



Anaerobik parçalanma süreçlerine iz element ilavesi ve etki mekanizmaları

Supplementation of trace elements to the anaerobic digestion and effect on the mechanisms in the processes: A review

Dilan Toprak^{1,*} 

¹ Danimarka Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 2800, Kongens Lyngby Danimarka

Öz

Anaerobik parçalanma çeşitli mikrobiyal toplulukların aktivitelerine ve iş birliğine dayalı olan hassas ve çok aşamalı kompleks süreçleri içerir. Bu süreçteki mikroorganizmaların büyümesi için hem organik madde hem de iz elementlerin ilavesi önemli bir ihtiyaçtır. İz elementler organizmaların ve enzimlerin yapısına katılarak biyokimyasal reaksiyonların kararlılığını sağlamaktadır. Optimum seviyelerdeki iz element ilavesi daha fazla organik madde bozunması, düşük uçucu yağ asidi konsantrasyonu ve yüksek biyogaz üretimi ile olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. İz elementlerin türleşmeleri ile biyoyararlanımı arasındaki ilişkinin yeterince anlaşılmadığı durumlarda etkisiz iz element dozlama stratejileri oluşmaktadır. İz element türü ve ideal iz element konsantrasyonları sistemdeki mikroorganizmaların ihtiyaçlarına göre çeşitlilik gösterir. Öte taraftan anaerobik süreçlere iz elementlerin ilavesi kullanılan substrat, teknoloji, işletme koşulları, karmaşık biyokimyasal reaksiyonlar, biyoyararlanım gibi birçok parametrenin etkilediği ideal konsantrasyon seviyelerinin belirlenmesi sistemin sağlıklı ve etkili çalışması açısından önem arz etmektedir. Bu derleme çalışması ile amaç iz elementlerin anaerobik parçalanma süreçlerine ilavesinin gerekçeleri ve anaerobik süreçlerdeki akıbeti hakkındaki bilgileri özetlemektir.

Anahtar kelimeler: Anaerobik parçalanma, Biyogaz, Biyoyararlanma, İz element, Metan

1 Giriş

Dünyada bir yandan enerjiye olan talep artarken diğer yandan da insanların tüketim alışkanlıkları sonucu oluşturdukları atıkların miktarı da artmaktadır. Dolayısıyla yenilenebilir alternatif enerji kapsamında atıkların biyoenerjiye dönüştürüldüğü anaerobik proseslerin geliştirildiği araştırmalar giderek daha fazla ilgi görmektedir [1]. Üretilen biyogaz ısınmada, elektrik enerjisinde, araç yakıtında, parçalanma sonucu kalan organik atıklar ise yüksek kalitede gübreye dönüştürülerek kullanılmaktadır [2].

Anaerobik parçalanma, çeşitli organik atıkların (evsel atıklar, yiyecek atıkları, hayvan gübresi, atıksu vb.) oksijensiz ortamda farklı mikroorganizma grupları tarafından dört adımda parçalanması ile CH₄ üreten bir

Abstract

Anaerobic digestion involves delicate and multi-step complex processes based on the activities and cooperation of various microbial communities. The addition of both organic matter and trace elements is an important need for the growth of microorganisms involved in anaerobic digestion. Trace elements contribute to the structure of organisms and enzymes, ensuring the stability of biochemical reactions. Optimum levels of trace element addition are known to have positive effects with greater organic matter degradation, lower volatile fatty acid concentration and higher biogas production. In cases where the relationship between speciation and bioavailability of trace elements is not well understood, ineffective trace element dosing strategies are formed. Trace element species and ideal trace element concentrations vary according to the needs of the microorganisms in the biosystem. On the other hand, the addition of trace elements to anaerobic processes is affected by many parameters such as the substrate used, technology, operating conditions, complex biochemical reactions, and bioavailability. These parameters are important for determining the optimum trace element levels needed and for the healthy and effective operation of the system. The aim of this review is to summarize the information about the reasons for the addition of trace elements to the anaerobic digestion system and their fate in anaerobic processes.

Keywords: Anaerobic digestion, Biogas, Bioavailability, Methane, Trace element

yöntemdir [3]. Hidroliz, asidojenez, asetojenez ve metanojenez fazlarında görev alan mikroorganizmaların birlikte bir dengede ve uyum içinde çalışmaları ne kadar iyiye süreçlerin performansı da o düzeyde kararlı olacaktır [3,4]. Bu amaçla pH [5], sıcaklık [6], HRT [7], organik madde miktarı [8] gibi işletme parametreleri için literatürde birçok optimizasyon çalışması mevcuttur. Bahsi geçen fiziksel koşulların uygun olmasına rağmen sistemin kararsız olması veya metan üretiminin beklenen seviyede olmaması durumlarında mikroorganizmaların mikro nutrient olarak adlandırılan iz element ihtiyaçlarının belirlenmesi ve sağlanması gerekmektedir [9]. İz elementler biyokimyasal reaksiyonlarda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca anaerobik parçalanma sonucu oluşan biyogazın veya içeriğindeki metan oranının artmasına katkı sağlamaktadır [10]. Fakat iz

* Sorumlu yazar / Corresponding author, e-posta / e-mail: dilantoprak1@gmail.com (D. Toprak)

Geliş / Received: 11.03.2023 Kabul / Accepted: 05.09.2023 Yayınlanma / Published: 15.10.2023

doi: 10.28948/ngumuh.1242942

elementlerin anaerobik süreçlerdeki etki mekanizmaları tam belirlenmediği için günümüzde konuyla ilgili araştırmalar halen devam etmektedir.

