NC_007492.2
<input type="checkbox"/> Enterobacter sp. 638, complete genome	481	3352	100%	3e-133	88%	NC_009436.1
<input type="checkbox"/> Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida A449, complete genome	481	4331	100%	3e-133	88%	NC_009348.1
<input type="checkbox"/> Aeromonas hydrophila subsp. hydrophila ATCC 7966 chromosome, complete genome	481	4812	100%	3e-133	88%	NC_008570.1
<input type="checkbox"/> Shewanella sp. MR-7 chromosome, complete genome	481	4198	100%	3e-133	88%	NC_008322.1
<input type="checkbox"/> Shewanella sp. MR-4 chromosome, complete genome	481	4231	100%	3e-133	88%	NC_008321.1
<input type="checkbox"/> Pseudomonas syzyxantha RG33R chromosome, whole genome shotgun sequence	475	2654	100%	1e-131	88%	NZ_CM001514.1
<input type="checkbox"/> Klebsiella pneumoniae KCTC 2242 chromosome, complete genome	475	3772	100%	1e-131	88%	NC_017540.1
<input type="checkbox"/> Yersinia pestis A1122 chromosome, complete genome	475	2654	100%	1e-131	88%	NC_017168.1
<input type="checkbox"/> Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae HS11286 chromosome, complete genome	475	3800	100%	1e-131	88%	NC_016845.1
<input type="checkbox"/> Citrobacter rodentium ICC168 chromosome, complete genome	475	3296	100%	1e-131	88%	NC_013718.1
<input type="checkbox"/> Yersinia pseudotuberculosis PB1+ chromosome, complete genome	475	3329	100%	1e-131	88%	NC_010634.1
<input type="checkbox"/> Yersinia pseudotuberculosis IP 31759 chromosome, complete genome	475	3329	100%	1e-131	88%	NC_009708.1
<input type="checkbox"/> Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae MGH 78578 chromosome, complete genome	475	3805	100%	1e-131	88%	NC_009648.1
<input type="checkbox"/> Yersinia pestis Pestoides F chromosome, complete genome	475	3329	100%	1e-131	88%	NC_009381.1
<input type="checkbox"/> Shewanella amazonensis SB2B chromosome, complete genome	475	3805	100%	1e-131	88%	NC_008700.1
<input type="checkbox"/> Yersinia pseudotuberculosis IP 32953 chromosome, complete genome	475	3300	100%	1e-131	88%	NC_006155.1
<input type="checkbox"/> Yersinia pestis CO92 chromosome, complete genome	475	2654	100%	1e-131	88%	NC_003143.1

m5

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Comamonas testosteroni CNR-2 chromosome, complete genome	664	1992	100%	0.0	97%	NC_013446.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax ebreus Tpsy chromosome, complete genome	664	1992	100%	0.0	97%	NC_011982.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	664	1992	100%	0.0	97%	NC_008782.1
<input type="checkbox"/> Alivcyliphilus denitrificans K601 chromosome, complete genome	647	1942	100%	0.0	96%	NC_015422.1
<input type="checkbox"/> Alivcyliphilus denitrificans BC chromosome, complete genome	647	1942	100%	0.0	96%	NC_014910.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. KKS102 chromosome, complete genome	636	1909	100%	6e-160	95%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/> Ramiobacter tataouinensis TTB310 chromosome, complete genome	625	625	100%	1e-176	95%	NC_015677.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	625	1875	100%	1e-176	95%	NC_015138.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax citrullii AAC00-1 chromosome, complete genome	625	1875	100%	1e-176	95%	NC_008752.1
<input type="checkbox"/> Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	608	608	100%	1e-171	94%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/> Delfia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	603	3015	100%	6e-170	94%	NC_015563.1
<input type="checkbox"/> Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	597	1792	100%	3e-168	94%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/> Delfia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	597	2987	100%	3e-168	94%	NC_010002.1
<input type="checkbox"/> Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	586	1173	100%	6e-165	93%	NC_012791.1
<input type="checkbox"/> Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	586	1759	100%	6e-165	93%	NC_008786.1
<input type="checkbox"/> Burkholderiales bacterium JOSHI_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	580	580	100%	3e-163	93%	NZ_CM001438.1
<input type="checkbox"/> Leptothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	575	1150	100%	1e-161	93%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/> Rhodoferrax ferrireducens T118 chromosome, complete genome	575	1150	100%	1e-161	93%	NC_007908.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas naphthalenivorans CJ2 chromosome, complete genome	564	1128	100%	3e-158	92%	NC_008781.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	558	558	100%	1e-156	92%	NC_007948.1
<input type="checkbox"/> Azorarcus sp. BH72 chromosome, complete genome	536	2146	100%	6e-150	91%	NC_008702.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia sp. CCQE1001 chromosome 2, complete sequence	525	1576	100%	1e-146	90%	NC_015137.1

m6

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Deiflia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	706	3532	100%	0.0	99%	NC_010002.1
<input type="checkbox"/> Deiflia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	701	3505	100%	0.0	98%	NC_015563.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. KKS102 chromosome, complete genome	667	2003	100%	0.0	97%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax chruvli AAC00-1 chromosome, complete genome	667	2003	100%	0.0	97%	NC_008752.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	667	667	100%	0.0	97%	NC_007948.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	662	1986	100%	0.0	97%	NC_015138.1
<input type="checkbox"/> Rhodoferax ferrereducens T118 chromosome, complete genome	656	1313	100%	0.0	96%	NC_007908.1
<input type="checkbox"/> Alicyclopholus denitrificans K801 chromosome, complete genome	651	1953	100%	0.0	96%	NC_015422.1
<input type="checkbox"/> Alicyclopholus denitrificans BC chromosome, complete genome	651	1953	100%	0.0	96%	NC_014910.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas naphthalenivorans CJ2 chromosome, complete genome	651	1302	100%	0.0	96%	NC_008781.1
<input type="checkbox"/> Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	640	1280	100%	0.0	96%	NC_012791.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax ebreus TPSY chromosome, complete genome	640	1920	100%	0.0	96%	NC_011992.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	640	1920	100%	0.0	96%	NC_008782.1
<input type="checkbox"/> Ramlibacter tataouinensis TTB310 chromosome, complete genome	612	612	100%	1e-172	94%	NC_015677.1
<input type="checkbox"/> Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	612	1837	100%	1e-172	94%	NC_008786.1
<input type="checkbox"/> Comamonas testosteroni CNB-2 chromosome, complete genome	601	1803	100%	2e-169	94%	NC_013448.1
<input type="checkbox"/> Leptothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	579	1158	100%	1e-162	93%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/> Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	568	1704	100%	2e-159	92%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/> Burkholderiales bacterium JOSHI_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	556	556	100%	5e-156	92%	NZ_CM001438.1
<input type="checkbox"/> Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	556	556	100%	5e-156	92%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/> Azoarcus sp. BH72 chromosome, complete genome	540	2161	100%	5e-151	91%	NC_008702.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia multivorans ATCC 17616 chromosome 3, complete sequence	531	531	98%	3e-148	91%	NC_010087.1

