

Meyve Suyu Endüstrisi Atıksuyundan Mikrobiyal Biyopolimer Üretiminin Araştırılması

Ezgi BEZİRHAN ARIKAN^{*1}, Havva Duygu ÖZSOY¹, Abdullah EROL¹,
Ayşe İSLAMOĞLU¹, Derya Nida KAYA¹, Sevinç ÇAKMAK¹

¹Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Mersin

Geliş tarihi: 10.08.2016

Kabul tarihi: 16.10.2016

Öz

Biyoplastiklerin, geleneksel plastikler kadar yaygın kullanılmamasının en önemli nedeni yüksek üretim maliyetleridir. Bu nedenle son zamanlarda yapılan çalışmalar, yenilenebilir kaynaklar yerine atıklardan/atıksulardan biyoplastik üretimine odaklanmıştır. Ayrıca atıksudan biyoplastik üretiminde, saf kültür yerine aktif çamur gibi farklı mikrobiyal topluluklardan oluşan sistemlerin tercih edilmesi sterilizasyon işlemini ortadan kaldırdığından toplam üretim maliyetinde de azalmaya neden olmaktadır. Bu çalışmada, meyve suyu endüstrisi atıksuyunda bulunan karışık mikrobiyal biyokütle tarafından biyopolimer üretimi araştırılmıştır. Bu amaçla, Mersin İli'nde bulunan bir meyve suyu endüstrisinin atıksuyu, laboratuvar ölçekli 5 L hacmindeki ardışık kesikli reaktöre 10 günlük alıkonma süresi ve 120 L/sa'lık debi ile beslenmiştir. İlk bölme kısa bolluk, ikinci bölme uzun kıtlık ve üçüncü bölme çöktürme ünitesi olarak tasarlanan ardışık kesikli reaktörden 10 günlük alıkonma süresinin sonunda alınan çamur deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Çalışmada, 1 g çamurun kuru kütlelerinden elde edilen biyopolimer %19 olarak saptanmıştır. Ayrıca, kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) giderim veriminin %77, AKM giderim veriminin ise %98 olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aktif çamur, Ardışık kesikli reaktör, Biyoplastik, Biyopolimer, Meyve suyu endüstrisi atıksuyu

Investigation of Microbial Biopolymer Production from Fruit Juice Industry

Abstract

Bioplastics have not been used as much as traditional plastics because of their cost of production. Therefore, recent research has focused on producing bioplastics from wastes/wastewater instead of renewable resources. Moreover, the preference for systems consisting of different microbial communities such as activated sludge instead of pure culture decrease to total production cost. In this study, biopolymer production was investigated by mixed microbial biomass in the fruit juice wastewater. Wastewater of fruit juice industry located in Mersin was fed with a laboratory-scale 5 L sequencing batch reactor (SBR) with 10 day retention time and a flow rate of 120 L/h. SBR was designed three compartment; first feast phase, second famine phase and third settling unit. At the end of retention time, sludge taken from settling unit was used for experimental studies. 19% biopolymer was obtained from dry mass of 1 g sludge. COD removal yield was 77%; SS removal yield was 98%.

Keywords: Activated sludge, Bioplastic, Biopolymer, Fruit juice industry wastewater, Sequencing batch reactor

*Sorumlu yazar (Corresponding author): Ezgi BEZİRHAN ARIKAN, ezgibezirhan@gmail.com

1. GİRİŞ

Plastikler, ahşap ve kağıt gibi malzemelere göre daha hafif ve ucuz olmaları nedeniyle endüstrideki tüketimi giderek artmaktadır. Ancak bu tüketimin getirdiği çevresel problemler, yasal baskılar ve plastiğin üretiminde kullanılan hammadde fiyatlarındaki dalgalanmalar plastik üretiminde alternatif arayışları gündeme getirmiştir. Son yıllarda geliştirilen alternatif malzemelerden biri de biyoplastiklerdir.

Biyoplastikler genellikle, şeker, mısır ve patates gibi [1,2] protein, lipid ve polisakkaritleri içeren yenilenebilir kaynaklardan [3,4] ya da bazı mikroorganizmalardan, alglerden ve mantarlardan üretilen [5,6] malzemelerdir.