İz elementler anaerobik parçalanmadaki mikroorganizmaların büyümesinde yapı taşı olarak kullanılmalarının yanı sıra enzimatik aktivitelerde ve kimyasal reaksiyonlarda kullanılmaktadır [9]. İz element eksikliği uçucu yağ asitlerinin artışına ve anaerobik parçalanma performansının düşmesine sebep olduğundan sınırlayıcı bir faktör olarak belirtilir. Ni, Co, Fe, Se, Cu gibi temel iz elementlerin mevcudiyeti kararlı bir süreç için gereklidir [10]. Gustovsson ve arkadaşları Ni ve Co elementlerini sınırladıkları çalışmalarında asetoklastik Methanosarcinales'ten hidrojenotrofik Methanoculleus'a doğru metanojen popülasyonunda kayma olduğunu ve sonuç olarak uçucu yağ asitlerinin artışına sebep olduğunu belirtmişlerdir [11]. Fe, organik atıkların biyobozunurluğunu arttırmakta ve hidrojenotrofik metabolizmaya yardım etmektedir. Gıda atıklarının anaerobik parçalanmasını stabilize etmek için Fe kullanımı en etkili iz element olarak belirtilmiştir. Ni, amonyak ve sülfür toksisitesini azaltmakta, uçucu yağ asitlerinin konsantrasyonunu dengeleyerek biyogaz üretimini uyarmaktadır. Sığır gübresinin kesikli çalışmasında Ni ilave edilmiş ve hem biyogaz hem de içeriğindeki metan miktarında artış elde edilmiştir [7]. Gıda atıklarının anaerobik parçalanmasında ve yüksek amonyak konsantrasyonlarında çalışılması için Se ve Co ilavesinin önemli olduğu belirtilmiştir. [12]. Quinlan vd. çalışmasında Cu'nun selülozun bazı oksidatif metaloenzimler tarafından oksidatif bozulmasını arttırdığını belirtmiştir [13]. Başka bir çalışma da ise evsel atıkların anaerobik parçalanmasına Fe, Co, Ni ve Mo iz elementlerinin ilavesiyle metan veriminin %18.7 arttığı görülmüştür [14]. Sonuç olarak iz elementleri anaerobik parçalanma süreçlerindeki rollerinden dolayı sistem verimliliğini etkileyen önemli bir işletme faktörü olarak tanımlayabiliriz.

Bahsedilen etkilerine rağmen anaerobik parçalanma süreçlerinde performans artışı için iz elementlerden ziyade reaktör tipleri, mikroorganizma yapıları, substrat karışımları ve substrat ön işlem süreçlerinin etkileri literatürde yoğun olarak çalışılan ana konulardır. Bu durumun muhtemel bir sebebi her uygulamanın kendi içinde özgün olmasıdır. Aynı sektörde çalışan iki ayrı fabrikanın kullandıkları farklı teknoloji ve proses suyu nedeniyle farklı kompozisyonda atıksu oluşabilir. Dahası, bu atıksuların anaerobik parçalanmasında farklı mikroorganizma türleri görev alabilir. Bu nedenle iz element ihtiyaçları uygulamada spesifik olup yapılan çalışmalardan bir genellemeye gidilmesi zordur. Ancak eksiklikleri önemli performans düşüklüklerine sebep olabildiğinden önemli bir proses bileşeni olarak değerlendirilmelidirler.

2 Anaerobik parçalanma süreçlerine iz element ilavesi

Anaerobik arıtma süreçlerinin performansı pH, sıcaklık, alkalinite, C/N oranı, iz elementler, sülfür ve amonyak konsantrasyonu gibi parametrelerden etkilenir ve yüksek performans için ideal seviyelerinin ayarlanması gerekir [15]. Anaerobik parçalanmada görevli mikroorganizmaların büyümesi için hem organik madde hem de iz elementlerin

ilavesi önemli bir ihtiyaçtır [16]. Ayrıca anaerobik parçalanmadaki biyokimyasal reaksiyonların kararlı bir şekilde gerçekleşmesi için iz element ilavesinin dengeli olması gerekmektedir [17]. Optimum seviyeden fazla ilave edilen iz elementler inhibisyon etkisi göstererek mikroorganizma faaliyetlerini kısıtlayabilmektedir [9]. İz element ihtiyacı bu iz elementlerin tuzlarından çözeltiler hazırlanıp [18,19] ya da içeriğinde iz element bulunan atıkların [20] sisteme ilave edilmesi ile karşılandığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu çalışmaların genel amacı anaerobik süreçlerin kararlılığını sağlamak ve biyometan üretiminin artırılmasıdır.

Önceki çalışmalarda, anaerobik parçalanmada Fe, Cu, Ni, Co, Mg, Mo, Se ve W temel iz elementlerin [21–23] ilave edilmeleri ve etki mekanizmaları araştırılmıştır. Metanojenlerin anaerobik mikroorganizmalar içerisinde iz elementlerce zengin enzimatik yolları en fazla kullanan grup olduğu belirtilmiştir [24]. Co, özellikle metanojenler için son derece önemli bir iz elementtir. Co, metan üretiminde rol alan metilaz enzimi için bir kofaktör olarak görev yapan B12 vitamininin çekirdeğini oluşturmaktadır. Asetatın üretiminde ve tüketiminde anahtar bir enzim olan Co metiltransferaz ve karbon mono dehidrojenaz (CODH) kofaktörüdür [25]. Co metil transferi ve radikal oluşumundaki hayati rollerinin yanı sıra hücre zarında aktif taşımada da önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir [26].

Nikel, çoğu mikroorganizmanın fizyolojik aktivitelerini ve metabolizmalarını sürdürmeleri için gerekli olan iz elementtir [27]. Ni içeren koenzim F430, metanojenlerde koenzim M'nin metan'a indirgenmesinde rol oynayan metil koenzim M redüktazın çalışması için gerekmektedir [28]. Demir hem elektron alıcısı hem de donör olarak işlev görmektedir ve CO₂'nin CH₄'e dönüştürülmesi için metanojenik arkenin taşıma sistemine katılmaktadır. Ayrıca anaerobik parçalanma sürecinde hidrojen sülfür içeriğini azaltan çökelti oluşturmak üzere sülfüre bağlanmaktadır [16]. Liu ve arkadaşları Fe ilavesinin hidroliz ve fermentasyon aşamalarını hızlandırdığını belirtmişlerdir [29]. Öte yandan Cu, selüloz enziminin katalitik merkezinde kofaktör olarak işlev görmektedir ve enzim aktivitesini uyarmaktadır [30]. Magnezyumun, metanojenlerin performansını arttırdığı belirtilmiştir [31]. Enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olan Mg kationunun anaerobik sisteme ilavesi, metanojenlere karşı sodyum toksisitesinin azaltılmasında etkilidir [31,32]. W ve Mo elementleri propiyonat oksitleyicilerle format üretimini katalize eden format dehidrojenaz (FDH) gibi enzimlerde bulunur [33]. W içeren tüm enzimler, çoğunlukla anaerobik metabolizmaya sahip olan bakterilerde ve arkelerde bulunmuştur [16]. Anaerobik arıtma sürecinde Se eksikliğinin, bazı metanojenler için büyümeyi sınırladığı ve mikrobiyal aktivitelerini azaltarak sistemin başarısızlığına sebep olduğu rapor edilmiştir [34,35]. Lignoselülozik atıklardan biyometan oluşumu, her aşamasında farklı iz element gerektiren birçok enzim ve kofaktörün bulunduğu anaerobik aşamalardan oluşmaktadır [21,36]. Mg, metal-lignin kompleks yapısına katılarak lignoselülozik materyallerin biyodegradasyonunu arttırmıştır [37]. Yağ asitlerinin anaerobik oksidasyonu anaerobik sistemlerde asetat üretimi

için başlıca bir yoldur ve genelde metanojenik arkea ve sülfat indirgeyen bakterilerin sintrofik ilişkileri ile gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmada bu süreç ve sintrofik ilişkinin Mg gerektirdiği belirtilmiştir [38]. Çalışmalardan anlaşıldığı üzere sisteme giren organik atıkların genel bileşimine bağlı olarak anaerobik çürütücülerde farklı mikrobiyal bozunma yolları ve biyokimyasal ortamlar oluşmaktadır. İdeal iz element konsantrasyonunun biyolojik süreçlere ilave edilmesi ile anaerobik parçalanma sistemi daha kararlı işletilmekte ve performansını arttırmaktadır. Enzim ve organizmaların yapısına katılan bazı iz elementler **Tablo 1**'de sunulmuştur.