m7

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Shewanella baltica BA175 chromosome, complete genome	691	6895	100%	0.0	98%	NC_017571.1
<input type="checkbox"/> Shewanella baltica OS223 chromosome, complete genome	691	6901	100%	0.0	98%	NC_011663.1
<input type="checkbox"/> Shewanella baltica OS185 chromosome, complete genome	691	6801	100%	0.0	98%	NC_009665.1
<input type="checkbox"/> Shewanella baltica OS155 chromosome, complete genome	691	6851	100%	0.0	98%	NC_009052.1
<input type="checkbox"/> Shewanella putrefaciens CN-32 chromosome, complete genome	686	5445	100%	0.0	98%	NC_009438.1
<input type="checkbox"/> Shewanella sp. W3-18-1 chromosome, complete genome	686	5417	100%	0.0	98%	NC_008750.1
<input type="checkbox"/> Shewanella putrefaciens 200 chromosome, complete genome	680	5423	100%	0.0	97%	NC_017566.1
<input type="checkbox"/> Shewanella frigidimarina NCIMB 400 chromosome, complete genome	668	5926	100%	0.0	96%	NC_008345.1
<input type="checkbox"/> Shewanella oneidensis MR-1 chromosome, complete genome	652	5876	100%	0.0	96%	NC_004347.2
<input type="checkbox"/> Shewanella sp. ANA-3 chromosome 1, complete sequence	652	5827	100%	0.0	96%	NC_009577.1
<input type="checkbox"/> Shewanella sp. MR-7 chromosome, complete genome	641	5777	100%	0.0	96%	NC_008322.1
<input type="checkbox"/> Shewanella sp. MR-4 chromosome, complete genome	641	5777	100%	0.0	96%	NC_008321.1
<input type="checkbox"/> Shewanella denitrificans OS217, complete genome	619	4935	100%	6e-175	95%	NC_007954.1
<input type="checkbox"/> Shewanella amazonensis SB2B chromosome, complete genome	614	4897	100%	3e-173	94%	NC_008700.1
<input type="checkbox"/> Shewanella sediminis HAW-EB3 chromosome, complete genome	575	6882	100%	1e-161	93%	NC_009831.1
<input type="checkbox"/> Shewanella violacea DSS12 chromosome, complete genome	569	7900	100%	6e-160	92%	NC_014012.1
<input type="checkbox"/> Shewanella woodii ATCC 51908 chromosome, complete genome	564	5593	100%	3e-158	92%	NC_010506.1
<input type="checkbox"/> Aeromonas veronii B565 chromosome, complete genome	542	5421	100%	1e-151	91%	NC_015424.1
<input type="checkbox"/> Pseudoalteromonas sp. SM9913 chromosome I, complete sequence	542	4337	100%	1e-151	91%	NC_014803.1
<input type="checkbox"/> Tolumonas auensis DSM 9187 chromosome, complete genome	542	4304	100%	1e-151	91%	NC_012691.1
<input type="checkbox"/> Shewanella piezotolerans WP3 chromosome, complete genome	542	4337	100%	1e-151	91%	NC_011566.1
<input type="checkbox"/> Shewanella halifaxensis HAW-EB4 chromosome, complete genome	536	5366	100%	6e-150	91%	NC_010334.1

m8

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Paenibacillus sp. Y412MC10 chromosome, complete genome	294	2357	74%	4e-77	84%	NC_013406.1
<input type="checkbox"/>	Paenibacillus terrae HPI-003 chromosome, complete genome	269	2558	74%	2e-75	84%	NC_016841.1
<input type="checkbox"/>	Paenibacillus mucilaginosus KNP414 chromosome, complete genome	269	3759	74%	2e-75	84%	NC_015890.1
<input type="checkbox"/>	Paenibacillus polymxa SC2 chromosome, complete genome	269	3987	74%	2e-75	84%	NC_014622.1
<input type="checkbox"/>	Paenibacillus polymxa E681 chromosome, complete genome	269	3414	74%	2e-75	84%	NC_014483.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus selenitireducens MLS10 chromosome, complete genome	272	1908	74%	2e-70	83%	NC_014219.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cellulosilyticus DSM 2522 chromosome, complete genome	267	2664	74%	9e-69	83%	NC_014829.1
<input type="checkbox"/>	Desulfobacterium hafniense Y51 chromosome, complete genome	261	1568	74%	4e-67	83%	NC_007907.1
<input type="checkbox"/>	Desulfobacterium dehalogenans ATCC 51507 chromosome, complete genome	257	1546	75%	5e-66	82%	NC_018017.1
<input type="checkbox"/>	Paenibacillus sp. JDR-2 chromosome, complete genome	257	3093	74%	5e-66	82%	NC_012914.1
<input type="checkbox"/>	Thermobacillus composti KWC4 chromosome, complete genome	255	1268	74%	2e-65	82%	NC_019897.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus sp. WCH70 chromosome, complete genome	252	2522	74%	2e-64	82%	NC_012793.1
<input type="checkbox"/>	Desulfobacterium dichloroeliminans LMG P-21439 chromosome, complete genome	250	1502	74%	9e-64	82%	NC_019903.1
<input type="checkbox"/>	Brevibacillus brevis NBRC 100599, complete genome	250	3639	74%	9e-64	82%	NC_012491.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus thermoleovorans CCB_US3_UF5 chromosome, complete genome	246	2176	74%	1e-62	82%	NC_016593.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus thermoglucosidasius C56-YS93 chromosome, complete genome	246	2467	74%	1e-62	82%	NC_015860.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus sp. Y4.1MC1 chromosome, complete genome	246	2467	74%	1e-62	82%	NC_014650.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus sp. C56-T3 chromosome, complete genome	246	1929	74%	1e-62	82%	NC_014206.1
<input type="checkbox"/>	Anoxybacillus flavithermus WK1 chromosome, complete genome	246	1949	74%	1e-62	82%	NC_011567.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus thermodenitrificans NG90-2 chromosome, complete genome	246	2400	74%	1e-62	82%	NC_009328.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus licheniformis ATCC 14580 chromosome, complete genome	244	1714	74%	4e-62	82%	NC_006270.3
<input type="checkbox"/>	Bacillus licheniformis DSM 13 = ATCC 14580 chromosome, complete genome	244	1714	74%	4e-62	82%	NC_006322.1