Farklı türde mikroorganizmaların azotça fakir ve karbonca zengin atıksularda polihidroksi alkanat (PHA), polihidroksi bütirat (PHB) gibi biyopolimer türlerini üretebildikleri bilinmektedir. PHA'lar doğada bakterilerin şeker ya da yağları fermente etmesi ile üretilen düz zincirli poliesterlerdir. Bunlar, bakteriler tarafından karbon ve enerji depolamak için üretilmektedirler [7]. PHA'lar, ilaç ve hormonların yavaş salınımı için kullanılan kapsüller, kemik plakaları, sentetik kemik üretimi materyalleri, ameliyat iplikleri gibi medikal uygulamalarda ve boya üretimi, yalıtım malzemesi üretimi gibi endüstrilerde ham madde olarak kullanılabilir. Ayrıca herbisit ve insektisitlerin yavaş salınımları için tarımda, aroma ve kokunun zamanla ortaya çıkması amacıyla gıda endüstrisinde de kullanılabilir.

Yıllardır gündemden düşmeyen açlık problemleri nedeniyle biyoplastik üretiminde gıda hammaddelerinin kullanılması üreticiler ve tüketiciler tarafından büyük bir çelişki olarak görülmüştür. Aynı zamanda gıda hammaddelerinden biyoplastiğin üretim maliyetini artırdığı da düşünülmektedir. Üretim maliyetinin yüksek olması biyoplastiklerin geleneksel plastikler kadar yaygın kullanılmasını da engellemektedir. Çünkü geleneksel plastiklerin 1 kg'ı yaklaşık 1,2 € iken, biyoplastiklerin 1 kilogramı 3 ile 5 € arasında değişmektedir [8].

Bu nedenlerle, son zamanlarda yapılan araştırmalar biyoplastiklerin üretim maliyetlerinin azaltılması üzerine odaklanmıştır. Ayrıca, biyoplastiklerin üretimi için (1) daha ucuz substratların kullanımının, (2) yeni fermantatif teknolojik yöntemlerin [9,10], (3) biyoplastiğin geri kazanım ve saflaştırma yöntemlerinin [11] ve (4) sterilizasyon olmaksızın karışık kültürler ile üretim yöntemlerinin araştırılması gerekmektedir [12].

Çukurova Bölgesinde bulunan Mersin İli Türkiye'nin meyve ve sebze üretiminin ve işlenmesinin merkezlerinden biridir. Seracılık faaliyetlerinin geliştiği bu bölge, iklimi nedeni ile sebze ve meyveleri her sezonda yetiştirilebilme şansına sahiptir. Özellikle sebze ve meyve işleme sırasında açığa çıkan atık sular ve posa, yüksek karbon içeriği nedeni ile PHA ya da özellikle PHB türevleri üretebilen mikroorganizmaların çok düşük maliyet ile yetiştirilebilmesi için oldukça uygun bir substrat olarak görülmektedir. Çünkü meyve suyu üretim endüstrisi atık suları organik asitler ve mono/disakkaritler gibi düşük molekül ağırlıklı ve kolay parçalanabilir organik içeriği yüksek atık sular olarak bilinmektedirler.

Meyve işleme endüstrilerinde oluşan atıksuların arıtılmadan doğaya deşarj edilmesi, bir dizi çevresel probleme neden olabilir. Bu nedenle, yasal düzenlemelerin baskısı altında fiziksel, kimyasal, biyolojik arıtım tekniklerinden bir veya birkaçı kullanılarak arıtmaları gerçekleştirilir. Arıtım maliyetinin yüksek ya da düşük olması atığın karakterine bağlı olarak değişse de bu maliyet işletme sahiplerine ek yük getirdiğinden, ürünün satış fiyatına yansıtılmakta ve ürünün tüketiciye yüksek fiyattan ulaşmasına neden olmaktadır.

