

Anaerobik Sindirimdeki Demir, Nikel ve Krom İz Elementlerin En İyi Konsantrasyonunun Cevap Yüzey Yöntemi ile Belirlenmesi

Mehtap ERŞAN^{1*}, Halil ŞENOL²

Öz

Anaerobik sindirim (AS) süreci, karmaşık endüstriyel organik atıkların enerji açısından zengin metana dönüştürülmesi ve bunun standartlaşması için güncel çalışmalar ilgi çekicidir. Tavuk gübresinin AS'i ile metan üretimi bu standartta uygun bir alternatiftir. Ancak, esas olarak organik tavuk gübresinin tekli metan verimi oldukça düşük olabiliyor. Bu nedenle, tavuk gübresinin AS verimini arttırmak için küçük ölçekli kesikli tipte metan potansiyel analizlerinde Cr, Fe ve Co ilavesinin (sırasıyla 0-5, 0-150 ve 0-30 mg/l konsantrasyonlarında) etkisini tartışıldı. En uygun optimizasyon değerinin bulunması için Cevap Yüzey Yönteminin Box Behnken Tasarımı uygulanmıştır. Optimizasyon ve model denklemi yüksek doğrulukta ve uygun performansta başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Ön işlemsiz tavuk gübresinin metan verimi 235 ml/g uçucu katı (UK) iken optimum koşullardaki (Fe: 28,6 mg/l, Co:16,2 mg/l ve Cr: 3,66 mg/l) metan verimi 267,5 ml/g UK değerinde bulunmuştur ve bu koşullardaki metan verimi ön işlemsiz metan verimine göre %13,6 kadar artırılmıştır. Bu çalışma kesikli sistemlerde ve laboratuvar ölçeğinde Cr, Fe ve Co iz elementlerinin anaerobik ortama eklenmesi ile substratın metan verimini başarılı bir şekilde artırdığını gösterdi. Bu nedenle gelecek çalışmaların pilot ölçekte Cr, Fe ve Co iz elementlerinin anaerobik ortama eklenmesi ile metan veriminin test edilmesi gereklidir.

Anahtar kelimeler: Biyogaz, Metan, İz elementler, Cevap yüzey yöntemi

Determination of the Optimal Concentration of Iron, Nickel and Chromium Trace Elements in Anaerobic Digestion by Response Surface Method

Abstract

Current studies for the anaerobic digestion (AD) process, the conversion of complex industrial organic wastes into energy-rich biomethane, and its standardization are of interest. Biomethane production by AD of chicken manure is an alternative that complies with this standard. However, mainly the monobiomethane yield of organic chicken manure can be quite low. Therefore, the effect of Cr, Fe and Co addition (at concentrations of 0-5, 0-150 and 0-30 mg/L, respectively) in small-scale batch-type biomethane potential analyzes to increase the AD of chicken manure was discussed. Box Behnken Design of the Response Surface Method was applied to find the most appropriate optimization value. The optimization and model equation were successfully achieved with high accuracy and favorable performance. While the methane yield of untreated chicken manure was 235 ml/g volatile solids (VS), the biomethane yield under optimum conditions (Fe: 28,6 mg/L, Co:16,2 mg/L ve Cr: 3,66 mg/L) was found to be 267.5 ml/g VS. Methane yield under these conditions was increased by 13.6% compared to the methane yield untreated. This study showed that the addition of trace elements Cr, Fe and Co to the anaerobic environment in batch systems and on a laboratory scale successfully increased the methane yield of the substrate. For this reason, future studies need to test the methane yield by adding Cr, Fe and Co trace elements to the anaerobic environment on a pilot scale.

Keyword: Biogas, Methane, Trace elements, Response surface method.

¹Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Sivas Türkiye, mersan@cumhuriyet.edu.tr

²Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Enerji Sistemleri Mühendisliği Bölümü, Giresun, Türkiye, halil.senol@giresun.edu.tr

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author

Geliş/Received: 08.12.2023

Kabul/Accepted: 14.03.2024

Yayın/Published: 15.03.2024

1. Giriş

Enerji ihtiyacı haliyle bugün önemli bir sorun oluşturuyor. Dünya enerji ihtiyacını ortalama; %30,3 kömür, %33,1 petrol, %5 nükleer enerji ve %23,7 doğal gaz olmak üzere toplamda yaklaşık olarak %90'ını tükenmekte olan enerji kaynaklarından sağlamaktadır (Qi et al., 2021). Büyüyen nüfus ve ekonomiler enerji sorunları yaratmış, doğal kaynaklar tükenmiş ve büyük miktarlarda hayvan gübresi ve ürün samanı üretilmiştir. Bu nedenlerden dolayı insanlar enerji sıkıntısı ve çevre kirliliği ile karşı karşıya kalmaktadır. Hayvan gübresi ve mahsul samanının enerji üretimi için iyi adaylar olduğu iyi bilinmektedir. Sonuç olarak enerji geri kazanımı, çevre sorunlarını eş zamanlı çözerek enerji sorunlarını azaltmanın en yararlı yolu olduğu için birçok araştırmacı tarafından enerji geri kazanımına çok önem verilmiştir. Hayvan gübresi için yaygın olarak kullanılan bertaraf yöntemleri kompostlama, biyogazlaştırma, depolama ve biyohidrojen üretimi vb.'dir. Bu tekniklerin dezavantajları katı yabancı maddelerin üretilmesi, düşük verim ve kötü sağlık koşullarıdır. Anaerobik sindirim (AS), çeşitli türdeki organik atıkları arıtabilme yeteneğine sahiptir ve en etkili biyolojik atık arıtma süreçlerinden biridir ve besin maddelerinin korunması ve organik maddelerin uzaklaştırılması gibi birçok avantaja sahiptir. Atık hacmini azaltır ve zoonotik patojenleri ve parazitleri ortadan kaldırır. AS, organik madde stabilizasyonu açısından atıktan enerjiye dönüştürme çözümü için en muhtemel seçenektir (Lin et al., 2007).

