

# Tilosin ve eritromisinin anaerobik/aerobik ardışık sistemde arıtılabilirliği ve toksisite giderimi

**Hakan ÇELEBİ, Delya SPONZA\***

DEÜ Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 35160, Buca, İzmir

## Özet

*Bu çalışmada tilosin ve eritromisin antibiyotiklerinin arıtılabilirliği Anaerobik Çok Kademeli Yatak Reaktör (AÇKYR) ve onu takip eden aerobik Sürekli Karıştırmalı Tank Reaktör (SKTR) sistemi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada artan konsantrasyonlarda (50,100,150,200,250 mg/l) reaktöre verilen tilosin ve eritromisinin KOİ, antibiyotik giderim verimleri ve AÇKYR'de gaz üretim miktarları üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca, artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarının AÇKYR'nin bölmelerinde ve çıkışında pH ve Toplam Uçucu Yağ Asidi (TUYA) değişimlerine etkileri incelenmiştir. Tilosin ve eritromisin ile sürekli işletim boyunca atıksu debisi 2 l/gün ve Hidrolik Bekleme Süresi (HBS) ise 2.25 günde AÇKYR reaktörde sabit tutulmuştur. KOİ giderim verimleri, AÇKYR'de eritromisin için %70–100 ve tilosin için ise %80-95 olarak bulunmuştur. Ardışık anaerobik/aerobik reaktör sisteminde tüm tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarında yaklaşık %95 KOİ ve %100 antibiyotik giderim verimleri elde edilmiştir. AÇKYR'de üretilen toplam gaz ve metan gazı miktarı tilosin ile eritromisin için sırasıyla maksimum 138 l/gün ve 89.7 l/gün ile 144 l/gün ve 100.8 l/gün olarak bulunmuştur. Toplam gaz miktarı antibiyotik konsantrasyonlarının artırılmasıyla bir değişim göstermemiştir. Ancak, metan gaz içeriği %70'den %60'a düşmüştür. Anaerobik reaktörde seçilen her iki antibiyotik için çıkış pH değerinin 7.1-7.9 ile optimum değerler arasında olduğu, Toplam Uçucu Yağ Asit (TUYA) konsantrasyonunun ise sıfır yada sıfıra yakın olduğu bulunmuştur. AÇKYR/SKTR ardışık sistem giriş ve çıkışlarında Daphnia magna ile yapılan akut toksisite testleri sonucunda ise anaerobik ve aerobik reaktör giriş örneklerinde tilosin ve eritromisin için EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 52 mg/l ve 15 mg/l olarak hesaplanmıştır. Eritromisin için anaerobik ve aerobik reaktör girişlerinde EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 73 mg/l ve 12 mg/l olarak hesaplanmıştır. Anaerobik ve aerobik reaktör çıkışlarında ise EC<sub>50</sub> değerleri tilosin için 15 mg/l ve 0 mg/l iken eritromisin antibiyotiği için ise EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 12 mg/l ve 3 mg/l'dir. AÇKYR/SKTR ardışık reaktör eritromisin ve tilosin antibiyotiklerinin akut toksisitelerini sırasıyla sırasıyla %99 ve % 100 oranında gidermiştir.*

**Anahtar kelimeler:** Anaerobik Çok Kademeli Yatak Reaktör (AÇKYR), anaerobik/aerobik ardışık sistem, Daphnia magna (su piresi), eritromisin, tilosin.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar Delya SPONZA. delya.sponza@deu.edu.tr; Tel: (232) 412 71 19.

Makale metni 30.10.2009 tarihinde dergiye ulaşılmış, 02.11.2009 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2010 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## Treatability of erythromycin and tylosin in sequential anaerobic/aerobic reactor system and toxicity removal

### Extended abstract

The successful application of anaerobic technology for the treatment of industrial wastewaters depends on the development of high rate bioreactors. The anaerobic multi-chamber bed reactor (AMCBR) which is a high rate bioreactor has many advantages compared to the anaerobic reactors such as simple design due to no special gas or sludge separation, lower sludge generation, longer biomass retention times, lower hydraulic retention times and higher stability to organic and hydraulic shock loads. The most significant advantage of the AMCBR is its ability to separate acidogenesis and methanogenesis longitudinally down the reactor. This can permit different bacterial population to dominate each compartment, acidification is predominating in the first compartment section and methanogenesis is dominant in the third compartment. The separation of acetogenic/methanogenic phases causes an increase in protection against toxic materials and higher resistance to changes in environmental parameters such as pH, temperature and organic loadings.

The pharmaceuticals, including their precursor compounds and transformation products, are discharged into the environment intentionally and unintentionally during manufacturing processes and through consumption or disposal of used and unwanted drugs. Pharmaceuticals have been detected in groundwater, surface water, and stream as well as in sludge, soil and sediment samples. Antibiotics are regarded as persistent contaminants due to their continual introduction into the ecosystem. The occurrence of antibiotics in the environment has therefore received considerable attention. The activities such as sewage, medical wastes, medicine production, food production and livestock production are the sources of antibiotics. Macrolide groups of antibiotics have a wide area of usage in human healthy and veterinary medicine. Specially, Tylosin and Erythromycin are a broad spectrum antibiotics. Generally, they are used for growing of livestock in health (for *Streptococci*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus* to be killed)

and in veterinary healthy. Since the wastewater containing antibiotics have low  $BOD_5/COD$  ratios, it is thought that this ratio could be increased by using sequential anaerobic multi-chamber bed reactor (AMCBR)/aerobic completely stirred tank reactor (CSTR) system.

In this study the anaerobic treatability of tylosin and erythromycin antibiotics were investigated using a sequential anaerobic (AMCBR)/aerobic (CSTR) reactor system. The effects of increasing tylosin and erythromycin antibiotics concentrations (50, 100, 150, 200, 250 mg/l) on the COD and antibiotics removal efficiencies, gas productions in anaerobic multichamber bed (AMCBR) reactor were investigated. Moreover, the effects of increasing tylosin and erythromycin concentrations on the change of pH, volatile fatty acid accumulation were investigated in the effluent and in the compartments of AMCBR reactor. The hydraulic retention times (HRT) and flow rates were kept constant as 2.25 day and 2 l/day, respectively, in the AMCBR reactor through continuous operation. The COD and antibiotics removal efficiencies were obtained as 95% and 100% in the sequential anaerobic/aerobic reactor system at all tylosin and erythromycin concentrations. Total gas and methane gas in AMCBR were found to be approximately 144 l/day and 100.8 l/day at all erythromycin concentrations and 138 l/day and 89.7 l/day at all tylosin concentrations, respectively. Total gas production did not show a change with increased tylosin and erythromycin concentrations. However, methane gas percentage decreased from 70% to 60%. pH values in the effluent and in the compartment of the anaerobic reactor were between optimum values as 7 and 7.9. The TVFA values in the effluent of AMCBR reactor were found as zero. The acute toxicity of antibiotics were monitored with *Daphnia magna* acute toxicity test. The results of this test showed that the toxicity in both antibiotics decreased after anaerobic AMCBR reactor system. After anaerobic pre-treatment and sequential aerobic treatment if the treated wastewaters are diluted at ratios of 3/4 the effluent wastewater did not show toxicity and could be given to the receiving area.