Aktif çamur gibi karışık mikrobiyal biyokütle içeren sistemlerin sterilizasyon gerektirmemeleri ve ucuz/karışık türde besin kaynağı (substrat) içeren atıksuyun kullanılması ile biyoplastik üretim maliyetini azaltılacağı öngörülmektedir. Bu nedenlerle bu çalışmanın amacı, meyve suyu endüstrisi atıksuyunun giderimini sağlarken, aynı zamanda aktif çamur prosesi ile bu atıksudan biyopolimer üretimini araştırmaktır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Çalışmada biyopolimer üretimi için gereken mikrobiyal biyokütlenin eldesinde meyve suyu endüstrisi atık suyu kullanılmıştır. Meyve suyu endüstrisi atıksuyu Mersin İlinde bulunan Anadolu Etap Tarım ve Gıda Ürünleri San. ve Tic. AŞ'den temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan aktif çamur ise aynı işletmenin atıksu arıtma tesisinin havalandırma havuzundan temin edilmiştir. Bütün çalışmalar Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği su ve atıksu laboratuvarı ile biyoteknoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

2.2. Metod

2.2.1. Atıksu Karakterizasyonu

Meyve suyu endüstrisi atık suyunun karakterizasyonu amacı ile pH, iletkenlik, sıcaklık, Askıda katı madde (AKM) ve Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) analizleri standart metotlara göre gerçekleştirilmiştir [13].

2.2.2. Ardışık Kesikli Reaktör Çalışmaları

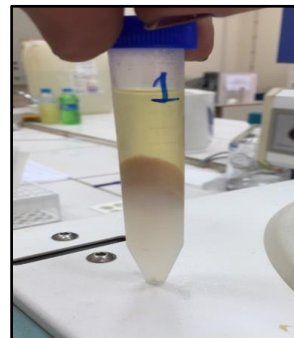
Çalışmalar, laboratuvar ölçekli üç kademedan oluşan 5L hacimli reaktörlerde gerçekleştirilmiştir. İlk kademe mikroorganizmaların biyokütle artışının gerçekleşmesi için, atıksu 120 L/sa'lik debi ve 10 gün'lük alıkonma süresi ile beslenmiştir. Reaktörün ikinci kademesi, birinci kademedan gelen azot oranı düşük atıksu ile beslenmiştir. Sistemin her iki kademesi de yeterli çözülmüş oksijenin sağlanması amacıyla havalandırılmış ve tam karışım sağlanmıştır. Ayrıca reaktörün her iki kademesine de toplamda 875 mL olmak üzere aktif çamur ilavesi yapılmıştır. Alıkonma süresi içerisinde 1-2-3-5-8-9 ve 10. günlerde meyve suyu atıksuyunda arıtımın gerçekleştirilip gerçekleştirilmediğinin tespiti amacı ile KOİ, AKM, pH ve iletkenlik parametreleri de belirlenmiştir.

Alıkonma süresinin sonunda, biyokütlenin hasatı çöktürme amaçlı tasarlanmış olan reaktörün üçüncü kademesinden çöktürülerek gerçekleştirilmiştir. Hasat edilen biyokütle, biyopolimer ekstraksiyon çalışmalarında kullanılmıştır.

2.2.3. Biyopolimer Ekstraksiyon Analizleri

Hasat edilen biyokütle santrifüj edilerek (6000 rpm, 20 dakika) sıvı fazdan ayrılmıştır. Santrifüj sonrası toplanan biyokütle tartıldıktan (yaş ağırlık) sonra 80°C'de 24 saat süre ile etüvde kurutularak sabit tartıma getirilmiş ve kuru kütle saptanmıştır [14].

Ardından elde edilen kuru kütlede biyopolimerin gravimetrik tayini [15] gerçekleştirilmiştir; 1 g kuru kütle hassas terazide tartılarak 50 mL'lik santrifüj tüpüne konmuş ardından üzerine 12,5 mL sodyum hipoklorit ve 12,5 mL kloroform eklenerek ve vortekslenmiştir. Vortekslenen numune 30°C'de su banyosunda 90 dk bekletilmiş, 90 dk'nın sonunda 4000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda oluşan 3 tabakadan (Şekil 1) en alt faz pipetle dikkatlice alınarak bir tüpe konulmuştur. 7/3 oranında hazırlanan metanol/su karışımından 1,25 mL bu fazın üstüne eklenmiş ve filtre edilmiştir. Tüpün ağzı açık kalacak şekilde 48 saat (çözücülerin uçurulması için) çeker ocakta bekletilmiş, 48 saatin sonunda elde edilen peletlerin tartımı yapılmıştır. 1 g kuru kütlede elde edilen biyopolimer miktarı yüzde olarak sonuçlandırılmıştır.