Tarımsal faaliyetler arasında kümes hayvanları sektörü büyük miktarlarda organik atık üreten en önemli faaliyetlerden biridir. Tüm dünyada üretilen büyük miktardaki tavuk gübresi, bu organik atıkların kontrolsüz bir şekilde çevreye bırakılması, yüzey sularının ötrofikasyonu, toprak ve yeraltı sularının kirlenmesi ve insan sağlığı gibi ciddi çevresel risklere yol açması nedeniyle çevre dostu bir yarıya ihtiyacı duymaktadır. Tavuk gübresi, biyolojik olarak parçalanabilen organik maddesinin yüksek olması nedeniyle (kg uçucu katı başına 450 L biyogaz) anaerobik sindirim için oldukça uygun bir substrattır. Tavuk gübresi yönetiminde anaerobik çürütmenin bir diğer önemli avantajı, koku probleminin azalması ve yüksek metan üretiminin ardından elektriğe ve ısıya dönüştürülmesidir (Karaalp et al., 2015).

AS aşamasında tek başına tavuk gübresindeki uçucu katıların (UK) tam olarak sindirilmemesi gibi sorunlar olabilir. Buna bir çözüm olarak metan oluşumunu hızlandıran ve verimi artırabilen makro ve mikrobeyinlerim prosese ilave edilmesi gerekebilir. Mikrobeyinler metanojenez aşamasını hızlandırarak metan üretimine katkıda bulunabilir (Mancini et al., 2018). AS'de makro (Fe, Ca, Na, Mg, P, K, C, O ve H) ve mikro (Ni, Co, Mn, Cu, W ve Mo) elementler gerekli olduğundan, eser element konsantrasyonları başarılı bir AS'de mikroorganizmaların büyümesi ve metabolik aktivitelerin performansı için ayrıca çok önemlidir (Zhang et al., 2007). AS için yeterli ve dengeli seviyelerde sağlanması gerekir. Ayrıca iz elementler kofaktör ve koenzimler olarak aktif bir role

sahiptir (Zhang et al., 2013). Fe, anaerobik çürütme işlemi için en çok çalışılan eser elementlerden biridir. Fe'nin asetik asidin metana dönüşüm verimliliği üzerindeki etkisi bildirilmiştir (Preeti Rao & Seenayya, 1994). Asetatın metan içine anaerobik fermantasyonunun Fe, Co ve Ni'nin sırasıyla 1 kg/m³ gün, 100 mg/m³ gün ve 200 mg/m³ gün minimum gereksinimlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Takashima et al., 1990). Fe, Ni, Co, Mo, Se ve W' de en yaygın olarak incelenen iz elementlerdir ve anaerobik aşı mekanizmalarını etkilediği bilinmektedir (Demirel & Scherer, 2011).

Literatür, her substratın kendine özgü gereksinimleri olduğunu belirten, çeşitli iz element konsantrasyonu aralığına sahip birçok rapordan oluşmaktadır (Schattauer et al., 2011). Bu nedenle bazal ortamdaki her bir eser elementin anaerobik mikroorganizmalar için benzersiz roller oynaması nedeniyle, daha yüksek metan üretim performansları için optimum konsantrasyonların belirlenmesi çok önemlidir. Deneysel çalışmaların istatistiksel ve matematiksel teknikler uygulanması günümüzde oldukça yaygın tekniklerdendir. Bu bağlamda en kullanışlı deneysel tasarım tekniklerinden biri, çalışılan parametreler için işleme değişkenlerinin optimum seviyelerinin belirlenmesi için etkili ve çok yönlü bir metodolojik araç olan Cevap Yüzey Yöntemi (CYY)'nin Box-Benken Tasarımı (BBT)'dir (Can & Ersan, 2013).

Son yıllarda, birçok çalışma iz elementlerin anaerobik süreçlerdeki rolüne odaklanmıştır (Choong et al., 2016). Farklı iz elementlerin gıda atığı, atık su çamuru ve enerji bitkilerinin AS'i üzerindeki etkisi büyük ölçüde araştırılmış ve iz elementlerin ilavesinin biyogaz üretimi üzerinde olumlu etkileri gözlemlenmiştir (Zandvoort et al., 2006). Buna karşılık, tarımsal kalıntılarla çalışan biyogaz reaktörlerinin iz elementlerin gereklilikleri, bu tür hammaddelerin genellikle düşük bir temel iz elementlerin içeriği göstermesine rağmen, bilimsel literatürde nadiren rapor edilmiştir (Mancini et al., 2018). Mikrobiyal büyüme ve tüm anaerobik fermantasyon süreci, iz elementlerin optimal tedarikine ve bunların mikroorganizmalar tarafından kullanılabilirliğine bağlıdır. Demir (Fe), nikel (Ni), kobalt (Co), molibden (Mo), selenyum (Se) ve tungsten (W) gibi iz elementler için metanojenik arkelerin gerekliliği belgelenmiştir (Glass & Orphan, 2012). Ancak, önerilen değerler geniş bir konsantrasyon aralığına yayılmıştır; bu, belirli bir iz elementlerin varlığının, mikroorganizmaların iz elementi alıp onu enzimlerin katalitik merkezine dahil edebildiği anlamına gelmediğini düşündürmektedir. Bu nedenle AS sürecinde iz elementlerin tekli, ikili ve üçlü şekilde eklenmesi ile bunların mikroorganizmalar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın amacı anaerobik biyoproseslerde en çok kullanılan iz elementler arasında olan Fe ve Co'a ilaveten Cr iz elementinin anaerobik sürece olan en iyi konsantrasyon etkisini incelemektir. Bu kapsamda CYY'nin BBT için toplam 17 farklı deney koşulu oluşturuldu ve her bir koşul için metan verimi ml/g UK biriminde belirlendi.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Substrat ve Aşı Hazırlama