**Keywords:** Anaerobic multi-chamber bed reactor, anaerobic/aerobic sequential system, *daphnia-magna* (water fleas), erythromycin, tylosin.

## Giriş

Antibiyotikler çeşitli kullanımlar sonucu çevreye bırakılmakta ve taşınım prosesleri ile insanlara ulaşmaktadırlar. Antibiyotiklerin insan vücudu tarafından az miktarda emildiği ve bunun sonucunda hiç değişmeden ya da dönüşerek idrar ve dışkı olarak vücuttan atıldığı bilinmektedir. Eritromisin ve tilosini de içeren Makrolid grubu antibiyotikler gram pozitif ve negatif bakterilere karşı etkin olup veterinerlik uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Wang vd., 2006). Eritromisin *Saccharopolyspora erythraea* tarafından üretilmiş, tarımsal faaliyetlerde ve veterinerlikte yoğun olarak uygulanmaktadır (Torano ve Guchelaar, 1998). Tilosin, *Streptomyces fradiae* tarafından üretilen bir antibiyotik olup tarımsal faaliyetler ile kümes hayvanlarının tedavisinde uygulanmaktadır (Hassan vd., 2008).

Atıksu arıtma sistemlerinde antibiyotiklerin aşırı tüketimi ile konsantrasyonlarının arttığı ve 670-2900 ng/l aralığında olduğu saptanmıştır (Gulkowska v.d.,2008). Anaerobik yatak reaktör kullanılarak ilaç sanayi atıksularının arıtımı sonucunda %98 KOİ verimi elde edilmiştir (Nandy ve Kaul, 2001). Shimada ve diğerleri (2007) anaerobik ardışık kesikli reaktör kullanarak tilosin içeren atıksularda yaptıkları çalışmada KOİ giderme verimini %95.7-99.5 arasında saptamışlardır. Chelliapan ve diğerleri (2006) tilosin içeren atıksuların arıtımında yukarı akışlı anaerobik reaktör kullanarak %90 KOİ ve %97 tilosin giderimi elde etmişlerdir. Amin ve diğerleri (2006) eritromisin içeren atıksuların arıtımında ardışık kesikli reaktörde %95 KOİ verimi belirlemişlerdir.

Bu çalışmada ardışık AÇKYR/SKTR reaktör sistem kullanılarak artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarının KOİ, antibiyotik giderim verimleri, metan ve toplam gaz üretimleri ve metan gazı yüzdesi üzerine etkileri incelenmiştir. Ayrıca AÇKYR'nin her bölmesinde pH ve toplam uçucu yağ asidi değerleri belirlenmiştir. Arıtma sonrası *Daphnia magna* kullanılarak akut toksisite değişimleri incelenmiştir.

## Materyal ve yöntem

### Kullanılan Sentetik Atıksu

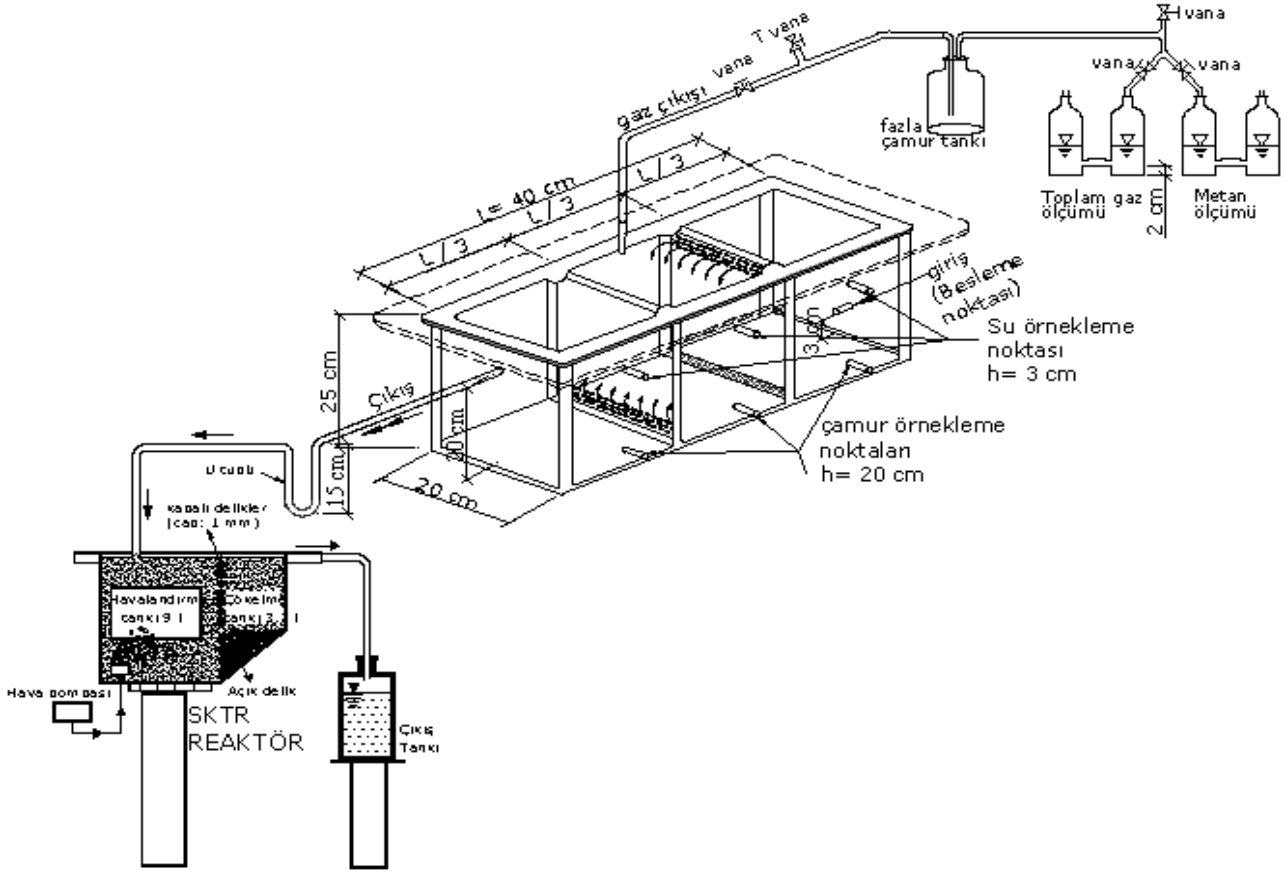
Tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarının yanı sıra karbon ve enerji kaynağı olarak 4000 mg/l KOİ değerini verecek şekilde melas, Vanderbilt mineral ortamı besi maddesi olarak kullanılmıştır. Ayrıca AÇKYR'de *metan archae* aktivitesinin sağlanması için alkalinite ve pH, 3600–4800 mg/l NaHCO<sub>3</sub> ilavesi ile sağlanmıştır. Anaerobik koşullar için ise sodyum tiyoglikolat kullanılmıştır (Speece, 1996).