Tablo 1. Enzim ve organizmaların yapısına katılan iz elementler [39]

Enzim	Organizmalar	İz element
Methyltransferaz	Metanojenler/ asetojenler	Co (B12)
B12 enzim	Birçok organizma	Co (B12)
CO-dehidrojenaz	Metanojenler/ Asetojenler	Co, Ni, Fe
Asetil-CoA sintaz	Moorella thermoacetica	Fe, Ni, Cu
Tetrakloroethan redüktif dehalojenaz	Dehalospirillum multivirans	Co, Fe
Hidrojenaz	Desulfovibrio, Escherichia coli	Fe, Ni
Amonyum monooksijenaz	Nitrosomonas europae, anaerobes	Cu, Fe, Zn, Mn
Formiate dehidrojenaz	Methylobacterium	Mo, W
Formilmetanofuran	Methanobacterium	Mo, Se
Aldehid oksidredüktaz	Clostridium	Mo, W
Glisin redüktaz	Escherichia coli	Se

2.1 İz elementlerin hidroliz, asidojeniz, asetogenez ve metanojeniz basamaklarındaki rolleri

İz elementlerin anaerobik arıtma süreçlerindeki hidroliz ve asidojeniz basamaklarındaki rolünün araştırıldığı çalışmalar diğer basamaklara nazaran daha azdır. Kim ve ark., Fe, Co ve Ni iz elementlerinin hidroliz ve asidojeniz süreçlerinin optimizasyonu için önemli olduğunu, KOİ çözünürlüğünü ve organik asit üretimini arttırdığını bildirmişlerdir [40]. Başka bir çalışmada termofilik bir anaerobik parçalanma sistemine FeCl₃ takviye edilerek hidroliz fazının ve asitleştirme sürecinin hızlandırıldığı vurgulanmıştır [41]. Hidroliz ve asidojeniz basamaklarındaki mikroorganizmaların büyümelerine iz element ilavesinin fayda sağladığından bahsedilebilir [42].

Asetogenez basamağı CO₂, CO, metanol ve format gibi karbon bileşiklerinin asetata dönüştürüldüğü reaksiyonları içermektedir. Bu biyokimyasal reaksiyonlarda bazı metaloenzimler bulunmaktadır. Asetojen *Clostridium thermoaceticum* bakterisinin enzim izolasyonu ile genellikle format dehidrojenaz (Fdh) ve karbon monoksit dehidrojenaz (CODH) enzimleri belirlenmiştir [43]. Bu enzimler aktif yapılarını oluşturmak için Fe, Ni, Zn, Se ve W iz elementlerine ihtiyaç duyarlar [44].

Metanojeniz, biyogaz ve metanın üretildiği anaerobik arıtım sürecinin son ve en hassas aşamasıdır. Bu basamaktaki reaksiyonlar metanojenler ve arkealar tarafından

gerçekleşmektedir. Biyolojik aktivitelerini devam ettirmeleri için iz elementlere ihtiyaç duyarlar. Literatürdeki çalışmalara göre genel olarak metanojenlerin Fe, Zn, Ni, Cu, Co, Mo ve Mn iz elementlerine ihtiyaç duydukları belirtilmiştir [45,46]. Anaerobik parçalanma performansını arttırmak için her bir metanojen türünün ihtiyaç duyduğu temel iz element konsantrasyonlarının uyarıcı seviyelerde olması gerekmektedir [45,47,48]. Farklı substratların anaerobik parçalanmasında metan üretim performansının araştırıldığı çalışmalarda iz element türleri ve performansı arttıran optimum seviyeleri **Tablo 2**'de sunulmuştur.

Tablo 2. Farklı substratların anaerobik parçalanmasında ihtiyaç duyulan bazı iz elementlerin optimum seviyeleri

İz element	Substrat	İz element konsantrasyon (mg/L)	Referans
Fe, Co, ve Ni	Yemek atıkları	150, 0.5 ve 10	[49]
Co, Fe ve Ni	Tarım atıkları	0.13, 74.40 ve 2.48	[10]
Fe	Mısır sapı	200	[14]
Co ²⁺ , Mo ²⁺ , Ni ²⁺ ve Fe ³⁺	Yemek atıkları ve domuz gübresi atıksuyu	2, 5, 10 ve 100	[20]
Co	Kağıt endüstrisinden alınan aktif çamur	0.5	[50]
Fe, Cu, Ni, Co ve Mg	Kağıt endüstrisi atıksuyu	196.8, 0.01, 1.30, 1.31, ve 50.63	[51]
Mo ve W	Evsel katı atık	0.044 ve 0.658	[52]
Mo, Se ve Mn	Pirinç samanı	0.01, 0.1 ve 1.0	[53]

2.2 İz element-enzim ilişkisi

Mikroorganizmalar kimyasal reaksiyonlarda biyokatalizör olarak görev alan birçok enzim üretmektedir. Genel olarak enzimler kimyasal reaksiyonların oluşması için gerekli olan aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızını arttırmaları [54]. Enzimlerin aktifleşerek kimyasal bir reaksiyonu katalize etmesi için konfigürasyonunda kofaktör olarak iz elementlere ihtiyaç vardır. İz elementlerin enzim yapısındaki bu rolleri sayesinde anaerobik parçalanmada organik maddelerin hidrolizini, asitleşmesini, metanojen büyümesini etkilediğinden söz edilebilir [30].