Anaerobik konsorsiyum (aşı), bir atık su arıtma tesisi üzerinde çalışan anaerobik biyoreaktörden sağlandı. Granül aşı, yaklaşık 50 g/L'lik bir uçucu askıda katı konsantrasyonuna sahipti (Keskin et al., 2019). Substrat olarak tavuk gübresi kullanılmıştır (Mustafa et al., 2018). Aşı/substrat oranı 1,0 olarak seçildi. Bu oran literatürde en sık kullanılan orandır (Şenol, 2020). Aşı ve substratın fizikokimyasal özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Substrat ve aşının fizikokimyasal parametreleri

Parametre	Substrat	Aşı
Toplam katı (TK) (%m/m)	27,5 ± 1,1	9,1 ± 0,5
Uçucu katı (UK) (%m/m)	22,4 ± 2,0	5,0 ± 0,7
pH	4,66 ± 0,1	7,66 ± 0,1

2.2. Metan Testleri ve Analitik Yöntemler

Substratların AS testleri mezofilik koşullar altında (35 ± 2 °C) 'de metan verimini test etmek amacıyla 500 ml toplam hacime sahip (400 ml sulu karışım ve 100 ml kafa boşluğu) kesikli tipte çalışan özel yapım bir anaerobik biyoreaktör kullanıldı. Reaktöre toplamda 400 ml hacime kadar substrat ve aşı ile doldurulacak olup aşı/substrat oranı uçucu katı temeline göre 1,0 olarak alındı (Şenol et al., 2020). Reaktörün hava boşluğunda bulunan oksijen miktarı azot gazı ile 5 dakika boyunca süpürüldü (Zheng et al., 2014). AS'de mikroorganizmaların ışıktan etkilenmemesi için reaktör dış yüzeyi alüminyum folyo ile kaplandı (Papirio, 2020). AS boyunca reaktör içerisindeki sulu karışım 12 saatte bir arayla 150 rpm değerinde 10 dakika karıştırıldı. Elde edilen biyogaz hacmi suyun yer değiştirme prensibine göre belirlendi. Metan hacmi her üç günde bir ölçülecek olup CH₄ içeriği biyogaz ölçüm cihazı ile belirlendi (Şenol, 2020). Toplam katı ve uçucu katı analizleri APHA standartlarına göre yapıldı (Apha, 1985). Analizlerin hepsi iki tekrarlı yapıldı ve standart sapmalar eklendi.

2.3. Box Benhken Analizi ve Deney Tasarımı

CYY deney tasarımı olan BBT, bağımsız değişken ve sonuçlar (bağımlı değişkenler) arasındaki ilişkiyi tahmin etmek için en yaygın kullanılan istatistiksel yöntemdir. Ayrıca BBT çoklu bağımsız

değişkenlerinin olduğu durumlarda optimizasyon açısından en az deney sayısı veren tasarımlardan biri olduğu için bu çalışmada kullanıldı (Şenol et al., 2020). Fe, Co ve Cr ön işlemlerin farklı konsantrasyonlarda uygulandığı deneysel tasarım analizi toplam 17 adet farklı deney koşulu Tablo 2'de verilmiştir.

3. Sonuçlar ve Tartışma

Metan verimlerini ve oranlarını arttırmak amacıyla AS prosesinde yer alan mikroorganizmaların büyümesi ve enzimatik aktiviteleri için optimum iz elementleri temini gereklidir. Toplam miktardan ziyade biyolojik olarak kullanılabilir miktarın ölçülmesi, mikrobiyal konsorsiyuma iz elementlerin yeterli tedariki hakkında daha iyi bilgi sağlar (Molaey et al., 2018). Bu kapsamda tavuk gübresinin anaerobik sindirim sürecinde Fe, Co ve Cr iz elementlerinin en iyi konsantrasyonu belirlemek için kontrol dahil olmak üzere 18 farklı deney koşulu çalışıldı (Tablo 2).

3.1. Box-Behnken Tasarım Sonuçları

Metan verimine yönelik BBT matrisi yanıt değişkeni olarak kullanılmıştır; BBT tarafından tahmin edilen metan verimleri, Cr, Co ve Fe konsantrasyonları Tablo 2'de verilmiştir. Elde edilen değerler, NaOH ön işlemi (A), Fe (B) ve Co (C) arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yanıt analizine tabi tutuldu. CYT tasarımıyla önerilen 17 reaktör (Run), Cr (A), Fe (B) ve Co (C) arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için farklı kombinasyonları ile hazırlandı ve metan verim sonuçları Tablo 2'de verilmiştir. En yüksek metan verimi 289.9 ml/g UK değerinde meydana gelmiş olup 13. deney koşulunda Cr 2,5 mg/L ve Co 30 mg/L konsantrasyonlarında meydana gelmiştir.