### Deney sistemi ve aşı mikroorganizma

Etkin hacmi 4.5 litre ve üç bölmeye ayrılmış olan bir AÇKYR ve onu takip eden SKTR reaktör sistemi kullanılmıştır. Laboratuvar koşullarında kurulan model reaktör sistemi Şekil 1'de gösterilmiştir. Aerobik (SKTR) reaktör havalandırma ve çökeltim bölmeleri olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. AÇKYR reaktör çelik konstrüksiyon olup, reaktörün alt kısmını tamamen kaplayan bir elektronik ısıtıcının üzerine yerleştirilmiş ve sıcaklık 37°C'ye ayarlanmıştır. AÇKYR için aşı çamur İzmir'de Pakmaya Fabrikası'nın atıksularını arıtan yukarı akışlı çamur yatak reaktörün metanojenik tankından alınmış olup askıda katı madde konsantrasyonu 65 g/l olarak saptanmıştır. Aerobik tam karışım reaktör ise yine Pakmaya Fabrikası'nın aerobik reaktöründen alınan aktif çamur ile aşılacaktır ve askıda katı madde 3.5 g/l olarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan anaerobik ve aerobik reaktör ile ilgili işletim parametreleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. AÇKYR/SKTR reaktör için işletme koşulları

İşletme Parametreleri	AÇKYR	SKTR
HBS (gün)	2.25	1.15
Org. Yük. Hızı (gKOİ/gün)	1.78	0.88
Debi (l/gün)	2.00	2.00
Çamur yaşı (gün)	96	20
Reaktör hacmi (l)	4.5	9
Yük. İnd. Potansiyeli(mV)	-330	+90
Sıcaklık (°C)	37 ±1	20 ±1
F/M oranı (gKOİ/gUAKM. gün)	0.36	0.04



Şekil 1. Anaerobik (AÇKYR)/aerobik (SKTR) ardışık reaktör sistemi

## Analitik yöntemler

KOİ ölçümleri kapalı reflüks kolorimetrik yöntemi ile spektrofotometrede yapılmıştır (APHA-AWWA, 2005). Toplam gaz oluşan gazın doymuş NaCl ve %2'lik  $H_2SO_4$  içeren sıvıdan (Beydilli vd., 1997), metan ise oluşan gazın %3'lük NaOH içeren sıvıdan (Raz0-Flores vd., 1997) geçirilmesi ile günde yarım saat yada 1 saat süre ile izlenerek hesaplanmıştır. Metan gaz yüzdesi ise; Dräger Pac®Ex metan analiz cihazı ile ölçülmüştür. pH WTW330 marka pH-metre ile ölçülmüştür. Toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) titrimetrik olarak bulunmuştur (Anderson ve Yang, 1992). Akut toksisite testleri nötral pH'ta yapılmış olup AÇKYR ve SKTR'nin giriş ve çıkış noktalarından alınan örneklerle uygulanmıştır. *Daphnia magna*'lar toksisite testinde kullanılmıştır (APHA-AWWA, 2005). Agilent-1100 marka HPLC kullanılarak tilosin için;  $C_{18}$  (250x10mm, 10 $\mu$ m) kolon, (35:65) asetonitril+amonyum asetat mobil fazı,

290 nm ve eritromisin;  $C_{18}$  (125x3mm, 5 $\mu$ m), (30:70/95:5) asetonitril+amonyum asetat ve 287 nm UV detektör kullanılmıştır (Hu vd.,2008).

## Sonuçlar

### Anaerobik/aerobik reaktör sisteminde KOİ uzaklaştırma verimi

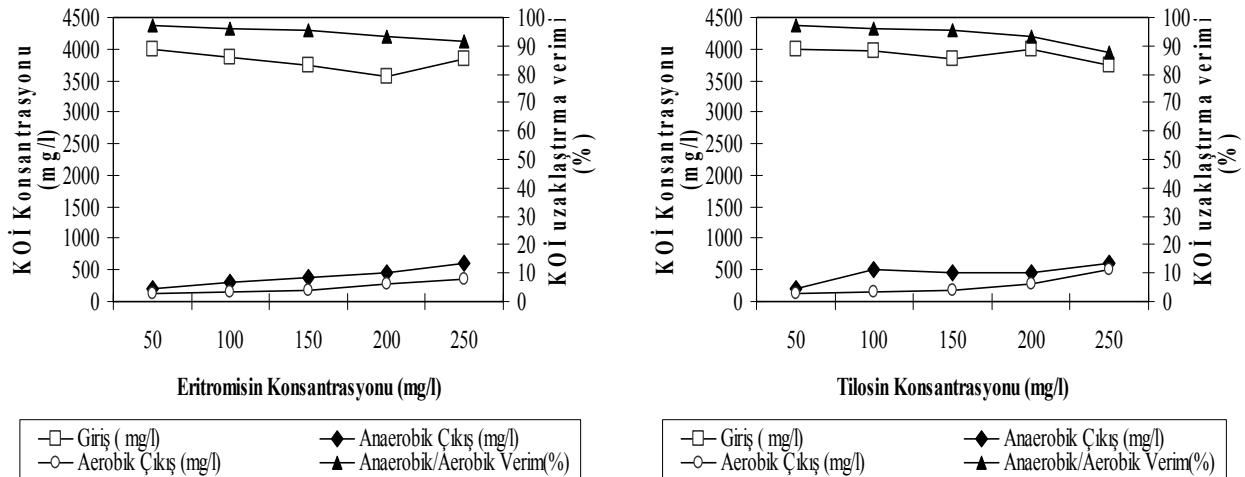
Bu çalışmada artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarında anaerobik (AÇKYR) /aerobik (SKTR) reaktör sisteminde KOİ uzaklaştırma verimleri incelenmiştir. Şekil 2 'de görüldüğü üzere yaklaşık 4000 mg/l giriş KOİ konsantrasyonuna sahip sentetik atıksu, tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarının 50 mg/l'den 250 mg/l'ye artırıldığında anaerobik reaktörde KOİ giderim verimi %83-95 arasında kalmıştır. Anaerobik/aerobik reaktör sisteminde toplam KOİ uzaklaştırma veriminin ise artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarına bağlı olarak %87-97 arasında kaldığı ve değişmediği gözlenmiştir. Minimum 50 mg/l tilosin ve