Anaerobik parçalanmadaki kompleks mikroorganizmaların her biri kendi karakteristik metabolizmaları ile organik maddeleri biyokimyasal reaksiyonlarla metana dönüştürmektedir [55]. Bu süreçte her bir basamakta bulunan mikroorganizmaların ürettiği enzimler, substratın nihai ürünlere dönüşümünü gerçekleştiren aktivitelerde rol oynar. [24]. Anaerobik parçalanmanın sürdürülebilirliği için görev alan enzimlerin ve bu enzimlerin doğru yapısal oluşumu için iz elementlere ihtiyaç vardır. Anaerobik reaktörlerde organik yüklemenin uzun vadeli yapıldığı ve sürekli işletildiği koşullarda iz element eksikliği problemi oluşabilir veya kısa vadeli işletilmesinde aşırı yükleme sonucunda mikrobiyal bileşenlerde farklı türlerde bolluk ve aktivitelerinde dalgalanmalara sebep olabilir. Bu durum organik maddenin mineralizasyonunda ve metan üretim yollarında rol oynayan

hem mikroorganizmaların hem de bunların enzimlerinde çeşitlilik oluşturur [56,57].

Metanojeniz, iz elementlerce zenginleştirilmiş enzimatik yolun en fazla kullanıldığı biyolojik süreçlerden biridir. Metanojenizde asetoklastik (asetik asit kullanan metanojenler), CO₂/H₂ ve metilotrofik olmak üzere üç temel biyokimyasal yol vardır. Substrat olarak asetat kullanan asetoklastik yol, anaerobik arıtım prosesinde metan oluşumunun %70'ini oluştururken, geriye kalan %30'u CO₂/H₂ yoluyla gerçekleşmektedir [58]. Çeşitli metaloenzimleri içeren asetoklastik ve CO₂/H₂ yollarının çalışma mekanizması ve bu enzimlerin iz element gereksinimleri izleyecekleri yola bağlı olarak farklılık gösterecektir [23]. Örneğin, asetoklastik yolda gerekli olan metaloenzim karbon monoksit dehidrojenaz/ asetil-koenzim A sintaz (Cdh) kompleks enzimidir. Alt birimi olan CdhA'nın yapısında Fe ve Ni elementlerini içerdiği bulunmuştur [44]. Öte yandan, formilmetafuran dehidrojenaz, CO₂/H₂ yolunun biyokimyasal reaksiyonunu başlatmak için en az bir Mo veya tungsten bağlayıcı elemanına ihtiyaç duyan iki izoenzim içermektedir [59]. Son olarak CH₃H₄M (S) PT-koenzim M metiltransferaz (Mtr) enzimi kofaktör 5-hidroksibenzimidazolilcobamid (Co elementli) içermekte ve Metil koenzim M redüktaz (Mcr)'in etkin bölgesindeki F430 kofaktörünün kristal yapısı da iki nikel içermektedir [55].

Demir en çok ihtiyaç duyulan eser elementtir, ardından nikel ve kobalt, eser miktarda molibden veya tungsten ve çinko gelir. Fe genellikle Fe-S kümelerindeki elektronların aktarımı için kullanılır [23], Ni ya Fe-S kümelerine bağlanabilir ya da metanojenlerin ayırt edici özelliği olan porfirin (kofaktör F430) merkezinde bulunur. Kobalt, metil grubu transferinde yer alan kobamidlerde bulunurken, Zn birkaç enzimde tek bir yapısal atom olarak oluşur. Molibden veya tungsten, sırasıyla "molibdopterin" veya "tungstopterin" oluşturmak için bir "pterin" kofaktörüne bağlanır ve elektron redoks reaksiyonlarının katalize edilmesinde rol oynar. Na ve Se gibi diğer alkali metaller ve metaloidler de metanojeniz için gereklidir. Hücrenin metabolik aktivitesini sürdürmek için bu iyonlara ihtiyaç vardır [23,60].

2.3 İz elementlerin biyoyararlanımı

Anaerobik parçalanma süreçlerinde toplam iz element konsantrasyonu genellikle anaerobik parçalanmanın uyarıldığı ve toksik etkisinin değerlendirildiği seviyesi ile belirlenmektedir. Biyoyararlanım ise biyolojik sistemlerdeki etkileşimin oluşması için elementlerin uygun derecesi olarak ifade edilmektedir [61]. Aslında toplam iz element konsantrasyonu iz elementin biyoyararlanımını ifade etmemektedir [16]. İz elementlerin biyoyararlanımı, anaerobik reaktörlerin işletme koşulları ve reaktördeki fiziksel, kimyasal ve biyolojik mekanizmalarına bağlı olarak değişmektedir [62]. Anaerobik parçalanma süreçlerine ilave edilen iz elementler biyoyararlanım hakkındaki bilgi eksikliğinden dolayı etkili olmayabilir [16].

İz elementlerin biyoyararlanımı biyoreaktördeki katı ile sıvı faz arasındaki komplekslerin etkileşimlerine göre değişmektedir. Mikroorganizmalar tarafından serbest iz

element iyonlarının alınma mekanizması hücre membranından transferi ile gerçekleşmektedir. Öte yandan, iz elementler biyokütle ile etkileşime geçmeden önce sıvı fazda organik, inorganik kompleks formları ve sülfür çökelekleri gibi biyokimyasal süreçlerden geçmektedir [16,63]. Bu yüzden iz elementler ile biyokütle ve sıvı fazın etkileşimlerinin anlaşılması gerekir [64].

İz elementlerin anaerobik parçalanma süreçlerine ilave edildikleri formları ve formülleri biyoyararlanım seviyelerini etkileyen önemli bir parametredir. Biyoyararlanım seviyesi ilave edilen iz elementlerin kimyasal türleşmesine bağlı olarak farklı sonuçlar oluşturmaktadır. Feroso ve arkadaşları tarafından, Co'nun B12 vitamini formunda takviyesinin diğer formlarına (CoCl₂ vb.) nazaran çok daha etkili olduğunu belirtmiştir [65]. Ayrıca iz elementlerin birlikte ilave edilmeleri ile gerçekleşen etkileşimleri ve reaksiyonları ihtiyaç duyulan ideal seviyelerini değiştirebilmektedir. Farklı metaller, oluşturdukları farklı kinetik denge ile bir başka metalin biyoyararlanımını etkileyebilmektedir [66]. Literatürde anaerobik çürütücüdeki Fe konsantrasyonunun Co ve Ni'nin FeS ile adsorpsiyonu, birlikte çökmesi veya iyon ikamesini (Fe-Ni/Co-S kompleksi gibi) teşvik ettiği belirtilmiştir [64,67]. Bu nedenle, gerekli iz element miktarını azaltmak ve metanojenik aktiviteyi en üst düzeye çıkarmak için türleşmelerinin biyoyararlanımlarını nasıl etkilediğini anlamak da önemlidir [11,33].