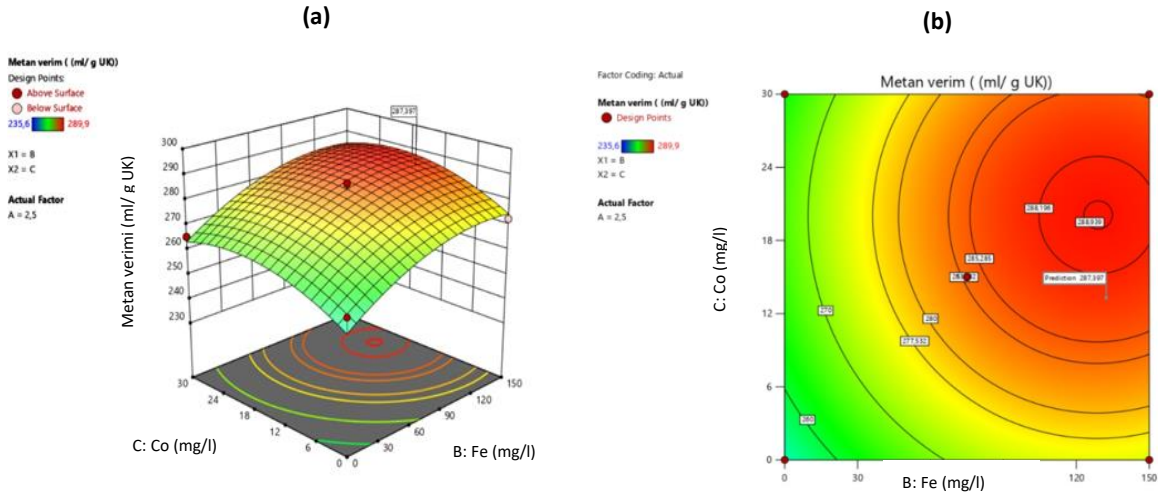
Tablo 2. BBT tarafından önerilen deneylerin sonuçları

Çalışma	Cr (mg/l)	Fe (mg/l)	Co (mg/l)	Metan verimi (ml/g UK)
0	0	0	0	235,6
1	5	0	15	286,7
2	2,5	75	15	272,6
3	2,5	150	0	260,3
4	0	0	15	259,2
5	2,5	0	0	253,8
6	5	75	0	257,0
7	0	75	0	280,2
8	0	75	30	286,7
9	2,5	75	15	279,1
10	2,5	150	30	286,4

11	2,5	75	15	259,1
12	5	75	30	265,4
13	2,5	0	30	289,9
14	0	150	15	286,7
15	2,5	75	15	286,3
16	2,5	75	15	274,7
17	5	150	15	265,0

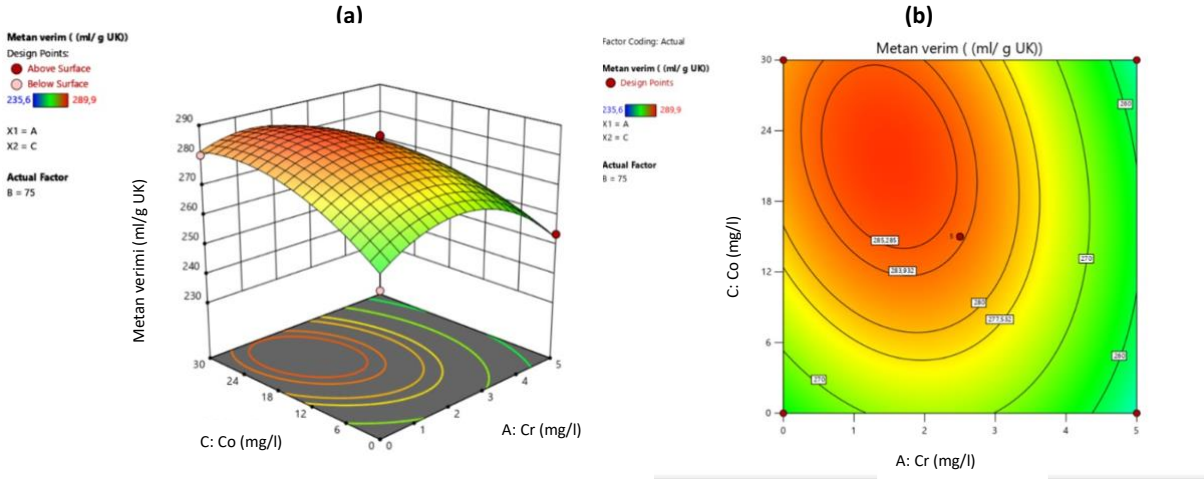
3.2. Bağımsız Değişkenler Arası Etkileşimler

Fe'nin metan üretimi üzerindeki uyarıcı etkisi başka yerlerde de rapor edilmiştir. Bir çalışmada belediye katı atıklarının organik fraksiyonunun ve mezbaa kalıntılarının anaerobik olarak birlikte sindirilmesi sırasında Fe ilavesine bağlı olarak uçucu yağ asiti konsantrasyonunun azaldığını bildirildi; bu, yarı sürekli laboratuvar ölçekli reaktörlerde metanojenik toplulukların artmasıyla da desteklendi (Moestedt et al., 2016). Metan üretim verimleri ve oranları sırasıyla %9 ve %35 arttı. Mikrobiyal enzimlerin aktivitesini uyarmanın yanı sıra, Fe ilavesinin gübre veya kentsel katı atıkların ve kayın talaşı yüklü reaktörlerde sülfid inhibisyonunu pozitif yönde etkisiz hale getirdiği de gözlemlenmiştir (Hansen et al., 1999). Sülfür, demir sülfür olarak çökeltir ve bunun sonucunda biyogaz üretim verimine fayda sağlanır. Bu nedenle, bu çalışmalar, biyolojik olarak daha hızlı parçalanabilen malzemelerin AS'sinin, pirinç samanı gibi karmaşık lignoselülozik substratlara göre Fe dozajından daha fazla fayda sağladığını göstermektedir. Ek olarak, yarı sürekli bir operasyonel strateji kullanıldığında, reaktöre eklenen iz elementlerinin, aşı/substrat karışımında halihazırda mevcut olan elementlerin etkisine üstün geliyor gibi görünmektedir (Pastor-Poquet et al., 2019). Aslında, metanojenik arkeler için daha yüksek organik yüklemelerin ve daha zor koşulların kullanılması, ekstra iz elementlerin eklenmesi gerektiğini savunuyor. AS testleri için Co'nun Fe ile eklenmesi, Co'nun hem asetoklastik hem de hidrojenotrofik metanogenez yollarında (yani asetil-metanogenez yollarında yer alan çeşitli enzimler için ko-faktör olarak kabul edilen önemine rağmen) metan veriminin arttırılması açısından önemli etkilere yol açmıştır (Romero-Güiza et al., 2016).