eritromisin konsantrasyonunda anaerobik reaktörde %95 KOİ giderim verimine ulaşılırken, anaerobik reaktör çıkışında KOİ konsantrasyonu tilosin ve eritromisin için 200 mg/l olarak bulunmuştur (Şekil 2). Aerobik reaktörden sonra KOİ konsantrasyonu sırasıyla 130 ve 120 mg/l değerine düşmüş ve toplam KOİ giderim verimi %97'ye ulaşmıştır. Maksimum eritromisin konsantrasyonunda ise 3872 mg/l olan giriş KOİ konsantrasyonu anaerobik arıtım sonrası 765 mg/l'ye, anaerobik arıtımı takiben aerobik arıtım sonrası da 400 mg/l'ye düşmüş ve toplam KOİ giderim verimi %90 olarak bulunmuştur. Maksimum tilosin konsantrasyonunda ise 3742 mg/l olan giriş KOİ değeri anaerobik arıtım sonrası 612 mg/l'ye ve anaerobik arıtımın sonrasında aerobik arıtım ile 502 mg/l'ye düşmüş ve toplam KOİ giderim verimi %87 olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Bu sonuçlar bize melasın AÇKYR'de karbon ve enerji kaynağı olarak mikroorganizmalar tarafından kullanıldığını ve de ayrıca tilosin ve eritromisinin de melasla birlikte yardımcı substrat olarak tüketildiğini göstermektedir. Anaerobik/aerobik ardışık sistemin AÇKYR reaktöründe KOİ'nin büyük oranda giderildiği gözlenmiştir. Toplam KOİ'nin %95'inin anaerobik reaktörde geri kalan %2'lik kısmının ise aerobik reaktörde giderildiği gözlenmiştir. Toplam sistemde aerobik reaktörün

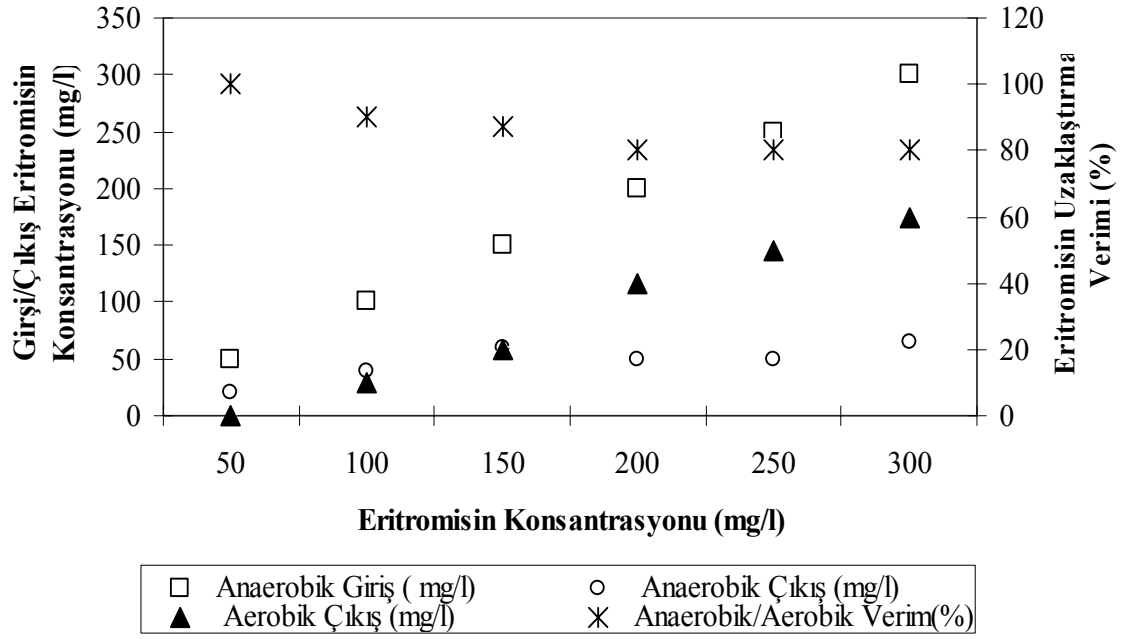
toplam KOİ giderimine etkisinin az olduğu saptanmıştır.

#### Anaerobik/aerobik reaktör sisteminde tilosin ve eritromisinin uzaklaştırma verimi

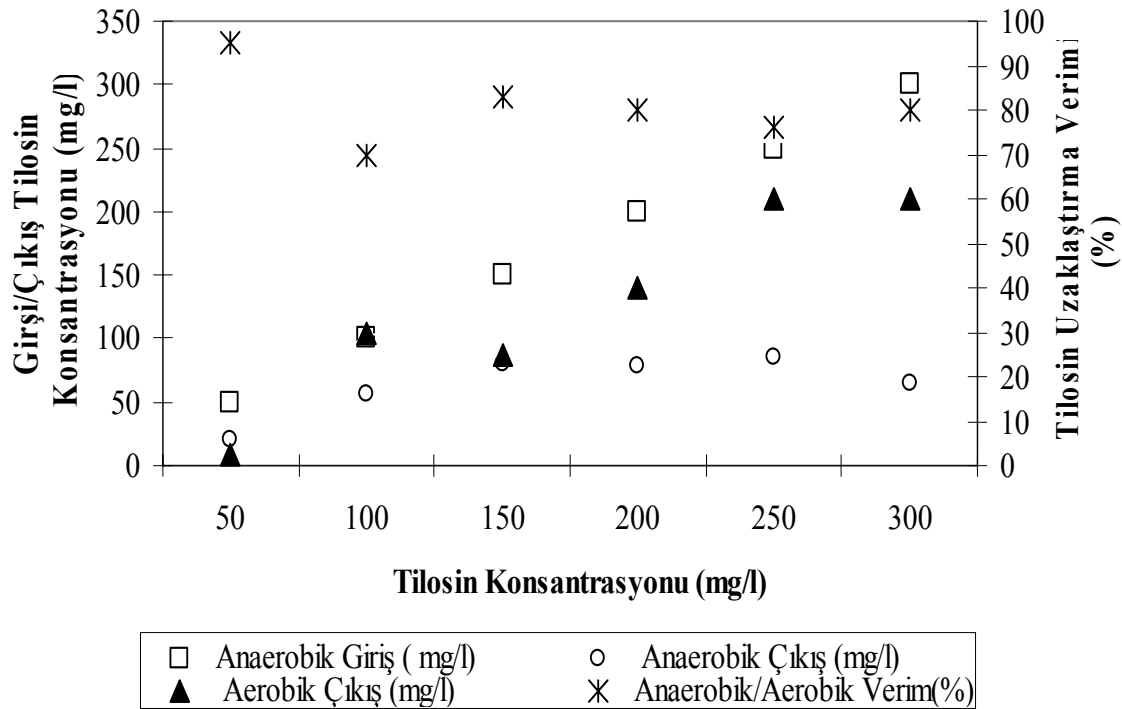
Şekil 3a ve b'de tilosin ile eritromisin giderim verimleri gösterilmiştir. Giriş tilosin ve eritromisin konsantrasyonları 50 mg/l'den 100,150,200,250 mg/l'ye kadar artırılmış olup anaerobik reaktör çıkışında sırası ile 20-40-60-50-50 mg/l eritromisin ve 20-57-80-79-85 mg/l tilosin konsantrasyonlarına rastlanmıştır. Aerobik reaktör çıkışında ise 0-10-20-40-30 mg/l eritromisin ile 2.5-30-25-40-60 mg/l tilosin konsantrasyonlarına ulaşılmıştır. Anaerobik/aerobik sistemde giderim verimi her konsantrasyonda sırasıyla eritromisin için %100, %90, %87, %80, %80 ve %80 iken tilosinde ise %95, %70, %83, %80 ve %76 olarak bulunmuştur (Şekil 3a,b). Bu sonuçlar anaerobik şartlar altında tilosin ve eritromisinin AÇKYR'de büyük miktarda arıtılabilirliğini ve kalan konsantrasyonlarının da aerobik sistemde giderildiğini göstermektedir. KOİ'nin aksine eritromisin ve tilosinin düşük yüzdelerinin anaerobik reaktörde giderildiği gözlenmiştir. Eritromisinin anaerobik reaktörde %43-66 ve aerobik reaktörde ise %30-88 oranlarında giderildiği gözlenmiştir. Tilosin için ise anaerobik reaktörde %60-80 ve aerobikte %67-100 arasında giderim gözlenmiştir.