Şekil 1. Biyopolimerin gravimetrik tayini sırasında oluşan üç faz

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Atıksu Karakterizasyon Sonuçları

Standart metotlara göre belirlenen meyve suyu endüstrisi giriş atık suyunun karakterizasyon sonuçları Çizelge 1’de gösterilmektedir.

Çizelge 1. Meyve işleme endüstrisi giriş atıksuyu parametreleri

Parametreler	Değer
AKM (mg/L)	7554
KOİ (mg/L)	7191,4
pH	6,24
İletkenlik (µs/cm)	272

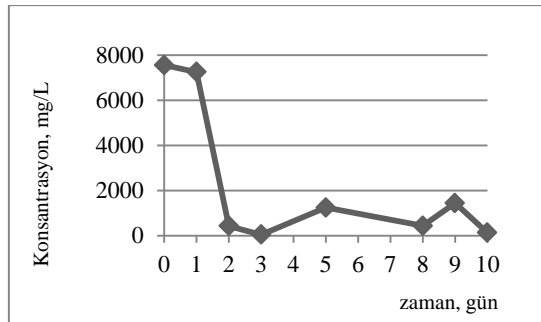
3.2. Ardışık Kesikli Reaktör Çalışmaları

Üç kademeli 5L’lik reaktörün alıkonma süresi içerisinde 1-2-3-5-8-9 ve 10. günlerinde meyve suyu atıksuyunda arıtımın gerçekleştirilip gerçekleştirilmediğinin tespiti amacı ile gerçekleştirilen KOİ, AKM, pH ve iletkenlik analizlerinin sonuçları Çizelge 2’de gösterilmektedir.

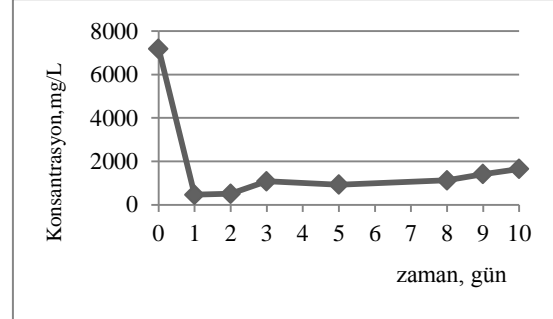
Çizelge 2. Meyve işleme endüstrisi giriş atıksuyu parametreleri

Parametreler	1. gün	2. gün	3. gün	5. gün	8. gün	9. gün	10. gün
AKM (mg/L)	7250	426,6	43,93	1243	436	1443	130
KOİ (mg/L)	464,2	509,7	1081,1	925,1	1124	1412,6	1649,4
pH	8,8	8,6	6,94	7,62	6,55	7,26	7,35
İletkenlik (µs/cm)	315	391	262	351	362	297	265

KOİ ve AKM parametrelerinin zamana bağlı değişimleri ise Şekil 2 ve Şekil 3’de gösterilmektedir.



Şekil 2. AKM’nin zamana bağlı değişim grafiği



Şekil 3. KOİ’nin zamana bağlı değişim grafiği

Analiz sonuçlarına göre reaktöre yükleme yapıldıktan 1 gün sonra KOİ gideriminde %93 oranında, alıkonma süresi sonunda ise %77 oranında giderim belirlenmiştir. Reaktöre yükleme yapıldıktan 2 gün sonra ise AKM gideriminde %94, alıkonma süresinin sonunda ise %98 verim elde edildiği tespit edilmiştir. AKM ve KOİ parametrelerinin zamanla değişiklik göstermesi atıksudaki biyokütlenin zamanla artışı ve azalışına bağlanmaktadır.

3.3 Biyopolimer Ekstraksiyon Analizi Sonuçları

Reaktörden hasat edilen biyokütlenin kuru kütlesine uygulanan gravimetrik biyopolimer tayini sonucunda 1 g kuru biyokütleden 0,19 g biyopolimer elde edilmiştir. Buna göre meyve suyu endüstrisi atıksuyu ile beslenen tam karışimli reaktörde biyopolimer elde etme verimi %19 olarak tespit edilmiştir.