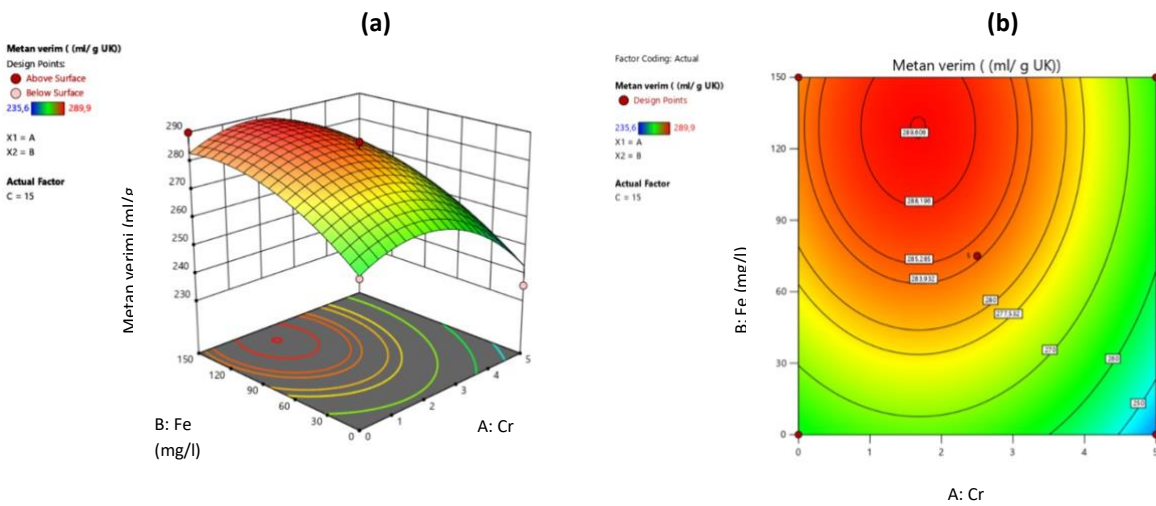
Şekil 1. (a) Fe (B) – Co (C) konsantrasyonları ile metan verimi için 3 boyutlu yanıt yüzey grafiği ve (b) Fe (B) –Co (C) konsantrasyonları ile metan verimi için kontur plot grafiği

Şekil 1’de Co ve Fe konsantrasyonlarına karşılık gelen metan verimi için üç boyutlu yanıt yüzeyleri grafiği ve Fe (B) – Co (C) konsantrasyonları ile metan verimi için kontur plot grafiği verilmiştir. Ön işlemsiz tavuk gübresinin mezofilik koşullar altında metan verimi 235,6 ml/g UK değerindedir ve bu değer literatürde daha önce beyan edilen 202.62 ml/g UK değerine yakın olması nedeniyle makul bir sonuçtur (Şenol, 2020b). Fe ve Co konsantrasyonlarını içeren en yüksek metan verimi 289,9 ml/g UK ve en düşük metan verimi ise 235,6 ml/g UK olarak karşımıza çıkmaktadır. Şekil 1’de Fe ve Co konsantrasyonu arttıkça metan verimine katkısı bir dereceye kadar olumlu görülmektedir ve Fe’in yaklaşık 90 mg/L den daha yüksek konsantrasyonları da nispeten toksik etki yaptığı söylenebilir. Önceki bir çalışmada Fe ve Co eklendikten sonra metan verimleri en fazla sırasıyla %23 ve %48’lik arttı (Mancini et al., 2019). Bu çalışmada ise Fe ve Co eklenmesi ile maksimum metan verimi %23 kadar artmıştır ve rapor edilen literatür ile tutarlılık göstermektedir.



Şekil 2. Cr (A) – Co (C) konsantrasyonları ile metan verimi için 3 boyutlu yanıt yüzeyi ve Cr (A) – Co (C) konsantrasyonları ile metan verimi için kontur plot grafiği

Şekil 2’de benzer şekilde Co ve Cr konsantrasyonlarına karşılık gelen metan verimi için üç boyutlu yanıt yüzeyleri grafiği ve Şekil 3 ile bağlantılı olarak Cr – Co konsantrasyonları ile metan verimi için kontur plot grafiği verilmiştir. Cr ve Co konsantrasyonlarını içeren en yüksek metan verimi 289,9 ml/g UK ve en düşük metan verimi ise 235,6 ml/g UK olarak karşımıza çıkmaktadır. Şekil 2’de Co konsantrasyonu sabit tutulduğunda Cr konsantrasyonu arttıkça metan verimi bir dereceye kadar artmıştır ve Cr konsantrasyonu sabit alındığında Co’nın yaklaşık 25 mg/l’ye kadar metan verimini artırdığı söylenebilir. Yine benzer şekilde Cr konsantrasyonu %4’e kadar metan verimini artırmış olup, %5’e kadar çıktıkça nispeten toksik etki gösterdiği görülmektedir.