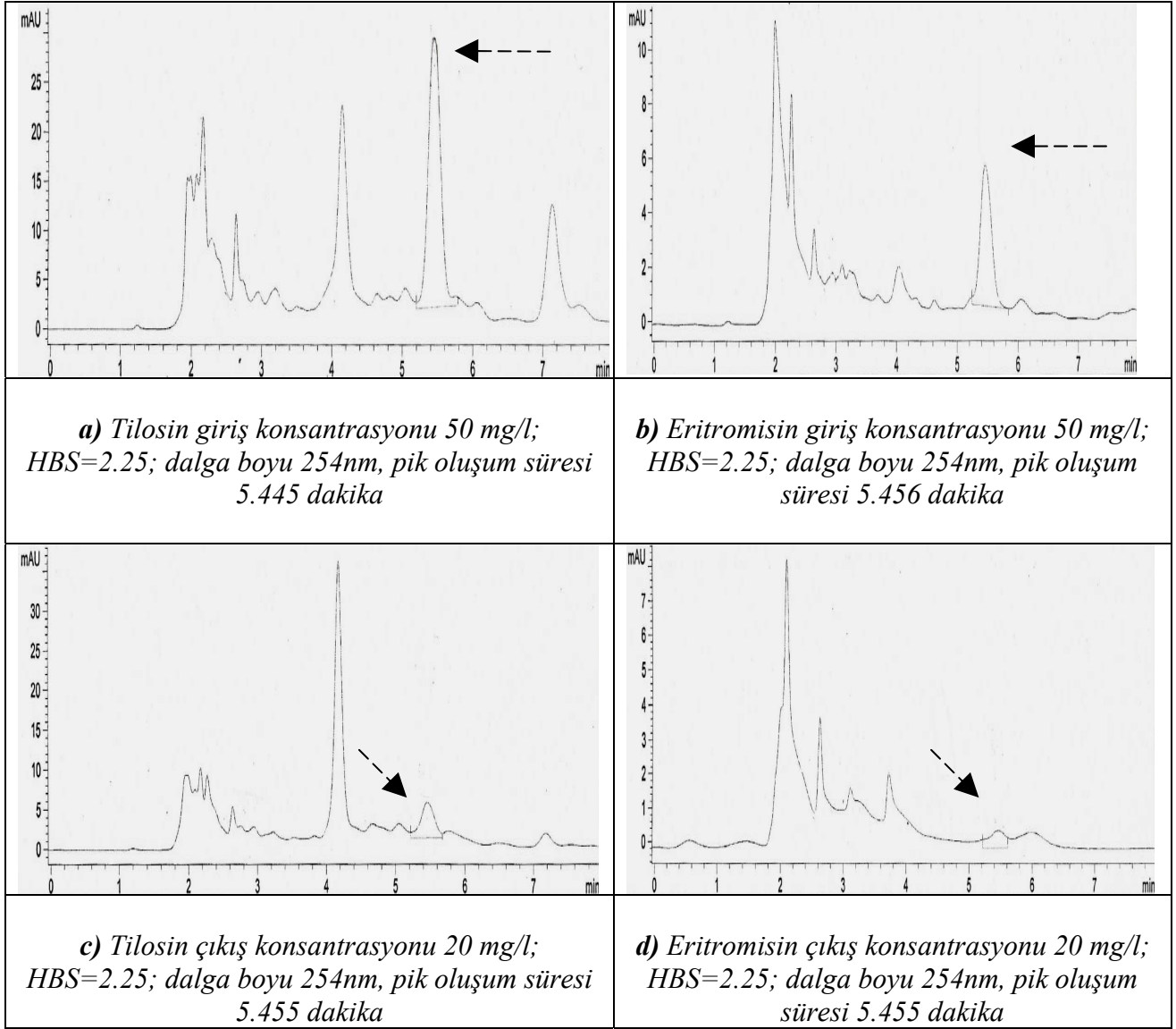
Şekil 2. Artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonunda anaerobik/aerobik sistemde KOİ giderimi (n=3, ortalama değerler)



Şekil 3a. Artan antibiyotik konsantrasyonunda anaerobik/aerobik sistemde eritromisin giderimi (n=3, ortalama değerler)



Şekil 3b. Artan antibiyotik konsantrasyonunda anaerobik/aerobik sistemde tilosin giderimi (n=3, ortalama değerler)

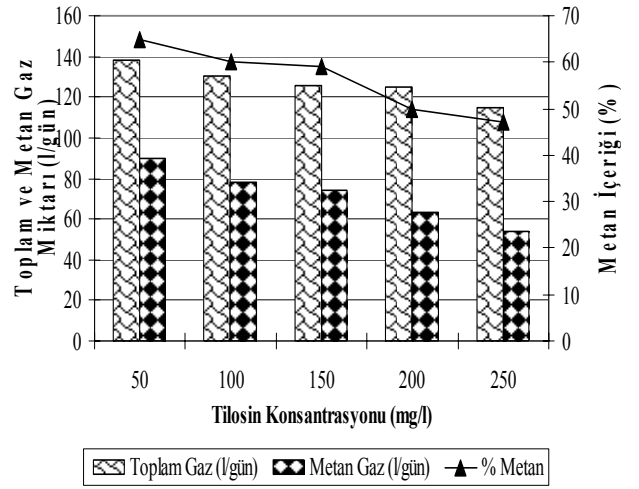
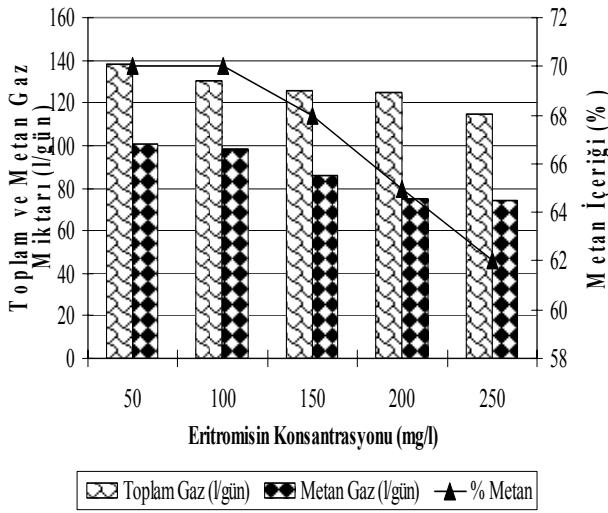