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	630	1892	100%	3e-178	95%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/> Burkholderiales bacterium JOSHI_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	614	614	100%	3e-173	94%	NZ_CM001438.1
<input type="checkbox"/> Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	614	614	100%	3e-173	94%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/> Leptothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	592	1184	100%	1e-166	93%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/> Ramilbacter tataouinensis TTB310 chromosome, complete genome	582	582	98%	8e-164	93%	NC_015677.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. KKS102 chromosome, complete genome	577	1731	96%	4e-162	93%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	555	1665	98%	2e-155	92%	NC_015138.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax citrulli AAC00-1 chromosome, complete genome	555	1665	98%	2e-155	92%	NC_008752.1
<input type="checkbox"/> Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	549	1099	96%	8e-154	92%	NC_012791.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax ebreus TPSY chromosome, complete genome	549	1648	98%	8e-154	92%	NC_011992.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	549	1648	98%	8e-154	92%	NC_008782.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	544	544	98%	4e-152	91%	NC_007948.1
<input type="checkbox"/> Delfia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	538	2692	98%	2e-150	91%	NC_015563.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophilius denitrificans K601 chromosome, complete genome	538	1615	98%	2e-150	91%	NC_015422.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophilius denitrificans BC chromosome, complete genome	538	1615	98%	2e-150	91%	NC_014910.1
<input type="checkbox"/> Comamonas testosteroni CNB-2 chromosome, complete genome	538	1615	98%	2e-150	91%	NC_013446.1
<input type="checkbox"/> Rhodoferrax ferrireducens T118 chromosome, complete genome	538	1076	98%	2e-150	91%	NC_007908.1
<input type="checkbox"/> Delfia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	532	2664	98%	8e-149	91%	NC_010002.1
<input type="checkbox"/> Herbaspirillum seropedicae SmR1 chromosome, complete genome	531	1593	99%	3e-148	91%	NC_014323.1
<input type="checkbox"/> Thiomonas sp. 3As, complete genome	527	527	98%	4e-147	91%	NC_014145.1
<input type="checkbox"/> Thiomonas intermedia K12 chromosome, complete genome	527	527	98%	4e-147	91%	NC_014153.1
<input type="checkbox"/> Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	527	1582	98%	4e-147	91%	NC_008786.1

m10

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Janthinobacterium sp. Marseille chromosome, complete genome	257	515	57%	5e-66	87%	NC_009659.1
<input type="checkbox"/>	Thiomonas sp. 3As, complete genome	246	246	99%	1e-62	78%	NC_014145.1
<input type="checkbox"/>	Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	246	740	80%	1e-62	81%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/>	Thiomonas intermedia K12 chromosome, complete genome	246	246	99%	1e-62	78%	NC_014153.1
<input type="checkbox"/>	Herminilimonas arsenicondans chromosome, complete genome	246	493	57%	1e-62	86%	NC_009138.1
<input type="checkbox"/>	Herbaspirillum seropedicae SmR1 chromosome, complete genome	244	734	58%	4e-62	86%	NC_014323.1
<input type="checkbox"/>	Methylothermus versatilis 301 chromosome, complete genome	243	729	58%	1e-61	86%	NC_014207.1
<input type="checkbox"/>	Nitrospira multiformis ATCC 25196 chromosome, complete genome	243	243	58%	1e-61	86%	NC_007614.1
<input type="checkbox"/>	Burkholderiales bacterium JOSHI_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	241	241	80%	5e-61	80%	NZ_CM001438.1
<input type="checkbox"/>	Collimonas fungivorans Ter331 chromosome, complete genome	241	723	57%	5e-61	86%	NC_015856.1
<input type="checkbox"/>	Gallionella capsiferriformans ES-2 chromosome, complete genome	239	718	58%	2e-60	85%	NC_014394.1
<input type="checkbox"/>	Candidatus Accumulibacter phosphatis clade IIA str. UW-1 chromosome, complete genome	233	467	58%	9e-59	85%	NC_013194.1
<input type="checkbox"/>	Dechlorosoma suillum PS chromosome, complete genome	231	463	58%	3e-58	85%	NC_016618.1
<input type="checkbox"/>	Leptothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	231	463	60%	3e-58	84%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/>	Acidovorax sp. KKS102 chromosome, complete genome	230	690	80%	1e-57	80%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/>	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 2, complete sequence	230	460	59%	1e-57	84%	NC_015376.1
<input type="checkbox"/>	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequence	230	690	59%	1e-57	84%	NC_015381.1
<input type="checkbox"/>	Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	230	230	80%	1e-57	80%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/>	Thauera sp. MZ1T chromosome, complete genome	226	905	58%	2e-56	84%	NC_011662.2
<input type="checkbox"/>	Methylobacillus flagellatus KT, complete genome	226	452	58%	2e-56	84%	NC_007947.1
<input type="checkbox"/>	Dechloromonas aromatica RCB, complete genome	226	905	58%	2e-56	84%	NC_007298.1
<input type="checkbox"/>	Burkholderia obumae BGR1 chromosome 1, complete sequence	224	673	59%	5e-56	84%	NC_012724.2