İz elementlerin anaerobik parçalanmadaki biyoyararlanımını genellikle sülfür formları ile kontrol edilmektedir. İz elementler sülfür varlığında çok düşük çözünürlüğe sahip olduklarından serbest iyon konsantrasyonları oldukça düşük olmaktadır. Dolayısıyla anaerobik mikroorganizmalar tarafından biyoyararlanımını gerçekleştirememektedir [16]. Barber ve Stuckey ise makalesinde sülfür çökeltilerinin iz elementlerin biyoyararlanımını azalttığını belirtmişlerdir (Fe>Co>Ni şeklindeki sıralama en eksik olandan başlamıştır) [68]. Ayrıca redoksa duyarlı olmayan Co, Ni, Zn ve Cu gibi iz elementler birçok organik ve inorganik kompleksler oluşturmaktadır. İz element sınırlaması durumunda redoksa duyarlı olmayan iz elementlerin biyoyararlanımının arttığı belirtilmiştir. Çünkü bu kompleks moleküller çökeltilerden daha hareketlidir. Bazı çalışmalarda bu komplekslerin varlığında düşen serbest iyonların denge konsantrasyonları EDTA gibi güçlü komplekslerin kullanımıyla iz element sınırlamasını azalttığı rapor edilmiştir [69]. PO₄³⁻ ve CO₃²⁻ gibi diğer önemli inorganik bağlar anaerobik reaktörlerin sıvı fazında yaygın olarak bulunmaktadır [69]. Bu inorganik bileşiklerin kompleksleri metal sülfür komplekslerinden daha zayıf olmasına rağmen, anaerobik ortamlar için yapılan çalışmalarda karbonat ve fosfat komplekslerinin iz element biyoyararlanımını üzerinde önemli etkisi olduğu belirtilmiştir [11].

İz elementlerin anaerobik parçalanmaya ilavesi, mikrobiyal metabolizma üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Yüksek konsantrasyonlarda veya düşük biyoyararlanım durumlarında mikroorganizma aktivitelerinin inhibisyonu söz konusu olabilir. Biyoyararlanımını etkileyen etmenlerin kompleks bir sistemde gerçekleştiği bilinmektedir. İz

elementlerin biyokimyasal süreçlerdeki etkileşimleri, ilave edildikleri formları, sistemde oluşturdukları türleşmeleri ve anaerobik reaktörün diğer işletme koşullarının birleşik etkisi sonucunda farklı biyoyararlanım seviyesine sebep olmaktadır. Karmaşık bir sistemin nihayetinde ortaya çıkan ideal iz element biyoyararlanımı anaerobik reaktörlerin biyogaz üretim performansını %15-30 oranında arttırabileceği literatürdeki çalışmalarla vurgulanmıştır. Ayrıca iz elementlerin biyoyararlanımının daha anlaşılır olması iz element maliyetlerini azaltmaya yardımcı olurken diğer taraftan da anaerobik arıtma çamurunun bileşimindeki iz element seviyesinin düşmesi tarımda gübre olarak kullanımını destekleyecektir.

2.4 İz element ilavesinin ekonomik katkısı

Biyogaz bileşiminde yaklaşık olarak %60 CH₄ ve %40 CO₂ ile eser miktarda H₂, NH₃ ve H₂S gazları bulunmaktadır. Biyogazın ısı değeri ve enerji verimliliği düşük olduğundan Wobbe indeks (gaz cihazlarının ısı yükleri bakımından gazların birbirlerinin yerlerine ikame edebilmelerini belirten katsayı değeridir. Hidrojen, metan ve doğalgazın Wobbe indeksi sırasıyla 11.528, 12.735, 12.837 kcal/Nm³) değeri de düşüktür [70]. Biyogaz genellikle elektrik ve ısı üretmek için kullanılır. Metan içeriği en az %95'e yükseltilebilir biyogaza biyometan denilmekte, doğrudan araç yakıtı olarak ve doğalgaza ihtiyaç duyulan diğer alanlarda kullanılabilir.

Anaerobik parçalanma süreçlerinde rol alan iz elementlerin ideal ilavesi anaerobik reaktörlerde kararlı bir performans oluşturmakta ve biyogaz içeriğindeki metan oranını arttırarak ekonomik değerine katkı sağlamaktadır. Cai ve diğerleri, iz element biyoyararlanımını araştırdıkları çalışmada tavuk gübresinin anaerobik parçalanmasında metan üretiminde %38 artış elde etmişlerdir [71]. Arıtma çamurunun anaerobik arıtımına enzim ve iz element ilavesinin etkisini araştırdığı bir çalışmada, Fe, Ni, Co, W, MO iz elementlerinden oluşan çözeltinin ilavesiyle kontrol grubuna nazaran %14.21 metan artışı elde edilmiştir [72]. Bir başka çalışmada ise Ni, Co ve Mg konsantrasyonlarını sabit tutarak, değişen Fe ve Cu konsantrasyonlarının biyometan ve biyogaz veriminde sırasıyla %11 ve %18 artış olduğu belirtilmiştir [51]. Kağıt endüstrisi atıksuyunun anaerobik parçalanmasına 0.5 mg/L Cu konsantrasyonunun ilave edildiği çalışma ile biyogaz içeriğindeki metan oranı %46 artmıştır [51]. 5000 m³/gün debili ve biyolojik bozunabilir KOİ değeri 4 kg/m³ olan kağıt endüstrisi atıksuyundan mezofilik şartlarda teorik olarak 3381 m³ CH₄/gün metan elde edilebilir. 1 m³ metanın elektrik enerji eşdeğeri 4.02 kWh kabulüyle [73] biyogaz içeriğindeki metanın %1 oranında artması ile sağlanacak enerjinin yaklaşık olarak 96845 kWh/yıl elektrik enerjisine denk geldiği hesaplanmaktadır. Bu çalışma özelinde Cu ilavesiyle sağlanan %46'lık metan artışı baz alındığında 4454.87 MW/yıl kazanç sağlanabilir.

3 Sonuçlar

Anaerobik parçalanma süreçlerine ideal iz element konsantrasyonlarının ilavesi sistemdeki mikroorganizmaların büyümelerini ve işlevlerini desteklediğinden önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bu

derleme ile iz elementlerin anaerobik süreçlerdeki işlevleri ve etkileri özetlenmiştir.