Şekil 3. Fe (B) – Cr (A) konsantrasyonları ile metan verimi için 3 boyutlu yanıt yüzeyi ve Fe (B) – Cr (A) konsantrasyonları ile metan verimi için kontur plot grafiği

Şekil 3'te Fe (B) – Cr (A) konsantrasyonları ile metan verimi için 3 boyutlu yanıt yüzeyi ve metan verimi için kontur plot grafiği verilmiştir. İz element eklenen ve eklenmeyen substratın metan verimlerinin 235 ile 289 ml/g UK değerlerinde değişiklik gösterdiği açıktır ve bu durum literatür tarafından desteklenmektedir (Şenol, 2020). Şekil 3 (a)'da Cr konsantrasyonu sabit alındığında Fe konsantrasyonu arttıkça metan veriminde arttığı açıktır. Tersine Fe konsantrasyonu sabit alındığında NaOH konsantrasyonu arttıkça metan verimi azalmıştır. Literatürde inek gübresi ve kümes hayvanı altlığı atıklarıyla dolu, günlük beslenen toplu çürütücüleri stabilize etmek için yaklaşık 250 mg/l'lik bir Fe konsantrasyonu kullanıldığında ve uçucu yağ asitlerinin artan kullanımına ve artan metanojen sayısına bağlı olarak metanojenlerin %40 oranında arttığı gözlemlenmiştir (Preeti Rao & Seenayya, 1994). Dolayısıyla Fe ilavesi hem asetik asit tüketimini arttırmak hem de biyogaz üretim verimini arttırmak açısından faydalı olmuştur. Buna karşılık, kullanılan aşımın iz elementi eksikliği olan bir reaktörden toplanmış olması durumunda, metan üretimini arttırmak ve süreci ve biyokütleyi daha sağlam hale getirmek için Fe'nin harici eklenmesi gerekli olacaktır veya mikroorganizmalar üzerindeki olumlu etkisi için akut bir inhibitör gözlemlemeye izin verecekti.

3.3. Önerilen modelin denklemi ve ANOVA'sı

Cr, Fe ve Co konsantrasyonlarına bağlı metan verimini veren denklem yukarıda verilmiştir. Bu denkleme göre, NaOH ön işlemi, Co ve Fe konsantrasyonlarının her biri metan verimi üzerinde doğrudan etkiye sahiptir. Fe ve Co'nun birincil etkisi metan verimi üzerindedir. Cr ve Co konsantrasyonları birlikte uygulandığında bunun metan verimini doğrudan artırabileceği gözlemlendi. Ancak Co ve Cr dozu, eş zamanlı Cr ve Fe eklenmesi kadar etkili değildi. Ayrıca Cr, Fe ve Co'nun metan üretimi üzerinde ikinci dereceden etkisi vardı.

$$Y = 284,24 - 9,24.A + 10,76B + 5,15C - 0,050AB - 4,47AC + 0,075BC + 830,58A^2 + 236,53B^2 + 247,70C^2 \quad (1)$$

(Y: metan verimi, A: Cr, B: Fe ve C: Co)

Çoklu regresyon analizleri uygulanarak sonuçlar ikinci dereceden bir polinom denklemi ile ifade edilebilir (Açıkel et al., 2010). Gerçek değerlerin bir fonksiyonu olarak elde edilen denklem aşağıdaki gibidir. BBT tarafından oluşturulan matematiksel regresyon modeli Tablo 3'te verilmiştir. Modelin yeterliliğini değerlendirmek için varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Denklemin istatistiksel önemi bir F testiyle doğrulandı ve ilgili tüm veriler yine Tablo 3'te sunuldu. F değeri 7,40 olarak bulunmuştur ve bu değer modelin oldukça anlamlı olduğunu gösterir. 0,05'ten küçük bir P değeri, model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterdi. Kuadratik regresyon modeli, modelin anlamlı olduğunu gösterdi ($p < 0,05$). P değeri, her parametrenin etkileşim gücü de dahil olmak üzere katsayıların önemini kontrol etmek için bir araç görevi görür. Değişkenlerin önemi ne kadar yüksek olursa, P değeri o kadar küçük olur (Wang et al., 2013). Deney tasarımının değerleri AB, AC, BC ve

B^2 ve C^2 hariç çok anlamlı görünmektedir. R^2 değerleri 1'e ne kadar yakınsa, tahmin edilen ve deneysel değerler arasındaki korelasyon o kadar iyi olur (Safari et al., 2018). Metan verimi için R^2 değerinin 0,9049 olması modelin doğruluğunu göstermektedir. R^2 -kuadratik denkleminin değeri 0,9049 olarak bulunmuştur. Bu, metan verimindeki %99,04'lük değişimin model tarafından açıklanabileceğini ve yalnızca yaklaşık %0,96'sının kapsam dışında olduğunu gösterdi. Bu nedenle bu çalışmada kuadratik model seçilmiştir. 0,9807'lik düzeltilmiş R^2 , modelin yüksek anlamlılığını gösterdi. 0,7826'lık tahmin edilen R^2 , metan verimi için tahmin edilen ve deneysel değerler arasında iyi bir uyum olduğunu gösterdi. 0,9539'luk tahmini R^2 değeri aynı zamanda R^2 Adj ile makul yakınlık ta gösterdi. BBT' nin amacı, hangi deneysel parametrelerin sinyal ürettiğini, yani herhangi bir gürültüyle karşılaştırıldığında hangilerinin büyük olduğunu tespit etmektir. 'Hassaslık yeterliliği ' sinyal-gürültü oranını ölçer ve bunun 4'ten büyük olması arzu edilir (Safari et al., 2018). Bu oranın 30.467 olması yeterli bir sinyal olduğunu gösterdi. Değişim katsayısı (%Cv), verilerin ortalamaya göre kalan değişiminin bir ölçüsüdür; Cv ne kadar yüksek olursa deneyin güvenilirliği o kadar düşük olur (Wang et al., 2013) . Bu çalışmada %2,62'lik Cv değeri deneyin daha yüksek bir güvenilirliğe sahip olduğunu gösterdi. Press değeri ne kadar küçük olursa modele uyum o kadar yüksek olur (Jose & Madhu, 2014). Bu çalışmada Press değeri 7777 olarak bulunmuştur. Ayrıca 2,79 olan "Uyum Eksikliği F-değeri" bunun önemsiz olduğunu göstermiştir. Gürültü nedeniyle "Uyum Eksikliği F-değeri" oluşma ihtimali yalnızca %17 idi. Modelde sırasıyla 7,09 ve 270,49 standart sapma ve ortalama buldu. Bu değerler önceki çalışmalar ile uyumludur (Açikel et al., 2010; Jose & Madhu, 2014; Safari et al., 2018).