m11

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Lacinutrix sp. 5H-3-7-4 chromosome, complete genome	652	1305	100%	0.0	96%	NC_015638.1
<input type="checkbox"/> Aequorivita subtilincola DSM14238 chromosome, complete genome	542	1084	100%	1e-151	91%	NC_018013.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium branchiophilum FL-15, complete genome	536	1609	100%	6e-150	91%	NC_016001.1
<input type="checkbox"/> Gramella forsetii KT0803 chromosome, complete genome	536	1609	100%	6e-150	91%	NC_008571.1
<input type="checkbox"/> Cellulophaga lifica DSM 7489 chromosome, complete genome	525	2096	100%	1e-146	90%	NC_015167.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium indicum GPTSA100-9, complete genome	520	2080	100%	6e-145	90%	NC_017025.1
<input type="checkbox"/> Zunonawania profunda SM-A87 chromosome, complete genome	503	1510	100%	6e-140	89%	NC_014041.1
<input type="checkbox"/> Myroides odoratus DSM 2801 chromosome, whole genome shotgun sequence	497	497	100%	3e-138	89%	NZ_CM001437.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium johnsoniae UW101 chromosome, complete genome	492	2953	100%	1e-136	89%	NC_009441.1
<input type="checkbox"/> Nonlabens dokdonensis DSW-6, complete genome	486	973	100%	6e-135	89%	NC_020156.1
<input type="checkbox"/> Krokinobacter sp. 4H-3-7-5 chromosome, complete genome	486	1454	100%	6e-135	89%	NC_015496.1
<input type="checkbox"/> Maribacter sp. HTCC2170 chromosome, complete genome	486	973	100%	6e-135	89%	NC_014472.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium psychrophilum JIP0286 chromosome, complete genome	486	2920	100%	6e-135	89%	NC_009613.1
<input type="checkbox"/> Psychroflexus torquis ATCC 700755 chromosome, complete genome	475	1427	100%	1e-131	88%	NC_018721.1
<input type="checkbox"/> Cannocytophaga canimorsus Cc5 chromosome, complete genome	475	1427	100%	1e-131	88%	NC_015846.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium columnare ATCC 49512 chromosome, complete genome	459	2295	100%	1e-126	87%	NC_016510.2
<input type="checkbox"/> Ornithobacterium rhinotracheale DSM 15897 chromosome, complete genome	453	1360	100%	6e-125	87%	NC_018018.1
<input type="checkbox"/> Zobellia galactanivorans chromosome, complete genome	453	907	100%	6e-125	87%	NC_015844.1
<input type="checkbox"/> Cellulophaga algaicola DSM 14237 chromosome, complete genome	453	2267	100%	6e-125	87%	NC_014934.1
<input type="checkbox"/> Weeksella virosa DSM 16922 chromosome, complete genome	442	2206	100%	1e-121	87%	NC_015144.1

m13

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Pseudoxanthomonas spadix BD-a59 chromosome, complete genome	625	625	100%	1e-176	95%	NC_016147.2
<input type="checkbox"/> Stenotrophomonas maltophilia K279a chromosome, complete genome	608	2401	100%	1e-171	94%	NC_010943.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas campestris pv. raphani 756C chromosome, complete genome	597	1195	100%	3e-168	94%	NC_017271.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas oryzae pv. oryzae BLS256 chromosome, complete genome	597	1195	100%	3e-168	94%	NC_017267.1
<input type="checkbox"/> Pseudoxanthomonas suwonensis 11-1 chromosome, complete genome	597	1187	99%	3e-168	94%	NC_014924.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas albilineans GPE PC73 chromosome, complete genome	597	1195	100%	3e-168	94%	NC_013722.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas oryzae pv. oryzae KACC 10331 chromosome, complete genome	597	1195	100%	3e-168	94%	NC_006834.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306 chromosome, complete genome	597	1195	100%	3e-168	94%	NC_003919.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas campestris pv. campestris str. ATCC 33913 chromosome, complete genome	597	1195	100%	3e-168	94%	NC_003902.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas axonopodis pv. citrumelo F1 chromosome, complete genome	592	1184	100%	1e-166	93%	NC_016010.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas campestris pv. vesicatoria str. 85-10 chromosome, complete genome	592	1184	100%	1e-166	93%	NC_007508.1
<input type="checkbox"/> Stenotrophomonas maltophilia JV3 chromosome, complete genome	575	2301	100%	1e-161	93%	NC_015947.1
<input type="checkbox"/> Xylella fastidiosa M23 chromosome, complete genome	536	1073	100%	6e-150	91%	NC_010577.1
<input type="checkbox"/> Xylella fastidiosa 9a5c chromosome, complete genome	536	1073	100%	6e-150	91%	NC_002468.3
<input type="checkbox"/> Fraxetia aurantia DSM 6720 chromosome, complete genome	503	2013	99%	6e-140	90%	NC_017033.1
<input type="checkbox"/> Rhodanobacter sp. 2APBS1, complete genome	497	995	99%	3e-138	89%	NC_020541.1
<input type="checkbox"/> Methylophaga sp. JAM7 chromosome, complete genome	436	1310	99%	6e-120	86%	NC_017856.1
<input type="checkbox"/> Methylophaga sp. JAM1 chromosome, complete genome	436	1290	99%	6e-120	86%	NC_017857.1
<input type="checkbox"/> Methylophaga methanica MC09 chromosome, complete genome	429	1288	99%	1e-117	86%	NC_015572.1
<input type="checkbox"/> Coxiella burnetii RSA 493 chromosome, complete genome	425	425	99%	1e-116	86%	NC_002971.3
<input type="checkbox"/> Thioalkalivibrio sulfidophilus HL-EbGr7 chromosome, complete genome	420	420	99%	6e-115	86%	NC_011901.1
<input type="checkbox"/> Methylococcus capsulatus str. Bath chromosome, complete genome	420	840	81%	6e-115	90%	NC_002977.6
<input type="checkbox"/> Pseudomonas stutzeri ATCC 17588 = LMG 11199 chromosome, complete genome	414	1653	99%	3e-113	86%	NC_015740.1

m14

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Flavobacterium indicum GPTSA100-9, complete genome	420	1681	100%	6e-115	86%	NC_017025.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium columnare ATCC 49512 chromosome, complete genome	414	2073	100%	3e-113	85%	NC_016510.2
<input type="checkbox"/> Flavobacterium branchiophilum FL-15, complete genome	403	1211	100%	6e-110	85%	NC_016001.1
<input type="checkbox"/> Ornithobacterium rhinotracheale DSM 15997 chromosome, complete genome	398	1194	100%	3e-108	85%	NC_018016.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium johnsoniae UW101 chromosome, complete genome	398	2388	100%	3e-108	85%	NC_009441.1
<input type="checkbox"/> Nonlabens dokdonensis DSW-6, complete genome	381	763	100%	3e-103	84%	NC_020156.1
<input type="checkbox"/> Flavobacterium psychrophilum JIP0286 chromosome, complete genome	381	2289	100%	3e-103	84%	NC_009613.1
<input type="checkbox"/> Myroides odoratus DSM 2801 chromosome, whole genome shotgun sequence	359	359	100%	1e-96	83%	NZ_CM001437.1
<input type="checkbox"/> Carnocytophaga canimorsus Cc5 chromosome, complete genome	351	1055	81%	2e-94	86%	NC_015846.1
<input type="checkbox"/> Weeksella virosa DSM 16922 chromosome, complete genome	350	1717	100%	9e-94	86%	NC_015144.1
<input type="checkbox"/> Zunongwanlia profunda SM-A87 chromosome, complete genome	350	1050	98%	9e-94	83%	NC_014041.1
<input type="checkbox"/> Aequorivita subtilincola DSM 14238 chromosome, complete genome	348	696	100%	3e-93	83%	NC_018013.1
<input type="checkbox"/> Carnocytophaga ochracea DSM 7271 chromosome, complete genome	340	1363	78%	5e-91	86%	NC_013162.1
<input type="checkbox"/> Krokinobacter sp. 4H-3-7-5 chromosome, complete genome	333	996	98%	9e-89	82%	NC_015496.1
<input type="checkbox"/> Lacinutrix sp. 5H-3-7-4 chromosome, complete genome	326	652	100%	1e-86	82%	NC_015638.1
<input type="checkbox"/> Zobellia galactanivorans chromosome, complete genome	320	641	82%	7e-85	84%	NC_015844.1
<input type="checkbox"/> Maribacter sp. HTCC2170 chromosome, complete genome	315	630	82%	3e-83	84%	NC_014472.1
<input type="checkbox"/> Cellulophaga mica DSM 7489 chromosome, complete genome	307	1230	81%	5e-81	84%	NC_015167.1
<input type="checkbox"/> Gramella forseti KT0803 chromosome, complete genome	305	917	98%	2e-80	81%	NC_008571.1
<input type="checkbox"/> Cellulophaga algicola DSM 14237 chromosome, complete genome	296	1482	81%	1e-77	83%	NC_014934.1
<input type="checkbox"/> Pedobacter heparinus DSM 2366 chromosome, complete genome	292	878	100%	1e-76	80%	NC_013061.1
<input type="checkbox"/> Mucilaginibacter paludis DSM 18603 chromosome, whole genome shotgun sequence	287	1149	100%	7e-75	80%	NZ_CM001403.1