- İz elementler mikroorganizmaların yapısına katılan ve biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesinde aktif rol oynayan önemli bir işletme parametresidir.
- Anaerobik parçalanma süreçlerinde kullanılan substrat içeriğine göre ihtiyaç duyulan seviyeleri değişmektedir.
- Anaerobik süreçlerin kararlılığını sağlamakta ve sistem performansını arttırmaktadır.
- Biyometan üretim verimini arttırdığından yenilenebilir enerji üretimine de doğrudan fayda sağlamaktadır.
- Mikroorganizmaların iz element biyoyararlanımı ile sistemdeki toplam iz element seviyeleri aynı durumu ifade etmemektedir. Sistemlerin gerçek ideal iz element seviyeleri biyoyararlanımının tespiti ile mümkündür.
- Her organik atığın ve anaerobik reaktörün iz element ihtiyacı uygulamada özgün olup yapılan çalışmalardan bir genellemeye gidilse bile her çalışmaya özgü optimize edilmesi gerekir. Eksiklikleri önemli performans düşüklüklerine sebep olan iz element ihtiyacının kontrolü ile süreçlerin kararlılığı sağlanabilmekte ve beraberinde de yenilenebilir enerji kategorisindeki biyometan üretimine katkı sağlamaktadır.

Çıkar çatışması

Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Benzerlik oranı (iThenticate): %6

Kaynaklar

- [1] Y. Li, Y. Chen and J. Wu, Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. Applied Energy, 240, 120137, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.01.243>.
- [2] C. Carotenuto, G. Guarino, B. Morrone and M. Minale, Temperature and pH effect on methane production from buffalo manure anaerobic digestion. International Journal of Heat and Technology, 34, 425429, 2016. <https://doi.org/10.18280/ijht.34S233>.
- [3] M.O. Fagbohunge, B.M.J. Herbert, L. Hurst, C.N. Ibeto, H. Li, S.Q. Usmani and K.T. Semple, The challenges of anaerobic digestion and the role of biochar in optimizing anaerobic digestion. Waste Management, 61, 236249, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.11.028>.
- [4] W. Rudolfs and H.R. Amberg, White Water Treatment: I. Factors Affecting Anaerobic Digestion. Sewage and Industrial Wastes, 24, 11081120, 1952. <https://www.jsstor.org/stable/25031961>.
- [5] Y. Chen, J.J. Cheng and K.S. Creamer, Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Bioresource Technology, 99, 40444064, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>.
- [6] J.N. Meegoda, B. Li, K. Patel and L.B. Wang, A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. International Journal of Environmental Research and Public Health, 15, 2224, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102224>.

- [7] C. Mao, Y. Feng, X. Wang and G. Ren, Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540555, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.032>.
- [8] C. Gou, Z. Yang, J. Huang, H. Wang, H. Xu and L. Wang, Effects of temperature and organic loading rate on the performance and microbial community of anaerobic co-digestion of waste activated sludge and food waste. *Chemosphere*, 105, 146151, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.018>.
- [9] P. Scherer and B. Demirel, Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass and Bioenergy*, 35, 992998, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.12.022>.
- [10] J.A. FitzGerald, D.M. Wall, S.A. Jackson, J.D. Murphy and A.D.W. Dobson, Trace element supplementation is associated with increases in fermenting bacteria in biogas mono-digestion of grass silage. *Renewable Energy*, 138 980986, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.02.051>.
- [11] J. Gustavsson, S. Shakeri Yekta, C. Sundberg, A. Karlsson, J. Ejlertsson, U. Skyllberg and B.H. Svensson, Bioavailability of cobalt and nickel during anaerobic digestion of sulfur-rich stillage for biogas formation. *Applied Energy*, 112, 473477, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.02.009>.
- [12] V. Facchin, C. Cavinato, F. Fatone, P. Pavan, F. Cecchi and D. Bolzonella, Effect of trace element supplementation on the mesophilic anaerobic digestion of foodwaste in batch trials: The influence of inoculum origin. *Biochemical Engineering Journal*, 70, 7177, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.10.004>.
- [13] R.J. Quinlan, M.D. Sweeney, L. Lo Leggio, H. Otten, J.-C.N. Poulsen, K.S. Johansen, K.B.R.M. Krogh, C.I. Jørgensen, M. Tovborg and A. Anthonsen, Insights into the oxidative degradation of cellulose by a copper metalloenzyme that exploits biomass components. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 108, 1507915084, 2011. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105776108>.
- [14] Z.W. Khatri Shailendra and Kizito Simon, Synergistic effect of alkaline pretreatment and Fe dosing on batch anaerobic digestion of maize straw. *Applied Energy*, 158, 5564, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.08.045>.
- [15] M. Kamali, T. Gameiro, M.E. V Costa, I. Capela, Anaerobic digestion of pulp and paper mill wastes—An overview of the developments and improvement opportunities. *Chemical Engineering Journal*, 298, 162182, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.03.119>.
- [16] P.M. Thanh, B. Ketheesan, Z. Yan and D. Stuckey, Trace metal speciation and bioavailability in anaerobic digestion: A review. *Biotechnology Advances*, 34, 122136, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.006>.
- [17] M. Westerholm, B. Müller, S. Isaksson and A. Schnürer, Trace element and temperature effects on microbial communities and links to biogas digester performance at high ammonia levels. *Biotechnology for Biofuels*, 8, 154, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0328-6>.
- [18] M.S. Romero-Güiza, J. Vila, J. Mata-Alvarez, J.M. Chimenos and S. Astals, The role of additives on anaerobic digestion: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 14861499, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.094>.
- [19] C.M. Park and J.T. Novak, The effect of direct addition of iron (III) on anaerobic digestion efficiency and odor causing compounds. *Water Science & Technology*, 68, 23912396, 2013. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.507>.
- [20] L. Zhang, Y.W. Lee and D. Jahng, Anaerobic co-digestion of food waste and piggery wastewater: Focusing on the role of trace elements. *Bioresource Technology*, 102, 50485059, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.082>.
- [21] M. Garuti, M. Langone, C. Fabbri and S. Piccinini, Methodological approach for trace elements supplementation in anaerobic digestion: Experience from full-scale agricultural biogas plants. *Journal of Environmental Management*, 223, 348357, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.06.015>.
- [22] E.D. van Hullebusch, G. Guibaud, S. Simon, M. Lenz, S.S. Yekta, F.G. Feroso, R. Jain, L. Duyster, J. Roussel and E. Guillon, Methodological approaches for fractionation and speciation to estimate trace element bioavailability in engineered anaerobic digestion ecosystems: An overview. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46, 13241366, 2016. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1235943>.
- [23] J. Glass and V.J. Orphan, Trace metal requirements for microbial enzymes involved in the production and consumption of methane and nitrous oxide. *Frontiers in Microbiology*, 3, 61, 2012. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00061>.
- [24] F.G. Feroso, E. Van Hullebusch, G. Collins, J. Roussel, A.P. Mucha and G. Esposito, Trace Elements in Anaerobic Biotechnologies. IWA Publishing, 2019. <https://doi.org/10.2166/9781789060225>.
- [25] A. Karlsson, P. Einarsson, A. Schnürer, C. Sundberg, J. Ejlertsson and B.H. Svensson, Impact of trace element addition on degradation efficiency of volatile fatty acids, oleic acid and phenyl acetate and on microbial populations in a biogas digester. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 114, 446452, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.05.010>.
- [26] S. Rempel, E. Colucci, J.-W. de Gier, A. Guskov and D.J. Slotboom, Cysteine-mediated decyanation of vitamin B12 by the predicted membrane transporter BtuM. *Nature Communications*, 9, 18, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05441-9>.
- [27] B. Lee, J.-G. Park, W.-B. Shin, D.-J. Tian and H.B. Jun, Microbial communities change in an anaerobic digestion after application of microbial electrolysis cells. *Bioresource Technology*, 234, 273280, 2017.