Şekil 4. Anaerobik AÇKYR reaktör giriş ve çıkış örneklerine ait HPLC kromotogramları

#### Artan antibiyotik konsantrasyonlarının Anaerobik AÇKYR reaktörde günlük toplam gaz ve metan gazı üretimi üzerine etkisi

Şekil 5'te artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarının günlük toplam gaz, metan gazı üretimi ve metan gazı yüzdesi değişimlerine etkisi gösterilmiştir. 50 mg/l eritromisin konsantrasyonunda günlük toplam gaz üretimi 144 l/gün, metan gazı üretim miktarı 100.8 l/gün ve metan içeriği ise %70 iken tilosin içeren anaerobik reaktörde ise toplam gaz üretimi 138 l/gün, metan gazı üretimi 89.7 l/gün ve metan içeriği %65 olarak bulunmuştur. Şekil 5'te görüldüğü üzere tilosin ve eritromisin konsantras-

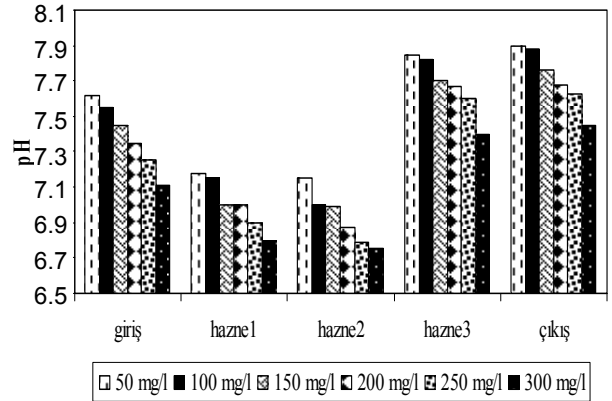
yonlarının artmasıyla toplam gaz ve metan gazı üretim miktarı çok fazla bir değişim göstermemiştir. Toplam gaz miktarının eritromisin için 118 -144 l/gün arasında, metan gazı miktarının ise 70.8-100.8 l/gün arasında olduğu gözlenmiştir. Tilosinde ise toplam gaz miktarı 115-138 l/gün arasında metan gazı ise 54-89.7 l/gün arasında belirlenmiştir. Fakat metan içeriğinin, antibiyotik konsantrasyonunun 50 mg/l'den 250 mg/l'ye çıkartılması sonucunda eritromisinde %70'den %60'a ve tilosinde ise %65'ten %47'ye düştüğü gözlenmiştir. Ancak bu yüksek antibiyotik konsantrasyonlarında bile anaerobik reaktörün oldukça kararlı olduğu gözlenmiştir.



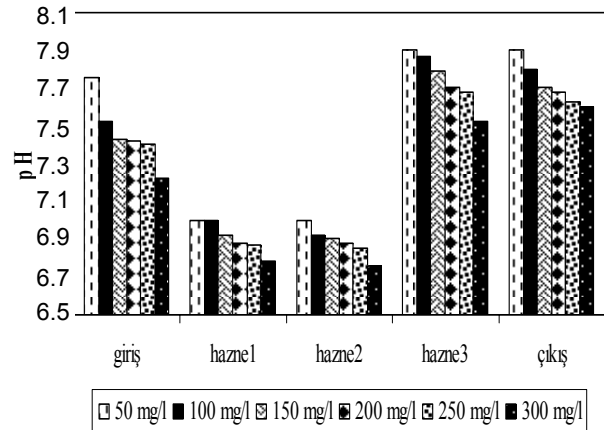
Şekil 5. AÇKYR'de toplam ve metan gazı, metan yüzdesi değişimleri (n=3, ortalama değerler)

### Artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarının AÇKYR reaktörün haznelerinde pH ve Toplam Uçucu Yağ Asidi (TUYA) değişimlerine etkisi

Şekil 6a ve 6b ile Şekil 7a ve 7b'de artan tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarında AÇKYR'de pH ve TUYA değişimleri gösterilmiştir. Şekil 6a ve 6b'de görüldüğü üzere eritromisin antibiyotiginde asidojen bakterilerin baskın olduğu Hazne 1 ve Hazne 2'de pH'nin 7.00 civarında olduğu, metanlaşmanın aktif olduğu Hazne3 ile çıkışta ise pH'nin 7.8-7.9'a yükseldiği gözlenmiştir. Aynı şekilde tilosin içeren anaerobik reaktörde Hazne1 ve Hazne2'de pH'nin 7.00 civarında olduğu ve Hazne3 ile çıkışta ise pH'nin 7.8-7.9 civarında olduğu gözlenmiştir. Bu değerler anaerobik metanojenik bakteriler için optimum pH değerleri arasındadır (Speece, 1996). Birinci bölmede oluşan TUYA, çıkışta tamamen uzaklaştırılarak CO<sub>2</sub> ve metana dönüşmüştür. AÇKYR'nin çıkışında 250 mg/l tilosin ve eritromisin konsantrasyonunda TUYA konsantrasyonu sıfır ve diğer konsantrasyonlarda ise sıfıra yakın olarak bulunmuştur (Şekil 7a/7b). Bu durum bize anaerobik ayrışma esnasında oluşan uçucu yağ asitlerin tamamının metan gazı ve CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O gibi nihai ürünlere dönüştüğünü göstermektedir.

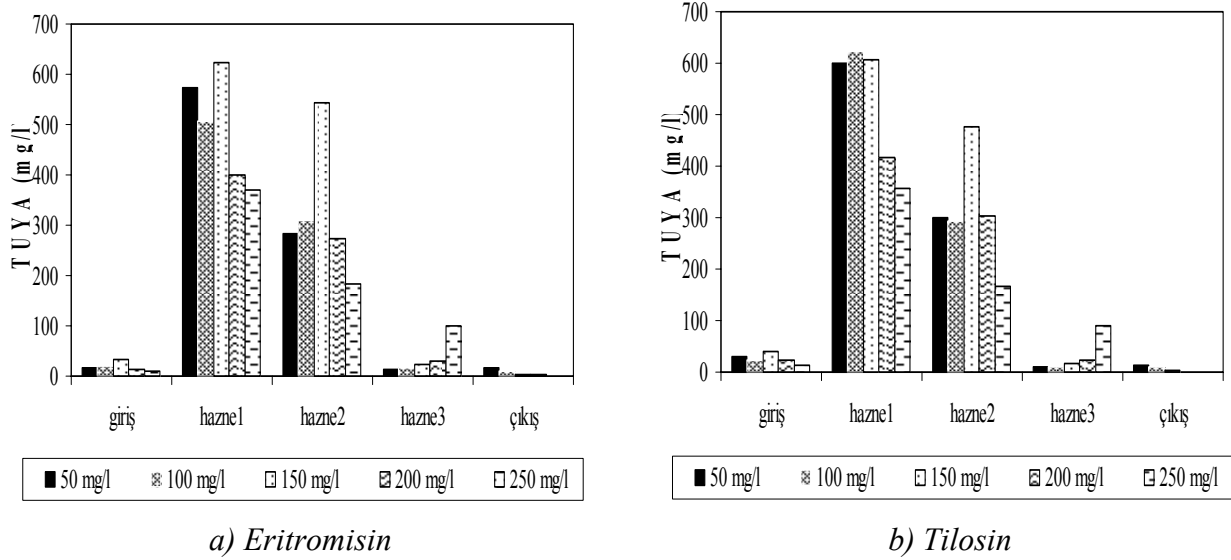


Şekil 6a. Eritromisin içeren AÇKYR reaktörde pH değişimleri (n=3, ortalama değerler)