m15

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Methylothera mobilis JLW8 chromosome, complete genome	669	1339	100%	0.0	97%	NC_012968.1
<input type="checkbox"/> Methylothera versatilis 301 chromosome, complete genome	641	1925	100%	0.0	96%	NC_014207.1
<input type="checkbox"/> Methylovorus sp. MP688 chromosome, complete genome	580	1161	100%	3e-163	93%	NC_014733.1
<input type="checkbox"/> Methylovorus glucosetrophus SIP3-4 chromosome, complete genome	580	1161	100%	3e-163	93%	NC_012969.1
<input type="checkbox"/> Methylobacillus flagellatus KT, complete genome	575	1150	100%	1e-161	93%	NC_007947.1
<input type="checkbox"/> Dechlorosoma sulillum PS chromosome, complete genome	514	1028	100%	3e-143	90%	NC_016616.1
<input type="checkbox"/> Herminiimonas arsenicoxidans chromosome, complete genome	514	1028	100%	3e-143	90%	NC_009138.1
<input type="checkbox"/> Gallionella capsiferiformans ES-2 chromosome, complete genome	508	1526	100%	1e-141	90%	NC_014394.1
<input type="checkbox"/> Candidatus Accumulibacter phosphatis clade IIA str. UW-1 chromosome, complete genome	497	995	100%	3e-138	89%	NC_013194.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia multivorans ATCC 17616 chromosome 3, complete sequence	497	497	99%	3e-138	89%	NC_010087.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia multivorans ATCC 17616 chromosome 1, complete sequence	497	1488	99%	3e-138	89%	NC_010084.1
<input type="checkbox"/> Janthinobacterium sp. Marseille chromosome, complete genome	497	995	100%	3e-138	89%	NC_009659.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia sp. Y123 chromosome 1, complete sequence	492	1947	99%	1e-136	89%	NC_016589.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia multivorans ATCC 17616 chromosome 2, complete sequence	492	492	99%	1e-136	89%	NC_010086.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia ambifaria AMMD chromosome 3, complete sequence	492	492	99%	1e-136	89%	NC_008392.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia ambifaria AMMD chromosome 2, complete sequence	492	492	99%	1e-136	89%	NC_008391.1
<input type="checkbox"/> Nitrososphaera multiformis ATCC 25196 chromosome, complete genome	492	492	100%	1e-136	89%	NC_007614.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia cepacia GQ4 chromosome 1, complete sequence	486	968	99%	6e-135	89%	NC_018513.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 2, complete sequence	486	973	99%	6e-135	89%	NC_015376.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequence	486	1460	99%	6e-135	89%	NC_015381.1
<input type="checkbox"/> Sideroxydans lithotrophicus ES-1 chromosome, complete genome	486	973	100%	6e-135	89%	NC_013959.1
<input type="checkbox"/> Thauera sp. MZ1T chromosome, complete genome	486	1947	100%	6e-135	89%	NC_011662.2
<input type="checkbox"/> Burkholderia phymatum STM815 chromosome 2, complete sequence	486	973	99%	6e-135	89%	NC_010623.1

m16

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Paracoccus denitrificans PD1222 chromosome 2, complete sequence	621	621	99%	2e-175	95%	NC_008687.1
<input type="checkbox"/> Paracoccus denitrificans PD1222 chromosome 1, complete sequence	621	1243	99%	2e-175	95%	NC_008686.1
<input type="checkbox"/> Ketoquilonigenium vulgare WSH-001 plasmid 1, complete sequence	610	610	99%	4e-172	94%	NC_017386.1
<input type="checkbox"/> Ketoquilonigenium vulgare WSH-001 chromosome, complete genome	610	2442	99%	4e-172	94%	NC_017384.1
<input type="checkbox"/> Ketoquilonigenium vulgare Y25 chromosome, complete genome	610	2442	99%	4e-172	94%	NC_014625.1
<input type="checkbox"/> Ketoquilonigenium vulgare Y25 plasmid pYP1, complete sequence	610	610	99%	4e-172	94%	NC_014621.1
<input type="checkbox"/> Rhodobacter capsulatus SB 1003 chromosome, complete genome	599	2397	99%	8e-169	94%	NC_014034.1
<input type="checkbox"/> Ruegeria pomeroyi DSS-3 chromosome, complete genome	599	1798	99%	8e-169	94%	NC_003911.1.1
<input type="checkbox"/> Phaeobacter gallaeciensis 2.10 chromosome, complete genome	588	2353	99%	2e-165	93%	NC_018286.1
<input type="checkbox"/> Phaeobacter gallaeciensis DSM 17395 chromosome, complete genome	588	2353	99%	2e-165	93%	NC_018290.1
<input type="checkbox"/> Roseobacter denitrificans OCh 114 chromosome, complete genome	582	582	99%	8e-164	93%	NC_008209.1
<input type="checkbox"/> Rhodobacter sphaeroides ATCC 17029 chromosome 2, complete sequence	571	1715	99%	2e-160	93%	NC_009050.1
<input type="checkbox"/> Rhodobacter sphaeroides ATCC 17029 chromosome 1, complete sequence	571	571	99%	2e-160	93%	NC_009049.1
<input type="checkbox"/> Rhodobacter sphaeroides 2.4.1 chromosome 2, complete sequence	571	1143	99%	2e-160	93%	NC_007494.1
<input type="checkbox"/> Rhodobacter sphaeroides 2.4.1 chromosome 1, complete sequence	571	571	99%	2e-160	93%	NC_007493.1
<input type="checkbox"/> Roseobacter litoralis Orch 149 chromosome, complete genome	560	560	99%	4e-157	92%	NC_015730.1
<input type="checkbox"/> Ruegeria sp. TM1040 chromosome, complete genome	555	555	99%	2e-155	92%	NC_008044.1
<input type="checkbox"/> Ruegeria sp. TM1040 mega plasmid, complete sequence	555	1665	99%	2e-155	92%	NC_008043.1
<input type="checkbox"/> Ruegeria sp. TM1040 plasmid unnamed, complete sequence	555	555	99%	2e-155	92%	NC_008042.1
<input type="checkbox"/> Jannaschia sp. CCS1 chromosome, complete genome	538	538	99%	2e-150	91%	NC_007802.1
<input type="checkbox"/> Dinoroseobacter shibae DEL 12 chromosome, complete genome	534	1069	98%	2e-149	91%	NC_009952.1
<input type="checkbox"/> Paritubaculum laramentivorans DS-1 chromosome, complete genome	525	525	98%	1e-146	91%	NC_009719.1