- <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.022>.
- [28] M. Ali and T.R. Sreerkrishnan, Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: A review. *Advances in Environmental Research*, 5, 175196, 2001. [https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(00\)00055-1](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(00)00055-1).
- [29] Y. Liu, Y. Zhang, X. Quan, Y. Li, Z. Zhao, X. Meng and S. Chen, Optimization of anaerobic acidogenesis by adding Fe₀ powder to enhance anaerobic wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 192, 179185, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.03.044>.
- [30] Q. Guo, S. Majeed, R. Xu, K. Zhang, A. Kakade, A. Khan, F.Y. Hafeez, C. Mao, P. Liu and X. Li, Heavy metals interact with the microbial community and affect biogas production in anaerobic digestion: A review. *Journal of Environmental Management*, 240, 266272, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.104>.
- [31] L.-J. Wu, T. Kobayashi, H. Kuramochi, Y.Y. Li and K.Q. Xu, Effects of potassium, magnesium, zinc, and manganese addition on the anaerobic digestion of de-oiled grease trap waste. *Arabian Journal of Science and Engineering*, 41, 24172427, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13369-015-1879-3>.
- [32] B.H. Bashir and A. Matin, Sodium toxicity control by the use of magnesium in an anaerobic reactor. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 8, 1721, 2004. <https://doi.org/10.4314/jasem.v8i1.17220>.
- [33] F.G. Feroso, J. Bartacek, S. Jansen and P.N.L. Lens, Metal supplementation to UASB bioreactors: from cell-metal interactions to full-scale application. *Science of Total Environment*, 407, 36523667, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.043>.
- [34] B. Munk and M. Leubhn, Process diagnosis using methanogenic Archaea in maize-fed, trace element depleted fermenters. *Anaerobe*, 29, 2228, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.04.002>.
- [35] I. Worms, D.F. Simon, C.S. Hassler and K.J. Wilkinson, Bioavailability of trace metals to aquatic microorganisms: importance of chemical, biological and physical processes on biouptake. *Biochimie*, 88, 17211731, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.09.008>.
- [36] Z.W. and W.X. Cai Y., Hua B., Gao L., Hu Y., X. Yuan and Cui Z., Effects of adding trace elements on rice straw anaerobic mono-digestion: Focus on changes in microbial communities using high-throughput sequencing. *Bioresource Technology*, 239, 454463, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.071>.
- [37] H. Liu, J.Y. Zhu, S.Y. Fu, Effects of lignin– metal complexation on enzymatic hydrolysis of cellulose, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 72337238, 2010. <https://doi.org/10.1021/jf1001588>.
- [38] M. Stieb and B. Schink, Anaerobic oxidation of fatty acids by *Clostridium bryantii* sp. nov., a sporeforming, obligately syntrophic bacterium. *Archives of Microbiology*, 140, 387390, 1985. <https://doi.org/10.1007/BF00446983>.
- [39] M.H. Zandvoort, Trace metal dynamics in methanol fed anaerobic granular sludge bed reactors. ProQuest LLC, 789 East Eisenhower Parkway, 2005.
- [40] M. Kim, C.Y. Gomec, Y. Ahn and R.E. Speece, Hydrolysis and acidogenesis of particulate organic material in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion. *Environmental Technology*, 24, 11831190, 2003. <https://doi.org/10.1080/09593330309385659>.
- [41] B. Yu, Z. Lou, D. Zhang, A. Shan, H. Yuan, N. Zhu and K. Zhang, Variations of organic matters and microbial community in thermophilic anaerobic digestion of waste activated sludge with the addition of ferric salts. *Bioresource Technology*, 179, 291298, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.011>.
- [42] H.M. Ng, L.T. Sin, T.T. Tee, S.T. Bee, D. Hui, C.Y. Low and A.R. Rahmat, Extraction of cellulose nanocrystals from plant sources for application as reinforcing agent in polymers. *Composites Part B: Engineering*, 75, 176200, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2015.01.008>.
- [43] L.G. Ljungdahl, The autotrophic pathway of acetate synthesis in acetogenic bacteria. *Annual Reviews Microbiology*, 40, 415450, 1986.
- [44] T.C. Harrop and P.K. Mascharak, Structural and spectroscopic models of the A-cluster of acetyl coenzyme a synthase/carbon monoxide dehydrogenase: Nature's Monsanto acetic acid catalyst. *Coordination Chemistry Reviews*, 249, 30073024, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.04.019>.
- [45] Y.Y. Choong, I. Norli, A.Z. Abdullah and M.F. Yhaya, Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion process: A critical review. *Bioresource Technology*, 209, 369379, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.028>.
- [46] P. Scherer, H. Lippert and G. Wolff, Composition of the major elements and trace elements of 10 methanogenic bacteria determined by inductively coupled plasma emission spectrometry. *Biological Trace Element Research*, 5, 149163, 1983. <https://doi.org/10.1007/BF02916619>.
- [47] X. Meng, Y. Zhang, Q. Li and X. Quan, Adding Fe₀ powder to enhance the anaerobic conversion of propionate to acetate. *Biochemical Engineering Journal*, 73, 8085, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.02.004>.
- [48] M. Takashima, R.E. Speece and G.F. Parkin, Mineral requirements for methane fermentation. *Critical Reviews in Environmental Control*, 19, 465479, 1990. <https://doi.org/10.1080/10643389009388378>.
- [49] X. Zhu, Z. Wang, D. Yellezuome, R. Liu, X. Liu, C. Sun, M.H. Abd-Alla and A.-H.M. Rasmey, Effects of Trace Elements Supplementation on Methane Enhancement and Microbial Community Dynamics in Mesophilic Anaerobic Digestion of Food Waste. *Waste and Biomass Valorization*, 14, 2323–2334, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-02024-0>.
- [50] A. Karlsson, X. Truong, J. Gustavsson, B.H. Svensson, F. Nilsson and J. Ejlertsson, Anaerobic treatment of activated sludge from Swedish pulp and paper mills–