4. SONUÇ

DeneySEL çalışmalar sonucunda, 120 L/sa’lik debi ile tam karışimli ardışık kesikli reaktöre beslenen meyve suyu endüstrisi atıksuyunun 10 gün’lük alıkonma süresi sonunda %77 oranında KOİ giderimi, %98 oranında ise AKM giderimi sağlanmış, %19 oranında da biyopolimer elde edildiği tespit edilmiştir. Alıkonma süresinin kısaltılması ile arıtım veriminin de artacağı düşünülmektedir. Biyopolimer ekstraksiyon yöntemlerinin biyopolimer eldesinde önemli rol oynadığı düşünülerek, çalışmanın farklı yöntemlerle yinelenmesi ile elde edilen

biyopolimer yüzdesinin artırılacağı düşünülmektedir. Dinamik şartlarda zenginleştirilen biyokütlenin daha yüksek organik yüklemelere maruz bırakılması ile daha fazla biyopolimer depolayacağı da düşünülmektedir. Ayrıca çalışma sonunda elde edilen biyopolimer türünün (PHA, PHB vb.) belirlenmesi de önerilmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. Sarasa, J., Gracia, J.M., Javierre, C., 2008. Study of the Biodisintegration of a Bioplastic Material Waste, *Bioresource Technology*, 100, 3764-3768.
2. Karana, E., 2012. Characterization of 'Natural' and 'High-quality' Materials to Improve Perception of Bioplastics, *Journal of Cleaner Production*, 37, 316-325.
3. Averous, L., 2004. Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: a Review, *J. Macromol. Sci. C Polym. Rev.*, 44, 231-274.
4. Siracusa V., Rocculi P., Romani S., Dalla Rosa M., 2008. Biodegradable Polymers for Food Packaging: a Review, *Trends Food Science Technology*, 19, 634-643.
5. Luengo, J.M., Garcia, B., Sandoval, A., Naharro, G., Olivera, E.R., 2003. Bioplastics from Microorganisms, *Current Opinion in Microbiology*, 6, 251-260.
6. Özdemir, N., Erkmén, J., 2013. Yenilenebilir Biyoplastik Üretiminde Alglerin Kullanımı, *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi/The Black Sea Journal of Sciences*, 3(8), 89-104.
7. Başak B., İnce O., 2011. Azot Kısıtlı Atıksulardan Biyoplastik Üretimi için Yeni Bir Aktif Çamur Prosesi, *İTÜ Dergisi, Su Kirliliği ve Kontrolü*, 21(1), 45-54.
8. Song, J.H., Murphy, R., Narayan, J.R., Davies, G.B.H., 2009. Biodegradable and Compostable Alternatives to Conventional Plastics, *Phil. Trans. R. Soc.* 364, 2127-2139.
9. Choi, J., Lee, S.Y., 1999. Efficient and Economical Recovery of Poly (3-hydroxybutyrate) from Recombinant *Escherichia coli* by Simple Digestion with Chemicals, *Biotechnol. Bioeng.*, 62(5), 546-553.
10. Lee, S.Y., 1996. Plastic Bacteria? Progress and Prospects for Polyhydroxyalcanoate Production in Bacteria, *Trends Biotechnol.*, 14(11), 431-438.
11. Shang, L., Jiang, M., Chang, H.N., 2003. Poly (3-Hydroxybutyrate) Synthesis in Fedbatch Culture of *Ralstonia Eutropha* with Phosphate Limitation under Different Glucose Concentrations, *Biotechnol. Lett.*, 25, 1415-1419.
12. Bosco, F., Chiampo, F., 2010. Production of Polyhydroxyalcanoates (PHAs) using Milk Whey and Dairy Wastewater Activated Sludge Production of Bioplastics using Dairy Residues, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 109(4), 418-421.
13. APHA, AWWA, WPCF., 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Ed., Washington D.C.
14. Mitra, D., Rasmussen, M.L., Chand, P., Chintareddy, V.R., Yao, L., Grewell, D., Verkade, J., Wang, T., van Leeuwen, J.H., 2012. Value-added Oil and Animal Feed Production from Corn-ethanol Stillage using the Oleaginous Fungus *Mucor Circinelloides*, *Biores. Technol.*, 107, 368-375.
15. Wang, B., Sharma-Shivappa, R.R., Olson, J.W., Khan, S.A., 2013. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) by *Alcaligenes Latus* using Sugarbeet Juice, *Industrial Crops and Products*, 43, 802-811.