m17

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Shewanella putrefaciens 200.chromosome.complete.genome	697	5534	100%	0.0	98%	NC_017566.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella putrefaciens CN-32.chromosome.complete.genome	697	5534	100%	0.0	98%	NC_009438.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella sp. W3-18-1.chromosome.complete.genome	697	5511	100%	0.0	98%	NC_008750.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella sp. MR-7.chromosome.complete.genome	686	6076	100%	0.0	98%	NC_008322.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella baltica BA175.chromosome.complete.genome	680	6784	100%	0.0	97%	NC_017571.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella baltica OS223.chromosome.complete.genome	680	6790	100%	0.0	97%	NC_011663.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella baltica OS185.chromosome.complete.genome	680	6723	100%	0.0	97%	NC_009665.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella baltica OS155.chromosome.complete.genome	680	6762	100%	0.0	97%	NC_009052.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella oneidensis MR-1.chromosome.complete.genome	675	6076	100%	0.0	97%	NC_004347.2
<input type="checkbox"/>	Shewanella sp. MR-4.chromosome.complete.genome	675	6043	100%	0.0	97%	NC_008321.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella sp. ANA-3.chromosome.1.complete.sequence	669	5993	100%	0.0	97%	NC_008577.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella frigidimarina NCIMB 400.chromosome.complete.genome	647	5827	100%	0.0	96%	NC_008345.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella amazonensis SR2B.chromosome.complete.genome	625	5002	100%	1e-176	95%	NC_008700.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella denitrificans OS217.complete.genome	619	4935	100%	6e-175	95%	NC_007954.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella sediminis HAW-EB3.chromosome.complete.genome	575	6788	100%	1e-161	93%	NC_009831.1
<input type="checkbox"/>	Tolomonas auensis DSM 9187.chromosome.complete.genome	564	4509	100%	3e-158	92%	NC_012691.1
<input type="checkbox"/>	Pseudoalteromonas sp. SM9913.chromosome.I.complete.sequence	558	4470	100%	1e-156	92%	NC_014803.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella violacea DSS12.chromosome.complete.genome	558	7745	100%	1e-156	92%	NC_014012.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella piezotolerans WP3.chromosome.complete.genome	553	4426	100%	6e-155	92%	NC_011566.1
<input type="checkbox"/>	Shewanella woodii ATCC 51908.chromosome.complete.genome	553	5532	100%	6e-155	92%	NC_010506.1
<input type="checkbox"/>	Aeromonas veronii B565.chromosome.complete.genome	547	5477	100%	3e-153	91%	NC_015424.1
<input type="checkbox"/>	Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida A449.complete.genome	547	4929	100%	3e-153	91%	NC_009349.1

m18

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis NCPPB 382 chromosome, complete genome	627	1254	99%	4e-177	95%	NC_009480.1
<input type="checkbox"/> Leifsonia xyl subsp. xyl str. CTCB07 chromosome, complete genome	604	604	99%	2e-170	94%	NC_006087.1
<input type="checkbox"/> Intrasporangium calvum DSM 43043 chromosome, complete genome	588	1176	99%	2e-165	93%	NC_014830.1
<input type="checkbox"/> Microbacterium testaceum StrL8037, complete genome	579	1158	96%	1e-162	94%	NC_015125.1
<input type="checkbox"/> Athrobacter sp. Rve61a chromosome, complete genome	577	3463	99%	4e-162	93%	NC_018531.1
<input type="checkbox"/> Isoperitcola variabilis 225 chromosome, complete genome	577	1731	99%	4e-162	93%	NC_015588.1
<input type="checkbox"/> Cellulomonas fimi ATCC 484 chromosome, complete genome	577	1154	99%	4e-162	93%	NC_015514.1
<input type="checkbox"/> Athrobacter aureus TC1, complete genome	577	3463	99%	4e-162	93%	NC_008711.1
<input type="checkbox"/> Beutenbergia cavernae DSM 12333 chromosome, complete genome	573	1147	99%	5e-161	93%	NC_012669.1
<input type="checkbox"/> Micrococcus luteus NCTC 2685 chromosome, complete genome	571	1143	99%	2e-160	92%	NC_012803.1
<input type="checkbox"/> Streptomyces cattleya NRRL 8057 = DSM 46488 chromosome, complete genome	566	3397	99%	8e-159	92%	NC_017586.1
<input type="checkbox"/> Streptomyces cattleya NRRL 8057, complete genome	566	3397	99%	8e-159	92%	NC_016111.1
<input type="checkbox"/> Athrobacter phenanthrenivorans Sphe3 chromosome, complete genome	566	2264	99%	8e-159	92%	NC_015145.1
<input type="checkbox"/> Frankia sp. Eul1c chromosome, complete genome	566	1698	99%	8e-159	92%	NC_014668.1
<input type="checkbox"/> Athrobacter sp. FB24, complete sequence	566	2830	99%	8e-159	92%	NC_008541.1
<input type="checkbox"/> Cellulomonas flavigena DSM 20109 chromosome, complete genome	560	1121	99%	4e-157	92%	NC_014151.1
<input type="checkbox"/> Athrobacter chlorophenolicus A6 chromosome, complete genome	556	2784	99%	5e-156	92%	NC_011886.1
<input type="checkbox"/> Frankia sp. QA3 chromosome, whole genome shotgun sequence	555	555	99%	2e-155	92%	NZ_CM001489.1
<input type="checkbox"/> Celtvibrio gilvus ATCC 13127 chromosome, complete genome	555	1108	99%	2e-155	92%	NC_015871.1
<input type="checkbox"/> Kocuria rhizophila DC2201, complete genome	555	1665	99%	2e-155	92%	NC_010617.1
<input type="checkbox"/> Frankia sp. EANIpec chromosome, complete genome	555	1665	99%	2e-155	92%	NC_009921.1
<input type="checkbox"/> Streptomyces coelicolor A3(2) chromosome, complete genome	551	3308	96%	2e-154	92%	NC_003889.3