- biogas production potential and limitations. *Environmental Technology*, 32, 1559–1571, 2011. <https://doi.org/10.1080/09593330.2010.543932>.
- [51] D. Toprak, T. Yilmaz and D. Uçar, Increasing biomethane production from paper industry wastewater with optimum trace element supplementation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20, 2635–2648, 2023. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04156-1>.
- [52] H.M. Lo, C.F. Chiang, H.C. Tsao, T.Y. Pai, M.H. Liu, T.A. Kurniawan, K.P. Chao, C.T. Liou, K.C. Lin and C.Y. Chang, Effects of spiked metals on the MSW anaerobic digestion. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, 30, 3248, 2012. <https://doi.org/10.1177/0734242X10383079>.
- [53] Y. Cai, Z. Zheng, Y. Zhao, Y. Zhang, S. Guo, Z. Cui and X. Wang, Effects of molybdenum, selenium and manganese supplementation on the performance of anaerobic digestion and the characteristics of bacterial community in acidogenic stage. *Bioresource Technology*, 266, 166175, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.061>.
- [54] C. Schmidt-Dannert and F.H. Arnold, Directed evolution of industrial enzymes. *Trends Biotechnology*, 17, 135136, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(98\)01283-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01283-9).
- [55] J.G. Ferry, Fundamentals of methanogenic pathways that are key to the biomethanation of complex biomass., *Current Opinion in Biotechnology*, 22, 351357, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.04.011>.
- [56] V. Kapoor, X. Li, M. Elk, K. Chandran, C.A. Impellitteri and J.W. Santo Domingo, Impact of heavy metals on transcriptional and physiological activity of nitrifying bacteria. *Environmental Science Technology*, 49, 13454–13462, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02748>.
- [57] S. Bayr, O. Pakarinen, A. Korppoo, S. Liuksia, A. Väisänen, P. Kaparaju and J. Rintala, Effect of additives on process stability of mesophilic anaerobic monodigestion of pig slaughterhouse waste. *Bioresource Technology*, 120, 106113, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.009>.
- [58] D. Mara and N.J. Horan, *Handbook of water and wastewater microbiology*. Elsevier, London, 2003.
- [59] A. Hochheimer, R. Hedderich and R.K. Thauer, The formylmethanofuran dehydrogenase isoenzymes in *Methanobacterium wolfei* and *Methanobacterium thermoautotrophicum*: induction of the molybdenum isoenzyme by molybdate and constitutive synthesis of the tungsten isoenzyme. *Archives of Microbiology*, 170, 389393, 1998. <https://doi.org/10.1007/s002030050658>.
- [60] H.V.M. Hamelers, A. Ter Heijne, T.H.J.A. Sleutels, A.W. Jeremiasse, D.P. Strik and C.J.N. Buisman, New applications and performance of bioelectrochemical systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1673–1685, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2357-1>.
- [61] C.-E. Marcato, E. Pinelli, M. Cecchi, P. Winterton and M. Guisresse, Bioavailability of Cu and Zn in raw and anaerobically digested pig slurry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 15381544, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.12.010>.
- [62] M. He, G. Tian and X. Liang, Phytotoxicity and speciation of copper, zinc and lead during the aerobic composting of sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 163, 671677, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.07.013>.
- [63] M.H. Zandvoort, E.D. van Hullebusch, F.G. Feroso and P.N.L. Lens, Trace metals in anaerobic granular sludge reactors: Bioavailability and dosing strategies. *Engineering in Life Science*, 6, 293301, 2006. <https://doi.org/10.1002/elsc.200620129>.
- [64] J. Gustavsson, S.S. Yekta, A. Karlsson, U. Skjellberg and B.H. Svensson, Potential bioavailability and chemical forms of Co and Ni in the biogas process—an evaluation based on sequential and acid volatile sulfide extractions. *Engineering in Life Science*, 13, 572579, 2013. <https://doi.org/10.1002/elsc.201200162>.
- [65] F.G. Feroso, J. Bartacek, R. Manzano, H.P. Van Leeuwen and P.N.L. Lens, Dosing of anaerobic granular sludge bioreactors with cobalt: impact of cobalt retention on methanogenic activity. *Bioresource Technology*, 101, 9429–9437, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.053>.
- [66] S. Myszograj, A. Stadnik and E. P. Koropczuk, The influence of trace elements on anaerobic digestion process. *Civil and Environmental Engineering Reports*, 28, 105115, 2018. <https://doi.org/10.2478/ceer-2018-0054>.
- [67] S.S. Yekta, U. Skjellberg, Å. Danielsson, A. Björn and B.H. Svensson, Chemical speciation of sulfur and metals in biogas reactors—Implications for cobalt and nickel bio-uptake processes. *Journal of Hazardous Materials*, 324, 110116, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.058>.
- [68] W.P. Barber and D.C. Stuckey, Metal bioavailability and trivalent chromium removal in ABR. *Journal of Environmental Engineering*, 126, 649656, 2000. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)07339372\(2000\)126:7\(649\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)07339372(2000)126:7(649)).
- [69] F.G. Feroso, G. Collins, J. Bartacek, V. O’Flaherty and P. Lens, Role of nickel in high rate methanol degradation in anaerobic granular sludge bioreactors. *Biodegradation*, 19, 725737, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10532-008-9177-3>.
- [70] X. Jin, X. Li, N. Zhao, I. Angelidaki and Y. Zhang, An innovative process for biogas upgrading by the microbial electrolysis cell. *Sustain-ATV Conference*, pp.1, Kgs. Lyngby, Denmark, 2016.
- [71] Y. Cai, L. Janke, X. Meng, Z. Zheng, X. Zhao, J. Pröter and F. Schäfer, The absolute concentration and bioavailability of trace elements: Two vital parameters affecting anaerobic digestion performance of chicken manure leachate. *Bioresource Technology*, 350, 126909, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126909>.

[72] X. Jiang, Q. Lyu, L. Bi, Y. Liu, Y. Xie, G. Ji, C. Huan, L. Xu and Z. Yan, Improvement of sewage sludge anaerobic digestion through synergistic effect combined trace elements enhancer with enzyme pretreatment and microbial community response. *Chemosphere*, 286, 131356, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131356>.

[73] O. Hijazi, E. Abdelsalam, M. Samer, B.M.A. Amer, I.H. Yacoub, M.A. Moselhy, Y.A. Attia and H. Bernhardt, Environmental impacts concerning the addition of trace metals in the process of biogas roduction from anaerobic digestion of slurry. *Journal of Cleaner Production*, 243, 118593, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118593>