Şekil 6b. Tilosin için pH değişimi (n=3, ortalama değerler)





Şekil 7. AÇKYR reaktörde TUYA değişimleri (n=3, ortalama değerler)

#### AÇKYR/SKTR ardışık sistemde akut toksisite testleri

Tablo 2’den görüldüğü üzere başlangıçta 50 mg/l tilosin için giriş atıksuyunda tüm *Daphnia magna*’lar düşük seyreltmelerde ölmekte yüksek seyreltmelerde ise sadece 6-8 adet *Daphnia magna* ölmektedir. 24 saat inkübasyon sonucu anaerobik AÇKYR reaktör çıkışında ise seyreltilmemiş örnekte 10 adet *Daphnia magna* ölmüş olup, yüksek seyreltmeli örneklerde ise ölen *Daphnia magna* sayısı azalmıştır. 3/4 oranında arıtılmış anaerobik reaktör çıkışında ise *Daphnia magna*’ların ölmediği saptanmıştır. Tilosin içeren anaerobik reaktör çıkışında EC<sub>50</sub> değeri başlangıç 52 mg/l değerinden 15 mg/l’ye düşmüş olup akut toksisite %71 oranında azalmıştır. Aerobik reaktör çıkışında ise toksisitenin önemli oranda giderildiği ve *Daphnia magna*’ların 1/2, 1/4, 3/4 ve 1/10 seyreltmelerde ölmediği gözlenmiştir. Aerobik reaktör çıkışında EC<sub>50</sub> değeri 15 mg/l’den 0 mg/l’ye düşmüş olup akut toksisite %100 oranında giderilmiştir. Eritromisin antibiyotiğinde ise girişte tilosinde olduğu gibi düşük seyreltmelerde tüm *Daphnia magna*’lar ölmüş, yüksek seyreltmelerde ise sadece 7-8 adet *Daphnia magna* ölmüştür. 24 saat inkübasyon sonucu AÇKYR reaktör çıkışında seyreltilmemiş örnekte 10 adet *Daphnia magna* ölmüş olup, yüksek seyreltmeli örneklerde ise ölen *Daphnia magna* sayısı azalmıştır (Tablo 3). 3/4 oranında seyreltilmiş anaerobik reaktör çıkışı

şında ise *Daphnia magna*’ların ölmediği saptanmıştır. Anaerobik reaktör çıkışında EC<sub>50</sub> değeri başlangıç 73 mg/l değerinden 12 mg/l’ye düşmüş olup akut toksisite %84 oranında azalmıştır. Aerobik reaktör çıkışında ise toksisitenin önemli oranda giderildiği ve *Daphnia magna*’ların 1/2, 1/4, 3/4 ve 1/10 seyreltmelerde ölmediği gözlenmiştir. Aerobik reaktör çıkışında EC<sub>50</sub> değeri 12 mg/l’den 1,95 mg/l’ye düşmüş olup akut toksisite %85 oranında giderilmiştir (Tablo3).

Tablo 2. Tilosin içeren reaktör sistemde akut toksisite testi

(Tilosin=50mg/l, EC<sub>50</sub> anaerobik giriş=52 mg/l, EC<sub>50</sub> anaerobik çıkış=15 mg/l, EC<sub>50</sub> aerobik giriş=15 mg/l, EC<sub>50</sub> aerobik çıkış=0 mg/l) (n=3, ortalama değerler)

Seyrelme Oranı	Anaerobik Reaktör		Aerobik Reaktör		
	Ölü <i>Daphnia magna</i> sayısı		Ölü <i>Daphnia magna</i> sayısı		
	GİRİŞ	ÇIKIŞ	GİRİŞ	ÇIKIŞ	
	T=0	T=24 Saat	T=24 Saat	T=0	T=24 Saat
0	10	10	10	10	3
1/10	10	10	3	3	0
1/4	10	8	1	1	0
1/2	10	7	1	1	0
3/4	10	6	0	0	0

**Tablo 3. Eritromisin içeren reaktör sistemde akut toksisite testi**  
 (Eritromisin=50mg/l,  $EC_{50}$ anaerobik giriş=73 mg/l,  
 $EC_{50}$  anaerobik çıkış=12 mg/l,  
 $EC_{50}$  aerobik giriş=12 mg/l,  $EC_{50}$  aerobik çıkış=1.95 mg/l)  
 (n=3, ortalama değerler)

Seyrelme Oranı	Anaerobik Reaktör		Aerobik Reaktör	
	Ölü <i>Daphnia magna</i> Sayısı		Ölü <i>Daphnia magna</i> Sayısı	
	GİRİŞ T=0	ÇIKIŞ T=24 Saat	GİRİŞ T=0	ÇIKIŞ T=24 Saat
0	10	10	10	2
1/10	10	10	1	1
1/4	10	10	1	0
1/2	10	8	0	0
3/4	10	7	0	0

## Tartışma

Mohan ve diğerleri (2001) tarafından yapılan bir çalışmada eritromisin, tilosin gibi çeşitli antibiyotikler içeren ilaç endüstrisi atıksularının anaerobik koşullarda 1.25 kgKOİ/m<sup>3</sup>.gün organik yüklemde %80 KOİ giderme verimi olduğu saptanmıştır. Shimada ve diğerleri (2008) yaptıkları anaerobik ardışık kesikli reaktörde tilosin içeren sentetik atıksuyun arıtımı çalışmasında KOİ gideriminin %95.7 olduğunu saptamışlardır.