m19

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Candidatus Nitrospira defluvii, complete genome	741	741	100%	0.0	100%	NC_014355.1
<input type="checkbox"/> Frateuria aurantia DSM 6220 chromosome, complete genome	333	1334	83%	9e-89	85%	NC_017033.1
<input type="checkbox"/> Caldicellulosiruptor owensensis OL chromosome, complete genome	322	967	77%	2e-85	86%	NC_014657.1
<input type="checkbox"/> Rhodanobacter sp. 2APBS1, complete genome	316	633	83%	9e-84	84%	NC_020541.1
<input type="checkbox"/> Caldicellulosiruptor lactoaceticus 6A chromosome, complete genome	316	950	77%	9e-84	85%	NC_015849.1
<input type="checkbox"/> Terriglobus saanensis SP1PR4 chromosome, complete genome	316	316	83%	9e-84	84%	NC_014963.1
<input type="checkbox"/> Caldicellulosiruptor kristianssonii 177R1B chromosome, complete genome	316	950	77%	9e-84	85%	NC_014721.1
<input type="checkbox"/> Caldicellulosiruptor kronotskvensis 2002 chromosome, complete genome	316	939	77%	9e-84	85%	NC_014720.1
<input type="checkbox"/> Caldicellulosiruptor obsidiansis QB47 chromosome, complete genome	316	950	77%	9e-84	85%	NC_014392.1
<input type="checkbox"/> Candidatus Solibacter usitatus Ellin6076 chromosome, complete genome	316	633	83%	9e-84	84%	NC_008536.1
<input type="checkbox"/> Xanthomonas albilineans GPE PC73 chromosome, complete genome	315	630	84%	3e-83	84%	NC_013722.1
<input type="checkbox"/> Nitrosococcus watsonii C-113 chromosome, complete genome	313	626	100%	1e-82	81%	NC_014315.1
<input type="checkbox"/> Nitrosococcus oceani ATCC 19707 chromosome, complete genome	313	626	100%	1e-82	81%	NC_007484.1
<input type="checkbox"/> Terriglobus roseus DSM 18391 chromosome, complete genome	311	622	83%	4e-82	84%	NC_018014.1
<input type="checkbox"/> Granulicella mallensis MP5ACTX8 chromosome, complete genome	311	311	83%	4e-82	84%	NC_016631.1
<input type="checkbox"/> Caldicellulosiruptor hydrothermalis 108 chromosome, complete genome	311	934	77%	4e-82	85%	NC_014652.1
<input type="checkbox"/> Caldicellulosiruptor bescii DSM 6725 chromosome, complete genome	311	934	77%	4e-82	85%	NC_012034.1
<input type="checkbox"/> Hiopea maritima DSM 10411 chromosome, complete genome	309	619	100%	1e-81	81%	NC_015318.1
<input type="checkbox"/> Conexibacter woesei DSM 14684 chromosome, complete genome	307	307	99%	5e-81	81%	NC_013739.1
<input type="checkbox"/> Leptospirillum ferrichilum ML-04 chromosome, complete genome	305	611	83%	2e-80	83%	NC_018649.1
<input type="checkbox"/> Acidobacterium capsulatum ATCC 51196 chromosome, complete genome	305	305	83%	2e-80	83%	NC_012483.1
<input type="checkbox"/> Geobacter sulfurreducens PCA chromosome, complete genome	303	607	99%	7e-80	81%	NC_002939.5

m20

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Comamonas testosteroni CNB-2 chromosome, complete genome	641	1925	100%	0.0	96%	NC_012446.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax ebreus TPSY chromosome, complete genome	636	1909	100%	6e-180	95%	NC_011992.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	636	1909	100%	6e-180	95%	NC_008782.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. KKS102 chromosome, complete genome	619	1859	100%	6e-175	95%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophilius denitrificans K601 chromosome, complete genome	619	1859	100%	6e-175	95%	NC_015422.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophilius denitrificans BC chromosome, complete genome	619	1859	100%	6e-175	95%	NC_014910.1
<input type="checkbox"/> Ramilibacter talaouinensis TTB310 chromosome, complete genome	608	608	100%	1e-171	94%	NC_015677.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	608	1826	100%	1e-171	94%	NC_015128.1
<input type="checkbox"/> Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	608	608	100%	1e-171	94%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax citrulli AAC00-1 chromosome, complete genome	608	1826	100%	1e-171	94%	NC_008752.1
<input type="checkbox"/> Deiftia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	603	3015	100%	6e-170	94%	NC_015563.1
<input type="checkbox"/> Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	597	1792	100%	3e-168	94%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/> Deiftia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	597	2987	100%	3e-168	94%	NC_010002.1
<input type="checkbox"/> Leptothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	586	1173	100%	6e-165	93%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/> Rhodoferrax ferredoxin T118 chromosome, complete genome	586	1173	100%	6e-165	93%	NC_007908.1
<input type="checkbox"/> Burkholderiales bacterium JOSHii_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	580	580	100%	3e-163	93%	NZ_CM001438
<input type="checkbox"/> Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	580	1161	100%	3e-163	93%	NC_012791.1
<input type="checkbox"/> Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	575	1726	100%	1e-161	93%	NC_008786.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas naphthalenivorans CJ2 chromosome, complete genome	569	1139	100%	6e-160	92%	NC_008781.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	569	569	100%	6e-160	92%	NC_007948.1
<input type="checkbox"/> Azoarcus sp. RH72 chromosome, complete genome	531	2124	100%	3e-148	91%	NC_008702.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia sp. CCQE1001 chromosome 2, complete sequence	525	1576	100%	1e-146	90%	NC_015137.1