Tablo 3. Modelin ANOVA'sı

Source	Kareler toplamı	DF	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri	Uyum değerleri
Model	3351	9	372,3	7,4	0,0076	Anlamlı
A-Cr	682	1	682,6	13,5	0,0078	
B-Fe	926	1	926,6	18,4	0,0036	
C-Co	216	1	212,1	4,22	0,0791	
AB	0,010	1	0,010	0,0002	0,9891	
AC	80,10	1	80,10	1,59	0,2475	
BC	0,022	1	0,022	0,0004	0,9837	
A^2	830	1	830,5	16,5	0,0048	
B^2	236	1	236,5	4,7	0,0668	
C^2	247	1	247,7	4,9	0,0620	
Kalıntı	352	7	50,32			
Uyum eksikliği	238	3	79,47	2,8	0,1732	Anlamlı değil
Mutlak hata	113	4	28,46			
Cor Total	3703	16				
Ayarlı R^2	0,781					

Tahmini R²	0,9807
Cv	%2,62
Press	7777

Tablo 4'te en iyi metan verimine göre optimum konsantrasyon değerleri verilmiştir. Burdaki en uygun Fe değerine yakın literatür bulguları önceki çalışmada benzer şekilde (yaklaşık 28 mg/l) beyan edilmiştir (Keskin et al., 2019).

Tablo 4. Optimum konsantrasyon verimi

Parametre	Optimum konsantrasyon değerleri
Cr	3,66 mg/l
Fe	28,57 mg/l
Co	16,19 mg/l
Metan verimi	267,53 ml/g UK

Bu çalışma sadece kesikli reaktörlerin laboratuvar ölçekte Cr, Fe ve Co iz elementlerinin ortama eklenmesi ile metan verimlerindeki artışları doğrulamaktadır. Fakat bu geçerliliğin genel kabul görmesi için sadece laboratuvar ölçekte değil hem pilot ölçekte hem de sürecin sürekli veya yarı sürekli reaktörlerde değerlendirilmesini ve ilgili mikrobiyal toplulukların kapsamlı bir şekilde incelenmesini gereklidir.

4. Sonuç

İz element eksikliğinde substrat türü en önemli faktör olduğundan, başarılı bir anaerobik çürütme işlemi için iz elementlerin optimum konsantrasyonları dikkatli bir şekilde belirlenmelidir. Tavuk gübresinin AS'sini arttırmak için küçük ölçekli toplu metan potansiyeli analizlerinde iz element takviyesi (Fe, Co ve Cr) ilavesinin etkisini tartışıldı. Reaktöre eklenen Cr, Fe ve Co konsantrasyon aralıkları sırasıyla 0-5, 0-150 ve 0-30 mg/l değerinde alındığında en uygun optimizasyon aralığının bulunması için CYY'nin box BBT uygulandı ve optimizasyon ve model denklemi yüksek doğrulukta ve uygun performansta başarılı bir şekilde elde edildi. Ön işlemsiz tavuk gübresinin metan verimi 235 ml/g UK iken optimum koşullardaki (Fe: 28,6 mg/l, Co:16,2 mg/l ve NaOH: %3,66) metan verimi 267,5 ml/g UK olarak elde edildi. Optimum koşullardaki metan verimi ön işlemsiz metan verimine göre %13,6 kadar artırılmıştır. CYY'nin BBT'si, zaman ve malzeme tüketen faktöriyel tarama çalışmaları yerine, bazal ortamın iz element konsantrasyonu için etkili bir alternatiftir. Bu çalışmada geliştirilen optimize edilmiş en iyi konsantrasyon değerleri, laboratuvar ölçeğinde veya pilot ölçekli deneylerde kullanılabilir.

Teşekkür

Bu çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (CÜBAP) tarafından M-2022-842 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. İlgili kuruma yazarlar tarafından teşekkür etmeyi bir borç biliriz.

Yazarların Katkısı

Tüm yazarlar çalışmaya eşit katkıda bulunmuştur.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı

Yazarlar, makalenin tüm süreçlerinde “Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi” kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, karşılaşılabilecek etik ihlallerden Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi ve yayın kurulunun herhangi bir sorumluluğunun bulunmadığını, bu çalışmanın Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi dışında herhangi bir akademik yayın ortamında değerlendirilmediğini beyan ederler.

Kaynaklar

- Açikel, Ü., Erşan, M., Açikel, Y.S. 2010. Optimization of critical medium components using response surface methodology for lipase production by *Rhizopus delemar*. *Food and Bioproducts Processing*, 88(1), 31-39.
- Apha, A. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater. Apha Washington.
- Can, O., Ersan, M. 2013. Response surface methodology for optimizing the marination conditions during the processing of rainbow trout fillets. *J. Anim. Plant Sci*, 23(6), 1595-1602.
- Choong, Y.Y., Norli, I., Abdullah, A.Z., Yhaya, M.F. 2016. Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion process: A critical review. *Bioresource technology*, 209, 369-379.
- Demirel, B., Scherer, P. 2011. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass and bioenergy*, 35(3), 992-998.
- Glass, J.B., Orphan, V.J. 2012. Trace metal requirements for microbial enzymes involved in the production and consumption of methane and nitrous oxide. *Frontiers in microbiology*, 3, 61.
- Hansen, K.H., Angelidaki, I., Ahring, B.K. 1999. Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure. *Water research*, 33(8), 1805-1810.
- Jose, P., Madhu, G. 2014. Optimization of process parameters affecting biogas production from organic fraction of municipal solid waste via anaerobic digestion. *International Journal of Bioengineering and Life Sciences*, 8(1), 43-48.

- Karaalp, D., Doruk, N., Dizge, N., Keskinler, B., Azbar, N. 2015. A novel solution for biogas applications in poultry industry: CLAMBS approach. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 5(2), 1.
- Keskin, T., Arslan, K., Karaalp, D., Azbar, N. 2019. The determination of the trace element effects on basal medium by using the statistical optimization approach for biogas production from chicken manure. *Waste and Biomass Valorization*, 10(9), 2497-2506.
- Lin, J.-T., Zhang, J.-S., Su, N., Xu, J.-G., Wang, N., Chen, J.-T., Chen, X., Liu, Y.-X., Gao, H., Jia, Y.-P. 2007. Safety and immunogenicity from a phase I trial of inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine. *Antiviral therapy*, 12(7), 1107-1114.
- Mancini, G., Papirio, S., Lens, P.N., Esposito, G. 2019. A preliminary study of the effect of bioavailable Fe and Co on the anaerobic digestion of rice straw. *Energies*, 12(4), 577.
- Mancini, G., Papirio, S., Riccardelli, G., Lens, P.N., Esposito, G. 2018. Trace elements dosing and alkaline pretreatment in the anaerobic digestion of rice straw. *Bioresource Technology*, 247, 897-903.
- Moestedt, J., Nordell, E., Yekta, S.S., Lundgren, J., Martí, M., Sundberg, C., Ejlertsson, J., Svensson, B.H., Björn, A. 2016. Effects of trace element addition on process stability during anaerobic co-digestion of OFMSW and slaughterhouse waste. *Waste management*, 47, 11-20.
- Molaey, R., Bayrakdar, A., Sürmeli, R.Ö., Çalli, B. 2018. Influence of trace element supplementation on anaerobic digestion of chicken manure: Linking process stability to methanogenic population dynamics. *Journal of Cleaner Production*, 181, 794-800.
- Mustafa, A.M., Li, H., Radwan, A.A., Sheng, K., Chen, X. 2018. Effect of hydrothermal and Ca (OH) 2 pretreatments on anaerobic digestion of sugarcane bagasse for biogas production. *Bioresource technology*, 259, 54-60.
- Papirio, S. 2020. Coupling acid pretreatment and dosing of Ni and Se enhances the biomethane potential of hazelnut skin. *Journal of Cleaner Production*, 262, 121407.
- Pastor-Poquet, V., Papirio, S., Trably, E., Rintala, J., Escudié, R., Esposito, G. 2019. Semi-continuous mono-digestion of OFMSW and co-digestion of OFMSW with beech sawdust: Assessment of the maximum operational total solid content. *Journal of environmental management*, 231, 1293-1302.
- Preeti Rao, P., Seenayya, G. 1994. Improvement of methanogenesis from cow dung and poultry litter waste digesters by addition of iron. *World Journal of microbiology and Biotechnology*, 10(2), 211-214.
- Preeti Rao, P., Seenayya, G. 1994b. Improvement of methanogenesis from cow dung and poultry litter waste digesters by addition of iron. *World Journal of microbiology and Biotechnology*, 10, 211-214.
- Qi, N., Zhao, X., Zhang, L., Gao, M., Yu, N., Liu, Y. 2021. Performance assessment on anaerobic co-digestion of Cannabis ruderalis and blackwater: Ultrasonic pretreatment and kinetic analysis. *Resources, Conservation and Recycling*, 169, 105506.
- Romero-Güiza, M., Vila, J., Mata-Alvarez, J., Chimenos, J., Astals, S. 2016. The role of additives on anaerobic digestion: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 1486-1499.
- Safari, M., Abdi, R., Adl, M., Kafashan, J. 2018. Optimization of biogas productivity in lab-scale by response surface methodology. *Renewable Energy*, 118, 368-375.
- Schattauer, A., Abdoun, E., Weiland, P., Plöchl, M., Heiermann, M. 2011. Abundance of trace elements in demonstration biogas plants. *Biosystems engineering*, 108(1), 57-65.
- Şenol, H. 2020. Anaerobic digestion of hazelnut (*Corylus colurna*) husks after alkaline pretreatment and determination of new important points in Logistic model curves. *Bioresource technology*, 300, 122660.
- Şenol, H. 2020. Identification of new critical points for logistics model in cumulative methane yield curves after co-digestion of apple pulp and chicken manure with sulphuric acid pretreatment and a new modelling study. *International Journal of Energy Research*, 44(7), 6078-6087.
- Şenol, H., Erşan, M., Görgün, E. 2020. Optimization of temperature and pretreatments for methane yield of hazelnut shells using the response surface methodology. *Fuel*, 271, 117585.
- Takashima, M., Speece, R., Parkin, G.F. 1990. Mineral requirements for methane fermentation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 19(5), 465-479.
- Wang, X., Yang, G., Li, F., Feng, Y., Ren, G. 2013. Response surface optimization of methane potentials in anaerobic co-digestion of multiple substrates: dairy, chicken manure and wheat straw. *Waste management & research*, 31(1), 60-66.
- Zandvoort, M., Van Hullebusch, E., Feroso, F.G., Lens, P. 2006. Trace metals in anaerobic granular sludge reactors: bioavailability and dosing strategies. *Engineering in life sciences*, 6(3), 293-301.
- Zhang, C., Su, H., Tan, T. 2013. Batch and semi-continuous anaerobic digestion of food waste in a dual solid-liquid system. *Bioresource Technology*, 145, 10-16.
- Zhang, R., El-Mashad, H.M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., Gamble, P. 2007. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 98(4), 929-935.

Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., Li, Y. 2014. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. Progress in energy and combustion science, 42, 35-53.