Ayrıca, Chelliapan ve diğerleri (2006); makrolid grubu antibiyotikler içeren ilaç sanayi atıksularının anaerobik arıtımı ile ilgili çalışmalarında 0.43 ve 3.73 kg/m<sup>3</sup>.gün'lük farklı organik yüklemelerde KOİ giderim veriminin %70-85 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Pallavi ve diğerleri ise (2009) ilaç sanayi atıksularında yaptıkları çalışmada 7440 mg/l olan giriş KOİ konsantrasyonunu 2032 mg/l'ye düşürmüşler ve %73 KOİ giderim verimi elde etmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz %95-97 KOİ giderme verimleri ve literatürdeki sonuçlara bakıldığında anaerobik (AÇKYR)/aerobik (SKTR) ardışık sistemde yüksek verimler elde edilebildiği görülmektedir. Jacobsen ve diğerleri (2004) eritromisin ile yaptıkları antibiyotik giderim çalışmalarında 128.5 mg/l olan antibiyotik konsantrasyonunu 0.857 mg/l'ye indirilerek antibiyotiğin giderim veriminin %99 olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen eritromisin

giderim verimleri bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir. Chelliapan ve diğerleri (2006); makrolid grubu içeren ilaç sanayi atıksularının anaerobik arıtımı sonucunda oluşan gazın %85'inin metan olduğunu belirtmişlerdir. Mohan ve diğerleri (2001), eritromisin ve tilosin gibi çeşitli antibiyotikler içeren ilaç endüstrisi atıksularının anaerobik koşullarda arıtımında oluşan gazın %60'ının metan olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise %45-70 metan elde edilmiş olup belirtilen çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Pallavi ve diğerleri (2009) yaptıkları çalışmada antibiyotik içeren ilaç sanayi atıksularında anaerobik arıtmadan sonra TUYA konsantrasyonunu 7554 mg/l'den 323 mg/l'ye düşürmüşlerdir. Bu çalışmada ölçülen TUYA konsantrasyonları literatürdeki elde edilen konsantrasyonlardan çok daha düşük olup AÇKYR reaktörün kararlı hal koşullarını göstermektedir.

Yapılan çalışma 50-250 mg/l konsantrasyonlar arasında eritromisin ve tilosin antibiyotiklerinin anaerobik AÇKYR ve aerobik SKTR ardışık reaktörlerde yüksek verimlerle giderildiğini göstermiştir. Ardışık anaerobik AÇKYR ve aerobik SKTR reaktör sisteminde 50 mg/l'lik tilosin ve eritromisin konsantrasyonlarında %97 toplam KOİ giderme verimi elde edilmiştir. Ardışık sistemde aerobik reaktör KOİ gideriminden ziyade antibiyotik giderimlerini sağlamaktadır. Girişte 50 mg/l tilosin antibiyotiği anaerobik reaktörde 20 mg/l'ye, aerobik reaktörde ise 2.5 mg/l'ye düşürülmüştür. 50 mg/l giriş eritromisin antibiyotiği içeren anaerobik reaktörde ise 20 mg/l'ye düşüktükten sonra geri kalan konsantrasyonu aerobik reaktörde tamamen giderilmiştir. Akut toksisite giderimi anaerobik reaktörde tilosin için %71, eritromisin için ise %85 olmuştur. Aerobik reaktörde ise tilosin antibiyotiği için %100 ve eritromisin antibiyotiği için %85 akut toksisite giderimleri sağlanmıştır. Buna göre toplam anaerobik/aerobik ardışık sistemde toplam akut toksisite her iki antibiyotik için yaklaşık % 99 - %100 oranında giderilmiştir.

## Teşekkür

106 Y 306 numaralı proje ile bu araştırmayı kısmen destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- Amin, M.M., Zilles, J., Greiner, J., Charbonneau, S., Raskin, L. ve Morgenroth, E., (2006). Influence of the antibiotic erythromycin on anaerobic treatment of a pharmaceutical wastewater, *Environmental Science Technology*, **40**, 3971-3977.
- Anderson, G.K. ve Yang, G., (1992). Determination of bicarbonate and total volatile acid concentration in anaerobic digesters using a simple titration, *Water Environment Research*, **64**, 53-59.
- APHA-AWWA, (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17th edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Beydilli, M.I., Pavlosathis, S.G., ve Tincher, W.C., (1998). Decolorization and toxicity screening of selected reactive azo dyes under methanogenic conditions, *Water Science and Technology*, **38**, 4-5, 225-232.
- Chelliapan, S., Wilby, T. ve Sallis, P.J., (2006). Performance of an up-flow anaerobic stage reactor (UASR) in the treatment of pharmaceutical wastewater containing macrolide antibiotics, *Water Research*, **40**, 507-516.
- Daughton, C.G., (2008). Pharmaceuticals in the environment: sources and their management, *Comprehensive Analytical Chemistry*.
- Gulkowska, A., Leung, H.W., So, M.K., Taniyasu, S.N., Yamashita, Yeung, L.W.Y., Richardson, Bruce J., Lei, A.P., Giesy, J.P., Lam, Paul, K.S. (2008). Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China, *Water Research*, **42**, 395-403.
- Hassan, S., Shaddad, S., El Tayeb, I.B. ve Omer, M.A., (2008). Detection of tylosin residue levels following intramuscular injection in desert sheep, *Research Journal of Pharmacology*, **2**, 1, 1-3.
- Hu, D., Fulton, B., Henderson, K. ve Coats, J., (2008). Identification of tylosin photoreaction products and comparison of ELISA and HPLC methods for their detection in water, *Environmental Science Technology*, **42**, 2982-2987.
- Jacobsen, A.M., Halling-Sørensen B., Ingerslev F. ve Hansen, S.H. (2004). Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulfonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1038**, 157-170.
- Mohan, S.V., Prakasham, R.S., Satyavathi, B., Annapurna, S.V. ve Ramakrishna, S., (2001). Biotreatability studies of pharmaceuticals wastewater using an anaerobic suspended film contact reactor, *Water Science and Technology*, **43**, 2, 271-276.
- Nandy, T. ve Kaul, S.N. (2001). Anaerobic pretreatment of herbal-based pharmaceutical wastewater using fixed-film reactor with recourse to energy recovery, *Water Research*, **35**, 351-362.
- Pallavi, V., Daga, K., Gehlot, P. ve Chaudhary, S., (2009). Anaerobic Treatability of Pharmaceutical Wastewaters. *Asian Journal of Chemistry*, **21**, 3, 1979-1982
- Razo-Flores, E., Luijten, M., Donlon, B.A., Lettinga, G. ve Field, J.A., (1997). Complete biodegradation azo dye Azodisalicylate under anaerobic conditions, *Environmental Science and Technology*, **31**, 7, 2098-2103.
- Shimada, T., Zilles, J.L., Mergenroth, E. ve Raskin, L., (2008). Inhibitory effects of the macrolide antimicrobial tylosin on anaerobic treatment, *Biotechnology and Bioengineering*, **101**, 1, 73-82.
- Speece, R.E., (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters*, 114-115, Archae Pres, USA,
- Torano, J.S. ve Guchelaar, H.J., (1998). Quantitative determination of the macrolide antibiotics erythromycin, roxithromycin, azithromycin and clarithromycin in human serum by high-performance liquid chromatography using precolumn derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride and fluorescence detection, *Journal of Chromatography B*, **720**, 89-97.
- Wang, J., Leung, D.P. ve Lenz, S., (2006). Determination of five macrolide antibiotic residues in raw milk using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **54**, 2873-2880.