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/> Comamonas testosteroni CNB-2 chromosome, complete genome	630	1892	98%	3e-178	95%	NC_013446.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax ebreus Tpsy chromosome, complete genome	630	1892	98%	3e-178	95%	NC_011992.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. JS42 chromosome, complete genome	630	1892	98%	3e-178	95%	NC_008782.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophilus denitrificans K601 chromosome, complete genome	614	1842	98%	3e-173	95%	NC_015422.1
<input type="checkbox"/> Alicyclophilus denitrificans RC chromosome, complete genome	614	1842	98%	3e-173	95%	NC_014910.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax sp. KkS102 chromosome, complete genome	603	1809	98%	6e-170	94%	NC_018708.1
<input type="checkbox"/> Ramilbacter tataouinensis TT9310 chromosome, complete genome	592	592	98%	1e-166	94%	NC_015677.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax avenae subsp. avenae ATCC 19860 chromosome, complete genome	592	1776	98%	1e-166	94%	NC_015138.1
<input type="checkbox"/> Acidovorax citrulli AAC00-1 chromosome, complete genome	592	1776	98%	1e-166	94%	NC_008752.1
<input type="checkbox"/> Methylobium petroleiphilum PM1 chromosome, complete genome	586	586	100%	6e-165	93%	NC_008825.1
<input type="checkbox"/> Deiftia sp. Cs1-4 chromosome, complete genome	580	2904	98%	3e-163	93%	NC_015563.1
<input type="checkbox"/> Rubrivivax gelatinosus IL144, complete genome	575	1726	100%	1e-161	93%	NC_017075.1
<input type="checkbox"/> Deiftia acidovorans SPH-1 chromosome, complete genome	575	2877	98%	1e-161	93%	NC_010002.1
<input type="checkbox"/> Lestothrix cholodnii SP-6 chromosome, complete genome	564	1128	100%	3e-158	92%	NC_010524.1
<input type="checkbox"/> Burkholderiales bacterium JOSHI_001 chromosome, whole genome shotgun sequence	558	558	100%	1e-156	92%	NZ_CM001438.1
<input type="checkbox"/> Variovorax paradoxus S110 chromosome 1, complete sequence	553	1106	98%	6e-155	92%	NC_012791.1
<input type="checkbox"/> Verminephrobacter eiseniae EF01-2 chromosome, complete genome	553	1659	98%	6e-155	92%	NC_008786.1
<input type="checkbox"/> Rhodoferrax ferrireducens T118 chromosome, complete genome	553	1106	98%	6e-155	92%	NC_007908.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas naphthalenivorans CJ2 chromosome, complete genome	542	1084	97%	1e-151	92%	NC_008781.1
<input type="checkbox"/> Polaromonas sp. JS666 chromosome, complete genome	536	536	97%	6e-150	91%	NC_007948.1
<input type="checkbox"/> Azoarcus sp. RH72 chromosome, complete genome	508	2035	100%	1e-141	90%	NC_008702.1
<input type="checkbox"/> Burkholderia sp. CCGE1001 chromosome 2, complete sequence	503	1510	100%	6e-140	89%	NC_015137.1

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. FİLİZ BENGÜ DİLEK
Proje No:	112Y210
Proje Başlığı:	Triklosan?Nın Aktif Çamur Sistemindeki Akıbetinin Araştırılması Ve Mikrobiyal Kültür Değişimine Etkisinin İncelenmesi
Proje Türü:	Hızlı Destek
Proje Süresi:	12
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü. MÜHENDİSLİK F. ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/08/2012 - 01/08/2013
Onaylanan Bütçe:	29520.0
Harcanan Bütçe:	23990.52
Öz:	<p>Biyositler, kişisel bakım ve ev temizlik ürünlerine koruyucu ya da antiseptik amaçlı eklenmekte olup, günlük hayatta sıklıkla kullanılmakta ve böylece evsel atıksuların deşarjı sonucunda yüzeysel ve yeraltı su kaynaklarına ulaşmaktadır. Dolayısıyla, son yıllarda triklosan (TCS) gibi sıklıkla kullanılan biyositlere yüzey ve yeraltı sularında rastlanmış olup, bu durum söz konusu biyositlerin çevrede birikimi, etkisi ve arıtma sistemlerinde giderimi üzerine detaylı araştırmalar yapılması ihtiyacını doğurmuştur. Bu bağlamda, bu projede, TCS içeren atıksuların biyolojik arıtılabilirliğine ilişkin kapsamlı bir çalışma yapılmış ve farklı konsantrasyonlarda (100 ng/L-100 mg/L) TCS içeren atıksuların aktif çamur sistemlerinde arıtımı incelenmiştir. Bu kapsamda; laboratuvar ölçekli aktif çamur reaktörleri TCS?ye aklime olmuş ve olmamış kültürler ile işletilmiştir. Kütle dengesi kurularak TCS?nin akıbeti üzerine çalışmalar yapılmış, muhtemel yan ürün oluşumu izlenmiştir. KOİ gideriminin artan TCS konsantrasyonları ile azaldığı, ancak mikrobiyal kültürün, TCS?ye adapte edildiği koşullarda, adapte edilmediği koşullara göre, KOİ gideriminin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. TCS?nin bir kısmının çamura adsorplandığı ve adsorplanma yüzdesinin TCS konsantrasyonu ile arttığı görülmüştür. TCS nin biyolojik olarak parçalanma sonrası yan ürün olarak 2,4-DCP ve 2,4-DCA?ye dönüştüğü ve konsantrasyonlarının aklimasyon ile azaldığı gözlenmiştir. Kesikli reaktörlerde yapılan biyokinetik çalışmalar, kolay parçalanabilir substrat (pepton) varlığında, TCS konsantrasyonun 1-20 mg/L arasında olduğu koşullarda, pepton kullanımını etkilemediği; 50 mg/L nin üzerinde olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir. TCS varlığı mikrobiyal metabolizmanın biyosentezden enerji metabolizmasına yöneltmiştir. Ayrıca, TCS?nin mikrobiyal topluluk üzerine etkisi incelenmiş ve toplam 106 tür tespit edilmiştir. Aklime ve aklime olmamış kültürlerde ortak tür sayısının fazla olması ve türlerin baskınlık durumunun bilinmiyor olması nedeniyle, etkin türler hakkında net bir sonuca varmak ve kinetik bulgularla doğrudan ilişkilendirmek mümkün olamasa da, kültürün TCS?ye aklimasyonuna bağlı olarak değişebildiği ve bu durumun TCS arıtım düzeyi, kinetiği ve yan ürün oluşumunda önemli bir faktör olduğu anlaşılmıştır.</p>
Anahtar Kelimeler:	Triklosan, aktif çamur, KOİ giderimi, aklimasyon, kütle dengesi, mikrobiyal kompozisyon.
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır