
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

ANAEROBİK SİNDİRİM SİSTEMLERİNDE MİKROBİYAL TOPLULUK YAPISI, SÜREÇ İNHİBİTÖRLERİ VE METAN ÜRETİMİNİN OPTİMİZASYONUNA YÖNELİK LİTERATÜR TABANLI BİR İNCELEME

İrem KASAPOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HAZİRAN 2025

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İrem KASAPOĞLU

27/06/2025

ANAEROBİK SİNDİRİM SİSTEMLERİNDE MİKROBİYAL TOPLULUK YAPISI, SÜREÇ İNHİBİTÖRLERİ VE METAN ÜRETİMİNİN OPTİMİZASYONUNA YÖNELİK LİTERATÜR TABANLI BİR İNCELEME

(Yüksek Lisans Tezi)

İrem KASAPOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2025

ÖZET

Anaerobik sindirim (AS), organik atıkların biyogaza dönüştürülmesini sağlayan, sürdürülebilir atık yönetimi ve yenilenebilir enerji üretimi açısından yüksek potansiyele sahip bir biyoteknolojidir. Bu tezde, AS sistemlerindeki mikrobiyal topluluk yapısı, metan üretimini etkileyen inhibitör faktörler ve bu üretimi optimize etmeye yönelik stratejiler, literatür temelli olarak incelenmiştir. Sıcaklık, pH, organik yükleme oranı (OLR) ve hidrolik bekleme süresi (HRT) gibi temel parametrelerin mikrobiyal aktivite üzerindeki etkileri değerlendirilmiş; mikrobiyal konsorsiyumların etkileşim mekanizmaları, simbiyotik ilişkiler ve ön işlem stratejileri detaylandırılmıştır. Ayrıca, biyokömür gibi katkı maddelerinin mikrobiyal zenginleşme üzerindeki etkisi ve moleküler izleme yöntemlerinin süreç verimliliğine katkısı tartışılmıştır. Çalışmalar, özellikle biyokömür ilavesi, iki kademeli reaktör sistemlerinin kullanımı, ön işlem uygulamaları ve sentrofik etkileşimlerin teşvik edilmesiyle metan üretim veriminin %30–50 oranında artırılabildiğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek amonyak konsantrasyonu gibi inhibitör koşullarda bile Methanosarcina gibi toleranslı metanojenik türlerin sistem stabilitesini korumada etkili olduğu raporlanmıştır. Bu kapsamda, mikrobiyal yapı ile süreç parametrelerinin birlikte değerlendirilmesinin, biyogaz üretiminin artırılması ve sistem dayanıklılığının sağlanması açısından büyük önem taşıdığı sonucuna varılmıştır.

Bilim Kodu : 90327
Anahtar Kelimeler : Anaerobik sindirim, mikrobiyal topluluklar, metan üretimi
Sayfa Adedi : 96
Danışman : Prof. Dr. Birol KAYRANLI

A LITERATURE BASED REVIEW ON MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE, PROCESS INHIBITORS AND OPTIMIZATION OF METHANE PRODUCTION IN ANAEROBIC DIGESTION SYSTEMS

(M. Sc. Thesis)

İrem KASAPOĞLU

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2025

ABSTRACT

Anaerobic digestion (AD) is a biotechnology with high potential for sustainable waste management and renewable energy production through the conversion of organic waste into biogas. In this thesis, the microbial community structure in AD systems, inhibitory factors affecting methane production, and strategies for optimizing this production were examined based on literature studies. The effects of key operational parameters such as temperature, pH, organic loading rate (OLR), and hydraulic retention time (HRT) on microbial activity were evaluated. Interaction mechanisms of microbial consortia, symbiotic relationships, and pretreatment strategies were discussed in detail. Furthermore, the role of additives like biochar in microbial enrichment, pre-treatment methods and the contribution of molecular monitoring techniques to process efficiency were highlighted. Studies show that methane yield can be increased by 30–50% through biochar addition, implementation of two-phase reactor systems, and enhancement of syntrophic interactions. Additionally, under inhibitory conditions such as high ammonia concentrations, the presence of tolerant methanogenic species like *Methanosarcina* has been reported to support process stability. In this context, it was concluded that evaluating microbial structure in conjunction with process parameters is crucial for improving biogas production and maintaining system resilience.

Science Code : 90327
Key Words : Anaerobic digestion, microbial communities, methane production
Page Number : 96
Supervisor : Prof. Dr. Birol KAYRANLI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca bilgi, birikim ve rehberliğiyle bana yol gösteren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Birol KAYRANLI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu süreçte bilimsel katkıları ve yapıcı fikirleriyle çalışmama değerli katkılarda bulunan Ramin FARDMORADINIA'a teşekkür ederim. Tezimi hazırlarken her zaman yanımda olan, manevi desteğiyle beni cesaretlendiren annem Müşerref ÖZSOY'a, bu yolculuk boyunca bana güç veren Cihan Kerem ULUCA'ya ve süreç boyunca beni her zaman motive eden yakın arkadaşlarım Özüm Bige KAYHAN, Derin AKMAN, Ecem ERDOĞAN, Rana GENEVLİOĞLU, Desara GORA ve Yağmur DEMİR'e de gönülden teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xi

SİMGELER VE KISALTMALAR xii

1. GİRİŞ 1

2. ANAEROBİK SİNDİRİM SÜRECİ 7

3. ANAEROBİK SİNDİRİMDE METAN ÜRETİMİ 15

4. METOT VE YÖNTEM 19

4.1. Literatürün İncelemesindeki Yaklaşım 19

4.2. Literatür Tarama Yöntemi 20

4.3. Dahil Etme ve Hariç Tutma Kriterleri 21

4.4. Verilerin Derlenmesi ve Sınıflandırılması 22

4.5. Kaynak Yönetimi 23

5. METAN VERİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER (SICAKLIK, PH, ORGANİK YÜKLEME ORANI, HİDROLİK BEKLEME SÜRESİ) ... 25

5.1. Sıcaklığın Anaerobik Sindirim Performansı Üzerindeki Etkisi 26

5.2. pH'nin Anaerobik Sindirim Performansı Üzerindeki Etkisi 29

5.3. Organik Yükleme Oranının Anaerobik Sindirim Performansı Üzerindeki Etkisi 33

Sayfa

5.4. Anaerobik Sindirimde Hidrolik Bekleme Süresinin (HRT) Metan Verimi Üzerindeki Etkisi 37

6. ANAEROBİK SİNDİRİM SİSTEMLERİNDE OPTİMİZASYON STRATEJİLERİ 43

7. ANAEROBİK ÇÜRÜTÜCÜLERDE MİKROBİYAL TOPLULUKLAR 47

7.1. Bakteriyel Topluluklar: Hidroliz ve Asidojenez Aşamalarında Dominant Gruplar 47

7.2. Arkeal Topluluklar: Metanojenez Aşamasında Kritik Role Sahipler 47

7.3. Mantarlar ve Protozoonlar: Destekleyici Mikroorganizmalar 48

7.4. Sentrofik Etkileşimler ve Türler Arası Elektron Transferi 49

7.5. İşletme Koşullarının Mikrobiyal Topluluk Dinamiklerine Etkisi 49

7.6. Modern Moleküler Yaklaşımlarla Mikrobiyal Toplulukların İncelenmesi 50

7.7. İleri Arıtım Teknolojilerinin Mikrobiyal Stabilite Üzerine Etkileri 51

7.8. Çıkarımlar ve Değerlendirme 51

8. MİKROBİYAL POPÜLASYONLARIN PERFORMANSININ İYİLEŞTİRİLMESİ 55

9. ANAEROBİK ÇÜRÜTME SİSTEMLERİNDE ÖN İŞLEMİN ROLÜ. 59

9.1. Fiziksel Ön İşlemler 59

9.2. Kimyasal Ön İşlemler 60

9.3. Biyolojik Ön İşlemler 61

9.4. Isıl Ön İşlemler 63

9.5. Hibrit Ön İşlemler 63

9.6. Ön İşlemin Genel Etkinliği 64

9.7. Yöntem Seçimi ve Uygulama Kriterleri 64

Sayfa

10. BİYOMETAN ÜRETİMİNİN ARTIRILMASINA YÖNELİK MİKROBİYAL TOPLULUK TABANLI YAKLAŞIMLAR 69

10.1. Birlikte Sindirim Stratejileri 69

10.2. Katkı Maddeleri ile Mikrobiyal Etkileşim 70

10.3. Reaktör Tasarımı ve Faz Ayrımı 70

10.4. Quorum Sensing ve Mikrobiyal Mühendislik 71

10.5. Genetik Mühendislik Yaklaşımları 72

11. MİKROBİYAL PERSPEKTİFTEN ANAEROBİK SİNDİRİMDE İNHİBİTÖR FAKTÖRLERİN AZALTILMASI 75

11.1. Amonyak Birikimi ve Metanojenik Topluluklar Üzerindeki Etkileri 75

11.2. VFA Birikimi ve pH Dengesizliği 76

11.3. Sistemse Tuz Yoğunluğu Stresi ve Mikrobiyal Duyarlılık 76

11.4. Ağır Metaller, Antibiyotikler ve Diğer Toksik Maddeler 76

11.5. Sıcaklık Dalgalanmalarının Mikrobiyal Denge Üzerindeki Etkisi 77

11.6. Biyokömür Eklenmesi ile İnhibitör Etkilerin Azaltılması 77

11.7. Moleküler İzleme Yöntemleri ve Hedefli Biyoartırım Stratejileri 78

11.8. Operasyonel Parametrelerin Optimizasyonu 79

11.9. Reaktör Tasarımının İnhibitör Yönetimine Katkısı 79

11.10. Ağır Metallerin ve Antibiyotiklerin Giderimi için İleri Yöntemler 79

11.11. Karşılaştırmalı Sistem Analizleri 80

12. SONUÇ VE ÖNERİLER 81

KAYNAKLAR 85

ÖZGEÇMİŞ 95

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. AS sürecinde üretilen asetatın kaynak substratları 9

Çizelge 5.1. AS'de metan verimini etkileyen parametreler üzerine yapılan çalışmaların karşılaştırmalı özeti 25

Çizelge 5.2. Sıcaklık, pH, OLR ve HRT parametrelerinin mezofilik, termofilik, tek fazlı ve iki fazlı AS sistemlerinde metan üretimi ve süreç stabilitesi üzerindeki etkileri 40

Çizelge 9.1. Anaerobik çürütme sistemlerinde farklı ön işlem stratejilerinin karşılaştırılması 65

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. AS sürecinin biyokimyasal aşamaları ve her aşamadaki baskın mikrobiyal gruplar 13

Şekil 4.1. Yıllara göre kullanılan makale sayısının dağılımı 23

Şekil 5.1. AS'de sıcaklık aralığının stabilite ve metan üretimi üzerindeki etkisi 28

Şekil 5.2. Farklı pH düzeylerinde tek kademeli ve iki kademeli sistemlerin performans karşılaştırması 32

Şekil 5.3. OLR seviyesi ile AS süreç performansı ilişkisi (kavramsal gösterim)..... 36

Şekil 5.4. HRT aralığı ile metan üretimi ve sistem stabilitesi ilişkisi (kavramsal)..... 39

Şekil 9.1. Anaerobik çürütme sistemlerinde uygulanan ön işlemlerin metan üretim verimi açısından karşılaştırılması 66

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
AS	Anaerobik Sindirim
DIET	Doğrudan Türler Arası Elektron Transferi
DO	Çözünmüş Oksijen
EET	Ekstraselüler Elektron Transferi
GHG	Sera Gazı Emisyonları
HRT	Hidrolik Bekleme Süresi
IEA	Uluslararası Enerji Ajansı
IET	Türler Arası Elektron Transferi
MIET	Aracılı Türler Arası Elektron Transferi
OLR	Organik Yükleme Oranı
QS	Hücrelerarası İletişim
SAO	Sentrofik Asetat Oksidasyonu
SAOB	Sentrofik Asetat Oksitleyen Bakteriler
sCOD	Organik Maddenin Çözünürlüğü
TAN	Toplam Amonyak Azotu
UASB	Yukarı Akışlı Anaerobik Çamur Yatağı
VFA	Uçucu Yağ Asitleri

1. GİRİŞ

Günümüzde özellikle çevresel sürdürülebilirliğin devamlılığı açısından en büyük handikaplardan biri tartışmasız küresel iklim değişikliğidir. İklim değişikliğinin zamanla artan etkilerinin dünya genelinde gözlemlenen nüfus ve paralel olarak enerji tüketim seviyelerindeki artışla beraber değerlendirilmesi kritik olan bir konsepttir. Bu bağlamda, enerji üretimi için atıkların biyoteknolojik yönetimi ve yeniden kullanımı, çevre üzerindeki etkileri hafifletmenin yanı sıra enerji talebini sürdürülebilir bir şekilde karşılama konusunda kritik bir öneme sahiptir. Bu tez çalışmasının amacı, Anaerobik sindirim proseslerinde mikrobiyal toplulukların yapısının, işlevinin ve birbirleriyle etkileşimlerinin süreç performansına olan etkilerini ve temel önemini anlamaya dayanarak Anaerobik sindirim teknolojisinin geliştirilmesi için stratejik olarak ileriki çalışmalara katkıda bulunmaktır.

Bu genel çerçeve doğrultusunda, öncelikle küresel enerji sorunu ve anaerobik sindirim teknolojisinin bu alandaki rolü ele alınmaktadır. Dünya çapında artışı son yıllarda özellikle dikkat çeken enerji talebi ve bunun sonucunda oluşan çevre kirliliği, daha temiz ve sürdürülebilir olan enerji kaynaklarına olan talebi artırmıştır. Uluslararası Enerji Ajansı'nın yayımladığı veriler, fosil yakıtların kullanımının yeryüzünde oluşan toplam sera gazı emisyonlarının yaklaşık %75'ini oluşturduğunu ve bu yüksek oranın iklim değişikliğinin etkilerini daha da artırdığını göstermektedir. Yenilenebilir enerji uygulamalarına yönelik birçok girişim mevcut olmasına rağmen, küresel enerji arzı hâlâ büyük ölçüde fosil yakıtlar tarafından şekillendirilmekte, bu da iklim nötrlüğüne yönelik eylemleri tehdit etmektedir.

Bu noktada, organik atıkların yönetimi ve biyometan üretimi potansiyeli açısından anaerobik sindirim süreci öne çıkmaktadır. Anaerobik sindirim, hem sisteme giren organik atıkların yönetilmesini hem de biyometan üretilmesini sağladığı için iklim değişikliğinin etkilerini azaltma doğrultusundaki hedeflere ulaşılabilmesi açısından kullanım potansiyeli yüksek bir biyoteknolojidir. Anaerobik sindirim prosesi, organik atıkların arıtımı yoluyla organik

maddelerden biyogaz üretilmesinde ve yenilenebilir enerji üretiminde çift taraflı fayda sağlayan bir yöntemdir. Ayrıca, AS faaliyetleri yoluyla doğrudan CH_4 emisyonunun azaltılması, iklimin korunması ve küresel sürdürülebilirlik hedeflerine katkıda bulunmaktadır. (Honcharuk ve diğerleri, 2024; Molino ve diğerleri, 2013)

Ancak bu teknolojinin başarısı, büyük ölçüde süreci yürüten mikrobiyal toplulukların işlevselliğine dayanmaktadır. AS'nin stabil bir şekilde ilerlemesi ve genel performansı sistem içerisinde bulunan mikrobiyal konsorsiyumların içeriğine ve birbirleriyle olan etkileşimlerine büyük ölçüde bağlıdır. Bu mikrobiyal topluluklar AS'ye giren substratların birbirini takip eden dört biyokimyasal aşamada (hidroliz, asidojenez, asetojenez ve metanojenez) kademeli olarak metabolize edilmesinde görev alır (Nguyen ve diğerleri, 2019; Zhang ve diğerleri, 2023). Çeşitli mikroorganizmalar (hidrolitik bakteriler, fermentatif asidojenler, asetojenik bakteriler ve metanojenik arkeler gibi) prosedürün devamı için birbirine yüksek derecede bağımlı roller üstlenir. Özellikle, asetojenik ve metanojenik mikroorganizmalar, uçucu yağ asitlerini termodinamik olarak nötr kalırken verimli bir şekilde metana dönüştürmek üzere iş birliği yapan önemli sentrofik ilişkiler oluşturur. Sentrofik koşullar, bir substratın parçalanabilmesi için iki farklı mikroorganizmanın birbirine bağımlı bir şekilde çalıştığı, simbiyotik bir ortamı ifade eder.

Bu simbiyotik ilişkilerin sürece olan etkileri çeşitli bilimsel çalışmalarla da ortaya konmuştur. Asetojenlerin hidrojen ve asetat üretimine yaptığı hayati katkıya ve bu bileşiklerin daha sonraki metanogenez aşaması için metanojenler tarafından metabolize edildiğine işaret etmiştir. Metagenomik ve biyokimyasal analizlerde, sinerjinin termodinamik sınırlamalara rağmen metabolik verimliliğe yön verme konusunda merkezi bir konumda olduğunu gösterilmiştir (Nguyen ve diğerleri, 2019).

Bu iş birliklerinin detaylı incelenmesi, türler arası etkileşimlerin anlaşılmasıyla daha da derinleşmiştir. Yüksek verimli dizileme ve fonksiyonel gen tespiti aracılığıyla AS arıtma

sürecindeki mikrobiyal toplulukların ve simbiyotik etkileşimlerin incelenmesi sonucu türler arası elektron transferinin, uçucu yağ asitlerinin parçalanması ve metan üretimi için son derece önemli olduğu gösterilmiştir ve bu iş birliğinin biyokimyasal düzeyde gerekli olduğunu raporlanmıştır. (Zhang ve diğerleri, 2023)

Aynı şekilde, bu etkileşimlerin sistem performansına etkisi daha geniş kapsamlı yaklaşımlarla da ele alınmıştır. Tam ölçekli anaerobik çürütücülerde mikrobiyal ağ ilişkilerini araştırmak için daha bütüncül bir yaklaşım benimseyen bir çalışmada, sistem performansının sadece tür bolluğuna değil, aynı zamanda mikrobiyal konsorsiyumlardaki mekânsal yapıya ve fonksiyonel etkileşimlere de oldukça duyarlı olduğu bulunmuştur. Daha gelişmiş omik yöntemler (ör. metatranskriptomik/metaproteomik), süreç verimliliğini artırmada quorum sensing (QS) ve nanotel yardımıyla elektron transferi de dahil olmak üzere hücreler arası mekanizmaların da önemli olduğu gösterilmiştir (De Vrieze ve diğerleri, 2016).

Tüm bu bulgular, süreç verimliliğini artırmak için çeşitli mühendislik stratejilerinin devreye alınmasına öncülük etmektedir. Örneğin, pH'ın manipülasyonu ve OLR'deki varyasyonla sentrofik metanojenlerin metabolik yolunu iyileştirmeyi amaçlayan çalışmalar bulunmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2023). Bununla beraber, yapılan bir diğer çalışmada stabilize olmuş mikrobiyal ağların önemine vurgu yapılmıştır ve daha iyi metan üretkenliği elde etmek için mikrobiyal adapte edilebilirlik ve kararlılığı artırmaya yönelik eylemler önerilmiştir. Bunlar arasında biyo-çoğalma ve reaktör konfigürasyonu yer alır. Bu çalışmaların mutabık kaldığı mesaj, AS işlemenin optimal gerçekleştirilmesi için mühendislik alanındaki ilerlemelerin mikrobiyal ekolojiyi anlamaya dayalı olması gerektiğidir (De Vrieze ve diğerleri, 2016).

Son yıllarda yapılan çalışmalar aynı zamanda mikrobiyal direnç ve yeni etkileşim biçimlerine de dikkat çekmektedir. Mikrobiyal ekolojideki yeni gelişmeler, AS

sistemlerindeki mikrobiyal popülasyonlar hakkındaki bilgimizi geliştirdi; bu alanlar şunlardır: taksonomik gruplardaki mikrobiyal çeşitlilik, işlevsel dinamikler ve stres direnci. Örneğin, önemli metanojenik arkeaların, *Methanosaeta* ve *Methanosarcina'nın* hâkimiyeti ve davranışı, çevresel strese toleransta farklılık gösterir, bu da ekolojik niş seçimini ve dolayısıyla süreç kararlılığını etkiler (Nguyen ve diğerleri, 2019; De Vrieze ve diğerleri, 2016).

Bu gelişmelere paralel olarak, hidrolitik bakterilerin sürecin ilk aşamasındaki etkisi de önem arz etmektedir. Ayrıca, anaerobik sindirimin başlangıcında, *Bacteroidetes* ve *Clostridium* gibi hidrolitik ve fermentatif bakteriler baskın bakteriler olarak kabul edilir. Bunun nedeni, karmaşık polimerleri daha küçük substratlara etkin bir şekilde hidrolize etme kapasiteleridir (Nguyen ve diğerleri, 2019; Zhang ve diğerleri, 2023).

Buna ek olarak, mikroorganizmalar arasındaki yeni etkileşim mekanizmaları alanındaki gelişmeler de dikkate değerdir. DIET gibi mikrobiyal etkileşim türleri ile ilgili yapılan güncel çalışmalar, AS mikrobiyal topluluklarındaki etkileşimlerin karmaşıklığına dair anlayışımızı genişletmiştir.

Ancak bu potansiyel faydalara rağmen, AS sistemlerinin uygulanmasında bazı zorluklar devam etmektedir. AS prosesi uzun süredir uygulanan bir teknoloji olmasına rağmen reaktör performansı ve metan üretim verimliliği halen VFA birikimi ve mikrobiyal topluluklarla ilgili dengesizliklerden dolayı olumsuz etkilenmektedir (Molino ve diğerleri, 2013; Zhang ve diğerleri, 2023). Bu problemlerin AS prosesinin genel verimliliğini düşürmesini engellemek için ön arıtma yöntemleri, birlikte sindirim (co-digestion), ve hedef odaklı biyoarıtma teknikleri gibi yeni stratejiler geliştirilmektedir. Bu stratejiler arasında biyokömür (biochar) gibi iletkenliği yüksek malzemelerin kullanımı, DIET ve MIET gibi mekanizmaların desteklenmesi metan üretim veriminin artırılması ve reaktör stabilitesinin sağlanması yönünden iyi sonuçlar vermektedir (Zhang ve diğerleri, 2023).

Tüm bu bilgiler ışığında, mikrobiyal ekolojinin mühendislik uygulamalarıyla entegrasyonu kritik bir gereklilik haline gelmektedir. Giriş bölümü boyunca bahsedilen kritik noktalar özetlenecek olursa:

- Anaerobik sindirim, atık yönetimi ve yenilenebilir enerji üretimi için çift yönlü katkı sağlayan kritik bir biyoteknolojidir.
- AS sistemlerinde bulunan mikrobiyal toplulukların dinamiklerinin anlaşılması ve tür tayini prosesin verimliliği ve stabilitesinin artırılması için en önemli aşamalardan biridir.
- Reaktörlerdeki genel performans var olan mikrobiyal popülasyonların içerdiği tür çeşitliliğine, türlerin birbiriyle etkileşimine ve çevresel stres faktörlerine gösterebildikleri dirence bağlıdır.
- Metatranskriptomik ve metaproteomik gibi yeni nesil omik teknolojiler var olan mikrobiyal işlevlerin daha iyi anlaşılmasına ve tanımlanmasına olanak tanımakta ve mühendislik müdahalelerinin daha odaklı olmasını sağlamaktadır.
- Mikrobiyal iş birliği mekanizmaları (sentrofik ilişkiler, MIET ve DIET gibi), metan üretiminin artırılmasında kritik roller üstlenmektedir.
- Sistem verimliliğinin artırılması büyük ölçüde mikrobiyal ekolojinin daha iyi anlaşılmasına bağlıdır. Bu alanda elde edilecek bilgiler reaktör tasarımının geliştirilmesi, işletme parametrelerinin ve çevresel faktörlerin optimizasyonu ve biyoarıtma stratejilerinin iyileştirilmesi için önemlidir.

Bu bütünleşik yaklaşım, fosil yakıtlara olan talebi azaltmak ve küresel sürdürülebilirlik hedeflerine ulaşmak için değerli bir potansiyel sunmaktadır.

Bu tez çalışması, anaerobik sindirim sistemlerinde mikrobiyal toplulukların yapısal ve işlevsel dinamiklerini bütüncül bir şekilde ele alarak mevcut literatürde göz ardı edilen mikrobiyal etkileşim mekanizmaları ile mühendislik stratejileri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlamaktadır. Literatürde genellikle sadece mikrobiyal çeşitlilik ya da işletme

parametreleri üzerine odaklanılmışken, bu çalışmada mikrobiyal simbiyoz, dirençlilik ve yeni nesil etkileşim modelleri (DIET, MIET gibi) temelinde sistem performansı değerlendirilmiştir. Böylece, mikrobiyal ekolojiyi merkeze alan bir yaklaşım ile biyogaz üretiminin artırılması yönünde yenilikçi bir perspektif sunulmaktadır.

2. ANAEROBİK SİNDİRİM SÜRECİ

AS, oksijensiz koşullarda gerçekleşen, organik maddelerin birkaç ardışık biyokimyasal aşamada biyogaza dönüştürüldüğü bir süreçtir. AS, iklim değişikliğinin etkilerinin azaltılması, bu problemle mücadele ve fosil yakıtlara olan talebin azaltılması için sürdürülebilir bir enerji alternatifi sunan umut vaat edici bir teknoloji olduğundan dolayı giderek daha fazla önem kazanmaktadır. İşlenmemiş organik atıklar, metan emisyonu açısından önemli bir kaynaktır, AS süreci bu atıkların etkin bir şekilde işlenmesi ve metan emisyonunun azaltılması için yüksek potansiyele sahip bir teknoloji olup, proses sonucunda üretilen biyogaz yenilenebilir bir enerji kaynağı olarak fosil yakıtlara alternatif olmaktadır. Süreç sonunda açığa çıkan biyogaz, metan (CH_4) ve karbondioksitten (CO_2) oluşmaktadır. Bunların yanında bazı saf olmayan gazlar (hidrojen sülfür gibi) ve başka kirletici maddeler de içerebilir (Krohn ve diğerleri, 2022; Zhu ve diğerleri, 2019).

Biyogazdan biyometan üretimi saflaştırma ve zenginleştirme adımlarıyla gerçekleştirilir. İlk aşama olan saflaştırma aşamasının amacı hidrojen sülfür (H_2S), su buharı ve diğer kirleticilerin uzaklaştırılması için yapılırken, ikinci aşama olan zenginleştirme aşamasında metan oranı artırılarak biyogazın taşıt yakıtı veya doğalgaz şebekesine verilebilecek hale gelmesi sağlanır (Nguyen ve diğerleri, 2021; Chen ve diğerleri. 2008). Hem atık yönetimini sağlaması hem de yenilenebilir enerji üretimi sunması, AS sürecinin çevresel sürdürülebilirlik için kritik önemini göstermektedir (Nguyen ve diğerleri, 2021; Rabii ve diğerleri, 2019).

AS prosesi dört ana biyokimyasal aşamadan oluşur: hidroliz, asidojenesis, asetogenezis ve metanojenesis. Her aşama baskın bazı mikrobiyal türler tarafından domine edilir ve birbirini takip eden bu aşamalar sonucunda kompleks organik moleküller parçalanarak biyogaz (özellikle metan ve karbondioksit) üretilir.

Hidroliz aşamasında, karbonhidratlar, proteinler ve lipitler gibi kompleks biyopolimerler, ilgili enzimler aracılığıyla monomerik formları olan şekerler, amino asitler ve yağ asitlerine dönüştürülür. Bu aşamada kritik rol oynayan bakteriler özellikle *Clostridium* ve *Bacteroides* cinslerine ait türlerdir. Azman ve diğerleri (2015) tarafından yapılan çalışmada, *Clostridium* cinsinin altında yer alan türlerin, özellikle selüloz ve diğer dirençli polisakkaritleri etkin şekilde parçalayabilen geniş bir dışsal enzim yelpazesine sahip olduğunu ve genelde bu aşamada yavaşlatıcı etkiye sahip olan lignoselülozik biyokütlenin parçalanmasına önemli bir katkı sağladığını rapor etmiştir. Benzer şekilde, Amha ve diğerleri (2018) yürütülen çalışmada, *Bacteroides* türlerinin de kompleks karbonhidratları fermente edilebilir formda daha basit şekerlere dönüştürerek sonraki metabolik aşamalara katkı sağladığı ortaya konmuştur. Shrestha ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada, özellikle lignoselüloz gibi dirençli substratların varlığında, AS'nin hız sınırlayıcı aşamasının hidroliz olduğunu vurgulamıştır. Dinamik bir mikrobiyal topluluk tarafından yürütülen hidroliz aşaması, AS sürecinin performansında kritik bir role sahiptir.

Hidrolizi takip eden asidojenesis aşamasında, *Firmicutes* ve *Proteobacteria* şubelerine ait fermantatif bakteriler, hidroliz aşamasında üretilen son ürünleri metabolize ederek uçucu yağ asitleri, alkoller, hidrojen (H_2) ve karbondioksit (CO_2) üretirler (Rabii ve diğerleri, 2019; Yenigün ve diğerleri, 2013). Bu aşamada ayrıca metanojenesis sürecinde doğrudan substrat olarak kullanılacak olan asetat ve dolaylı yolla parçalanacak olan propiyonat gibi ara bileşikler de üretilir. Metanojesis aşamasının verimli olabilmesi için propiyonarın sistemde birikmemesi önem arz etmektedir (Zhu ve diğerleri, 2019; Azman ve diğerleri, 2015). Asetat üretimi ile ilgili belirtilmesi gereken önemli bir husus şudur: AS sürecinde asetat hem asidojenesis aşamasında kompleks organik moleküllerin fermantasyonu sonucunda hem de asetogenezis aşamasında propiyonat ve bütirat gibi uçucu yağ asitlerinin ayrıştırılmasıyla üretilmektedir (Pan ve diğerleri, 2021).

Çizelge 2.1. AS sürecinde üretilen asetatın kaynak substratları

AS Aşaması	Gerçekleşen İşlem	Asetat Üretimi	Kaynak Substrat
Asidojenesis	Kompleks organik moleküllerin fermente edilmesi	Evet	Şekerler, amino asitler
Asetogenezis	Uçucu yağ asitlerinin ayrıştırılması	Evet	Propiyonat, bütirat, laktat

Çizelge 2.1'de AS prosesi sırasında asidojenesis ve asetogenesis aşamalarında gerçekleşen asetat üretiminin kaynakları sunulmaktadır.

Asidojenesisten aşamasını takip eden asetogenezis aşamasında ise, propiyonat ve bütirat gibi uçucu yağ asitleri asetat, hidrojen ve karbondioksite dönüştürülür ve bu dönüşüm özellikle asetojenik bakteriler tarafından gerçekleştirilir. Asetogenezis aşamasında gerçekleşen asetat üretiminin kaynak substratı Tablo 1'de sunulmaktadır. Asetogenezis aşaması AS sürecinin kesintisiz ve tam performans ile gerçekleşebilmesi için kritik bir metabolik köprü işlevi görmektedir (Zhang ve diğerleri, 2023).

Syntrophomonas türleri, sentrofik koşullar altında VFA'ları oksitleyebilmektedirler; bu bakterilerin en önemli görevlerinden biri hidrojenotrofik metanojenler ile yaptıkları iş birliği sayesinde düşük hidrojen kısmi basınçlarının korunmasını sağlamalarıdır (Chen ve diğerleri, 2014). Benzer şekilde, AS sürecinin genel stabilitesi *Clostridium* türleri tarafından da ara VFA'ların daha basit bileşiklere ayrışmasına katkıda bulunulmasıyla desteklenir (Amha ve diğerleri, 2018). *Syntrophomonas* türlerinin sentrofik bütirat oksidasyonu için gerekli enzimleri kodlayan genlere sahip olduğu genom odaklı metagenomik analizler sonucu ortaya konmuştur (Zhu ve diğerleri, 2019). Venkiteshwaran ve diğerleri (2015) tarafından yapılan çalışmada, asetogenezin efektif bir şekilde gerçekleşmesinin metanojenler için sürekli substrat sağladığını ve fermantasyon ürünlerinden metan üretimine giden köprüyü sağlamlaştırdığı gösterilmiştir.

AS’nin son aşaması olan metanojenesis sürecinde, özellikle metanojenik arkeler asetat, hidrojen ve karbondioksiti kullanarak metan üretirler. Asetatla beslenen asetoklastik metanojenler arasında *Methanosaeta* ve *Methanosarcina* türleri, hidrojen ve karbondioksidi metabolize eden hidrojenotrofik metanojenler arasında ise *Methanobacterium* ve *Methanospirillum* türleri bulunmaktadır (Rabii ve diğerleri, 2019; Plaza ve diğerleri, 2021).

AS sistemlerinin verimliliği ve stabilitesi, çevresel ve operasyonel parametlerden etkilenir. Mikrobiyal aktivitelerin kesintisiz gerçekleşebilmesi optimal pH, sıcaklık ve karbon/azot (C/N) oranlarının sağlanmasına bağlıdır (Chen ve diğerleri, 2008; Rabii ve diğerleri, 2019). Bunlara ek olarak sistem performansını doğrudan etkileyen diğer parametrelere örnek olarak OLR, HRT ve besin maddesi mevcudiyeti verilebilir (Yenigün ve diğerleri, 2013; Khalid ve diğerleri, 2011). Bu parametreler dışında mikrobiyal performansı olumsuz yönde etkileyen diğer faktörlerden bazıları yüksek konsantrasyonlardaki amonyak, sülfür bileşikleri, VFA birikimi ve ağır metaller gibi inhibitör maddeler olarak sıralanabilir. Bu olumsuz etkilerin azaltılması için sulandırma, birlikte sindirim ve biyokömür/mikro besin takviyesi gibi stratejiler uygulanmaktadır (Yenigün ve diğerleri, 2013; Romero-Güiza ve diğerleri, 2016).

AS'de oldukça dinamik bir mikrobiyal ekosistem vardır. Kompleks substratların etkin şekilde metabolize edilmesi ve verimli metan üretimi için bu mikroorganizmalar arasındaki sentrofik ilişkiler kritik öneme sahiptir. SAO, asetatın hidrojen ve karbondioksite dönüştürüldüğü bir süreç olup, hidrojenotrofik metanojenler tarafından metan üretiminin desteklenmesini sağlayan simbiyotik bir süreçtir. Bu mekanizmanın kritik öneme sahip olduğu durumlar asetoklastik metanojenlerin aktivitesinin doğrudan baskılandığı koşullar, ya da termodinamik olarak olumsuz şartların oluştuğu durumlardır. SAO mekanizmasına benzer şekilde, türler arası elektron transferi mekanizması da metanojenik süreçler esnasında karşılaşılan termodinamik sınırlamaların, ya da yüksek amonyak konsantrasyonu, ağır metallerin varlığı ve termal stres gibi olumsuz çevre koşullarının aşılması ve metanojenik

mikroorganizmaların stabilitesinin artırılması için önemlidir (Amha ve diğerleri, 2018; Chen ve diğerleri, 2014).

Wang ve diğerleri (2014), yürüttükleri çalışmada GeoChip fonksiyonel gen dizileri kullanarak atıksu arıtma tesislerindeki mikrobiyal toplulukların yapısını analiz etmiştir ve sonuç olarak karbon ve azot döngüsünde büyük rol alan mikroorganizmaların operasyonel parametrelerdeki dalgalanma ve değişimlere yüksek adaptasyon gösterdiğini raporlamışlardır. Bununla birlikte özellikle *Methanosarcina* ve *Methanobacterium* türlerinin sistemin stabilitesi açısından kritik role sahip olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, Lu ve diğerleri (2015), metagenomik analizleri ileri düzey atıksu arıtım sistemlerinde kullanarak mikrobiyal topluluk dinamiklerini incelemiş ve *Methanobacterium* türlerinin hidrojenotrofik metan üretiminde kritik rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca, özellikle bu türlerin yüksek amonyak konsantrasyonlarının varlığında da stabil kaldıkları görülmüştür.

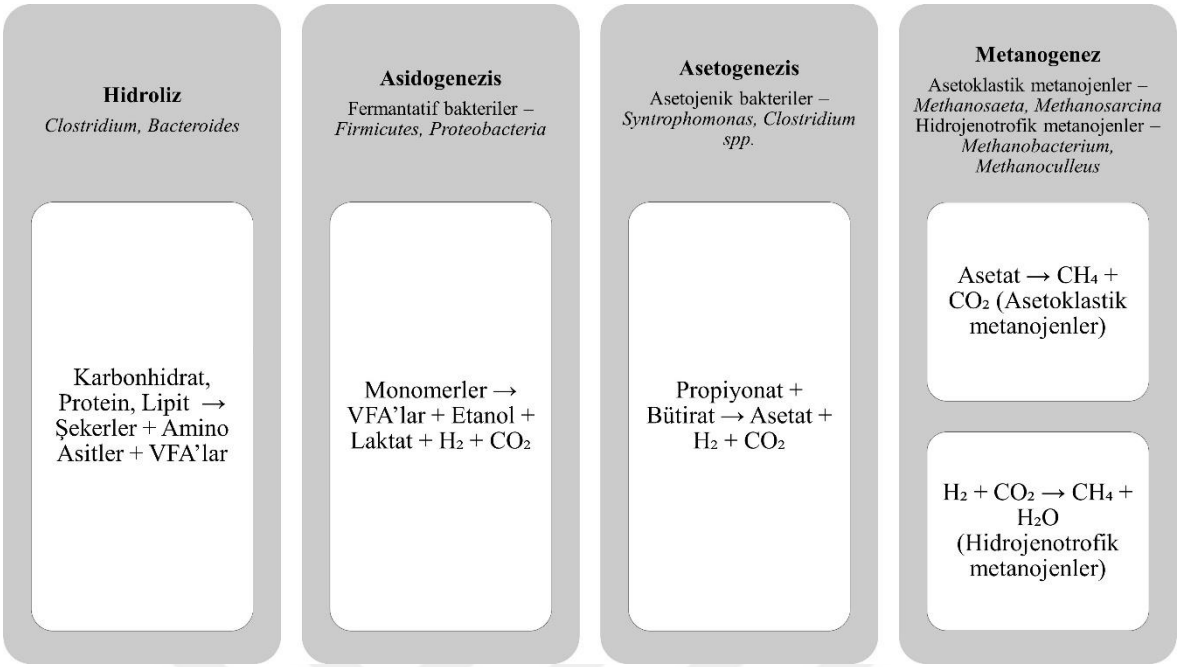
Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde asetoklastik ve hidrojenotrofik metanojenik yolların AS sistemlerinde metan üretimi optimizasyonu için önemli olduğunu göstermektedir. Bu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında Wang ve diğerleri (2014), *Methanosarcina*'nın çevresel adaptasyon yeteneğini gösterirken, Lu ve diğerleri (2015), *Methanobacterium*'un hidrojenotrofik metan üretimindeki yadsınamaz etkisini vurgulamıştır.

Yukarıdaki çalışmalara ek olarak, Bedoya ve diğerleri (2020), Kolombiya'daki tam teşekkürlü bir anaerobik çamur çürütücüsünde bir yıl süren çalışmaları süresince, 16S rRNA dizilemesi kullanarak atıksu arıtma tesisindeki mikrobiyal toplulukların tür tayini üzerine çalışmışlardır. Sonuç olarak mevsimsel değişkenlere rağmen *Chloroflexi*, *Proteobacteria* ve *Firmicutes* gibi şubelerin geçiş süreçlerinde ve sonrasında da baskın kaldığını ve sistemin işlevsel stabilitesinin korunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma süresince ortalama %66 metan içeriği ile sabit biyogaz üretimi olduğu gözlemlenmiştir.

Mikrobiyal toplulukların stabilitesi ve çevresel koşulların etkisi yanında elektron transfer mekanizmalarının geliştirilmesi de metan üretim verimliliğinin artmasında büyük bir etkendir. Su ve diğerleri (2023), biyokömür ve manyetit gibi iletken materyaller kullanıldığında gerçekleşen doğrudan türler arası elektron transferinin metanojenik aktiviteyi artırdığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Li ve diğerleri (2024), DIET'in sistem üzerinde stres yaratan yüksek organik yükleme oranları varlığında termodinamik verimliliği ve sistem stabilitesini artırdığını ortaya koymuştur. Bununla beraber, Zhang ve diğerleri (2023), MIET mekanizmasının, hidrojen ve formattan taşınan elektronlarla DIET'e bir alternatif olduğunu vurgulamıştır.

AS sürecinin stabilitesinin, metan üretim verimliliğinin ve genel sistem performansının artırılması için substrat ön işleme, birlikte sindirim (co-digestion), biyoartırma (bioaugmentation) ve ileri sistem izleme teknolojileri gibi çeşitli yöntemler uygulanmakta ve yenileri geliştirilmektedir (Romero-Güiza ve diğerleri, 2016; Plaza ve diğerleri, 2021). Bu stratejiler substratın mikrobiyal popülasyonlar tarafından kullanılabilirliğini artırmakta, mikrobiyal dayanıklılığı güçlendirmekte ve sindirim sürecinin genel stabilitesini artırmaktadır.

Sonuç olarak, yüksek verimde biyometan üretimi ve uzun vadede sistem stabilitesinin sağlanması, mikrobiyal süreçlerin, çevresel koşulların ve operasyonel parametrelerin bütüncül bir şekilde anlaşılması ve optimize edilmesine bağlıdır.



Şekil 2.1. AS sürecinin biyokimyasal aşamaları ve her aşamadaki baskın mikrobiyal gruplar

Şekil 2.1 AS'nin temel biyokimyasal aşamaları olan hidroliz, asidojenez, asetogenez ve metanojenezi özetlemektedir. Sürecin başlangıcında karbonhidrat, protein ve lipidler gibi karmaşık yapılı organik bileşikler, *Clostridium* ve *Bacteroides* gibi hidrolitik bakterilerin salgıladığı enzimler aracılığıyla daha basit monomerler olan şekerlere, amino asitlere ve uçucu yağ asitlerine ayrışır. Asidojenez aşamasında ise *Firmicutes* ve *Proteobacteria* gibi fermentatif bakteriler oluşan bu monomerleri etanol, laktat, H_2, CO_2 ve VFA'lar gibi çeşitli fermantasyon ürünlerine dönüştürür. Takip eden asetogenez basamağında, propiyonat ve bütirat gibi VFA'lar asetojenik bakteriler olan *Syntrophomonas* ve *Clostridium spp.* Tarafından asetat, H_2 ve CO_2'ye dönüştürülür ve bu son ürünler bir sonraki aşama olan metanogenezde metanojenik arkeler tarafından substrat olarak kullanılarak metan üretimi sağlanır. *Methanosarcina* ve *Methanosaeta* gibi asetoklastik metanojenler asetatı kullanarak CH_4 ve CO_2 üretirken; *Methanobacterium* ve *Methanoculleus* gibi hidrojenotrofik metanojenler H_2 ve CO_2'yi metana ve suya dönüştürür.

3. ANAEROBİK SİNDİRİMDE METAN ÜRETİMİ

Anaerobik sürecinin sonunda üretilen metan *Methanosarcina* ve *Methanosaeta* gibi metanojenik arkelerin performansına bağlıdır, bu arkeler AS'nin son aşamasını katalize eder (Venkiteshwaran ve diğerleri, 2015). Bu mikroorganizmaların etkili olduğu biyokimyasal süreçler, asetat, hidrojen (H_2) ve karbondioksit (CO_2) gibi ürünlerin metabolize edilmesi, metan veriminin artırılması ve sistem verimliliğinin devamlılığı için kritik öneme sahiptir (Uddin ve diğerleri, 2023). AS sürecinde metan üretimi başlıca iki yol ile gerçekleşir: asetoklastik metanojenez ve hidrojenotrofik metanojenez.

Asetoklastik metanojenez, normalde AS prosesinde baskın olan yoldur ve asetatın (CH_3COO^-) enzimatik olarak metan ve karbondioksite parçalanmasını sağlar. Bu reaksiyonu katalize eden cinsler Methanosarcina ve *Methanosaeta*'dır. *Methanosarcina* cinsinin altında yer alan türler asetat, H_2 ve CO_2 metabolize edebilecek metabolik kapasiteye sahipken, *Methanosaeta* altında yer alan türler yalnızca asetoklastik bir metabolizmaya sahiptir (Venkiteshwaran ve diğerleri, 2015; Mutungwazi ve diğerleri, 2021). Tipik bir AS sisteminde metan üretiminin yaklaşık %70'i asetoklastik yollardan gerçekleşir (Uddin ve diğerleri, 2023). Hidrojenotrofik metanojenezis gerçekleşirken ise *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* ve *Methanoculleus* gibi metanojenler, hidrojen ve karbondioksiti indirgeyerek metan üretirler (Xu ve diğerleri, 2021; You ve diğerleri, 2024). Özellikle hidrojenotrofik metanojen türlerinin gerçekleştirdiği bu tepkime hidrojen gazının kısmi basıncının azaltılması için önemlidir, zira hidrojen kısmi basıncı belli bir sınırın üzerinde olursa asetojenik reaksiyonlar baskılanır ve AS prosesinin stabilitesini olumsuz yönde etkiler (Li ve diğerleri, 2019). Yüksek amonyak konsantrasyonları gibi stres koşulları altında, asetoklastik metanojenlerin inhibe olduğu ve sürecin sentrofik asetat oksidasyonuna kaydığı gözlemlenmiştir. SAO'da, *Clostridium ultunense* ve *Tepidanaerobacter acetatoxydans* gibi SAOB tarafından asetat hidrojen ve karbondioksite oksitlenir ve bu son ürünler hidrojenotrofik metanojenler tarafından metaboliza edilir (Nguyen ve diğerleri, 2019). SAO, asetoklastik metanojenesis kadar verimli bir proses olmamakla beraber, inhibe edici stres koşulları altında AS devamlılığı için kritik öneme sahiptir. Venkiteshwaran ve diğerleri (2015), uzun HRT'ler ve artan amonyak konsantrasyonları gibi stres durumu yaratan

operasyonel koşulların, asetoklastik metanojenesisten SAO'ya bir geçişi teşvik ettiğini göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca asetatın sintrofik asetat oksitleyen bakteriler tarafından, hidrojenotrofik metanojenlerin kullanabileceği substratlara dönüştürüldüğü ve metan üretiminin bu şekilde sürdürüldüğü belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olarak, Nie ve diğerleri (2021), asetoklastik metanojenlerin yüksek amonyak konsantrasyonları varlığında inhibe olduğunu ve SAO'nun baskın metan üretim yolu haline geldiğini raporlamıştır. Mutungwazi ve diğerleri (2021), amonyak konsantrasyonunun 3 g/L NH_3-N'yi aşması durumunda SAO'nun baskın hale geldiğini doğrulamıştır. Bu çalışmalara ek olarak, Ziganshina ve diğerleri (2017), amonyak stresinin baskın olduğu koşullarda asetoklastik metanojenesis'in SAO ile telafi edildiğini ancak SAOB'lerin yavaş büyüme hızları nedeniyle bu sürece geçiş yaşandığında verimliliğin azaldığını gözlemlemiştir. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, verimliliğin korunabilmesinin stabil operasyonel koşulların korunmasına bağlı olduğu anlaşılmaktadır. Çevresel koşulların etkisini vurgulayan diğer çalışmalara bakıldığında önemli olanlar arasında Xu ve diğerlerinin (2018), OLR dalgalanmalarının ve VFA birikimini inceledikleri çalışma yer almaktadır. Bu çalışma OLR dalgalanmaları ve VFA birikiminin asetoklastik ve hidrojenotrofik metanojenesis yolların arasındaki dengeyi önemli ölçüde değiştirdiğini göstermiştir. OLR değerleri arttığında, asetik asit konsantrasyonları da arttığından asetoklastik metanojenesise bir geçiş olduğu ve *Methanosaetaceae* üyelerinin sistemde baskın hale geldiği, buna karşın düşük HRT değerlerinin, mikrobiyal topluluk yapısının daha çok *Methanomicrobiaceae* gibi hidrojenotrofik metanojenlere kaymasına neden olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde, Chen ve diğerleri (2018), çamur termal hidrolize maruz bırakıldığında saf asetoklastik metanojenesisten, asetoklastik-hidrojenotrofik bir sürece geçişe sebep olduğunu ve bunun, CO_2 ve H_2 gibi hidrojenotrofik metanojenlerin kullanabileceği substratların artmasından dolayı metan üretimini artırdığını bildirmiştir. Nguyen ve diğerleri (2019), ise sıcaklığın etkisini inceledikleri çalışmalarında mezofilik koşullarda asetoklastik metanojenlerin, özellikle *Methanosaetaceae*'nin baskın olduğunu; buna karşın termofilik koşullarda, hidrojen kısmi basıncının artması sebebiyle hidrojenotrofik metanojenesise bir kayış gözlendiğini raporlamıştır. Bu bulgular kümülatif bir şekilde ele alındığında; amonyak konsantrasyonu, OLR, HRT ve VFA birikimi gibi parametrelerin, hangi proseslerin baskın olacağının belirlenmesinde ve dolayısıyla mikrobiyal topluluk dinamiklerinin

şekillenmesinde belirleyici rol oynadığı ve metan üretiminin optimizasyonu için kritik olduğu görülmektedir.

4. METOT VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, öncelikli olarak evsel atıksulara odaklanmakla beraber, ko-sindirim ve farklı substrat kaynaklı atıksuları da içeren AS sistemlerindeki mikrobiyal popülasyonların yapısının, AS sürecinin performansının ve stabilitesinin, ek olarak metan üretim veriminin bu sistemlerde analiz edilmesine yönelik kapsamlı bir literatür taramasına dayanmaktadır. Bu tez çalışması, yapılandırılmamış sistematik derlemeye (narratif inceleme) dayanmakta olup, AS sistemlerindeki mikrobiyal çeşitlilik, substratların özellikleri, sistemin performansını kesintiye uğratabilecek inhibitör faktörler ve bu faktörlerin kökenleri, sistem performansını ve toleransını artırmaya yönelik ön arıtma gibi stratejilerin etkileri, metan üretimini doğrudan etkileyen biyolojik mekanizmaların anlaşılması gibi konularla ilgili kapsamlı bir bakış açısı sunmayı amaçlamaktadır.

4.1. Literatürün İncelemesindeki Yaklaşım

AS prosesi sonucu üretilen metan üretilene kadar olan bütün süreçlerin daha iyi anlaşılabilmesi, sistemdeki mikrobiyal popülasyonların fonksiyonel özelliklerinin ve çevresel faktörlere olan tepkilerinin bütüncül bir bakış açısıyla analiz edilmesini gerektirmektedir. Bu bütüncül bakış açısının sağlanabilmesi için, metan üretilene kadar sırasıyla gerçekleşen mekanizmaları etkileyen faktörleri değerlendirmek amacıyla literatür çalışmaları belirli kriterlere göre seçilmiş ve tanımlayıcı bir şekilde analiz edilmiştir. Literatür çalışmalarının incelenmesinde baz alınan yöntemsel yaklaşım, aşağıda özetlenmiştir.

Tezin beşinci bölümünde sunulan çalışma bulguları, 2004–2025 yılları arasında yayımlanmış, tam metni erişilebilir durumda ve hakemli olan araştırma makaleleri ve nitelikli derleme çalışmalarından oluşmaktadır. Bu bölüm için literatür çalışmalarının seçimi, AS süreçlerinde metan üretimini etkileyen mikrobiyal toplulukları, gerçekleşen

asekolastik ve hidrojenotrofik reaksiyonları, SAO mekanizmasını ve sistem üzerinde stres yaratan faktörleri (örneğin amonyak konsantrasyonu, VFA birikimi, OLR ve HRT değişimleri) konularına odaklanmış olan yayımlarla sınırlandırılmıştır.

Yürütülen çalışmalar, Google Scholar üzerinden belirlenen anahtar kelimelerle filtrelenerek bulunmuş ve Gazi Üniversitesinin öğrencilerine sağladığı erişim sayesinde yayınevlerinin dijital arşivlerinden elde edilmiştir. Dahil edilen yayınların değerlendirmesi; metan üretim yolları (asetoklastik, hidrojenotrofik, SAO), mikrobiyal tür değişimleri, inhibisyon koşulları ve süreç parametrelerine göre sınıflandırılarak yapılmıştır.

Yukarıda anlatılmış olan yaklaşım, çevresel ve biyolojik faktörlerin metan üretim mekanizmalarını nasıl etkilediğini göstermeyi amaçlamaktadır. Bu şekilde tez çalışmasının ilerleyen bölümlerinde raporlanan çalışmalar için bir temel oluşturmayı hedeflemektedir.

4.2. Literatür Tarama Yöntemi

Bu tez çalışmasında 2004 ve 2025 yılları arasında yayımlanan İngilizce akademik literatür incelenmiştir. Google Scholar akademik arama motoru, literatür incelemesi için birincil kaynak olarak kullanılmıştır. Referans olarak kullanılan birçok kaynağa yine Gazi Üniversitesi'nin sağladığı erişim sayesinde ulaşılmıştır. Bu kapsamda tez çalışmasında yalnızca tam metnine erişim olan, hakemli ve bilimsel nitelikteki araştırma makaleleri, teknik içeriği yeterli bulunan derlemeler ve kitap bölümleri kullanılmıştır. Literatür arama kriterlerinde başlık, özet ve anahtar kelime başlıkları için filtreleme yapılmış, aşağıdaki anahtar terimler hem bireysel olarak hem de kombinasyonlarla kullanılmıştır:

- *“Anaerobic digestion”, “methane production”, “domestic wastewater”, “microbial community”, “biochar”, “inhibition”, “pretreatment”, “co-digestion”, “syntrophic interaction”, “DIET”, “electron transfer”, “OLR”, “HRT”, “quorum sensing”*

4.3. Dahil Etme ve Hariç Tutma Kriterleri

İlgili literatürün dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- Evsel atık suyu arıtan tam ölçekli, yarı ölçekli, laboratuvar ölçekli AS sistemlerle yapılan çalışmalar,
- Mikrobiyal çeşitliliğin ve konsorsiyum yapılarının süreç performansı ve genel verimi üzerindeki etkisine dair deneysel ve derleme makaleler,
- Mikrobiyal metabolizma ve süreç parametrelerinin (OLR, HRT, pH, sıcaklık, ön işleme vb.) sisteme etkisi üzerine ve bu parametrelerin birbirleriyle etkileşimine odaklanan araştırmalar,
- Bilimsel dergilerde ve kitap bölümlerinde hakemli makaleler şeklinde yayımlanan teknik olarak güvenilir yayınlar.

İlgili literatürün bu tez çalışmasına dahil edilmeme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- AS sistemlerinden sadece endüstriyel atık sular, katı organik atıklar ve tarımsal atıklarla sınırlı olanlar hakkında olan araştırma makaleleri,
- Modelleme sonuçları mikrobiyolojik verilerle desteklenmemiş olan makaleler,
- Gri literatür, bildiriler, konferanslar, yorum ya da başyazılar, kısa bildirim veya mektuplar.

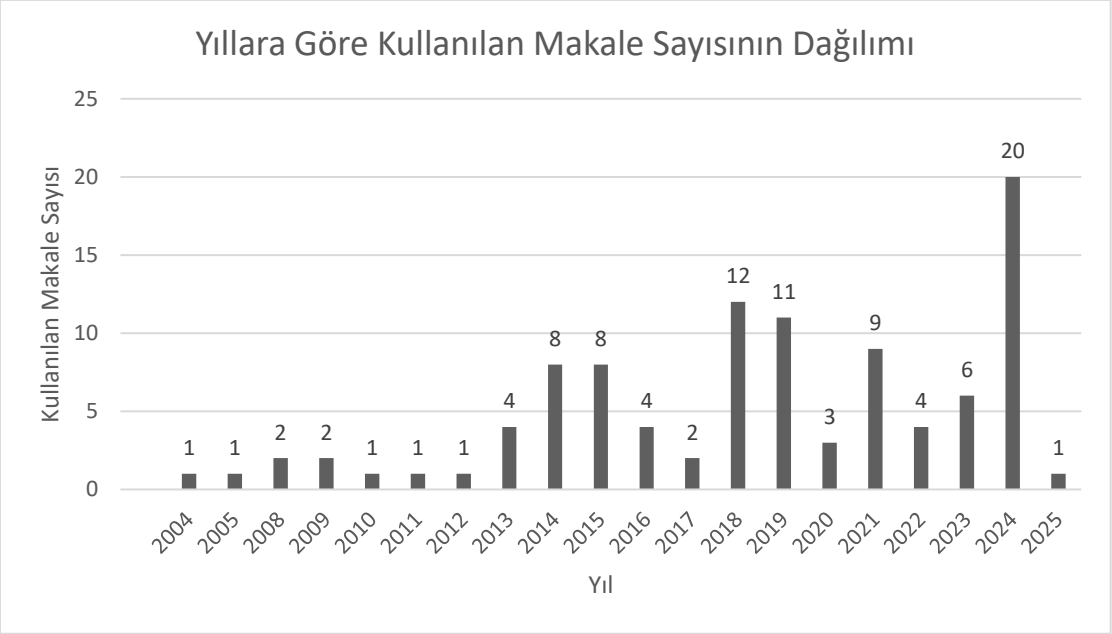
Bu süreçte yaklaşık 85 yayın, konunun kapsamı dışında kaldığı (örneğin yalnızca endüstriyel içerik taşıması, mikrobiyolojik veri sunmaması veya metodolojik bütünlük içermemesi) gerekçesiyle değerlendirme dışı bırakılmıştır. Bu kapsam dışı bırakma, çalışmanın odaklandığı mikrobiyal etkileşimler ve sistem performansı konularında bütünlük ve derinlik sağlamak amacıyla yapılmıştır.

4.4. Verilerin Derlenmesi ve Sınıflandırılması

Verilerin analiz süreci boyunca, tezde incelenecek temalarla benzer içerik başlıkları ve veri kategorileri, bu tez çalışması için seçilen 101 akademik makaleden şu şekilde derlenmiştir:

- Mikrobiyal topluluktaki arke ve bakteriyel türlerin miktarları, mikrobiyal toplulukların bileşimi hakkında mevcut bilgiler ve bu organizmaların sistemdeki işleyişi hakkındaki veriler,
- DIET mekanizması tarafından etkilenen sentrofik etkileşimlerin metan üretimine katkısı,
- Mikrobiyal aktiviteyi inhibe eden bileşikler (örneğin, amonyak, ağır metaller veya antibiyotikler) ve bu bileşiklerin giderimi veya inhibitör etkilerinin azaltılması yönündeki araştırmalar (örneğin, biyokömür ilaveleri),
- Mikrobiyal topluluklar üzerinde termal, kimyasal, enzimatik, fiziksel ve kombine olarak uygulanan ön işlemlerin hidroliz verimi üzerindeki etkisi,
- Birlikte sindirim süreçleri ve substrat sinerjisi ile mikrobiyal çeşitlilik arasındaki korelasyon,
- Sistemin işletme parametreleri (OLR, HRT, pH, sıcaklık) ile mikrobiyal popülasyon dengesi ve metan üretim verimi arasındaki ilişki.

Metan üretim veriminin artırılmasına yönelik öneriler, yukarıda verilen başlıklar altında sınıflandırılan literatür verilerinin karşılaştırmalı değerlendirmesi yapılarak ve çalışmalarda yer verilen literatür sonuçları değerlendirilerek incelenmiştir.



Şekil 4.1. Yıllara göre kullanılan makale sayısının dağılımı

Bu tez çalışmasında kullanılan toplam 101 akademik yayının yıllara göre dağılımı Şekil 2'de sunulmuştur. Literatür seçiminde, metan üretimini etkileyen mikrobiyal topluluklar, inhibisyon koşulları ve ön arıtma stratejileri gibi konulara dair güncel ve deneysel veriler içeren çalışmalar önceliklendirilmiştir. Bu doğrultuda, özellikle 2018–2024 yılları arasında yayımlanan yayınlar; AS sistemlerinde mikrobiyal dinamiklerin ileri seviye moleküler yöntemlerle araştırıldığı, inhibisyon mekanizmalarının daha detaylı analiz edildiği ve metan veriminin artırılmasına yönelik yenilikçi stratejilerin raporlandığı çalışmaların yoğunluk kazandığı bir süreci temsil etmektedir. Dolayısıyla bu dönem, tez kapsamında ele alınan temaların güncel bilimsel yaklaşım ve bulgularla değerlendirilmesi açısından kritik öneme sahiptir.

4.5. Kaynak Yönetimi

Bu tez çalışması için kullanılan referansların tamamı APA 7 stilinde yazılmış ve tezdeki referans alıntıları manuel olarak doğrulanmıştır. Alıntılar tezin bölümleri ile bağlantılı alt başlıklara göre düzenlenmiştir.

5. METAN VERİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER (SICAKLIK, PH, ORGANİK YÜKLEME ORANI, HİDROLİK BEKLEME SÜRESİ)

AS sistemlerinde metan üretim verimliliği birçok parametreye bağlı olmakla beraber, sıcaklık, pH, OLR ve HRT gibi operasyonel parametrelere doğrudan bağlıdır. AS prosesi devam ederken bütün bu parametrelerin yakından takip edilmesi ve gerektiği zaman optimizasyon için müdahale edilmesi, mikrobiyal popülasyonların dengeli olmasını ve sistemin genel performansının kesintisiz bir şekilde devamlılığının sağlanması için önemlidir. Bu parametrelerde gerçekleşecek dalgalanmalar ya da sistem için stresli koşulların oluşması metan veriminin azalmasına ve sürecin kesintiye uğramasına sebep olabilir.

Çizelge 5.1. AS'de metan verimini etkileyen parametreler üzerine yapılan çalışmaların karşılaştırmalı özeti

Parametre	Deneysel Koşullar	Sistem Türü	Temel Bulgular	Referanslar
OLR	Mezofilik, OLR ≈ 6 kg COD/m³/gün	Mezofilik	OLR 6'ya kadar stabil metan üretimi gözlenmiştir	3
pH	Tek ve İki kademeli karşılaştırmalı sistem	İki Kademeli	İki kademeli sistemlerde pH kontrolü daha etkilidir ve %39'a kadar metan verimi artışı sağlar	10
HRT	HRT 30→10 gün düşüş	İki Kademeli	HRT düşüşü mikrobiyal kayıplara ve stabilite bozulmasına yol açar	35
Sıcaklık	Termofilik	Termofilik	Termofilik koşullar metan üretimini artırır fakat kararsızlığa neden olabilir	39
pH	Tek ve İki kademeli	İki Kademeli	İki kademeli sistemler pH dengesini korumada daha başarılı	43
pH	pH <6,6	Genel	Düşük pH, metanojenik aktiviteleri baskılar	44
OLR	Yüksek OLR, toksik maddeler	Genel	Yüksek yükleme oranı toksisiteyi artırır ve inhibitör etki yapar	48
OLR	VFA birikimi koşulları	Genel	Yüksek OLR VFA birikimine ve stabilite bozulmasına yol açar	49
OLR & HRT	Aşırı OLR, uzun HRT	Genel	Aşırı OLR iş birliğini bozar; uzun HRT senesansa neden olabilir	50
Sıcaklık	Mezofilik sistem, termal hidroliz ön işlemli	Mezofilik	Termal ön işlem ile metan üretimi ve sindirilebilirlik artar	56

Çizelge 5.1'de, sıcaklık, pH, OLR ve HRT gibi operasyonel parametrelerin AS performansına etkileri üzerine bulgular sunan literatür çalışmalarının sonuçları

özetlenmiştir. Deneysel koşullar, sistem türleri ve temel bulgular karşılaştırmalı olarak sunularak süreç optimizasyonuna yönelik genel eğilimler ortaya konmuştur.

5.1. Sıcaklığın Anaerobik Sindirim Performansı Üzerindeki Etkisi

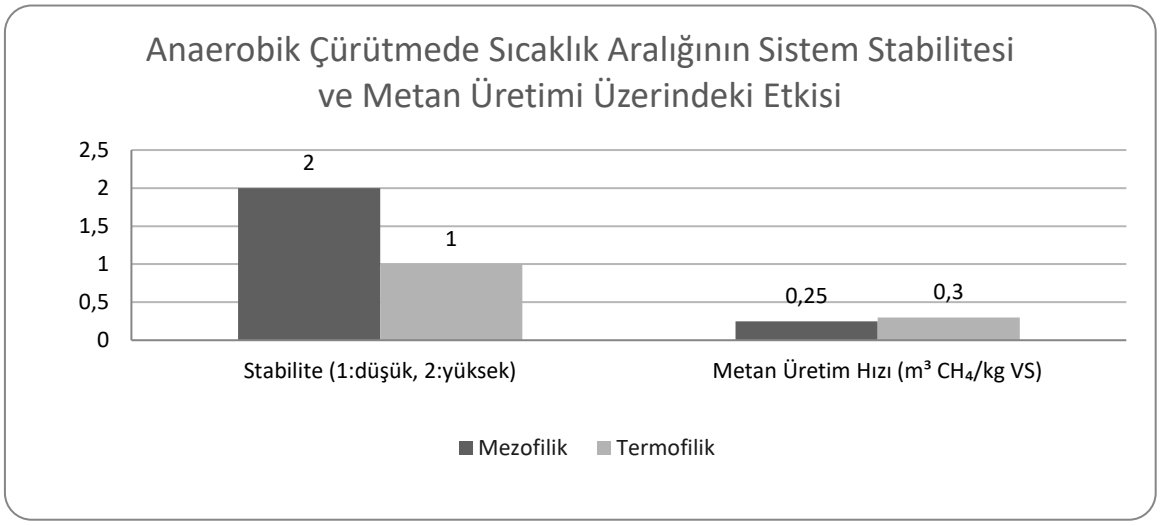
Sıcaklık, AS sistemlerinin performansını etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Mikrobiyal popülasyonların sistem süresince olan aktivitesini, substratları parçalama hızlarını ve metan üretiminin verimliliğini doğrudan etkiler. AS sistemlerinde genellikle iki sıcaklık aralığı söz konusudur: mezofilik (yaklaşık 30–40°C) ve termofilik (yaklaşık 50–60°C). Mezofilik koşullar, termofilik koşullara göre daha optimal olduğu için daha çeşitli mikrobiyal toplulukların gelişimine olanak tanır ve sistem parametrelerinde yaşanabilecek dalgalanmalara karşı sistemin daha dayanıklı olmasını sağlar. Kainthola ve diğerleri (2019) ile Zhang ve diğerleri (2019), sistem mezofilik sıcaklık aralığında çalıştırıldığında mikrobiyal türlerin daha dengeli bir yapı oluşturduğunu ve çevresel dalgalanmalara sistem toleransının arttığını bildirmiştir. Mao ve diğerleri (2015), yürüttükleri çalışmada mezofilik koşulların sistem stabilitesini sistem parametrelerindeki dalgalanmalara karşı daha dayanıklı hale getirdiğini raporlamıştır. Buna ek olarak, Ünyay ve diğerleri (2022), mezofilik koşullarda yürütülen deneylerinin sonucunda stabil performansın daha uzun süreli korunduğunu belirtmiştir. Sistem stabilitesi üzerindeki pozitif katkısı sebebiyle mezofilik sistemler, özellikle yüksek hacimli tesislerde ve uzun vadeli uygulamalar için tercih edilmektedir.

Termofilik koşullar altında gerçekleşen AS ise daha yüksek mikrobiyal aktivite sayesinde metan üretimini artırma potansiyeline sahiptir, fakat yüksek sistem sıcaklığı stabilitenin uzun süre korunmasına el vermemektedir. Yürütülen çeşitli çalışmalarda, termofilik koşullarda mikrobiyal büyüme hızının arttığı ve bunun biyogaz verimini olumlu etkileyebileceği ifade edilmiştir; ancak büyüme hızı artışının sisteme giren substratlara ve operasyonel koşullara göre değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir (Mutungwazi ve diğerleri, 2021). Bu çalışmalara

parallel olarak Qin ve diğerleri (2024) de, termofilik koşulların biyokimyasal reaksiyon hızlarını artırdığını, substrat ayrışmasının da daha efektif olduğunu doğrulamıştır. Al-Zoubi ve diğerleri (2024) ise, tavuk gübresi kullanılan bir çalışmada, pH ve C/N oranlarının optimize edilmesi durumunda termofilik sindirimin mezofilik sisteme kıyasla biyogaz üretimini %60'a kadar artırabileceğini raporlamıştır. Bununla birlikte, her ne kadar termofilik sistemler hem daha yüksek sıcaklıkları hem de daha yüksek OLR'leri tolere edebilse de amonyak inhibisyonu ve asidifikasyon karşısında daha hassas olduğu için sürenin sıkı izlenmesi gerektiğini de vurgulanmıştır (Siddique ve diğerleri, 2018). Ancak çalışmanın bulgularına ek olarak, bu %60'lık artışın büyük ölçüde sistemdeki substratların özelliklerine ve sürecin hassas bir şekilde izlenmesine bağlı olduğunu eklemişlerdir. Her ne kadar termofilik sistemlerde mikrobiyal aktivitenin ve metan verimliliğinin daha fazla olma potansiyeli çalışmalarla gösterilmiş olsa da bu sistemler çevresel dalgalanmalara karşı daha hassastır. Özellikle termofilik koşullarda, ±2°C gibi sıcaklık dalgalanmalarının bile mikrobiyal dengenin bozulmasına ve süreç instabilitesine sebep olabileceği belirtilmiştir (Ibro ve diğerleri, 2022). Solli ve diğerleri (2014), yürüttükleri çalışmada sistemde stres koşullarını yaratan VFA birikiminin termofilik reaktörlerin asidifikasyonuna daha fazla etki ettiğini bildirmiştir. González ve diğerleri (2022) de, sistem sıcaklığı termofilik koşullara ulaştığında mikrobiyal dengenin bozulma potansiyelinin olduğunu ve bu durumun sürecin stabilitesini olumsuz etkileyebileceğini bildirmiştir. Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde mezofilik ve termofilik sistemler karşılaştırıldığında mezofilik sistemlerin daha kararlı ve değişimlere daha toleranslı olduğu, enerji ve metan üretimi verimliliği söz konusu olduğunda ise termofilik sistemlerin sıkı bir takip ve kontrol altında avantaj sağlayabildiği sonucuna varılmaktadır (Wang ve diğerleri, 2018). Deepanraj ve diğerleri (2015), sistem sıcaklığının, metan verimi ile proses stabilitesi arasında bir denge kurulabilmesi için dikkatli şekilde seçilmesi gerektiğini belirtmiştir. Onlara göre, sabit ve dayanıklı sindirimin gerekli olduğu atık akışları için mezofilik koşullar tercih edilmeli, enerji geri kazanımının maksimize edilmesinin hedeflendiği durumlarda ise operasyonel kontrolün güçlü olduğu termofilik koşullar uygun olabilir.

Yukarıda kısaca bahsedildiği gibi, sıcaklık aynı zamanda mikrobiyal popülasyonların yapısını da etkiler. Zhang ve diğerleri (2019), yürüttükleri çalışmada sıcaklık ve kimyasal oksijen ihtiyacı seviyelerinin mikrobiyal toplulukların içerdiği türleri doğrudan şekillendirdiğini göstermiştir. Mezofilik ve termofilik sistemlerde yer alan mikrobiyal topluluklar karşılaştırıldığında, mezofilik koşullarda tür çeşitliliğinin daha fazla olduğu esnek mikrobiyal yapıların geliştiği, termofilik koşullarda ise daha hızlı büyüyen ancak çeşitliliği az olan mikrobiyal popülasyonların bulunduğu gözlemlenmiştir. Mikrobiyal çeşitliliğin daha az oluşu ilgili popülasyonları çevresel strese karşı daha savunmasız hale getirmekte ve sistem stabilitesini değişken parametreler karşısında olumsuz yönde etkilemektedir (Li ve diğerleri, 2019; Guo ve diğerleri, 2009).

Şekil 5.1, mezofilik ve termofilik koşullarda sistem stabilitesi ve metan üretiminin nasıl değiştiğini karşılaştırmalı olarak göstermektedir. Mezofilik sistemlerin metan üretim verimi termofilik sistemlere nazaran daha düşük olmakla beraber, operasyonel parametrelerde gerçekleşen dalgalanmalara dayanıklılığı termofilik sistemlerden daha fazladır. Termofilik koşullar altında ise metan üretimi daha yüksek olmasına rağmen, sistem stabilitesi daha düşüktür.



Şekil 5.1. AS'de sıcaklık aralığının stabilite ve metan üretimi üzerindeki etkisi

5.2. pH'nin Anaerobik Sindirim Performansı Üzerindeki Etkisi

AS sürecinin stabilitesini doğrudan etkileyen bir diğer parametre de pH'tır. pH'nin optimum aralıkta tutulması, mikrobiyal aktivitelerin devamlılığı için kritik olduğundan metan üretimini artırmak ve değişken operasyonel koşulların varlığında sistem dayanıklılığını sağlanması açısından kritik öneme sahiptir.

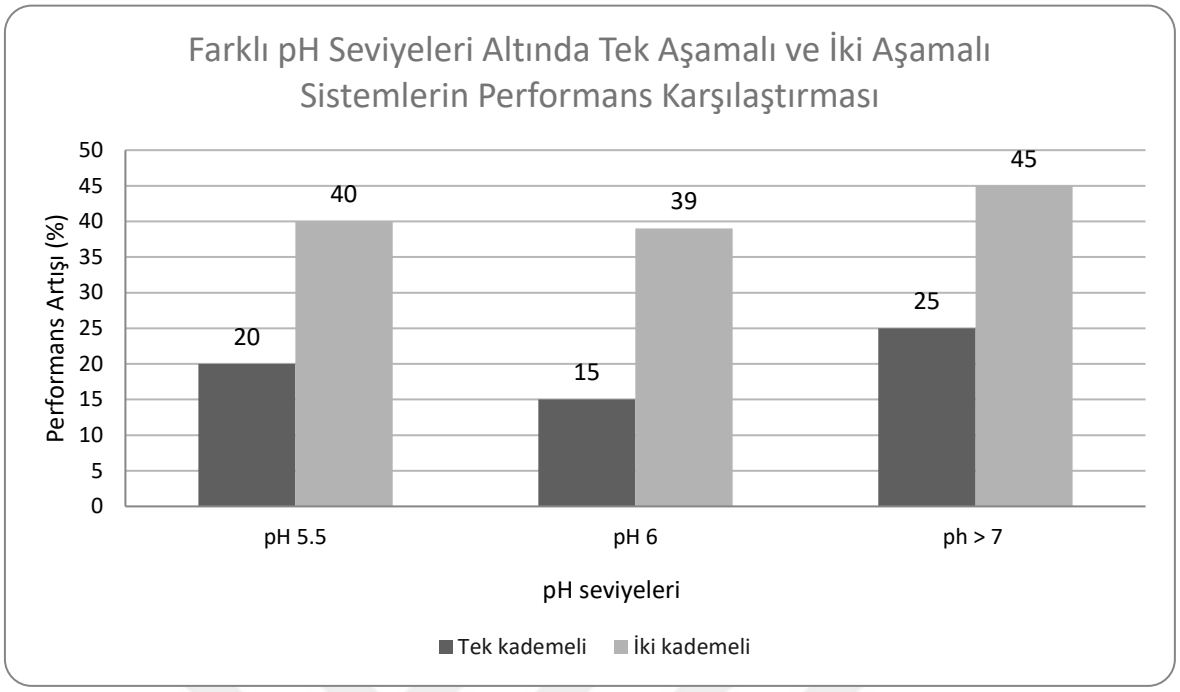
Maksimum metan veriminin elde edildiği aralık genellikle 6,8 ile 7,5 arasındaki nötr pH değerleridir çünkü metanojenik arkeler, bu pH aralığında en yüksek metabolik aktiviteyi gösterir, sonuç olarak en yüksek metan verimi bu aralıkta elde edilir (Bachmann ve diğerleri, 2015; Lindner ve diğerleri 2015). pH değerleri bu aralığın dışına çıktığında mikrobiyal popülasyonların performansı olumsuz yönde etkilenir. Bu durumu Meegoda ve diğerleri (2018), tarafından yürütülen çalışmada pH'nın 6,6'nın altına düşmesi durumunda metanojenik arkelerin aktivitelerinin ciddi şekilde baskılandığını, aşırı alkali koşulların oluştuğu durumlarda ise mikrobiyal granüllerin bozulduğunu ve sistem stabilitesinin mikrobiyal aktivitenin zarar görmesi nedeniyle bozulduğu raporlanmıştır. Benzer şekilde Lindner ve diğerleri (2015) de metanogenez veriminin pH seviyeleri nötr değerlere yakınken maksimum seviyeye ulaştığını, bu aralığın dışına çıkıldığında ise sistemde VFA birikiminin olduğunu ve metan üretiminin aşırı VFA birikimi sonucu engellediğini raporlamıştır. VFA birikimi özellikle 5,5–6,0 gibi düşük pH aralıklarında sıkça gözlemlenir ve bu durum asidifikasyona sebep olacağı için mikrobiyal toplulukların performansını düşürerek reaktör kararsızlığına neden olur. Ayrıca, yapılan diğer çalışmalar sürecin stabilitesi için yalnızca VFA birikimi ve ilgili pH değişimleri değil, VFA/bikarbonat oranının da önemli bir gösterge olduğunu ve bu oranın, sistemin tamponlama kapasitesini ortaya koyduğunu göstermektedir (Kondusamy ve diğerleri, 2014)

AS sistemleri temel olarak tek kademeli ve iki kademeli sistemler olmak üzere ikiye ayrılır. Tek kademeli sistemlerde, AS'nin bütün aşamaları aynı reaktörde ve aynı koşullar altında

gerçekleşir. Tek kademeli sistemler tasarım açısından daha basit olup, işletme maliyetleri daha düşüktür, fakat AS'nin barındırdığı çeşitli mikrobiyal toplulukların hepsi için optimum koşulları sağlamaz. Bu nedenle AS sürecinde aksamalar ve metan üretimi verimsizliği gibi sonuçlar ortaya çıkabilir. İki kademeli sistemlerde ise, asidik ve metanojenik evreler ayrı reaktörlerde yürütülür. Böylece her aşama için en uygun pH, sıcaklık ve hidrolik koşullar oluşturulabilir ve süreç verimliliği ve sistem stabilitesi artırılabilir (Rajendran ve diğerleri 2020; Mata-Alvarez ve diğerleri, 2014). Yürütülen karşılaştırmalı çalışmalar da iki kademeli AS sistemlerinin özellikle pH dalgalanmalarına karşı tek kademeli sistemlere göre daha yüksek toleransa sahip olduğunu göstermiştir. Lindner ve diğerleri (2015) asidojenik ve metanojenik aşamaların iki kademeli reaktörlerde fiziksel olarak ayrılmasının her aşamanın kendi optimum pH aralığında çalışmasını desteklediğini ve genel süreç verimliliğinin artırdığını raporlamıştır. Bu görüşü destekleyen Meegoda ve diğerleri (2018) asidojenik bakterilerin optimum performans gösterdiği aralığın pH 5–7 aralığında olduğunu, metanojenik mikroorganizmaların optimum performansı gösterdikleri aralığın ise 6,5–8,5 olduğunu göstermiştir. Farklı aşamalarda rol alan bu mikrobiyal toplulukların farklı pH ihtiyaçları nedeniyle, tek kademeli sistemlerde her iki mikrobiyal grubun aynı ortamda faaliyet göstermesi süreç verimliliğini kısıtlayabilmektedir. Meegoda ve diğerleri (2018), iki kademeli sistemlerde ilk reaktörde asidik pH'ın, ikinci reaktörde ise nötr veya hafif alkali pH'ın korunmasının, süreç performansını belirgin şekilde artırabildiğini ifade etmiştir. Farklı pH koşulları altında yapılan karşılaştırmalı analizler, tek ve iki kademeli sistemler arasında belirgin performans farkları olduğunu göstermiştir. Örneğin, iki kademeli sistemlerde pH 6 seviyesindeyken %39'luk bir performans artışı görülürken, tek kademeli sistemlerde bu artış %15 düzeyinde kalmıştır. Rabii ve diğerleri (2019), bu farkın sebebini, iki kademeli sistemlerde ilk aşamada asidojenik bakterilerin asidik koşullarda daha verimli çalışmasını ve bu sayede hidroliz ile asidojenezin optimum düzeyde çalışmasını, ardından ikinci aşamada metan üretiminin daha verimli bir şekilde gerçekleşmesi olarak belirtmiştir.

pH'ın 7 ve üzerinde olduğu koşullarda, iki kademeli sistemlerin avantajı daha da belirginleşmektedir. Uddin ve diğerleri (2023)'nin çalışmalarının sonuçlarına göre, bu pH seviyelerinde iki kademeli sistemler %45'lik bir performans artışı sağlarken, tek kademeli sistemlerde bu oran %25'te kalmıştır. İki fazın fiziksel olarak farklı reaktörlere ayrılması sayesinde, iki kademeli sistemlerde asit birikimi engellenmekte ve yüksek pH koşullarında bile metanojenik aktivite kesinti olmadan sürdürülebilmektedir. Meegoda ve diğerleri (2018) de, iki kademeli sistemlerin alkali koşullar altında daha yüksek metan verimi ve süreç dayanıklılığı sunduğunu doğrulamıştır.

Yukarıda verilen çalışmalara ek olarak, sürecin iyileştirilmesi için, sadece mikrobiyal topluluğun optimal pH aralıklarındaki aktivitesi değil, aynı zamanda mikroorganizmaların kullanımı için substratın daha erişilebilir hale getirilmesi de önemlidir. Bunun için kullanılan fiziksel ön arıtma yöntemlerinden biri ultrasonik yöntemdir ve detayları ön işlemin rolünü ele alan 9. Başlık altında verilecektir. Bu yöntem, hidroliz aşamasının hızlanması yoluyla karmaşık organik bileşiklerin parçalanmasını destekler. Appels ve diğerleri (2008), bu ön arıtmanın çamurun partiküler ve çözünmüş kısımlarına olan etkisini deneysel olarak test ettikleri çalışmalarında, bu yaklaşımla, çamurdaki partikül boyutunun önemli ölçüde azaldığını buldular. Örneğin, partiküllerin ortalama çapı %50 kesme boyutuna (d_{50}) sahip olanlar için 80,2 μm'den 46,6 μm'ye düşerken, sıvı faza geçen sCOD arttı ve özellikle düşük kuru madde içeriğine sahip çamurlarda, metan üretiminde %20'ye kadar iyileşme sağlandı. Sonuçlar, pH ayarlandığında, mikrobiyal aktivitenin uygun pH seviyelerinde yükseldiğini ve fiziksel olarak işlenmiş substratın da sistem performansı üzerinde pozitif etkisi olduğunu gösterdi. Yukarıda verilen çalışmalarla tutarlı olarak, Zhang ve diğerleri (2018) VFA'nın hızlı birikiminin pH seviyesini ciddi şekilde düşürebileceğini, metanojenik aktiviteleri engelleyebileceğini ve dolayısıyla sürecin kararlılığını tehlikeye atabileceğini göstermiştir.



Şekil 5.2. Farklı pH düzeylerinde tek kademeli ve iki kademeli sistemlerin performans karşılaştırması

Şekil 5.2, farklı pH koşullarında tek kademeli (single-stage) ve iki kademeli (two-stage) AS sistemlerinin metan üretim performanslarını karşılaştırmalı olarak göstermektedir. Yaklaşık 5,5 seviyesinde seyreden asidik pH seviyelerinde, iki fazlı reaktörlerin performansı tek fazlı reaktörlere göre bariz bir şekilde daha fazla olmaktadır. Bu sistemlerde metan üretiminde %40'a varan artış gözlenirken, tek kademeli sistemlerde bu artış %20 seviyelerinde kalmaktadır. Şekilde gösterilen bu bulgu, Ravi ve diğerleri (2018) tarafından yapılan çalışmayla uyumludur. Söz konusu çalışmada, iki kademeli sistemlerde hidrolitik-asidojenik ve metanojenik evrelerin fiziksel olarak ayrılmasının, düşük pH altında VFA birikimini engelleyerek substrat metabolizasyonu ve dolayısıyla metan üretimini artırdığı gösterilmiştir.

pH 6 seviyesindeyken %39'luk bir performans artışı görülürken, tek kademeli sistemlerde bu artış %15 düzeyinde kalmıştır (Rabii ve diğerleri, 2019). pH'ın 7'den büyük olduğu değerlerde ise iki sistem arasındaki performans farkı daha da belirginleşmektedir. pH'ın 7'den büyük olduğu aralıkta iki kademeli sistemlerde %45'e kadar verim artışı

gözlemlenirken, tek kademeli sistemlerde bu oran %25 civarında kalmaktadır. Bu durumun temel sebebi daha önce de bahsedildiği gibi iki fazlı sistemlerin asidojenik ve metanojenik aşamalar için ayrı pH kontrolü sağlayarak asit birikimi sistemi inhibe edecek koşulları engellemesi ve biyogaz üretimi için daha kararlı bir sistem sağlamasından kaynaklanmaktadır (Lindner ve diğerleri, 2015; Ravi ve diğerleri, 2018).

Genel olarak, bu bölüm boyunca anlatılan bulgular birlikte değerlendirildiğinde, iki kademeli sistemlerde faz ayrımının; süreç verimliliği, metan üretim kapasitesi ve sistem kararlılığı açısından önemli avantajlar sağladığı görülmektedir. Ravi ve diğerleri (2018), pH'ın asidik seviyeye yakın olduğu durumlarda dahi VFA birikiminin önlenmesini ve metan üretimindeki artışı reaktörlerin fiziksel olarak ayrılmasıyla ilişkilendirmiştir. Benzer şekilde, Lindner ve diğerleri (2015), Pohland ve Ghosh'un önerdiği şekilde, biyogaz veriminin artışını ve sistem stabilitesinin iyileştirilmesini asidojenik ve metanojenik süreçler için ayrı optimum pH aralıklarının iki fazlı sistemlerde korunabilmesiyle olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle, AS sürecinin iyileştirilmesi için geliştirilecek stratejilerin pH'a odaklı olanlarında özellikle faz ayrımının ele alınması kritik öneme sahiptir.

5.3. Organik Yükleme Oranının Anaerobik Sindirim Performansı Üzerindeki Etkisi

OLR, AS sistemlerinin verimliliği ve stabilitesini belirleyen temel parametrelerden bir diğeridir. OLR seviyesi orta düzeylerde tutulduğunda mikrobiyal topluluklara dengeli bir substrat akışı sağlanmaktadır, bu sebeple metabolik faaliyetler düzenli olarak ilerler ve metan üretimi optimum seviyede gerçekleşir.

Musa ve diğerleri (2018), mezofilik bir UASB reaktöründe, kesimhane atıksuyu kullanarak yürüttükleri çalışmada, OLR'nin 2–10 g/L/gün aralığında tutulması durumunda asidifikasyon önlenebildiği sürece metanın yüksek verimle elde edilebileceğini raporlamıştır. Benzer şekilde, Nguyen ve diğerleri (2019), mezofilik koşullarda metan

üretiminin OLR'nin yaklaşık 6 kg COD/m³/gün değerine kadar olduğu durumda stabil şekilde sürdürebildiğini; ancak OLR bu sınırı aştığında mikrobiyal çeşitlilikte azalma ve VFA birikimi görüldüğünü bildirmiştir.

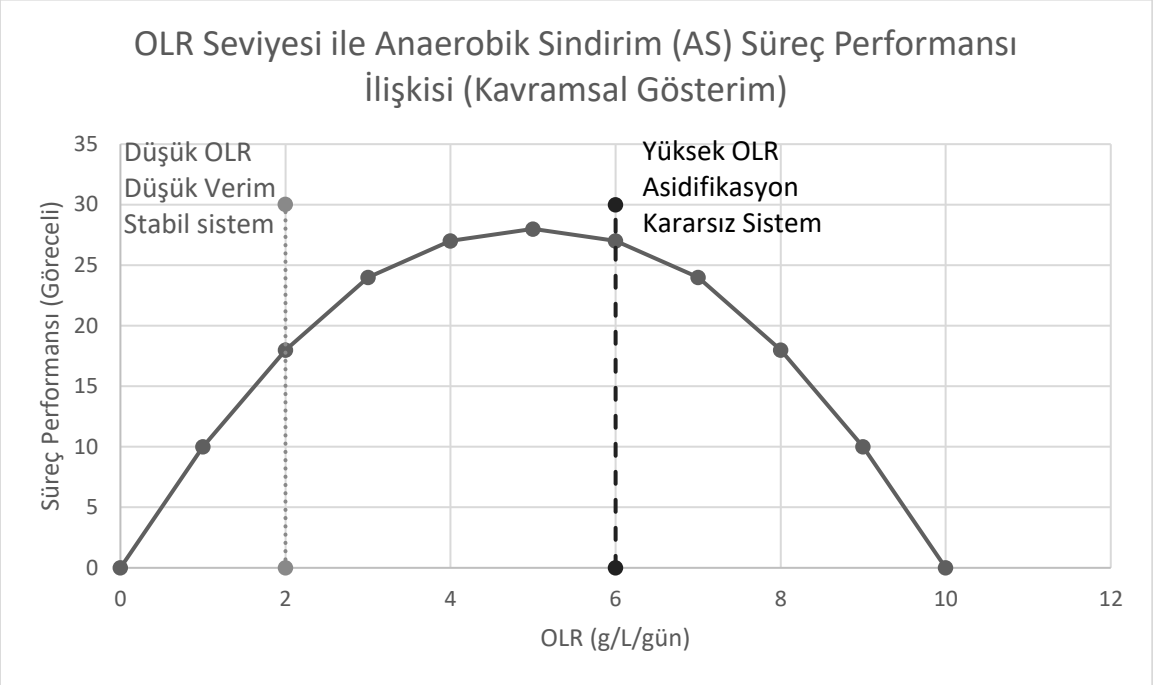
Gao ve diğerleri (2024), substrat varlığının mikrobiyal metabolizma için hayati öneme sahip olduğunu belirtmekle beraber, substratın fazla olmasının her zaman daha yüksek metan verimi olacağı anlamına gelmeyeceğini vurgulamıştır. Yürüttükleri çalışmada substrat yüklemesinde belirli bir konsantrasyonun aşılması halinde mikrobiyal toplulukların baskılandığını, bunun sonucunda VFA birikimi, asidifikasyon ve sistem dengesizliğinin görüldüğünü ve metanojenik aktivitenin zincirleme aksaklıklar sonucu olumsuz etkilendiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, Ziganshina ve diğerleri (2017) tarafından da desteklenmiştir; çalışmada, metan üretiminin OLR seviyesi orta aralıktayken maksimum seviyede olduğu, ancak daha yüksek OLR seviyelerinde metan üretiminde sentrofik etkileşimlerin bozulması ve metanojenik aktivitenin azalması nedeniyle belirgin bir düşüş yaşandığı bildirilmiştir.

Benzer şekilde, Siddique ve diğerleri (2018) de aşırı yüksek OLR seviyelerinin asidifikasyona sebep olduğunu ve sentrofik bakteriler ile metanojenik arkeler arasındaki iş birliğini bozduğunu ve bunun da süreç verimliliğini olumsuz yönde etkilediğini raporlamıştır. Mutungwazi ve diğerleri (2021), yürüttükleri çalışma sonucunda yüksek OLR seviyelerinin metanojenik arkelerin metabolik aktivitelerinin belirgin bir şekilde inhibe olduğunu ve bu inhibisyonun nihayetinde sistem stabilitesinin bozulmasına yol açtığını ortaya koymuştur.

Tam ölçekli sürekli karıştırmalı tank reaktörlerinde (CSTR), OLR 4 g VS/L/gün seviyesinin altında tutulduğunda AS stabilitesinin korunduğu gözlemlenmiştir (Gao ve diğerleri, 2024). Buna ek olarak Xu ve diğerleri (2018), 5,2 g VS/L/gün OLR seviyesinde metan üretiminin iki farklı reaktörde sırasıyla 862 ve 715 mL CH_4/g VS/gün olarak maksimum seviyeye

ulaştığını, ancak OLR 6,7 g VS/L/gün seviyesine çıkarıldığında bu değerlerin 335 ve 321 mL CH_4/g VS/gün'e düştüğünü gözlemlemişlerdir. Bu düşüşün sebebini de substrat yoğunluğunun mikrobiyal baskılanmaya ve süreç inhibisyonuna neden olması ile açıklamışlardır.

Sisteme giren substratın içeriği de sistemin OLR artışlarına gösterdiği tepkiyi büyük ölçüde etkilemektedir. Noutsopoulos ve diğerleri (2013), yağlı çamur ve kanalizasyon çamuru birlikte sindirildiğinde, metan üretiminin OLR 2,4 g VSGS/m^3/gün seviyesine kadar lineer olarak arttığını; ancak bu seviye aşılırsa asidifikasyon oluştuğunu ve metan üretiminde düşüş gözlemlendiğini raporlamıştır. Benzer şekilde, Leite ve diğerleri (2023), aktif çamur sindirimi sırasında OLR'nin artırılmasının asidifikasyonu tetiklediğini ve biyogaz üretiminin olumsuz yönde etkilendiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalara paralel olarak, Wu ve diğerleri (2018), lipid açısından zengin substratların yüksek organik yükleme oranları söz konusu olduğunda uzun zincirli yağ asitlerinin (LCFA) birikimini artırarak metanojenezi baskılayabildiğini göstermiştir. Yürüttükleri çalışmada, doymuş LCFA'ların (özellikle stearik ve palmitik asit) birikmesinin sebebinin bu yağ asitlerinin yavaş bozunma hızları olduğunu ve bu birikimin AS sürecinin stabilitesini olumsuz yönde etkilediğini vurgulamışlardır. Sonuç olarak, orta seviyede tutulan OLR değerleri metan üretimi verimini artırabilirken, optimal eşiklerin aşılması mikrobiyal dengenin bozulmasına, asidifikasyon oluşmasına ve süreç stabilitesinin bozulmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, sisteme giren substratın içeriği, reaktör tasarımı ve operasyonel parametreler birlikte değerlendirilerek OLR'nin duruma göre dikkatli bir şekilde ayarlanması, verimli ve stabil bir AS süreci için büyük önem taşımaktadır.



Şekil 5.3. OLR seviyesi ile AS süreç performansı ilişkisi (kavramsal gösterim)

Şekil 5.3 Organik yükleme oranı ile AS sürecinin performansı arasındaki ilişkiyi kavramsal olarak göstermektedir. OLR seviyesinin artmasıyla birlikte, ilk aşamada substrat miktarındaki artış mikrobiyal metabolizma için daha fazla enerji kaynağı sağlayarak süreç performansını artırmaktadır. Ancak yaklaşık 5 g VS/L/gün civarındaki eşik seviyesi aşıldığında, substrat fazlalığına bağlı olarak VFA birikimi ve mikrobiyal inhibisyon gibi olumsuz etkiler ortaya çıkmakta ve sistem kararlılığı bozulmaktadır. Bu durum, Noutsopoulos ve diğerleri (2013), Leite ve diğerleri (2023) ve Wu ve diğerleri (2018) tarafından yürütülen çalışmalarda da vurgulanmıştır. Özellikle lipid zengin substratların yüksek yükleme oranları söz konusuyken LCFA birikimine neden olduğu ve bu durumun metanojenik aktiviteyi baskılamakla beraber asidifikasyon riskini artırdığı raporlanmıştır. Şekil, optimum süreç performansı elde etmek ve stabiliteyi korumak amacıyla OLR'nin orta seviyelerde tutulmasının önemini kavramsal olarak ortaya koymaktadır.

5.4. Anaerobik Sindirimde Hidrolik Bekleme Süresinin (HRT) Metan Verimi Üzerindeki Etkisi

HRT, sisteme giren substratların reaktörde geçirdiği ortalama süre olarak tanımlanmaktadır ve AS süreçlerinin performansının belirlenmesinde önemli bir operasyonel parametredir. HRT organik maddelerin parçalanma düzeyini, mikrobiyal aktivitenin seviyesini ve metan üretim verimiyle beraber sistemin stabilitesini doğrudan etkiler.

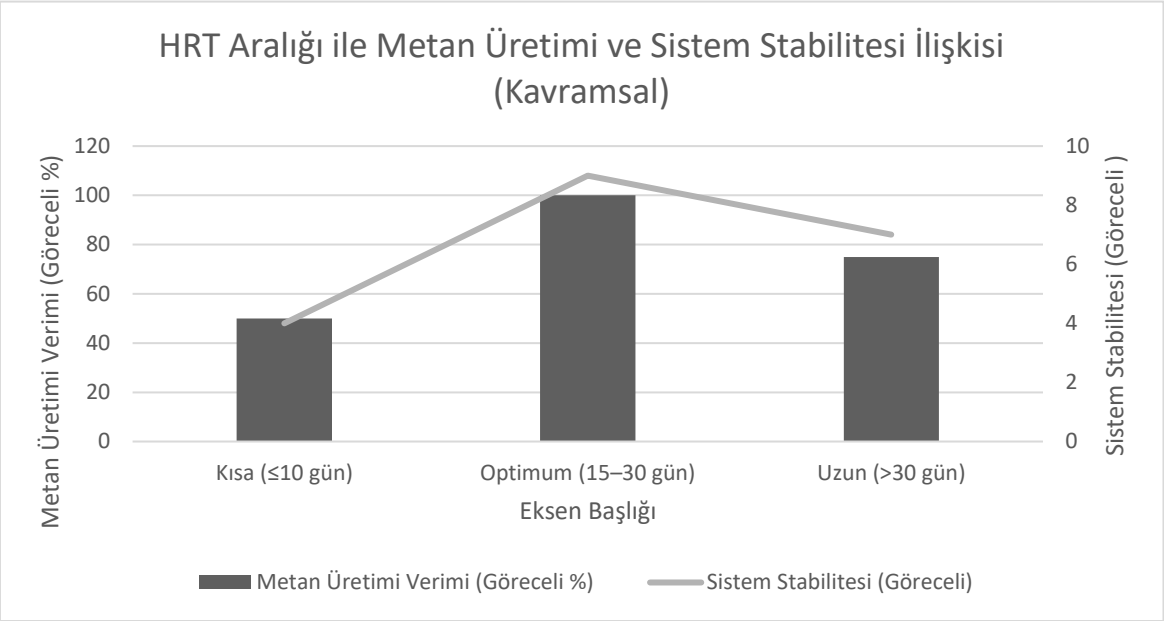
Yapılan birçok çalışmada, HRT'nin 15-30 gün arasında tutulmasının özellikle mezofilik koşullar altında metan üretimi için en uygun aralık olduğunu gösterilmiştir. Optimal HRT süreleri, substratların mikroorganizmalar tarafından efektif bir şekilde parçalanmasını ve sistem performansının stabil olmasını sağlarken, HRT'nin aşırı kısa olduğu durumlarda sistemde var olan mikroorganizmalar reaktörden yıkanarak uzaklaşabilir (wash out) ve VFA birikimi görülebilir. Bunun yanı sıra, HRT'nin aşırı kısa olduğu durumlarda substratların tam olarak parçalanamadan reaktörden atılması riski de söz konusudur, bu da süreç sonunda üretilecek biyogaz veriminde düşüşe sebep olabilmektedir (Ibro ve diğerleri, 2022). Bu da sürecin dengesiz olmasına ve kararlılığın azalmasına neden olabilir. Wu ve diğerleri (2018), çalışmalarında kısa 10 günden kısa HRT sürelerinin AS sistemlerinde reaktör stabilitesini olumsuz yönde etkilediği, performansın düşmesine sebep olduğu ve metan üretiminin ciddi şekilde azalmasına neden olduğunu raporlamışlardır. Bunu da mikrobiyal topluluğun yeterli büyüme ve çoğalma zamanı bulamaması ile ilişkilendirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarından da anlaşılacağı üzere, AS sistemlerinde optimum HRT'nin belirlenmesi, biyogaz veriminin artırılması ve sistem kararlılığının sağlanması için önemli bir operasyonel gerekliliktir. Qin ve diğerleri (2024), iki kademeli bir AS sisteminde yürüttükleri çalışmalarında, HRT 30 günden 10 güne düşürüldüğünde metan üretiminde belirgin bir düşüş ve AS sisteminde kararsızlık oluştuğunu raporlamıştır. Metan üretiminde gözlemlenen bu düşüş ve sistem kararsızlığı metanojenler de dahil olmak üzere kritik mikrobiyal türlerin reaktörden yıkanarak uzaklaşması ve VFA birikmesiyle açıklanmıştır.

HRT'nin 30 gün ve üzerinde olması substrat ayrışması ve mikrobiyal topluluklara büyüme ve çoğalma için süre vermesi açısından faydalı gibi görünse de çalışmalar bu noktadan sonra sistem performansının olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir. Ramadhani ve diğerleri (2021), HRT 30 gün ve üzerinde olduğunda kolayca metabolize edilebilen substratların zamanla tükenmesi ve yavaş bozunan fraksiyonların sistemde baskın hale gelmesi sebebiyle metan üretimi veriminde düşüş olduğunu raporlamıştır. Buna ek olarak HRT sürelerinin uzun tutulması daha büyük reaktör hacmi gerektirdiğinden sermaye ve işletme maliyetleri de optimum HRT sürelerine kıyasla daha fazla olmaktadır. Wang ve arkadaşlarının yürüttüğü çalışmadaki bulgulara benzer şekilde, Siddique ve diğerleri (2018), HRT aşırı uzun olduğunda senesans (mikrobiyal popülasyonlarda yaşlanma) ve biyokütle kaybının gözlemlenebileceğini, bunun da metan üretiminde kritik öneme sahip olan metanojenik arkelerin sayısının ve veriminin azalmasına sebep olduğunu ifade etmiştir.

Qin ve diğerleri (2024), HRT 20 gün ve civarında olduğunda sistem stabilitesinin zirveye ulaştığını ve bu HRT aralıklarında mikrobiyal popülasyonların asidojenik ve metanojenik aşamalar arasında dengeli bir şekilde çalıştığını vurgulamıştır. Buna karşılık, HRT optimum aralıktan daha kısa ya da daha uzun olduğunda süreçte dengesizlikler ve performans düşüşü gözlemlenmektedir.

Sonuç olarak, HRT sürelerinin kısa olması reaktör hacminin daha küçük tutulabilmesi açısından avantajlı olsa da mikrobiyal toplulukların yıkanması ve sistem kararsızlığı gibi riskleri barındırmaktadır. Bu durum Qin ve diğerleri (2024) tarafından hem tam ölçekli hem de laboratuvar ölçekli sistemlerde yapılan çalışmalarda raporlanmıştır. HRT süreleri uzun olduğunda ise sistem kararlılığı biraz daha artsa da Ramadhani ve diğerleri (2021)'in bulgularına göre belli bir süre aşıldıktan sonra metan üretimi verimliliği düşmekte ve maliyetler artmaktadır. Buna ek olarak, Siddique ve diğerleri (2018), uzun süreli HRT'lerin mikrobiyal aktivitede düşüşe neden olduğunu özellikle vurgulamıştır. Bi ve diğerleri (2020) tarafından yapılan çalışmada da HRT'nin mezofilik AS sistemlerinde 15–25 gün aralığında

tutulmasının mikrobiyal aktivite, metan üretim verimi ve maliyet açısından optimum koşulları oluşturduğu bildirilmiştir.



Şekil 5.4. HRT aralığı ile metan üretimi ve sistem stabilitesi ilişkisi (kavramsal)

Şekil 5.4 HRT ile metan üretimi ve sistem stabilitesi arasındaki kavramsal ilişkiyi göstermektedir. Metan üretimi verimi ve sistem stabilitesi 15-30 gün aralığında maksimum seviyeye ulaşmakta olup bu durum, Bi ve diğerleri (2020) ile Qin ve diğerleri (2024) tarafından yapılan çalışmalarla da desteklenmektedir. Bu araştırmalarda 15-30 gün aralığında mikrobiyal popülasyonların aktivitesinin optimum düzeyde olduğu ve sistemin dengeli çalıştığı bildirilmiştir.

HRT aralığı 10 gün ve aşağısında olduğunda substratların tam olarak metabolize edilememesi ve özellikle metanojenik grupların washout sonucu sistem dışına atılması sebebiyle metan üretimi ciddi şekilde azalmakta ve sistem stabilitesi bozulmaktadır (Gao ve diğerleri 2024; Qin ve diğerleri, 2024). Kısa HRT koşullarında görülen verimde azalma ve sistem stabilitesi kararsızlığı Gao ve diğerleri (2024) tarafından yapılan çalışmada bu koşulların VFA birikimine neden olabileceğini ve sürecin kararsızlaşmasının temel sebeplerinden biri olduğunu ileri sürmüştür.

Öte yandan, HRT'nin 30 günün üzerine çıkarılması, substrat metabolizasyonunda bir iyileşme sağlasa da kolayca metabolize olabilen fraksiyonların belli bir süreden sonra tükenmesi nedeniyle metan üretim veriminde düşüşe ve maliyetlerin artmasına yol açmaktadır (Siddique ve diğerleri, 2018; Ramadhani ve diğerleri, 2021). Ayrıca, Siddique ve diğerleri (2018), aşırı uzun tutulan HRT aralıklarında senesans görüldüğünü ve bu durumun metanojenik arke popülasyonlarının azalmasına sebep olarak süreç verimliliğini olumsuz etkilediğini ifade etmiştir.

Genel olarak, Şekil 6, HRT'nin mikrobiyal denge, substrat mevcudiyeti ve metan üretim verimliliği açısından önemli olduğunu göstermektedir. HRT 15–30 gün aralığında olduğunda yüksek biyogaz verimi ve kararlı bir sistem için optimal koşullar oluşmaktadır.

Çizelge 5.2. Sıcaklık, pH, OLR ve HRT parametrelerinin mezofilik, termofilik, tek fazlı ve iki fazlı AS sistemlerinde metan üretimi ve süreç stabilitesi üzerindeki etkileri

Parametre	Mezofilik Sistemler	Termofilik Sistemler	İki Fazlı Sistemler	Tek Fazlı Sistemler
Sıcaklık	Orta düzeyde metan verimi; çevresel dalgalanmalara karşı dayanıklı, daha çeşitli mikrobiyal yapı gelişir.	Yüksek metan verimi; metabolik hız artışı, sıcaklık dalgalanmalarına ve amonyak inhibisyonuna hassas.	Her faz için optimize sıcaklık seçimi süreç verimliliğini artırabilir.	Tüm süreç tek sıcaklıkta ilerler; sıcaklık değişimlerine karşı daha hassas olabilir.
pH	Nötr pH (6,8–7,5) aralığında stabil metan verimi; iyi tamponlama kapasitesi gerekli.	pH dengede tutulduğunda yüksek verim; düşük pH'da inhibisyon riski yüksek.	Asidogenezin hafif asidik, metanogenezin nötr/alkali pH aralığında optimize edilmesi süreç stabilitesini artırır.	Asidik koşullarda pH dalgalanmalarına açık; stabilite azalabilir.
Organik Yükleme Oranı	Orta seviyede (1.5–3,0 kg VS/m³/gün) OLR optimumdur; aşırı yüklenme asidifikasyon riski taşır.	Daha yüksek OLR'ler desteklenebilir; aşırı yüklemede asidifikasyon ve LCFA birikimi riski vardır.	Dengeli mikrobiyal etkileşim sayesinde OLR dalgalanmalarına karşı daha yüksek tolerans sağlar.	Yüksek OLR'de asidifikasyon riski ve verim düşüşü oluşabilir.
Hidrolik Bekleme Süresi	15–30 gün arası HRT optimum; mikrobiyal adaptasyon ve metan verimi artar.	Ön işlem görmüş substratlarla daha kısa HRT etkili olabilir; substrat sindirimi izlenmelidir.	Her faz için farklı HRT uygulanabilir; asidogenez kısa, metanogenez uzun HRT gerektirir.	HRT, aşırı yüklenmeyi önlemek ve mikrobiyal kayıpları azaltmak için optimize edilmelidir.

Çizelge 5.2, sıcaklık, pH, organik yükleme oranı ve hidrolik bekleme süresi gibi temel operasyonel parametrelerin, mezofilik, termofilik, tek fazlı ve iki fazlı AS sistemlerinde metan üretimi ve süreç stabilitesi üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı olarak özetlemektedir. Mezofilik sistemler, çevresel dalgalanmalara karşı daha dirençli olmalarına rağmen, metan verimi açısından stabil fakat düşük verimli sonuçlar sunmaktadır (Kainthola ve diğerleri, 2019; Zhang ve diğerleri, 2019). Buna karşın, termofilik sistemler mikroorganizmaların metabolik hızlarını iyileştirerek daha yüksek metan üretim verimi sağlamaktadır, ancak ±2°C gibi küçük sıcaklık sapmaları bile olsa mikrobiyal dengenin bozulması ve süreç kararsızlığı riski taşımaktadır. Bununla birlikte bu sistemlerde amonyak inhibisyonu ve asidifikasyon gibi süreci olumsuz etkileyen durumlara daha sık rastlanmaktadır (Siddique ve diğerleri, 2018).

pH söz konusu olduğunda metanojenik arkelerin, pH 6,8–7,5 performanslarının maksimum düzeyde olduğu, bu aralığın dışına çıkıldığında ise inhibisyon riskinin arttığı ve VFA birikiminin süreci olumsuz etkilediği görülmektedir (Kondusamy ve diğerleri, 2014). Tek fazlı sistemlerde asidojenez ve metanojenez aşamaları aynı reaktörde gerçekleştiği için pH kontrolü daha zor olmasına rağmen, iki fazlı sistemlerde her faz ayrı bir reaktörde gerçekleştiği için bu reaktörlerde yer alan mikroorganizmalara göre pH optimizasyonu yapılabilmektedir. Bu da süreç stabilitesini ve metan üretimini artırmaktadır (Rabii ve diğerleri, 2019)

OLR substrat konsantrasyonu ve mikrobiyal stres arasındaki dengenin korunması için önemli olup, mezofilik sistemlerde optimum metan üretim verimi OLR orta seviyede (1.5–3,0 kg VS/m³/gün) tutulduğunda sağlanmaktadır (Rabii ve diğerleri, 2019; Siddique ve diğerleri, 2018). Daha yüksek OLR'ler termofilik sistemler tarafından tolere edilebilse de substrat kompozisyonu sistem stabilitesi için belirleyici olmaktadır. Bu kompozisyona bağlı olarak asidifikasyon ve LCFA birikimi olabilmektedir (Zhang ve diğerleri, 2023). İki fazlı sistemlerde dengeli mikrobiyal etkileşim sayesinde OLR dalgalanmaları daha iyi tolere

edilebilmektedir, bu da süreç performansının daha yüksek olmasını sağlamaktadır (Rabii ve diğerleri, 2019).

HRT, substratların sindirimi ve mikrobiyal popülasyonların adaptasyonu için kritik bir parametredir. Mezofilik koşullarda 15–30 gün aralığında tutulan HRT süreleri, mikrobiyal büyümeyi ve stabiliteyi destekleyerek metan verimini artırmakta, ancak çok 10 gün veya daha kısa HRT süreleri mikroorganizmaların reaktörden yıkanarak uzaklaştırılması ve substratların tam sindirilmeden dışarı atılması riskini doğurmaktadır (Siddique ve diğerleri, 2018; Kainthola ve diğerleri 2019; Ibro ve diğerleri, 2022). Termofilik sistemlerde, mikrobiyal toplulukların metabolizma hızı daha yüksek olduğu için kısa HRT süreleri de tolere edilebilir fakat proses daha hassas bir şekilde izlenmelidir (Siddique ve diğerleri, 2018). İki fazlı sistemlerde ise, asidojenik aşamada kısa HRT süresi VFA birikimine sebep olurken, metanojenik fazda HRT süresi daha uzun tutularak süreç stabilitesi sağlanabilmekte ve genel verim artırılabilmektedir (Rabii ve diğerleri, 2019; Kondusamy ve diğerleri (2014).

6. ANAEROBİK SİNDİRİM SİSTEMLERİNDE OPTİMİZASYON STRATEJİLERİ

AS sistemlerinin verimliliği; birlikte sindirim (co-digestion), operasyonel parametrelerinin sıkı kontrolü, reaktör tasarımlarının iyileştirilmesi ve substratların ön işlemleri gibi çeşitli optimizasyon stratejileriyle iyileştirilebilir. Bu stratejilerin amacı, metan üretim veriminin artırılması, süreç performansını stabilizasyonu ve toksik bileşikler ya da çevresel dalgalanmalar nedeniyle görülebilecek inhibisyonların azaltılmasıdır.

Birlikte sindirim stratejisi, birden fazla organik substratın eşzamanlı olarak çürütülmesiyle gerçekleştirilen ve en yaygın uygulanan yöntemlerden biridir. Jiang ve diğerleri (2024), gıda atıklarının ve tavuk gübresinin beraber sindirimini inceledikleri çalışmalarında, besin dengesi ve azot toksisitesinin bu sayede azalması sayesinde metan verimini %30'a kadar arttığını raporlamıştır. Qin ve diğerleri (2024), yem kompozisyonu çeşitlendirildiğinde mikrobiyal aktivitenin hızlandığını ve özellikle HRT'nin de optimize edildiği şartlarda daha etkili sonuçların görüldüğünü bildirmiştir. Benzer şekilde, Tariq ve diğerleri (2024), tarımsal atıklarla gerçekleştirilen birlikte sindirimin, mikroorganizmaların büyümesini desteklediğini ve bunun da substratların biyobozunma hızını artırdığını ve amonyak inhibisyonunu azalttığını göstermiştir. Buna karşılık, tekli sindirim (mono-digestion) uygulandığında genellikle metan üretim veriminin daha düşük olduğu ve substrat kompozisyonu ve OLR dalgalanmalarının sistemi daha fazla etkilediği gözlemlenmiştir.

Zhang ve diğerleri (2024), iki fazlı sistemlerde ön işlem manyetik alan temelli bir sistemle yapıldığında metan üretiminin %40 oranında arttığını gözlemlemiştir. Ahmad ve diğerleri (2024), kontrol sistemleri makine öğrenmesi ile desteklendiğinde katı madde oranı ve birlikte sindirim oranları gibi parametrelerin daha kolay optimize edilerek biyogaz üretiminin artmasına katkı sağladığını raporlamıştır. Diğer yandan, Mutungwazi ve diğerleri (2021) ile Karki ve diğerleri (2021), UASB reaktörlerinde, mikrobiyal popülasyonların

sisteme tutunma oranlarının ve organik maddelerinin sindiriminin arttığını ve bu durumun özellikle yüksek konsantrasyonlu atık suların arıtımında etkili olduğunu vurgulamıştır.
Ön işlem stratejilerilerinin asıl amacı aslında sisteme giren substratların sistemde var olan mikrobiyal topluluklar tarafından kullanılabilirliğini yani substratın biyoyararlılığını artırmak ve mikrobiyal aktiviteyi iyileştirmektir. Solé-Bundó ve diğerleri (2019), yürüttükleri çalışmada substratların 180°C'de termal hidrolizi ardından metan üretim veriminin %50'ye kadar arttığını; termo-kimyasal kombinasyonlar uygulandığında ise organik maddelerin daha efektif bir şekilde çözündüğünü ve kullanılabilirliklerin arttığını bildirmiştir.

Optimizasyon stratejilerine yukarıda belirtilen stratejilere ek olarak AS sistemlerinin operasyonel parametrelerin optimizasyonu da eklenebilir. Çünkü bu parametrelerin optimizasyonu metan üretim verimi artışı ve süreç stabilizasyonunu doğrudan etkiler. Bu açıdan, pH'ın kontrolü sisteme giren substratların mikroorganizmalar tarafından kullanılabilirliğini ve dengeli bir mikrobiyal aktivitenin devamlılığını sağlamak için önemlidir. PH optimizasyonu için kimyasal tamponlama yöntemleri yayın olarak kullanılmaktadır. Ancak, Lindner ve diğerleri (2015), tarafından yürütülen çalışmada bazı kimyasal tamponlayıcıların biyogaz üretimini olumsuz yönde etkileyebileceği göz önünde bulundurularak, pH kontrolü ve optimizasyonu için kimyasal tamponlama yerine sistem içi sıvı transferine dayanan bir yöntem önerilmiştir. Öte yandan, Kainthola ve diğerleri (2019), pH düşüşünün önlenmesi için sisteme kalsiyum bazlı tamponlama ajanlarının eklenebileceğini ve bu sayede süreç inhibisyonunun önlenebileceğini ifade etmiştir.

Sistemde yer alan mikrobiyal konsorsiyumun optimizasyonu da AS süreçlerinin verimliliğini ve performansını artırmak için en az operasyonel parametrelerin kontrolü ve optimizasyonu kadar önemlidir. Bu nedenle, AS sistemlerinde yer alan mikrobiyal toplulukları hedefleyen müdahaleler de önem kazanmıştır.
Mikrobiyal zenginleştirme (augmented inoculation) stratejisi, bu kapsamda potansiyeli yüksek bir yaklaşımdır. Zielińska ve Cydzik-Kwiatkowska (2024), *Syntrophomonas* ve

Methanosarcina gibi özel mikrobiyal grupların AS sistemine eklenmesinin sentrofik etkileşimleri iyileştirerek metan üretim verimini artırdığını belirtmiştir. Bu mikrobiyal grupların eklenmesi üstlendikleri işlevsel rollerden dolayı önemlidir çünkü *Syntrophomonas* sentrofik bir bakteri grubudur ve VFA'ları (özellikle propiyonat ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerini) tek başına parçalayamaz, bu sebeple hidrojen tüketici bir mikroorganizma ile sentrofik ilişki kurması gereklidir. Bu organizmalara örnek olarak *Methanobacterium* veya *Methanosarcina* verilebilir. Özellikle *Methanosarcina* esnek bir metabolizmaya sahip olmasıyla öne çıkar ve asetoklastik yollarla asetatı metabolize ederek metan üretebilir, bununla beraber hidrojenotrofik yollarla hidrojen ve karbondioksiti kullanarak da metan üretebilir. *Methanobacterium* veya *Methanosarcina'*nın AS prosesine beraber eklenmesi hem prosesin stabilitesini artırır hem de kesintisiz metan üretimi açısından avantaj sağlar. Bu strateji her ne kadar metan üretim verimliliği üzerinde pozitif etkiye sahip olsa da belirli mikrobiyal grupların sisteme eklenmesi sürecin performansının artırılması için tek başına yeterli değildir. Bununla birlikte mikrobiyal popülasyonların dinamik yapısının devamlı izlenmesi ve optimizasyon stratejisi olarak gereken durumlarda ilgili müdahalelerin yapılması da sürecin devamlılığı için önemlidir. Bu kapsamda, Guo ve diğerleri (2019), tarafından yapılan çalışma, mikrobiyal topluluk dinamiklerinin ve zaman içindeki değişimlerin metagenomik analizlerle gerçek zamanlı olarak izlenmesine olanak tanımış ve AS süreci sırasında stres faktörü olabilecek dalgalanmalarının erken tespit edilmesini sağlamıştır.

Mikrobiyal popülasyonların optimizasyonu ve gerçek zamanlı izlenmesi, AS sürecinin biyolojik açıdan geliştirilmesi için kritik olsa de biyoteknolojik daha büyük ölçekli sistemlerde de bu iyileştirmelerin efektif bir şekilde uygulanabilmesi ve süreç verimliliğinin sürdürülebilir olarak sağlanabilmesi için, biyolojik geliştirme stratejilerinin hem dijital hem de biyoteknolojik yöntemlerle desteklenmesi gerekmektedir. Bunun sağlanabilmesi için, ileri biyoteknolojik sistemlerin, dijital izleme teknolojilerinin ve veri analitiğinin düzenli yapıldığı bütünleşmiş sistemler optimizasyonun sağlanması için geliştirilmektedir. Newhart ve diğerleri (2019) ile Jeong ve diğerleri (2021), yürüttükleri çalışmalarda gerçek zamanlı

izleme sistemleri ve makine öğrenimi algoritmaları kullanıldığında süreç verimliliğinin arttığını, operasyonel dalgalanmalara daha kolay müdahale edilebildiğini ve etkisinin daha az olduğunu, bununla beraber maliyetlerin genel çerçevede azaldığını bildirmiştir. Zhang ve diğerleri (2018) ise, türler arası elektron transferi ve biyoelektrokimyasal sistemlerle desteklenen AS sistemlerinin organik madde bozunumu açısından daha verimli olduğunu ve bu hibrid sistemlerin endüstriyel ölçekli AS sistemleri için de uygulanabileceğini belirtmiştir.

Sonuç olarak, AS prosesinin optimizasyonu için birlikte sindirim yöntemleri, operasyonel parametrelerin izlenmesi ve kontrolü, mikrobiyal toplulukların performansının iyileştirilmesi için genetik mühendislik yaklaşımları, ön işlem teknolojilerinin entegrasyonu ve dijital olarak sürecin yönetimi ve bu yöntemlerin hibrit olarak uygulanması kritik role sahiptir. Optimizasyon stratejileri AS süreçlerine entegre edildiğinde, sistem kararlılığı daha uzun süreli olmakta, enerji verimliliği ve metan üretim verimi de artmaktadır.

Geliştirilen bu stratejilerin daha bütünsel bir şekilde entegre edilmesi ve eksik kalınan alanlarda yeni stratejilerin öne sürülmesi sayesinde, AS süreçleri atıktan enerji üretimi alanında küresel ölçekte daha ölçeklenebilir, ekonomik ve sürdürülebilir bir çözüm haline gelmektedir. Gelecekte ise, kontrol sistemlerinin yapay zekâ tabanlı hale gelmesi, mikrobiyal mühendislik tekniklerinin geliştirilmesi ve hibrit reaktör tasarımlarının daha geniş bir ölçekte uygulanmaya başlanmasıyla, AS sistemlerinin hem verimliliği hem de esnekliği daha da artırılacaktır. Böylelikle, AS teknolojileri atık yönetiminin efektif bir şekilde sağlanması, karbon ayak izinin azaltılması ve iklim kriziyle mücadelede de daha geniş kapsamlı ve kritik bir rol üstlenecektir. Özellikle oluşan metan emisyonlarının kontrol altına alınması ve yenilenebilir enerji üretimine kanalize edilmesi ile, sera gazı birikiminin azaltılmasına doğrudan katkı sağlanarak küresel iklim hedeflerine ulaşılması açısından önemli bir teknoloji haline gelecektir.

7. ANAEROBİK ÇÜRÜTÜCÜLERDE MİKROBİYAL TOPLULUKLAR

AS, kompleks organik maddelerin mikrobiyal topluluklar tarafından metabolize edilerek biyogazın ve özellikle metanın üretildiği birbirini takip eden aşamalardan oluşan çok aşamalı bir süreç olup, bu süreç, bakteriler, arkeler, mantarlar ve protozoonlar gibi çeşitli mikrobiyal popülasyonların iş birliğine ve koordineli faaliyetlerine dayanır. Her bir mikrobiyal grubun AS sürecinin belirli biyokimyasal adımlarında kendilerine has rolleri bulunmaktadır ve sürecin stabilitesi ve devamlılığı için kritik öneme sahiptirler.

7.1. Bakteriyel Topluluklar: Hidroliz ve Asidojenez Aşamalarında Dominant Gruplar

AS sürecinde, bakteriyel topluluklar hidroliz ve asidojenez aşamalarının biyokimyasal reaksiyonlarını yürütür. *Firmicutes, Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* gibi filumlar, makromolekülleri (proteinler, karbonhidratlar, lipidler) daha basit monomerik formlara ayıran ekstraselüler enzimleri üretebildikleri için bu aşamalar için kritik öneme sahiptir. Özellikle *Firmicutes* filumunun altında yer alan türler, bütirik ve asetik asit üretimi için önemli ve özgün oldukları için hem hidroliz hem de asidojenez aşamalarında etkin rol alırlar (Solli ve diğerleri, 2014; Hassa ve diğerleri, 2018). *Bacteroidetes* filumu altında yer alan türler ise, karbonhidratların parçalanması açısından önemlidir ve besi ortamı değişikliklerine, yani substrat dalgalanmalarına ve çeşitliliğine yüksek adaptasyon yeteneğine sahiptir (Zhang ve diğerleri, 2019). Bakteriyel türlerin çeşitliliği ve sayısı pH, sıcaklık ve substrat tipi gibi operasyonel parametrelere bağlı olarak farklılık gösterebilir (Solli ve diğerleri, 2014).

7.2. Arkeal Topluluklar: Metanojenez Aşamasında Kritik Role Sahipler

AS'nin son aşaması olan metanojenez arkeler tarafından gerçekleştirilir. Bu aşamada, metan üretimi VFA'ların, hidrojenin ve karbondioksitin substrat olarak kullanılması sonucu

gerçekleşir. Daha önceki bölümlerde de bahsedildiği gibi metanojenik arkeler, metabolik yollarına göre asetoklastik ve hidrojenotrofik olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Asetoklastik metanojenler arasında yer alan *Methanosaeta*, asetat konsantrasyonları düşükken yüksek performans göstererek metan üretimini sürdürürken, *Methanosarcina* türleri hem asetatı hem de hidrojeni substrat olarak kullanabilir ve değişken çevre koşullarına karşı daha toleranslıdırlar ve AS'nin stres koşulları altında devamlılığı için önemlidirler (Hassa ve diğerleri, 2018). Öte yandan, sistemde yüksek amonyak konsantrasyonları görüldüğünde, hidrojenotrofik metanojenler, özellikle *Methanobacterium* türleri, sistemde baskın hale gelmektedir. Bu durum, Ziganshin ve diğerleri (2013) ile Noguera-Oviedo ve Aga (2016) tarafından yapılan çalışmalarda doğrulanmış ve yüksek amonyak konsantrasyonlarının hidrojenotrofik metanojenlerin baskınlığı üzerindeki belirleyici rolü detaylı şekilde raporlanmıştır. Bununla beraber, Wang ve diğerleri (2018) tarafından yapılan çalışmalarda bildirildiği üzere, işletme koşullarındaki değişiklikler ve şartlardaki dalgalanmalar genel mikrobiyal topluluk yapısının evriminde ve görülen türler arası kaymalarda (shifts) önemli bir faktördür.

7.3. Mantarlar ve Protozoonlar: Destekleyici Mikroorganizmalar

Düşük yoğunlukta bulunmalarına rağmen, mantarlar ve protozoonlar AS sistemlerinde sürecin devamlılığı için önemli destekleyici roller üstlenmektedir. *Neocallimastigomycota* filumuna ait anaerobik mantarlar, sisteme giren lignosellüzozik yapıların parçalanmasında selülaz ve ligninaz gibi enzimler salgıladıkları için kritik öneme sahiptirler. Bu yapıların parçalanması bakteriyel topluluklar için substratların erişilebilirliğini artırmaktadır (Solli ve diğerleri, 2014). Bu duruma ek olarak, protozoonların temel besin maddesi bakteriler olduğu için, bakterilerin tüketilmesi vesilesiyle AS sistemleri içerisindeki mikrobiyal popülasyonların aşırı büyümesinin önüne geçilmesi ve bu şekilde sistem stabilitesinin devamlılığının sağlanması için sistemde protozoonların bulunması önemlidir (Hassa ve diğerleri, 2018).

7.4. Sentrofik Etkileşimler ve Türler Arası Elektron Transferi

AS sistemlerinde bulunan mikrobiyal popülasyonlar arasındaki sentrofik ilişkiler, sürecin verimliliği açısından temel bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. *Bacteroides* türleri hidroliz aşamasında kompleks organik substratları monomeric formlarına ayrıştırmakta, ardından *Clostridium* türleri bu basit bileşikleri VFA'lara dönüştürmektedir. Prosesin sonraki aşamalarında *Syntrophomonas* gibi asetojenik bakteriler, oluşan VFA'lardan asetat ve hidrojen gibi son ürünler üreterek metanojenlerin metan üretimi sırasında kullanacağı substratları sağlamaktadır. Asetat ve hidrojen *Methanosarcina* gibi metanojenik arkeler tarafından metabolize edilir ve son ürün olarak metan gazı üretilir. Bununla birlikte, DIET ve MIET gibi türler arası elektron transfer mekanizmaları da AS sürecinin performansını ve sistem verimliliğini artırmaktadır. Buna örnek olarak, *Geobacter* gibi elektriği iletebilen bakteriler aracılığıyla gerçekleşen DIET ve *Clostridium* gibi asetojenlerin hidrojen veya format salınımı yoluyla sağladığı MIET mekanizmalarının metanojenesis aşamasına katkı sağladığı gösterilmiştir (Qin ve diğerleri, 2024; Chen ve diğerleri, 2014).

7.5. İşletme Koşullarının Mikrobiyal Topluluk Dinamiklerine Etkisi

AS sistemlerinde mikrobiyal topluluk yapısı ve süreç verimliliği çevresel işletme koşullarından doğrudan etkilenmektedir. Ziganshin ve diğerleri (2013) ile Noguera-Oviedo ve Aga (2016), yürüttükleri çalışmalarda yüksek amonyak seviyelerinin özellikle *Methanobacterium* gibi hidrojenotrofik metanojenlerin mikrobiyal konsorsiyum içerisinde baskın hale gelmesine neden olduğunu raporlamıştır. Yüksek amonyak konsantrasyonlarının mikrobiyal dinamikler üzerindeki belirgin etkisi bu çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalar ayrıca, AS süreçlerinde metan üretiminin sürekliliği için hidrojenotrofik metanojenlerin adaptif oluşunun önemini ortaya koymuştur. Yapılan diğer çalışmalar ise pH, sıcaklık ve substrat tipi gibi parametrelerdeki değişimlerin, mikrobiyal çeşitliliği ve süreç performansını önemli ölçüde etkilediğini vurgulamıştır (Solli ve diğerleri, 2014).

Yukarıdaki parametrelere ek olarak DO seviyeleri de mikrobiyal toplulukların kompozisyonu ve işlevselliği üzerinde belirleyici bir faktör olarak öne çıkmaktadır. Yadav ve diğerleri (2014), orta düzeyde olan DO konsantrasyonlarının bakteri tür çeşitliliğini artırarak sentrofik etkileşimleri desteklediğini bildirmiştir. Benzer şekilde, Guo ve diğerleri (2009) da yürüttükleri çalışmada DO seviyeleri dikkatli bir şekilde optimize edildiğinde mikrobiyal topluluklar arasında denge durumunun oluştuğunu ve böylece sistemde stabil metan üretiminin sürdürülebildiğini göstermiştir.

7.6. Modern Moleküler Yaklaşımlarla Mikrobiyal Toplulukların İncelenmesi

Metagenomik, metatranskriptomik ve metaproteomik gibi moleküler biyoloji tekniklerinin geliştirilmesi AS sistemlerindeki mikrobiyal toplulukların yapısal ve işlevsel dinamiklerinin daha iyi anlaşılmasını ve tür tayininin yapılarak daha spesifik müdahalelerin mümkün hale getirilmesini sağlamaktadır. Özellikle 16S rRNA sekanslaması ve genom temelli analizler AS sistemlerinde yer alan mikrobiyal toplulukların tür tayininin yapılmasına olanak tanım ve yapılan çalışmalar sonucunda *Methanosarcina* ve *Methanosaeta* gibi metanojenik türlerin bu süre.te kritik rol oynadığını ve işlevsellik analizleri de oynadıkları rollerin öneminini göstermiştir. Hassa ve diğerleri (2018), yürüttükleri çalışmada *Methanosarcina*'nın dalgalanma gösteren OLR ve yüksek amonyak konsantrasyonları gibi stres koşulları altında kümelenme davranışı göstererek metanojenik aktiviteyi sürdürebildiğini vurgulamıştır. Buna ek olarak, *Methanosaeta* türlerinin, asetata karşı yüksek afinite göstermeleri sayesinde düşük asetat konsantrasyonlarında dahi sistemde daha baskın hale geldikleri ve metan üretimini sürdürdükleri gösterilmiştir (Venkiteshwaran ve diğerleri, 2015). Mikrobiyal toplulukların ileri analizi aynı zamanda bu popülasyonların yapısının optimizasyonunun yapılabilmesi için de büyük bir potansiyel sunmaktadır. Rajendran ve diğerleri (2020), iki kademeli reaktör sistemlerinde yürüttükleri çalışmaların sonucunda mikrobiyal topluluk yapısının düzenlenmesinin bu toplulukların metabolik aktivitesini artırdığını ve AS sürecinin stabilitesini artırdığını göstermiştir. Ayrıca Zhang ve diğerleri (2019), MG-RAST

ve MetaVelvet gibi biyoinformatik araçları kullanarak sistemdeki mikrobiyal çeşitliliği ve işlevsel genlerin örüntülerinin detaylı şekilde analiz edilebileceğini ve bu analizlerin metan verimiyle doğrudan ilişkilendirilebildiğini belirtmiştir.

7.7. İleri Arıtım Teknolojilerinin Mikrobiyal Stabilite Üzerine Etkileri

Arıtım teknolojilerinde gerçekleşen ileri düzey ilerlemeler de AS sistemlerinde mikrobiyal dengeyi iyileştirerek süreç stabilitesine katkı sağlamaktadır. Lu ve diğerleri (2015), oksidasyon kanallarının kullanımı ve manyetik reçine filtrasyonu gibi ileri arıtım stratejilerinin hibrit kullanıldığı sistemlerde patojen bakterilerin %99 oranında elimine edildiğini göstermiştir. Bu durum, AS süreci için yararlı olan mikrobiyal popülasyonların korunmasına katkı sağlamakta ve bu konsorsiyumların hem kendi aralarında hem de tek başlarına sistem içerisinde daha istikrarlı bir şekilde faaliyet göstermesine olanak tanımaktadır.

Benzer şekilde Wang ve diğerleri (2014), ileri arıtım sistemlerinde çözünmüş oksijen seviyeleri ve amonyak konsantrasyonları optimize edildiğinde mikrobiyal çeşitliliğin korunabildiğini ve AS performansının daha sürdürülebilir olduğunu raporlamıştır. Bu bulgular beraber değerlendirildiğinde, ileri arıtım yöntemlerinin kirleticilerin gideriminin yanı sıra, AS sırasında mikrobiyal aktivitenin desteklenmesi ve sistem stabilitesinin sağlanması açısından da stratejik bir öneme sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

7.8. Çıkarımlar ve Değerlendirme

AS sistemlerindeki mikrobiyal toplulukların tür çeşitliliği, bu konsorsiyumların işlevselliği ve birbirleriyle etkileşimleri, süreç performansını, metan üretim verimini ve uzun vadeli sistem stabilitesini önemli ölçüde etkilemektedir. AS süreçleri boyunca farklı evrelerde bakteriler, arkeler, mantarlar ve prozoonlar kritik rol oynamaktadır. Bununla beraber bu

mikrobiyal gruplar arasındaki iş birliği sistemdeki substratların efektif bir şekilde metabolize edilmesini ve metan üretimine kadar gerçekleşen biyokimyasal aşamaların etkinliğini belirlemektedir.

Bu sonuçlara dayanarak, AS sisteminin sürdürülebilirliğinin ve genel performansının sadece biyokimyasal reaksiyonlarla belirlenmediği, aynı zamanda sistemde var olan mikrobiyal konsorsiyumlar arasındaki karmaşık etkileşimlerle ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Mikrobiyal tür çeşitliliğinin geniş bir yelpazede korunabilmesi ve konsorsiyum organizasyonunun sürdürülebilir ve efektif bir şekilde beslenmesi, sistemin enerji verimliliğini artıracak ve çevresel koşulların değişimine karşı toleransını artıracaktır.

Amonyak konsantrasyonu ve çözünmüş oksijen seviyeleri gibi çevresel işletme koşulları, mikrobiyal popülasyonların yapısının şekillenmesinde önemli bir role sahiptir. İşletme parametrelerinin yakından takibi ve hedefli optimizasyonunun yapılması metanojenik aktivitenin kesintisiz bir şekilde devam etmesine ve süreç performansının optimum düzeyde tutulmasına katkı sağlamaktadır.

Bununla birlikte, modern moleküler yöntemler sayesinde (metagenomik, metatranskriptomik vb.), AS süreçlerinde hangi mikrobiyal türlerin hangi koşullar altında baskın hale geldiği daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılmaya başlanmıştır. Bu gelişmeler, hedefe yönelik süreç optimizasyon stratejilerinin geliştirilmesi ve biyogaz veriminin artırılması için yeni yöntemlerin geliştirilmesine ön ayak olmaktadır.

Özellikle AS süreçlerine uygulanacak sistemsel müdahalelerin yapılacak mikrobiyal analizlere göre planlanması, klasik mühendislik yaklaşımlarının ötesine geçilmesini sağlamaktadır. Mikrobiyal topluluklar hakkında edinilen bu detaylı bilgiler, sürece hedeflenmiş müdahaleler yapılabilmesini ve sistemin oluşabilecek stres faktörlerine karşı daha toleranslı hale getirilmesini sağlamaktadır.

Yukarıda bahsedilen stratejilerin yanı sıra, ileri arıtım teknolojilerinin entegrasyonu da yararlı mikrobiyal popülasyonların korunması ve patojenik türlerin elimine edilmesi açısından önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu yöntemler sayesinde, anaerobik çürütücülerde var olan mikrobiyal ekosistemlerin daha dengeli bir şekilde çalışması ve dayanıklılıklarının artırılması mümkün hale gelmektedir.

Tüm bu bulgular, kişisel değerlendirme olarak, AS sistemlerinde yer alan mikrobiyal konsorsiyumların aktif süreç belirleyicileri olduğunu göstermektedir. AS sistemlerinin yönetiminde ve geliştirme süreçlerinde mikrobiyal toplulukların çeşitliliğinin ve işlevselliğin izlenmesi ve mikrobiyal dengeyi korumaya yönelik sistem optimizasyon stratejilerinin geliştirilmesi gelecekteki uygulamalar açısından öncelikli adımlar olmalıdır.

Sonuç olarak, AS sürecinin mühendislik faaliyetleri ile olan işleyişinin yanı sıra, mikrobiyal temelli işleyişinin daha iyi anlaşılması, bunun baz alınarak sürecin optimize edilmesi ve yönetilmesi, hem bu prosesin sonucunda üretilecek enerjinin artırılması hem de çevresel sürdürülebilirlik hedeflerinin desteklenmesi açısından büyük bir potansiyel taşımaktadır. Gelecekte, moleküler düzeyde elde edilen bilgilerin analizi ardından sistem ölçeğinde hedefli optimizasyon stratejilerinin uygulamaya geçirilmesiyle anaerobik çürütücülerde performans ve alınan verim iyileştirilebilecektir.

8. MİKROBİYAL POPÜLASYONLARIN PERFORMANSININ İYİLEŞTİRİLMESİ

AS sistemlerinde mikrobiyal çeşitliliğin ve işlevselliğin sürecin verimliliği ve genel performansı üzerindeki etkisi önceki bölümde detaylı bir şekilde anlatılmıştır. Bu bölümde ise, mikrobiyal çeşitliliğin işlevsellikleri açısından nasıl optimize edilebileceği ve bu optimizasyon stratejileri ile süreç dayanıklılığının nasıl artırılabileceği ele alınacaktır. AS sistemlerinde metan üretim veriminin artırılması, mikrobiyal popülasyonların işlevselliğinin artırılmasına ve stabilitelerinin optimize edilmesine bağlıdır. Metagenomik analizlerle tür tayininin, çeşitliliğin ve işlevselliğin belirlenmesi, birlikte sindirim, biyogüçlendirme ve biyokömür gibi stratejilerle bu popülasyonların performansının artırılması yoluyla, AS sürecinin dayanıklılığının artırılması ve genel biyogaz veriminin maksimize edilmesi amaçlanmaktadır (Mutungwazi ve diğerleri, 2021; Gao ve diğerleri, 2024).

Bu bağlamda, özellikle lignosellüzozik substratların sistemde var olduğu durumlarda, metagenomik yaklaşımlar, genellikle AS prosesinin hızını belirleyen hidroliz sürecindeki mikrobiyal çeşitlilik ve metabolik süreçler hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Shrestha ve diğerleri (2017), yürüttükleri çalışma sonucunda sistemde özellikle kompleks biyomoleküllerin olduğu durumlarda bu substratların efektif bir şekilde ve daha hızlı parçalanabilmesi için uygun aşı seçiminin ve ortak kültürleme stratejilerinin önemini göstermiştir. Ye ve diğerleri (2024), biyokömür ve manyetik biyokömür AS sistemlerine eklendiğinde, özellikle yüksek amonyak stresine maruz kalan sistemlerde mikrobiyal aktivitenin önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Çalışmalarında, biyokömürün sisteme eklenmesinin özellikle *Methanosaeta* gibi fermentatif ve metanojenik mikroorganizmaların sayısında artışa yol açtığını, manyetik biyokömür sisteme eklendiğinde ise asetojenik ve amonyak toleranslı *Methanosarcina*'nın sayısının artmasını desteklediğini belirtmişlerdir. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, özellikle UASB veya iki fazlı reaktörler gibi fiziksel bir faz ayrımının uygulandığı sistemlerde mikrobiyal etkileşimlerin dışarıdan

müdahaleler ile yönetilebileceğini göstermiştir (Wang ve diğerleri, 2018; Kim ve diğerleri, 2015).

Biyogüçlendirme stratejisinde ise, mikrobiyal toplulukların işlevselliğinin artırılması amacıyla sisteme hedefli mikrobiyal suşlar ilave edilmektedir. Li ve diğerleri (2024), asetojenik ve metanojenik konsorsiyumların eklendiği sistemlerde, yüksek OLR seviyelerine ulaşıldığında dahi metan veriminin arttığını ve substrat parçalanma veriminin daha yüksek olduğunu ve mikrobiyal sistemlerdeki dengesizliklerin azaldığını göstermiştir. Benzer şekilde Zhang ve diğerleri (2024), çalışmalarında yüksek amonyak konsantrasyonlarına dirençli olan *Methanosarcina* ve *Syntrophomonas* gibi türlerin sisteme eklenmesiyle yapılan biyogüçlendirmenin, stres koşulları oluştuğunda bile sentrofik asetat oksidasyonunu daha verimli hale getirdiğini ve metanojenezi desteklediğini raporlamıştır. Yukarıda verilen stratejilerin mekanizmalarına bakıldığında, mikrobiyal popülasyonların aktivitelerini artırmalarının temel sebebinin bu konsorsiyumların fiziksel tutunmasına katkı sağlamaları olduğu gözlemlenmiştir. Biyokömür, kil mineralleri ve aktif karbon gibi materyaller, mikrobiyal popülasyonların fiziksel olarak tutunmasını desteklemekle beraber DIET mekanizmasını da kolaylaştırmaktadır. Zhao ve diğerleri (2024) ile Ye ve diğerleri (2024), yaptıkları çalışmalarda bu materyallerin mikrobiyal toplulukların toleransını ve dayanıklılığı artırdığını, amonyak toksisitesini azalttığını ve hem asetoklastik hem de hidrojenotrofik metanojenlerin aktivitesini desteklemek suretiyle metan üretim verimini artırdığını bildirmiştir. Mikrobiyal işlevselliği ve performansı iyileştirmek ve besin dengesini sağlayabilmek amacıyla uygulanan stratejilerden biri de birlikte sindirimdir. Rabii ve diğerleri (2019), yürüttükleri çalışmada sisteme eklenecek uygun ko-substrat seçiminin hem metan verimini artırdığını hem sistemde görülebilecek substrat değişkenliğinden kaynaklanabilecek inhibisyonların da önlediğini ve bazı durumlarda biyogaz üretim veriminin %100'e kadar artabildiğini göstermiştir. Karki ve diğerleri (2021), gıda atıkları ile mikrobiyal topluluklara besin sağlama açısından elverişli kanalizasyon çamurunun birlikte sindirilmesinin sonuçlarını inceledikleri çalışmalarında, sistemin OLR dalgalanmalarına

karşı daha dayanıklı hale geldiğini ve metan üretiminin stabil bir şekilde devam ettiğini bildirmiştir. Li ve diğerleri (2024), birlikte sindirim yönteminin türsel olarak daha çeşitli ve birbiriyle daha uyumlu bir mikrobiyal konsorsiyum oluşturduğunu, bunun da AS sürecinin toleransını ve performansını artırarak değişken işletme koşullarına daha dayanıklı olmasını sağladığını göstermiştir.

Daha önceki bölümlerde bahsedildiği gibi, AS sisteminde yer alan mikrobiyal popülasyonların çevresel değişkenlere karşı daha toleranslı çalışabilmesi için reaktör içi optimal yapılandırmalar ve yeni tasarımlar da önem arz etmektedir. Bu kapsamda biyokimyasal aşamaların fiziksel olarak farklı reaktörlerde gerçekleştirilmesini sağlayan uygulamalar hem sistemin stabilitesini ve performansını hem de türler arası elektron transfer mekanizmalarını desteklemektedir. Reaktörlerde uygulanan faz ayrımı, özellikle iki aşamalı sistemler ve UASB reaktörlerinde, asidojenik ve metanojenik aşamaların birbirinden ayrılmasını sağlayarak bu aşamalarda kritik rol oynayan mikrobiyal toplulıkların optimum koşullarda performans göstermesine olanak tanır. González ve diğerleri (2022), reaktörlerin fiziksel olarak ayrılmasının, metanojenlerin metabolik aktivitesini inhibe eden VFA birikimini önlediğini ve sistemin genel verimliliğinin arttığını raporlamıştır. Zhao ve diğerleri (2024), faz ayrımlı sistemlerin, mikrobiyal toplulukların fiziksel olarak tutunabileceği geniş yüzey alanları sağladığını ve bu durumun DIET'i kolaylaştırdığını belirtmiştir. Karki ve diğerleri (2021) ile Li ve diğerleri (2024a), bu yapıların uygulandığı sistemlerde canlı mikroorganizma oranlarını korunduğunu ve operasyonel dalgalanmaların mikrobiyal sistemler üzerindeki etkisini azaltarak metan üretiminde sürekliliği sağladığını raporlamıştır.

Sonuç olarak, mikrobiyal konsorsiyumların performansı metagenomik analizler, birlikte sindirim, biyogüçlendirme, iletken materyallerin kullanımı ve reaktör dizaynında geliştirmeler gibi stratejilerle iyileştirilebilir ve biyogaz üretim verimiyle beraber sistem kararlılığı da korunabilir. Dolayısıyla, AS sistemlerinin performansının iyileştirilmesi için

yalnızca biyolojik alanda değil, mühendislik çalışmalarında geliştirmeleri içeren, bununla beraber operasyonel parametrelerin hassas takibinin ve kontrolünün de entegre edildiği bütüncül bir yaklaşım, uzun vadeli sürdürülebilir biyogaz üretimi için kritik öneme sahiptir. Li ve diğerleri (2024b) tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarında vurgulandığı üzere, sürdürülebilir ve verimli AS sistemleri; mikrobiyal yapının proaktif biçimde yönetilmesine ve işletme parametrelerinin hassasiyetle izlenmesine bağlıdır.

9. ANAEROBİK ÇÜRÜTME SİSTEMLERİNDE ÖN İŞLEMİN ROLÜ

Ön işlem, AS'nin performansının artırılması için önemli bir adımdır. Özellikle sürecin ilk aşaması olan hidrolizdeki hız sınırlamalarının aşılması, metan üretim veriminin artırılması ve mikrobiyal popülasyonların daha dengeli bir şekilde çalışması açısından kritik bir rol oynar. Sisteme giren kompleks yapılı substratların etkin bir şekilde parçalanması ve çözünürlüklerinin artırılması sayesinde mikroorganizmaların bu substratlara erişimi kolaylaşır ve mikroorganizmalar tarafından sindirim süresi kısalır. Ön işlemler sayesinde olan bu iyileştirmeler, AS sistemlerinin verimliliği ve dalgalanmalara olan toleransı açısından oldukça önemlidir.

Ön işlem stratejileri birkaç başlık altında toplanabilir, bunlar fiziksel, kimyasal, biyolojik, ısıl ve hibrit ön işlemler olmak üzere sıralanabilir. Bu ön işlem stratejilerinin substrat bozunabilirliği ile mikrobiyal popülasyonların performansı üzerindeki etkileri literatürde detaylı şekilde değerlendirilmiştir. Bu tez çalışmasında güncel çalışmalardan alınan sonuçlar özetlenerek ön işlemin etkinliği kümülatif bir şekilde sunulmuştur.

9.1. Fiziksel Ön İşlemler

Fiziksel yöntemlerin (ultrasonikasyon, öğütme, mikrodalga) uygulandığı ön işlemler sisteme giren substratların partikül boyutunun küçülmesini ve özellikle sindirimi zor olan bitkisel atıkların hücre duvarlarının parçalanmasını sağlayarak mikrobiyal toplulukların ulaşabileceği yüzey alanını artırır. Bu sayede, mikroorganizmaların salgıladıkları hidrolitik enzimlerin substratlara erişimi kolaylaşır ve biyolojik bozunma daha efektif bir şekilde gerçekleşir. Appels ve diğerleri (2008), yürüttükleri çalışmada 20–25 kHz frekanslı ve 480 W gücündeki ultrasonik ön işlem 20–60 dakika boyunca uygulandığında hücre zarlarının parçalandığını ve hücre içerisindeki organik bileşenlerin açığa çıktığını, bu durumun da sCOD ihtiyacını artırmakla beraber biyogaz üretim veriminin %83'e kadar arttığını

raporlamıştır. Benzer şekilde, Neumann ve diğerleri (2016), özellikle atık aktif çamurun hidrolizi sırasında fiziksel ön işlemlerin uygulanmasının, çamurun bozunma hızını artırarak ASin verimliliğini artırabileceğini belirtmiştir. Çalışmalarında, ultrasonik ön işlem uygulandığında parçalanma oranının %47'ye kadar artabildiği, bununla birlikte, mikrodalga ve yüksek basınçlı homojenizasyon tekniklerinin de çamur viskozitesini düşürdüğünü ve sindirim sürecinin hızını artırdığı raporlamışlardır. Mikrodalga-alkali hibrit işlemler ise, kısa süreli uygulamalarda bile protein ve karbonhidratların çözünürlüğünü artırarak, VFA üretimini üç katına çıkarabilmekte ve metan verimini %50'ye kadar artırabilmektedir (Cuetos ve diğerleri, 2010).

9.2. Kimyasal Ön İşlemler

Kimyasal ön işlemlerde oksitleyiciler, asitler veya bazların kullanımı ile sindirimi zor olan lignoselülozik ve proteinli materyallerin parçalanması sağlanır. Kimyasal ön işlemler arasında özellikle alkali ön işlemlerin uygulanmasının hidroliz aşamasının hızını ve metan üretim verimini artırma konusunda oldukça etkili olduğu raporlanmıştır (Khalid ve diğerleri, 2011). Valo ve diğerleri (2004) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, yüksek sıcaklıkların bazik pH ile birleştirildiği uygulamalarda (termokimyasal ön işlemler) substratların çözünürlük oranlarının daha da arttığı gözlemlenmiştir. Kimyasalların kullanımı her ne kadar ön işlemin verimini artırıyor olsa da aşırı dozajlarda kimyasal kullanımı mikrobiyal topluluklara zarar vereceğinden ve toksik ara ürünlerin oluşmasına neden olacağından dikkatli bir şekilde uygulanmalıdır. Skiadas ve diğerleri (2005), kimyasal ön işlem sırasında uygulanan kimyasal dozunun aşırı olması durumunda inhibitör ara ürünlerin oluştuğunu ve mikrobiyal aktivitenin inhibe olduğunu göstermiştir.

9.3. Biyolojik Ön İşlemler

Biyolojik ön işlem stratejilerinde AS sistemlerine dışarıdan spesifik mikrobiyal türler ya da popülasyonlar eklenebilir, bu mikrobiyal takviye olarak tanımlanır. Bu yöntemin amacı sistemdeki substratların daha efektif ve kolay bir şekilde parçalanmasını sağlamak, ya da hidrolitik enzimlerin aktivitesini artırarak hidroliz aşamasının performansının artırılması hedeflenir. Bu yöntemlerin uygulanması ayrıca metanojenik aşamalarda kilit rol oynayan sentrofik mikrobiyal etkileşimleri de güçlendirir ve prosesin metan üretim verimini artırabilir. Salama ve diğerleri (2019), özellikle gıda yağı ve gres içeren sistemlerde biyolojik enzim tabanlı ön işlemler uygulandığında, sisteme düşük enerji girdisi olsa bile substrat çözünürlüğünün ve metan üretim kapasitesinin arttığını göstermiştir. Enzimatik hidroliz, kompleks yapılı ve hidrofobik yapıda olan substratların biyolojik olarak sindirimini kolaylaştırmakta, substrat-mikroorganizma etkileşimi artırmakta ve genel hidroliz süresini kısaltmaktadır.

Bununla birlikte, biyokömür her ne kadar doğrudan bir biyolojik ön işlem yöntemi olmasa da AS sürecinde mikrobiyal topluluklar arasındaki etkileşimleri güçlendiren, sistemde var olan inhibitörlerin etkisini azaltan ve elektron transfer mekanizmalarını destekleyen yapısı nedeniyle özellikle biyolojik süreçlerin performansını artıran önemli bir materyal olarak literatürde geniş yer bulmaktadır.

Zhang ve diğerleri (2024), domuz çiftliği atık sularının girdi olarak kullanıldığı bir anaerobik membran biyoreaktöründe gerçekleştirdikleri uzun dönemli çalışmada, sisteme biyokömür eklenmesi durumunda artan amonyak yükleme oranlarına (3.0–6.0 g/L ALR) rağmen metan üretiminin %9,1–33,3 oranında korunduğunu ve mikrobiyal toplulukların yapısının efektif performans sergileyecek şekilde şekillendiğini raporlamıştır. Bu çalışmada sistemde özellikle *Syntrophomonas, Methanosarcina* ve *Methanospirillum* türlerinin sayısının arttığı, bu sayede de asetatın sentrofik oksidasyonunun ve karbondioksit redaksiyonuna dayalı

metanogenez süreçlerinin desteklendiği gösterilmiştir. Ayrıca biyokömürün üzerinde yer alan fonksiyonel grupların (kinon, fenazin gibi), mikrobiyal elektron transfer süreçlerinde aracı görevi gördüğü ve ekstraselüler elektron transferi süreçlerini hızlandırdığı belirtilmiştir.

Benzer şekilde Lima ve diğerleri (2023), biyokömürün belediyeden gelen atıksuyun işlendiği tesislerde substratların biyokullanılabilirliğini artırdığını, VFA birikimini azaltarak pH stabilitesine katkı sağladığını ve reaktör performansını optimize ettiğini göstermiştir. Aynı çalışmada, biyokömür katkısının karbondioksit redaksiyonuna dayanan metanogenez süreçlerinde görev alan bazı kilit enzimlerin (formilmetanofuran dönüşümünü sağlayan enzimler gibi) gen ekspresyonunun arttığı ve elektron transferine dayalı alternatif metan üretim proseslerinin desteklediği genetik düzeyde gösterilmiştir.

Tüm bu bulgular, biyokömürün fiziksel bir katkı maddesi olmanın ötesinde, biyolojik ön işlemleri mikrobiyal metabolizmayı geliştirerek ve topluluk dinamiklerini doğrudan olumlu bir şekilde etkileyerek destekleyen redoks-aktif özelliklere sahip bir materyal olarak işlevinin önemini ortaya koymaktadır.

Biyokömür katkısının yanında, mineral bazlı katkı maddeleri de son yıllarda ön işlem uygulamaları kapsamında araştırılmaktadır. Özellikle demir ve alüminyum açısından zengin laterit minerali gibi doğal mineral ortamların biyokömürle birlikte sisteme eklenmesi, AS sürecinde hem mikrobiyal aktiviteyi artırmakta hem de sindirilebilirliği iyileştirmektedir. Mineral ortamlar, mikrobiyal topluluğun dengesini destekleyerek süreç içi pH değişimlerini tamponlamakta ve inhibitör birikimini azaltmaktadır. Yapılan çalışmalar, bu tür katkıların metan üretim veriminde anlamlı artış sağladığını ve sistemin genel stabilitesine katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur (Tariq ve diğerleri, 2024). Bu nedenle, mineral medyum kullanımı da mikrobiyal yapının sürdürülebilirliğini destekleyen potansiyel bir ön işlem yaklaşımı olarak değerlendirilmektedir.

9.4. Isıl Ön İşlemler

Efektif ön işlem çeşitlerinden bir diğeri olan ısıl ön işlemin uygulandığı sıcaklık aralığı, genellikle 160°C–210°C olup hücresel yapıların bozunmasına ve parçalanmasına olanak sağlayarak organik maddenin çözünürlüğünü artırır, bununla birlikte AS sistemlerinde var olan patojenlerin azaltılmasında kritik bir rol oynar. Kim ve diğerleri (2015), çalışmalarında hidrotermal işlemi 180°C'de uygulayarak substratların daha kolay parçalandığını ve mikrobiyal konsorsiyum için kullanılabilirliklerini artırdığını, bu durumun da metan üretim verimini belirgin bir şekilde iyileştirdiğini raporlamıştır. Kondusamy ve Kalamdhad (2014) ise termal hidroliz uygulandığında biyogaz veriminin %150'ye kadar artabildiğini göstermiştir. Bu bulgulara ek olarak, sıcaklık, işlemin uygulanma süresi ve basınç parametreleri substrat türüne göre ayarlandığında biyogaz üretim verimi ve sistem performansı açısından optimum sonuçların elde edildiği gözlemlenmiştir (Cuetos ve diğerleri, 2010; Salama ve diğerleri, 2019).

9.5. Hibrit Ön İşlemler

Yukarıda bahsedilen stratejilerin yanı sıra, farklı ön işlem tekniklerinin birlikte uygulandığı hibrit ön işlemler, büyük ölçekli sistemler için kullanımı en uygun yöntemlerden biridir. Fiziksel, kimyasal veya biyolojik ön işlem tekniklerinin kombinasyonu AS aşamalarından özellikle hidrolizi hızlandırmakta, sistemde bulunan mikrobiyal popülasyonları dengelemekte ve süreci inhibe edebilecek durumları minimize etmektedir. Örneğin, Neumann ve diğerleri (2016), termokimyasal ön işlem uygulandığında tek başına uygulanan stratejilere kıyasla sistem performansının belirgin bir şekilde arttığını ve metan üretiminde %154'e varan bir artış sağlanabildiğini raporlamıştır. Bu çalışmaya paralel olarak, Valo ve diğerleri (2004), pH 10 seviyesinde tutulurken yüksek sıcaklığın uygulandığı termokimyasa işlemlerde metan üretim veriminde %71'e kadar artış gözlemlendiğini raporlamıştır. Ayrıca yapılan bazı çalışmalar, termal hidroliz uygulanırken dışarıdan mikrobiyal takviye

yapıldığında sentrofik etkileşimlerin güçlendiği ve değişken sistem koşulları altında da substrat kullanımını artırabileceğini öne sürmektedir (Lima ve diğerleri, 2023). Li ve diğerleri (2024), termal hidroliz uygulanırken mikrobiyal takviye ile desteklendiğinde substrat sindirim verimliliğinin arttığını ve sentrofik etkileşimlerin desteklendiğini raporlamıştır.

9.6. Ön İşlemin Genel Etkinliği

Ön işlemin etkinliği, ön işlemsiz yürütülen AS sistemleri ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarla gösterilmiştir. Kim ve diğerleri (2015), atık aktif çamura ön işlem uygulandığında, uygulanmayan çamura kıyasla neredeyse iki kat daha fazla metan üretildiğini raporlamıştır. Benzer şekilde, Carlsson ve diğerleri (2012) ön işlemin uygulanmadığı sistemlerde bekleme süresinin uzadığını ve sistemin genel verimliliğinin azaldığını vurgulamıştır. Ön işlemin uygulanmadığı durumlarda hidroliz aşaması, sistemin hız sınırlayıcı fazı haline gelmekte, bu da VFA birikimine ve süreçte kesintilere ve kararsızlığa neden olmaktadır. Efektif bir ön işlem süreci uygulandığında hidroliz aşaması hızlanmakta, mikrobiyal metabolizmanın performansı artmakta ve süreç dayanıklılığı desteklenmektedir.

9.7. Yöntem Seçimi ve Uygulama Kriterleri

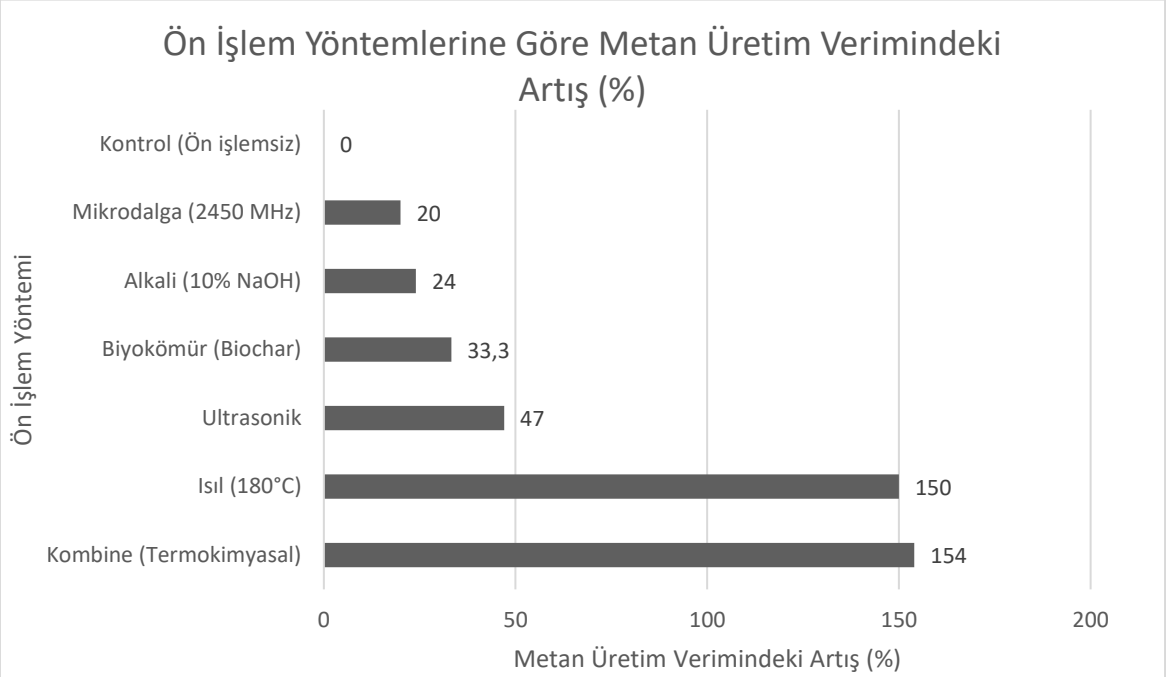
Bütün bu ön işlem stratejileri değerlendirildiğinde, sistem için en uygun ön işlem stratejisinin seçimi çok sayıda faktöre bağlıdır. Bunlardan bazıları substratların yapısal ve kimyasal özellikleri, operasyonel parametreler, sistemin enerji gereksinimi ve ekonomik fizibilite olarak sıralanabilir. Ön işlem yöntemleri genel olarak karşılaştırıldığında, ısıl ve kimyasal stratejiler verimliliği belirgin bir şekilde artırırken, biyolojik ve hibrit yöntemler mikrobiyal dengenin korunması ve sistem sürdürülebilirliği açısından avantajlıdır. Tablo 3'te gösterildiği üzere, her yöntemin kendine özgü avantajları ve dezavantajları vardır. Bu

nedenle, ön işlemin uygulanacağı hedef sisteme özel olarak bu protokollerinin seçilmesi ve uyarlanması mikrobiyal konsorsiyumların optimal ve dengeli bir şekilde çalışması, anaerobik çürütmenin sürdürülebilirliğinin uzun vadede korunması ve enerji geri kazanımının maksimize edilmesi için kritik bir öneme sahiptir.

Çizelge 9.1. Anaerobik çürütme sistemlerinde farklı ön işlem stratejilerinin karşılaştırılması

Ön İşlem Yöntemi	Açıklama	AS Sistemi Üzerindeki Etki	Metan Üretiminde Etkinlik
Fiziksel	Öğütme, ultrasonik ve mikrodalga gibi teknikler; substrat çözünürlüğünü artırır ve partikül boyutunu küçültür.	Hidrolizi hızlandırır, bekleme süresini azaltır ve substrat homojenliğini geliştirir.	Orta düzey: Metan veriminde %20–72 arasında artış sağlar; substrat yapısına ve enerji girdisine bağlıdır.
Kimyasal	Asit, alkali veya oksitleyici ajanların kullanımıyla kompleks organik bileşiklerin çözünürlüğü sağlanır.	Özellikle lignoselülozik biyokütlede hidroliz verimini artırır; bazı inhibitör ara ürünlerin oluşmasına neden olabilir.	Yüksek: Alkali işlemlerde (örneğin NaOH) %55–155 arası metan verimi artışı gözlemlenmiştir.
Biyolojik	Substrat bozunabilirliğini ve biyoyararlanımını artırmak için enzimler veya mikrobiyal konsorsiyumlar kullanılır.	Mikrobiyal stabiliteyi artırır, amonyak inhibisyonunu azaltır; genellikle uzun işlem süresi gerektirir.	Değişken: Enzimatik ve biyokömür katkılı uygulamalar %10–60 arasında verim artışı sağlayabilir.
Isıl	70–200°C aralığında uygulanan ısı ile substratlar parçalanır ve çözünürlük artar.	Hidroliz ve biyobozunurluğu önemli ölçüde artırır; patojenleri azaltır.	Yüksek: Özellikle çamur arıtımında %50–150 arasında metan veriminde artış sağlanabilir.
Hibrit Yöntemler	Termokimyasal veya biyolojik-ısıl gibi birden fazla yöntemin entegrasyonu.	Sinerjik etki oluşturarak substrat dönüşümünü artırır, tekil yöntemlerin sınırlamalarını azaltır.	En yüksek: Metan üretiminde %154'e kadar artış; tüm metriklerde sürekli iyileşme sağlanabilir.

Çizelge 9.1, anaerobik çürütme sistemlerinde kullanılan ön işlem yöntemlerini karşılaştırmalı olarak özetlemektedir. Fiziksel, kimyasal, biyolojik, ısıl ve hibrit yaklaşımlar; uygulanma biçimleri, AS sistemi üzerindeki etkileri ve metan üretim verimi üzerindeki etkileri açısından değerlendirilmiştir. Verilen ön işlem stratejilerinin substratların kullanılabilirliği ve mikrobiyal aktivite üzerindeki etkileri, işlem süresi gereksinimleri gibi temel parametreler, bütüncül bir şekilde gösterilmektedir.



Şekil 9.1. Anaerobik çürütme sistemlerinde uygulanan ön işlemlerin metan üretim verimi açısından karşılaştırılması

Şekil 9.1, anaerobik çürütme sistemlerinde uygulanan farklı ön işlem stratejilerinin metan üretim verimi üzerindeki etkisini sayısal olarak karşılaştırmalı bir şekilde göstermektedir. Tabloda sunulan veriler yalnızca deneysel olarak metan verimi artış oranı raporlamış çalışmalardan (Valo ve diğerleri 2004; Neumann ve diğerleri 2016; Zhang ve diğerleri 2024; Kondusamy ve Kalamdhad 2014) derlenmiştir. Grafikte termokimyasal kombinasyon yönteminin kontrol grubuna kıyasla metan üretim verimini %154 oranıyla en yüksek oranda artırdığı gösterilmektedir. Bunu 180°C'de uygulanan ısıl ön işlemin %150'lik metan üretimi artış oranı ve %47'lik metan üretim artışı ile ultrasonik yöntem takip etmektedir. Sisteme biyokömür eklenmesinin metan üretim verimi için katkısı %33, alkali (10% NaOH) ön işleminki %24, mikrodalga yöntemininki ise %20 artış sağlamıştır.

Grafikte sunulan karşılaştırmalı değerlendirme, özellikle ısıl ön işlemin ve hibrit yöntemlerin uygulanmasının AS süreçlerinde metan üretim verimini büyük oranda artırdığı, fiziksel ve kimyasal ön işlemlerin ise orta seviyede fakat belirgin bir artış sağladığı ortaya konmaktadır.

Sonuç olarak, ön işlem yöntemleri anaerobik çürütme sistemlerinde uygulandığında ön işlemin uygulanmadığı sistemlere göre birçok fayda sağlanmaktadır. Bunlar substrat kullanılabilirliğini artırma, hidroliz aşamasını hızlandırma, sistemdeki inhibitörlerin ve süreç sırasında oluşabilecek inhibe edici durumların etkilerini azaltma ve mikrobiyal popülasyonların dengeli bir şekilde çalışmasına katkı sağlama olarak özetlenebilir. Bu avantajlar sayesinde süreç verimliliği ve genel performans belirgin şekilde artırılabilmektedir. Tablo 3 ve Şekil 7'de sunulan karşılaştırmalı verilere bakıldığında, özellikle ısıl ve termokimyasal yöntemlerin metan üretimini %150- %155 bandında artırabilen etkili stratejiler olduğu anlaşılmaktadır. Fiziksel ve biyolojik ön işlemler ise metan üretim verimini orta düzeyde ve sınırlı koşullar içerisinde artırmaktadır. Bununla birlikte, uygulanacak ön işlemin türü sisteme giren substratın içeriği, sistem ölçeği, enerji tüketimi ve ekonomik fizibilite gibi faktörler dikkate alınarak belirlenmelidir. Bu sonuçların hepsi beraber değerlendirildiğinde, ön işlemin sistem performansını geliştirmek için yekpare bir çözümden ziyade süreç izlenirken oluşacak ihtiyaçlara göre optimize edilmesi gereken stratejik bir yöntem olduğu görülmektedir. Ön işlem yöntemlerinin seçimi ve uygulanması anaerobik çürütme sürecinin daha sürdürülebilir, ölçeklenebilir ve ekonomik bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için ve geniş ölçekte kullanılacak bir "atıktan enerjiye" teknolojisine dönüşmesinde kritik rol oynayacaktır.

10. BİYOMETAN ÜRETİMİNİN ARTIRILMASINA YÖNELİK MİKROBİYAL TOPLULUK TABANLI YAKLAŞIMLAR

10.1. Birlikte Sindirim Stratejileri

AS süreci sonucu üretilen biyometan, mikrobiyal konsorsiyumların aktivitesini, sistemdeki sentrofik ilişkileri ve reaktör konfigürasyonlarını geliştiren stratejiler yoluyla önemli ölçüde artırılabilir. Bu yaklaşımlar arasında *ko-fermentasyon* yöntemi biyometan üretiminin artırılması için yüksek bir potansiyele sahiptir çünkü karbon/azot oranını optimize etmesinin yanı sıra sistemdeki mikrobiyal türlerin çeşitliliğini ve işlevselliğini de artırır. Ibro ve diğerleri (2022), ko-fermentasyon uygulandığında besin dengesinin ve sisteme giren substrat çeşitliliğinin mikrobiyal popülasyonların dinamiğini ve metan üretim verimini artırma konusunda kritik öneme sahip olduğunu vurgulamıştır. Benzer şekilde, Mata-Alvarez ve diğerleri (2014), ko-fermentasyon uygulanan sistemlerde stabilitenin arttığını ve mikrobiyal konsorsiyumlar arasındaki sinerjik etkileşimlerin de pozitif yönde etkilenmesiyle beraber metan üretim veriminin %20–40 oranında arttığını raporlamıştır. Rabii ve diğerleri (2019) ise, ko-fermentasyonun mikrobiyal türlerin çeşitliliği ve birbirleriyle işlevsel uyumlarını destekleyerek genel sistem performansını ve süreç verimliliğiyle dayanıklılığını artırdığını vurgulamıştır.

Khalid ve diğerleri (2011), ko-fermentasyon çalışmalarında %8 oranında pirinç samanı ve arıtılmamış kanalizasyon çamurunun mezofilik koşullarda karıştırılması durumunda metan üretim veriminin iki katına çıktığını raporlamıştır. Çalışmalarının sonucunda gözlemledikleri bu artışı sistemdeki substratların mikrobiyal popülasyonlar tarafından kullanılabilirliğinin artması ve sentrofik ilişkilerin güçlenmesiyle açıklamışlardır.

10.2. Katkı Maddeleri ile Mikrobiyal Etkileşim

Mikrobiyal konsorsiyumlar arasındaki sinerjinin artırılabilmesi yalnızca sisteme giren substratların çeşitliliğiyle sınırlı değildir. Sisteme eklenecek spesifik katkı maddeleri de mikrobiyal türler arası etkileşimi pozitif yönde etkileyerek biyometan üretim verimini artırabilmektedir. Sisteme giren farklı tipteki substratların karışmasının ötesinde, *biyokömür* ve *manyetit* gibi materyallerin sisteme eklenmesi, DIET mekanizmalarını geliştirerek mikrobiyal etkileşimleri iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Biyokömür, yapısından dolayı hem metanojenlerin kolonileşmesi ve çoğalması için ekstra bir yüzey alanı sağlar hem de sistemde oluşabilecek termodinamik sınırlamaların etkisini azaltarak DIET'i kolaylaştırır (Kim ve diğerleri, 2015; Li ve diğerleri, 2024). Gao ve diğerleri (2024), biyokömür ilavesinin, QS aracılığıyla gerçekleşen mikrobiyal iletişimi artırdığını ve EET mekanizmasını geliştirerek *Methanospirillum* gibi elektroaktif türlerin sayıca artmasını sağladığını ve koenzim F420 aktivitesini %33 oranında artırdığını, bu etkilerin sonucunda da toplam metan üretiminin %20 oranında arttığını göstermiştir. Benzer şekilde, Tariq ve diğerleri (2024), sentrofik bakteriler ve metanojenler arasında gerçekleşen DIET mekanizmasının sisteme demir oksit içeriği bakımından zengin olan laterit minerali eklendiği zaman da arttığını ve bu durumun sistemde dalgalanmalı OLR oranları olsa bile AS sürecinin kararlılığının devam ettiğini göstermiştir.

10.3. Reaktör Tasarımı ve Faz Ayrımı

AS sistemi içerisinde yer alan mikrobiyal topluluklar arasındaki etkileşimi optimize etmek için bir diğer yöntem de reaktör yapısının fiziksel olarak AS aşamalarına ve mikrobiyal ihtiyaçlara uygun olarak tasarlamaktır. Önceki bölümlerde ayrıntılı olarak bahsedildiği gibi, asidojenik ve metanojenik fazları fiziksel olarak ayıran iki aşamalı sistemler ve UASB reaktörler, tek fazlı sistemlere kıyasla metan üretimini %25'e kadar artırabilmektedir (Zhang

ve diğerleri, 2023). Fiziksel olarak fazların ayrılması her mikrobiyal grubun ihtiyacı olan optimum koşulların sağlanmasına olanak tanır ve süreç kontrolünü iyileştirir.

10.4. Quorum Sensing ve Mikrobiyal Mühendislik

Mikrobiyal toplulukların etkileşimi ve genetik olarak bu topluluklar üzerinde yapılacak müdahaleler de AS sistem verimliliğinin artırılabilmesi için uygulanabilecek potansiyeli yüksek stratejiler arasındadır. Bu bağlamda, QS ve mikrobiyal mühendislik gibi yeni yaklaşımlar yeni yöntemler olarak dikkat çekmektedir. Quorum sensing mekanizması mikrobiyal toplulukların popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak birbirleriyle kimyasal sinyaller aracılığıyla iletişim kurmalarını sağlar. Mikrobiyal topluluk düzeyinde kimyasal salınım ile gerçekleşen bu iletişim, koordineli davranışların (biyofilm oluşturulması, enzim üretimi, substrat kullanımı vb.) düzenlenmesinde kritik rol oynar. AS sürecinde gerçekleşen QS mekanizmalarının takip edilmesi, sentetik yollarla dışarıdan müdahale ile yönlendirilmesi yoluyla optimize edilmesi mikrobiyal aktiviteyi hedefli bir şekilde artırabilir ve AS sistemlerinin kararlılığını ve metan üretim verimini artırabilir. “Katkı Maddeleri ile Mikrobiyal Etkileşim” başlığı altında bahsedildiği gibi, Gao ve diğerleri (2024), sisteme biyokömür ilave edilmesinin N-asil homoserin lakton (AHL) aracılı QS’i etkinleştirerek mikrobiyal topluluklar arası iletişimi artırdığını ve metanojenik gen ekspresyonunu düzenlediğini göstermiştir. Li ve diğerleri (2024) ise sisteme AHL ve biyokömür beraber eklendiğinde metan üretim veriminin %51,9 oranında arttığını, bununla beraber asetik asit metabolizmasının ve koenzim F420 gibi enzim aktivitelerinin iyileştiğini raporlamıştır. Bu bulgular, QS mekanizmasının uyarılmasının mikrobiyal toplulukların canlı kalma süresini ve sistemdeki dalgalanmalara karşı toleranslarını büyük oranda artırabileceğini göstermektedir.

Yukarıdaki çalışmalara ek olarak, You ve diğerleri (2024), bambu ve zeytin biyokömürü kullanılan sistemlerde mikrobiyal mühendislik yöntemlerinin uygulanmasının sonuçlarını

incelemiş ve çalışmalarının sonucunda mikrobiyal kolonizasyonun ve DIET mekanizmasının sistemde desteklendiğini ve amonyak inhibisyonunun hafiflediğini göstermişlerdir. Çalışmalarında buna ek olarak bunun gibi spesifik biyokömür türlerinin biyogaz üretim verimini artırdığını ve mikrobiyal türlerin işlevlerinin stres koşulları oluştuğunda bile stabil kalmasını sağladığını belirtmişlerdir. Bu çalışmalar, mikrobiyal mühendislik ve QS mekanizmasının uyarılmasının AS sistemlerinin performansının ve genel verimliliğinin artırılması için önemli olduğunu göstermektedir.

10.5. Genetik Mühendislik Yaklaşımları

Mikrobiyal iletişimi ve etkileşimi geliştirmeye yönelik yöntemlere ek olarak AS sistemlerinde yer alan popülasyonlara genetik mühendislik uygulamaları ile daha ileri düzeyde müdahaleler yapılabilmektedir. Özellikle metan üretimi için kritik bir öneme sahip olan metanojenlerin genetik olarak modifiye edilmesine yönelik çalışmalar, sistemin performansının ve metan üretim veriminin artırılması için potansiyeli yüksek bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Genetik mühendislik stratejileri metan üretimini artırmanın yanı sıra sistemde oluşabilecek inhibisyon faktörlerine karşı mikrobiyal toplulukların direncinin artırılması amacıyla mikrobiyal türlerin metabolizmasının değiştirilmesini ve geliştirilmesini hedeflemektedir (Li ve diğerleri, 2024a). QS mekanizmasının optimizasyonu ile birleştirildiğinde, bu yaklaşım mikrobiyal konsorsiyumların optimizasyonu için yeni kapılar aralayabilir.

Bu bölümde sunulan mikrobiyal topluluklara yönelik ve mikrobiyal bazlı olan stratejiler, biyometan üretim veriminin artırılması söz konusuyken yalnızca substrat seçiminin ve reaktör tasarımının genel performansı artırmak için yeterli olmayacağını, bunun yapılabilmesi için mikrobiyal topluluklar arası etkileşimlerin, iletişim yollarının ve genetik potansiyelin de geliştirme sürecine entegre edilmesinin kritik rol oynayacağını göstermektedir. Ko-fermentasyon, biyokömür ve manyetit gibi materyallerin sisteme

eklenmesi, reaktör tasarımı, QS mekanizmasının uyarılması ve genetik mühendislik gibi yaklaşımlar, anaerobik çürütme sistemlerinin verimliliğini ve stres faktörlerine karşı toleransını artıran çok katmanlı çözümler sunmaktadır.

11. MİKROBİYAL PERSPEKTİFTEN ANAEROBİK SİNDİRİMDE İNHİBİTÖR FAKTÖRLERİN AZALTILMASI

AS sistemlerinde mikrobiyal popülasyonların aktivitesi çeşitli çevresel ve operasyonel faktörlere bağlı olarak inhibe olabilir, bu durum da metan üretim veriminde azalmaya ve sürecin stabilitesinde kararsızlığa sebep olabilir. İnhibisyona sebep olan faktörlerin ve sistem üzerindeki etkilerinin kapsamlı bir şekilde analiz edilmesi, metanojenik aktivitenin sürdürülebilmesi için efektif stratejiler geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir.

AS sistemlerinde sıkça görülen inhibitör faktörler ve bu faktörlerin hem sistem üzerindeki hem de mikrobiyal işleyiş üzerindeki etkileri bu bölüm boyunca detaylı bir şekilde açıklanacaktır.

11.1. Amonyak Birikimi ve Metanojenik Topluluklar Üzerindeki Etkileri

Sistemi inhibe eden en önemli faktörlerden biri sistemde belli bir konsantrasyonun üzerinde amonyağın birikmesidir. Amonyak, sisteme özellikle hayvan gübresi gibi azot içeriği fazla olan substratların girmesi ve süreçte bu substratların metabolize edilmesiyle oluşur. AS sistemlerinde TAN seviyesi 3.000 mg/L'yi geçtiğinde, metanojenik arkeler üzerinde toksik bir etkiye sahiptir. Metanojenik arkelerin enzim aktiviteleri ve hücre içi pH dengesi bu seviye geçildiğinde bozulur ve inhibisyon gerçekleşir. Bu koşullar altında sistem içerisinde amonyağa toleransı yüksek olan *Methanosarcina* gibi türler baskın hale gelir ve metan üretimi kesintiye uğramasa da üretim verimi, *Methanosaeta* gibi toleransı daha düşük ancak daha yüksek verimle metan üreten türlerin varlığına kıyasla düşüktür (Chen ve diğerleri, 2008; Yenigün ve diğerleri, 2013).

11.2. VFA Birikimi ve pH Dengesizliği

Amonyak konsantrasyonun artmasının inhibe edici etkisinin yanı sıra, mikrobiyal aktiviteyi baskılayan bir diğer yaygın faktör, sistemde VFA birikimidir. Sistemde asidojenik türlerin aktivitesi metanojenik türlerin aktivitesinden daha fazla olduğunda üretilen asetat ve propiyonat gibi VFA'lar sistemde birikir ve sistemin pH seviyesini düşürerek asidik bir ortamın oluşmasına sebep olur. Bu da metanojenler için elverişsiz koşulların oluşmasına neden olacağından, genellikle reaktör başarısızlığına neden olur (Chen ve diğerleri, 2008; Yenigün ve diğerleri, 2013).

11.3. Sistemse Tuz Yoğunluğu Stresi ve Mikrobiyal Duyarlılık

Elverişsiz amonyak ve VFA konsantrasyonlarıyla beraber, AS süreci üzerinde inhibe edici etkiye sahip bir diğer stres faktörü de yüksek tuz konsantrasyonlarıdır, çünkü yüksek tuz oranları metanojenik türlerin metabolizmasını olumsuz yönde etkiler ve canlılıklarını tehdit eder. Tuz oranı yüksek olan substratlar sisteme girdiğinde mikrobiyal hücreler üzerinde ozmotik stres oluşturarak hücre fonksiyonlarını ve enzimatik aktiviteleri olumsuz yönde etkiler. Özellikle *Methanothrix* gibi tuz stresine karşı toleransı düşük metanojenlerin metabolik aktiviteleri, tuzluluk oranı 20 g/L üzerine çıktığında baskılanır (Xu ve diğerleri, 2021)

11.4. Ağır Metaller, Antibiyotikler ve Diğer Toksik Maddeler

Bunlarla birlikte, sisteme giren substratlarda doğal olarak bulunabilen veya dış kaynaklardan sisteme giriş yapan toksik maddeler de sistem üzerinde inhibe edici bir etkiye sebep olabilir. Bu toksik maddelere örnek olarak ağır metaller, antibiyotikler ve diğer biyo-aktif bileşikler örnek olarak verilebilir. Bu maddeler, mikrobiyal hücrelerin gerçekleştirdiği biyokimyasal

aktiviteleri bozarak tür çeşitliliğini azaltır, kritik enzimlerin aktivitelerini engeller ve metan üretim verimini düşürür (Amha ve diğerleri, 2018; Gao ve diğerleri, 2024).

11.5. Sıcaklık Dalgalanmalarının Mikrobiyal Denge Üzerindeki Etkisi

Mikrobiyal toplulukların dengesini bozarak prosesin sekteye uğramasına sebep olan bir diğer inhibisyon faktörü de AS sırasında meydana gelen ani sıcaklık değişimleridir. Aniden gerçekleşen sıcaklık değişimleri mezofilik ve termofilik sistemlere uyum sağlamış mikrobiyal türlerin dengesini bozarak sistemin performansını düşürür. Metan üretim verimi açısındna kritik olan metanojenler sabit sıcaklıklarda daha yüksek performans sergiler ve sıcaklık değişimlerine karşı toleransları düşüktür. Bu sebeple gerçekleşecek sıcaklık dalgalanmaları metan üretim performansını olumsuz yönde etkiler (Gao ve diğerleri, 2024; Yang ve diğerleri (2025).

11.6. Biyokömür Eklenmesi ile İnhibitör Etkilerin Azaltılması

Sistem inhibisyonuna sebep olan koşulların etkilerinin azaltılabilmesi ve sistem dayanıklılığının artırılması için son yıllarda çeşitli önleme stratejileri geliştirilmiştir. Bu stratejiler arasında etkili bir yöntem olarak biyokömür kullanımı özellikle ön plana çıkmaktadır. Chen ve diğerleri (2008)'nin, çalışmalarında sisteme biyokömür eklenmesinin yüksek amonyak konsantrasyonlarının oluştuğu sistemlerde aşırı amonyağı adsorbe ettiğini, sentrofik mikrobiyal etkileşimleri desteklediğini ve DIET mekanizmalarını da destekleyerek amonyak toksisitesini azaltabildiğini göstermiştir. Biyokömürün eklenmesi amonyak birikiminin toksik etkisini azalttığı için metanojenler için sistem koşulları elverişli bir seviyede tutulabilmiş ve stres koşullarında bile metan üretimi stabil kalmıştır. Biyokömürün yanı sıra zeolit ve aktif karbon gibi adsorban yapıya sahip materyallerin de toksik bileşikleri bağladığı ve bu durumun mikrobiyal toplulukların dengesinin ve işlevinin korunmasına katkı sağladığı belirtilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2018).

Biyokömürün klasik uygulamalarını geliştirmek üzere yapılan çalışmalar bu materyalin fonksiyonel potansiyelini geliştirmeyi amaçlamaktadır. Bu yenilikçi uygulamalardan biri de manyetik biyokömür kullanımıdır. Ye ve diğerleri (2024), manyetik biyokömür sisteme entegre edildiğinde mikrobiyal popülasyonlar arasındaki sentrofik ilişkiyi artırdığını, amonyak toksisitesinin etkisini azalttığını ve bu sayede metan üretim veriminde yaklaşık %50'ye varan bir artış gözlemlendiğini raporlamıştır. Bu çalışmaya paralel şekilde, Azarmanesh ve diğerleri (2023), Le Pera ve diğerleri (2024) ile Zhao ve diğerleri (2024) biyokömürün, elektron taşıyıcı bir materyal olarak da görev aldığını ve mikrobiyal hücrelerin kolonize olmasını ve DIET mekanizmasını destekleyerek metan üretimini artırdığını ortaya koymuştur. Sun ve diğerleri (2024), biyokömürün yukarıda bahsedilen fonksiyonlarının metanojenik türlerin biyokimyasal aktivitelerini desteklediğini ayrıca vurgulamıştır.

11.7. Moleküler İzleme Yöntemleri ve Hedefli Biyoartırım Stratejileri

İnhibitör etkilerin azaltılması için stres faktörlerinin etkisini adsorbe edecek materyallerin eklemesinin yanı sıra, moleküler düzeyde gerçekleştirilecek izleme ve mikrobiyal müdahale stratejileri de süreç optimizasyonu için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Amha ve diğerleri (2018), inhibitörlere karşı mikrobiyal toplulukların tepkisinin izlenmesi için metagenomik analizlerin ve işlevsel gen taramalarının önemini göstermiş, daha fazla moleküler aracın sürecin optimizasyonu için kullanılması gerektiğini vurgulamıştır. Moleküler yöntemler sayesinde *Geobacter* ve *Methanosarcina* gibi toksik koşullara toleransı daha yüksek olan mikroorganizmalara yönelik hedefli biyoartırım stratejileri geliştirilebilmektedir.

11.8. Operasyonel Parametrelerin Optimizasyonu

Sistemdeki inhibitör etkilerin azaltılabilmesi için, operasyonel süreçlerin ve parametrelerin optimizasyonu büyük öneme sahiptir. Xu ve diğerleri (2021), pH ve sıcaklık gibi parametrelerin yakından izlenmesinin ve kontrolünün, substrat ön işlemleriyle birleştirildiğinde VFA birikiminin ve diğer inhibitör bileşiklerin etkilerini azalttığını raporlamıştır. Yang ve diğerleri (2025), sisteme giren yüksek azot içerikli substratların seyreltilmesi ve karbon/azot dengesinin sağlanması amacıyla kofermentasyonun uygulanmasının sistem üzerindeki amonyak stresini azalttığını raporlamıştır.

11.9. Reaktör Tasarımının İnhibitör Yönetimine Katkısı

Yukarıdaki başlıklar altında verilen önleme yöntemlerine ek olarak reaktör tasarımlarında yapılacak iyileştirmeler de inhibitör etkilerin azaltılmasına katkı sağlayarak sistem verimliliğini ve performansını artırmaktadır. Gao ve diğerleri (2024), asidojenik ve metanojenik aşamaların fiziksel olarak birbirinden ayrıldığı iki fazlı sistemlerin, VFA vb. Ara ürünlerin birikimini önleyerek AS sürecinin stabilitesini ve performansını artırdığını bildirmiştir. Zhang ve diğerleri (2024) ise, oksitleyici ajanlara maruz bırakılarak fonksiyonel grupları artırılan biyokömürün, yüksek amonyak konsantrasyonlarını tamponlayabildiğini ve metanojenik konsorsiyumları zenginleştirdiğini göstermiştir.

11.10. Ağır Metallerin ve Antibiyotiklerin Giderimi için İleri Yöntemler

Ağır metallerin ve antibiyotiklerin sistem üzerindeki inhibisyonunu azaltmak için de stratejiler geliştirilmiştir. Twizerimana ve diğerleri (2024), sisteme entegre edilecek gelişmiş adsorban materyallerin ağır metalleri kimyasal olarak bağlayabildiğini ve mikrobiyal toplulukların enzim aktivitelerine zarar vermesini engelleyerek toksik etkilerini azalttığını göstermiştir. Abdel-Shafy ve Mansour (2014) tarafından yapılan çalışmada Hg, Cd ve Cr(III)

gibi ağır metallerin metanojenik aktiviteyi inhibe ettiği ve metan üretimini %92'ye kadar azalttığı gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada, asidojenik aktivitenin de olumsuz yönde etkilendiği ve bunun sonucunda sistemde organik ara ürünlerin birikmesiyle birlikte metan üretim veriminin düştüğü gözlemlenmiştir.

11.11. Karşılaştırmalı Sistem Analizleri

İnhibisyon faktörlerinin etkisini azaltmak için geliştirilen tüm stratejilerin kontrol grupları ile karşılaştırmalı analizleri, bu yöntemler uygulandığında sistem performansının ve veriminin arttığını açıkça ortaya koymaktadır. Gao ve diğerleri (2024), biyokömür entegrasyonunun ve iki fazlı reaktör tasarımlarının uygulanmasının sindirim sistemlerinin stres koşulları altında metan üretimini %33–50 oranında artırdığını göstermiştir. Öte yandan, inhibisyon faktörlerinin etkisini azaltmak için hiçbir stratejinin uygulanmadığı sistemlerde stres koşulları altında metan üretiminin yaklaşık %60 oranında azaldığı gösterilmiştir (Rabii ve diğerleri, 2019). Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, mikrobiyal popülasyonların sayısının ve işlevselliğin korunmasının ve süreç dengesinin sürdürülmesinde performansın stabil bir şekilde korunmasında kritik bir rol oynadığını göstermektedir. Sonuç olarak, dengeli ve stres koşullarına dirençli bir mikrobiyal ekosistemin yukarıda verilen stratejiler aracılığıyla korunması, AS süreçlerinin kararlı ve kesintisiz bir şekilde devam etmesi ve metan üretim veriminin artırılabilmesi için kritik öneme sahiptir.

12. SONUÇ VE ÖNERİLER

AS, döngüsel ekonomiye katkı sağlama potansiyeli yüksek ve iklim değişikliğini yavaşlatma ve etkilerini azaltma hedeflerine hizmet eden, atıklardan enerji dönüşümünü sağlayan ve sürdürülebilirlik stratejisi olarak kullanılabilecek bir biyoteknolojidir. Sistem içerisinde bulunan mikrobiyal toplulukların yapısal ve fonksiyonel özellikleri, metan üretim verimliliği, sürecin inhibisyonuna sebep olabilecek faktörler, işletme koşulları ve optimizasyon stratejileri, literatüre dayalı bütünleşmiş bir bakış açısıyla incelenmiştir.

Bu tez çerçevesindeki çalışmalar, AS sürecindeki mikrobiyal biyolojik çeşitliliğin prosesin performansı için kritik öneme sahip olduğunu, bununla birlikte verimlilik açısından türler arasındaki iş birliği mekanizmalarının (örneğin, sentrofik etkileşim, DIET/MIET gibi elektron transfer mekanizmaları), operasyonel parametrelerin ve sistem tasarımının da aynı ölçüde önemli olduğunu göstermektedir. Mikrobiyal konsorsiyumlar arasındaki etkileşimlerin desteklenmesi, operasyonel ve biyolojik iyileştirme stratejileri, birlikte fermantasyon uygulamaları ve uygun ön işlem teknolojilerinin seçimi, süreç kararlılığı ve biyometan verim potansiyeli için birlikte değerlendirilmesi gereken parametreler haline gelmektedir.

Ayrıca, yukarıda bahsedilen operasyonel parametrelerin (pH, sıcaklık, OLR, HRT vb.) hassas bir şekilde gözlenmesi ve gerekli durumlarda bu parametrelerin iyileştirilmesi için müdahalelerin yapılması kesintisiz ve verimli bir sistem performansı için kilometre taşıdır. AS sürecinin sisteme dışarıdan gelen ya da süreç sırasında üretilen inhibatör faktörler sebebiyle sekteye uğraması metan üretim verimini olumsuz yönde etkiler. Bununla birlikte biyokimyasal süreçler sırasında ara ürünlerin (amonyak, VFAlar) yüksek konsantrasyonlarda birikmesi de metanojenik reaksiyonları engeller ve dolayısıyla sürecin performansını olumsuz etkiler. Bu tür etkileri azaltmak için, biyokömür veya benzeri katkı

maddelerinin uygulanması, reaktörlerin fazlarının fiziksel olarak ayrılması, ileri düzeyde izleme sistemlerinin AS süreçlerine entegrasyonu gibi stratejiler kullanılmaktadır.

Bu bilgilerin ışığında, gelecekteki araştırmalar aşağıdaki konulara odaklanmalıdır:

- Mikrobiyal toplulukların genetik mühendisliği ve konsorsiyum tasarımı; AS sistemlerinde bulunan mikrobiyal türlerin genetik mühendislik uygulamaları ile sistemde oluşabilecek stres faktörlerine karşı daha toleranslı ve yüksek verimle çalışabilecek hale getirilmesi, ayrıca sistemde eksikliği görülen belirli biyokimyasal görevleri üstlenecek sentetik mikrobiyal konsorsiyumların tasarlanarak sisteme inoküle edilmesi (eklenmesi), çevresel stres koşullarının varlığınsa bile sistem stabilitesinin korunabilmesi açısından büyük bir potansiyele sahip olacaktır.
- AS prosesinin gerçek zamanlı izlenmesi ve yapay zekâ entegrasyonu; Metagenomik profilleme ile anlık olarak mikrobiyal konsorsiyumlarda gerçekleşen değişimleri izleyen, yapay zekâ algoritmalarıyla sürecin optimizasyonuna olanak sağlayan sistemlerin geliştirilmesi, süreç kararlılığını artırmanın yanı sıra sistemde sekteye sebep olabilecek faktörlerin de önceden tahmin edilmesini sağlayacaktır.
- Ön işlem teknolojilerinin geliştirilmesi ve hibrit reaktör sistemlerinin hayata geçirilmesi; Ön işlemlerin (fiziksel, kimyasal, biyolojik, ısıl ve hibrit yöntemler) kombinasyonlarının geliştirilmesi ile lignoselülozik ve parçalanması zor diğer substratların sindirilebilirliğinin artırılması, bu yöntemle beraber çift fazlı reaktörlerin ve membran destekli reaktör sistemlerinin daha geniş uygulamalarla test edilmesi gerekmektedir.
- Quorum sensing mekanizmalarının sentetik yollarla uyarılması; Mikrobiyal popülasyonlar arası iletişim mekanizması olan QS'in uyarılması veya yönlendirilmesi ile mikrobiyal topluluklar arasındaki sinerjinin artırılması, özellikle metanojenik aktivitenin desteklenmesi sağlanabilir, bu açıdan açısından yenilikçi bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir.

- Sentetik elektron taşıyıcı materyallerin sisteme entegrasyonu; Fonksiyonel gruplarla zenginleştirilen biyokömür ve redoks-aktif nano-materyallerin sisteme eklenmesi ile mikrobiyal türler arası DIET ve MIET mekanizmalarının veriminin artırılabilir, özellikle yüksek yükleme oranlarında sistem verimliliğini sürdürülebilir kılabilir, bu sebeple çalışmaların potansiyel yeni materyalleri denemesi literatüre kıymetli bir katkı olacaktır.
- Biyometan kalitesinin artırılması ve son ürünlerin yönetimi; AS süreci sonucunda üretilen biyogazın saflığını düşüren CO_2 ve H_2S gibi maddelerden arındırılması için mikro alg bazlı sistemlerin, membran teknolojilerinin ve biyolojik saflaştırma stratejilerinin entegrasyonunun uygulanması, bununla birlikte sindirim çamurundan değerli yan ürünlerin (N, P gibi) geri kazanımı gibi konulara yoğunlaşılması, ekonomik ve çevresel katma değeri artıracaktır.
- İleri Yaşam Döngüsü Değerlendirmeleri (LCA) ve Politika Entegrasyonu; Geliştirilen sistemlerin çevresel ayak izinin azaltılmasındaki katkılarının LCA yöntemi kullanılarak değerlendirilmesi, bu yöntemlere ilişkin sağlam veri dizileri üretecektir. Bu, karar verme yetkisine sahip kurumlar ve politika yöneticileri için yeni bir parametre oluşturacak ve dolayısıyla bu tür sistemlerin çevresel ve finansal uygulama alanını artıracaktır.

Sonuç olarak, farklı disiplinlerde mevcut olan yöntem ve araçlar, AS sistemlerinin etkinliğini, dayanıklılığını, sağlamlığını ve sürdürülebilirliğini optimize etmek için yeni yaklaşımlar oluşturmak amacıyla tam bir entegrasyon içinde birleştirilmelidir. Böylece, sistem mühendisliğine mikrobiyal verilerin entegrasyonu, sadece biyogaz hacim verimini artırmaya hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda genel çevre yönetimine ve iklim hedeflerine ulaşılmasına da katkıda bulunur. Bu şekilde, AS sistemi, atık işleme tesisi ve iklim koruma için emisyon azaltım teknolojisi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanabilir.

KAYNAKLAR

Abdel-Shafy, H. I., Mansour, M. S. (2014). Biogas production as affected by heavy metals in the anaerobic digestion of sludge. *Egyptian Journal of Petroleum*, *23*(4), 409-417.

Ahmad, A., Yadav, A. K., Singh, A., Singh, D. K. (2024). A comprehensive machine learning-coupled response surface methodology approach for predictive modeling and optimization of biogas potential in anaerobic Co-digestion of organic waste. *Biomass and Bioenergy*, *180*, 106995.

Al-Zoubi, A. I., Alkhamis, T. M., Alzoubi, H. A. (2024). Optimized biogas production from poultry manure with respect to pH, C/N, and temperature. *Results in Engineering*, *22*, 102040.

Amha, Y. M., Anwar, M. Z., Brower, A., Jacobsen, C. S., Stadler, L. B., Webster, T. M., Smith, A. L. (2018). Inhibition of anaerobic digestion processes: applications of molecular tools. *Bioresource Technology*, *247*, 999-1014.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, *34*(6), 755-781.

Azarmanesh, R., Qaretapeh, M. Z., Zonoozi, M. H., Ghiasinejad, H., Zhang, Y. (2023). Anaerobic co-digestion of sewage sludge with other organic wastes: A comprehensive review focusing on selection criteria, operational conditions, and microbiology. *Chemical Engineering Journal Advances*, *14*, 100453.

Azman, S., Khadem, A. F., Van Lier, J. B., Zeeman, G., Plugge, C. M. (2015). Presence and role of anaerobic hydrolytic microbes in conversion of lignocellulosic biomass for biogas production. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *45*(23), 2523-2564.

Bachmann, N., la Cour Jansen, J., Bochmann, G., Montpart, N. (2015). *Sustainable biogas production in municipal wastewater treatment plants* (Vol. 20). Massongex, Switzerland: IEA bioenergy.

Bedoya, K., Hoyos, O., Zurek, E., Cabarcas, F., Alzate, J. F. (2020). Annual microbial community dynamics in a full-scale anaerobic sludge digester from a wastewater treatment plant in Colombia. *Science of The Total Environment*, *726*, 138479.

Bi, S., Hong, X., Yang, H., Yu, X., Fang, S., Bai, Y., ... Wang, Y. (2020). Effect of hydraulic retention time on anaerobic co-digestion of cattle manure and food waste. *Renewable Energy*, *150*, 213-220.

Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F. (2012). The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: a review. *Waste management*, *32*(9), 1634-1650.

Chen, J. L., Ortiz, R., Steele, T. W., Stuckey, D. C. (2014). Toxicants inhibiting anaerobic digestion: a review. *Biotechnology Advances*, *32*(8), 1523-1534.

Chen, S., Li, N., Dong, B., Zhao, W., Dai, L., Dai, X. (2018). New insights into the enhanced performance of high solid anaerobic digestion with dewatered sludge by thermal hydrolysis: organic matter degradation and methanogenic pathways. *Journal of Hazardous Materials*, *342*, 1-9.

Chen, Y., Cheng, J. J., Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource Technology*, *99*(10), 4044-4064.

Chen, Y., Rößler, B., Zielonka, S., Lemmer, A., Wonneberger, A. M., Jungbluth, T. (2014). The pressure effects on two-phase anaerobic digestion. *Applied Energy*, *116*, 409-415.

Cuetos, M. J., Gómez, X., Otero, M., Morán, A. (2010). Anaerobic digestion and co-digestion of slaughterhouse waste (SHW): influence of heat and pressure pre-treatment in biogas yield. *Waste Management*, *30*(10), 1780-1789.

De Vrieze, J., Verstraete, W. (2016). Perspectives for microbial community composition in anaerobic digestion: from abundance and activity to connectivity. *Environmental Microbiology*, *18*(9), 2797-2809.

Deepanraj, B., Sivasubramanian, V., Jayaraj, S. (2015). Experimental and kinetic study on anaerobic digestion of food waste: The effect of total solids and pH. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, *7*(6), 1-12.

Gao, Q., Zhang, Y., Li, L., Zhou, H., Wang, K., Ding, J., ... Zhao, Q. (2024). The stress of bioactive compounds on microbes in anaerobic digestion of food waste and mitigation strategies: A critical review. *Chemical Engineering Journal*, 152746.

Gao, Q., Zhao, Q., Wang, K., Li, X., Zhou, H., Ding, J., Li, L. (2024). Promoting methane production during anaerobic digestion with biochar: Is it influenced by quorum sensing? *Chemical Engineering Journal*, *483*, 149268.

González, R., Peña, D. C., Gómez, X. (2022). Anaerobic co-digestion of wastes: reviewing current status and approaches for enhancing biogas production. *Applied Sciences*, *12*(17), 8884.

Guo, J., Peng, Y., Wang, S., Zheng, Y., Huang, H., Wang, Z. (2009). Long-term effect of dissolved oxygen on partial nitrification performance and microbial community structure. *Bioresource Technology*, *100*(11), 2796-2802.

Guo, Q., Majeed, S., Xu, R., Zhang, K., Kakade, A., Khan, A., ... Li, X. (2019). Heavy metals interact with the microbial community and affect biogas production in anaerobic digestion: A review. *Journal of Environmental Management*, *240*, 266-272.

Hassa, J., Maus, I., Off, S., Pühler, A., Scherer, P., Klocke, M., Schlüter, A. (2018). Metagenome, metatranscriptome, and metaproteome approaches unraveled compositions and functional relationships of microbial communities residing in biogas plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *102*, 5045-5063.

Honcharuk, I., Tokarchuk, D., Gontaruk, Y., Kolomiiets, T. (2024). Production and use of biogas and biomethane from waste for climate neutrality and development of green economy. *Journal of Ecological Engineering*, *25*(2), 20-32.

Ibro, M. K., Ancha, V. R., Lemma, D. B. (2022). Impacts of anaerobic co-digestion on different influencing parameters: A critical review. *Sustainability*, *14*(15), 9387.

Jeong, K., Abbas, A., Shin, J., Son, M., Kim, Y. M., Cho, K. H. (2021). Prediction of biogas production in anaerobic co-digestion of organic wastes using deep learning models. *Water Research*, *205*, 117697.

Jiang, W., Jiang, Y., Tao, J., Luo, J., Xie, W., Zhou, X., ... Ye, Y. (2024). Enhancement of methane production from anaerobic co-digestion of food waste and dewatered sludge by thermal, ultrasonic and alkaline technologies integrated with protease pretreatment. *Bioresource Technology*, *411*, 131357.

Kainthola, J., Kalamdhad, A. S., Goud, V. V. (2019). A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques. *Process Biochemistry*, *84*, 81-90.

Karki, R., Chuenchart, W., Surendra, K. C., Shrestha, S., Raskin, L., Sung, S., ... Khanal, S. K. (2021). Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*, *330*, 125001.

Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management*, *31*(8), 1737-1744.

Kim, D., Lee, K., Park, K. Y. (2015). Enhancement of biogas production from anaerobic digestion of waste activated sludge by hydrothermal pre-treatment. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *101*, 42-46.

Kondusamy, D., Kalamdhad, A. S. (2014). Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production–A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *2*(3), 1821-1830.

Krohn, C., Khudur, L., Dias, D. A., Van den Akker, B., Rees, C. A., Crosbie, N. D., ... Ball, A. S. (2022). The role of microbial ecology in improving the performance of anaerobic digestion of sewage sludge. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 1079136.

Le Pera, A., Sellaro, M., Pellegrino, C., Limonti, C., Siciliano, A. (2024). Combined Pre-Treatment Technologies for Cleaning Biogas before Its Upgrading to Biomethane: An Italian Full-Scale Anaerobic Digester Case Study. *Applied Sciences*, *14*(5), 2053.

Leite, W. R. M., Magnus, B. S., de Moraes, B. A. B., Kato, M. T., Florencio, L., da Costa, R. H. R., Belli Filho, P. (2023). Mesophilic anaerobic digestion of waste activated sludge in an intermittent mixing reactor: Effect of hydraulic retention time and organic loading rate. *Journal of Environmental Management*, *338*, 117839.

Li, A. H., Zhang, B. C., He, Z. W., Tang, C. C., Zhou, A. J., Ren, Y. X., ... Liu, W. (2024). Roles of quorum-sensing molecules in methane production from anaerobic digestion aided by biochar. *Journal of Environmental Management*, *366*, 121867.

Li, P., Zhao, H., Cheng, C., Hou, T., Shen, D., Jiao, Y. (2024). A review on anaerobic co-digestion of sewage sludge with other organic wastes for methane production: Mechanism, process, improvement and industrial application. *Biomass and Bioenergy*, *185*, 107241.

Li, X., Wang, Z., He, Y., Wang, Y., Wang, S., Zheng, Z., ... Ying, H. (2024). A comprehensive review of the strategies to improve anaerobic digestion: their mechanism and digestion performance. *Methane*, *3*(2), 227-256.

Li, Y., Chen, Y., Wu, J. (2019). Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. *Applied Energy*, *240*, 120-137.

Lima, D., Appleby, G., Li, L. (2023). A scoping review of options for increasing biogas production from sewage sludge: challenges and opportunities for enhancing energy self-sufficiency in wastewater treatment plants. *Energies*, *16*(5), 2369.

Lindner, J., Zielonka, S., Oechsner, H., Lemmer, A. (2015). Effect of different pH-values on process parameters in two-phase anaerobic digestion of high-solid substrates. *Environmental Technology*, *36*(2), 198-207.

Lu, X., Zhang, X. X., Wang, Z., Huang, K., Wang, Y., Liang, W., ... Tang, J. (2015). Bacterial pathogens and community composition in advanced sewage treatment systems revealed by metagenomics analysis based on high-throughput sequencing. *PLoS One*, *10*(5), e0125549.

Mao, C., Feng, Y., Wang, X., Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *45*, 540-555.

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M. S., Fonoll, X., Peces, M., Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *36*, 412-427.

Meegoda, J. N., Li, B., Patel, K., Wang, L. B. (2018). A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *15*(10), 2224.

Molino, A., Nanna, F., Ding, Y., Bikson, B., Braccio, G. (2013). Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. *Fuel*, *103*, 1003-1009.

Musa, M. A., Idrus, S., Hasfalina, C. M., Daud, N. N. N. (2018). Effect of organic loading rate on anaerobic digestion performance of mesophilic (UASB) reactor using cattle slaughterhouse wastewater as substrate. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *15*(10), 2220.

Mutungwazi, A., Ijoma, G. N., Matambo, T. S. (2021). The significance of microbial community functions and symbiosis in enhancing methane production during anaerobic digestion: a review. *Symbiosis*, *83*(1), 1-24.

Neumann, P., Pesante, S., Venegas, M., Vidal, G. (2016). Developments in pre-treatment methods to improve anaerobic digestion of sewage sludge. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *15*, 173-211.

Newhart, K. B., Holloway, R. W., Hering, A. S., Cath, T. Y. (2019). Data-driven performance analyses of wastewater treatment plants: A review. *Water Research*, *157*, 498-513.

Nguyen, L. N., Kumar, J., Vu, M. T., Mohammed, J. A., Pathak, N., Commault, A. S., ... Nghiem, L. D. (2021). Biomethane production from anaerobic co-digestion at wastewater treatment plants: A critical review on development and innovations in biogas upgrading techniques. *Science of The Total Environment*, *765*, 142753.

Nguyen, L. N., Nguyen, A. Q., Nghiem, L. D. (2019). Microbial community in anaerobic digestion system: Progression in microbial ecology. *Water and Wastewater Treatment Technologies*, 331-355.

Nie, E., He, P., Zhang, H., Hao, L., Shao, L., Lü, F. (2021). How does temperature regulate anaerobic digestion? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *150*, 111453.

Noguera-Oviedo, K., Aga, D. S. (2016). Chemical and biological assessment of endocrine disrupting chemicals in a full scale dairy manure anaerobic digester with thermal pretreatment. *Science of the Total Environment*, *550*, 827-834.

Noutsopoulos, C., Mamais, D., Antoniou, K., Avramides, C., Oikonomopoulos, P., Fountoulakis, I. (2013). Anaerobic co-digestion of grease sludge and sewage sludge: the effect of organic loading and grease sludge content. *Bioresource Technology*, *131*, 452-459.

Pan, X., Zhao, L., Li, C., Angelidaki, I., Lv, N., Ning, J., ... Zhu, G. (2021). Deep insights into the network of acetate metabolism in anaerobic digestion: focusing on syntrophic acetate oxidation and homoacetogenesis. *Water Research*, *190*, 116774.

Płaza, G., Jałowiecki, Ł., Głowacka, D., Hubeny, J., Harnisz, M., Korzeniewska, E. (2021). Insights into the microbial diversity and structure in a full-scale municipal wastewater treatment plant with particular regard to Archaea. *PLoS One*, *16*(4), e0250514.

Qin, Y., Zhu, A., Wu, J., Li, L., Hojo, T., Kubota, K., Li, Y. Y. (2024). Mass flow and microbial shifts in recirculated two-phase anaerobic digestion for biohythane production: Effect of hydraulic retention time. *Journal of Cleaner Production*, *468*, 143092.

Rabii, A., Aldin, S., Dahman, Y., Elbeshbishy, E. (2019). A review on anaerobic co-digestion with a focus on the microbial populations and the effect of multi-stage digester configuration. *Energies*, *12*(6), 1106.

Rajendran, K., Mahapatra, D., Venkatraman, A. V., Muthuswamy, S., Pugazhendhi, A. (2020). Advancing anaerobic digestion through two-stage processes: Current developments and future trends. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *123*, 109746.

Ramadhani, L. I., Damayanti, S. I., Sudibyo, H., Azis, M. M., Budhijanto, W. (2021). The Impact of Hydraulic Retention Time on the Biomethane Production from Palm Oil Mill Effluent (POME) in Two-Stage Anaerobic Fluidized Bed Reactor. *International Journal of Renewable Energy Development*, *10*(1).

Ravi, P. P., Lindner, J., Oechsner, H., Lemmer, A. (2018). Effects of target pH-value on organic acids and methane production in two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. *Bioresource Technology*, *247*, 96-102.

Romero-Güiza, M. S., Vila, J., Mata-Alvarez, J., Chimenos, J. M., Astals, S. (2016). The role of additives on anaerobic digestion: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *58*, 1486-1499.

Salama, E. S., Saha, S., Kurade, M. B., Dev, S., Chang, S. W., Jeon, B. H. (2019). Recent trends in anaerobic co-digestion: Fat, oil, and grease (FOG) for enhanced biomethanation. *Progress in Energy and Combustion Science*, *70*, 22-42.

Shrestha, S., Fonoll, X., Khanal, S. K., Raskin, L. (2017). Biological strategies for enhanced hydrolysis of lignocellulosic biomass during anaerobic digestion: current status and future perspectives. *Bioresource Technology*, *245*, 1245-1257.

Siddique, M. N. I., Wahid, Z. A. (2018). Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. *Journal of Cleaner Production*, *194*, 359-371.

Skiadas, I. V., Gavala, H. N., Lu, J., Ahring, B. K. (2005). Thermal pre-treatment of primary and secondary sludge at 70 C prior to anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, *52*(1-2), 161-166.

Solé-Bundó, M., Passos, F., Romero-Güiza, M. S., Ferrer, I., Astals, S. (2019). Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *112*, 471-482.

Solli, L., Håvelsrud, O. E., Horn, S. J., Rike, A. G. (2014). A metagenomic study of the microbial communities in four parallel biogas reactors. *Biotechnology for Biofuels*, *7*, 1-15.

Su, K., Li, L., Wang, Q., Cao, R. (2023). A review on the interspecies electron transfer of methane production in anaerobic digestion system. *Fermentation*, *9*(5), 467.

Sun, S. J., Wang, F., He, Z. W., Tang, C. C., Zhou, A. J., Ren, Y. X., ... Liu, W. (2024). Biochar alleviates inhibition effects of humic acid on anaerobic digestion: Insights to performances and mechanisms. *Environmental Research*, *259*, 119537.

Tariq, M., Mehmood, A., Abbas, Y., Rukh, S., Shah, F. A., Hassan, A., ... Yun, S. (2024). Digestate quality and biogas enhancement with laterite mineral and biochar: Performance and mechanism in anaerobic digestion. *Renewable Energy*, *220*, 119703.

Twizerimana, P., Wu, Y. (2024). Overview of integrated electrocoagulation-adsorption strategies for the removal of heavy metal pollutants from wastewater. *Discover Chemical Engineering*, *4*(1), 14.

Uddin, M. M., Wright, M. M. (2023). Anaerobic digestion fundamentals, challenges, and technological advances. *Physical Sciences Reviews*, *8*(9), 2819-2837.

Ünyay, H., Yılmaz, F., Başar, İ. A., Perendeci, N. A., Çoban, I., Şahinkaya, E. (2022). Effects of organic loading rate on methane production from switchgrass in batch and semi-continuous stirred tank reactor system. *Biomass and Bioenergy*, *156*, 106306.

Valo, A., Carrère, H., Delgenès, J. P. (2004). Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, *79*(11), 1197-1203.

Venkiteshwaran, K., Bocher, B., Maki, J., Zitomer, D. (2015). Relating anaerobic digestion microbial community and process function: supplementary issue: water microbiology. *Microbiology Insights*, *8*, MBI-S33593.

Wang, P., Wang, H., Qiu, Y., Ren, L., Jiang, B. (2018). Microbial characteristics in anaerobic digestion process of food waste for methane production–A review. *Bioresource Technology*, *248*, 29-36.

Wang, X., Xia, Y., Wen, X., Yang, Y., Zhou, J. (2014). Microbial community functional structures in wastewater treatment plants as characterized by GeoChip. *PLoS One*, *9*(3), e93422.

Wu, L. J., Kobayashi, T., Kuramochi, H., Li, Y. Y., Xu, K. Q., Lv, Y. (2018). High loading anaerobic co-digestion of food waste and grease trap waste: Determination of the limit and lipid/long chain fatty acid conversion. *Chemical Engineering Journal*, *338*, 422-431.

Xu, R. Z., Fang, S., Zhang, L., Huang, W., Shao, Q., Fang, F., ... Luo, J. (2021). Distribution patterns of functional microbial community in anaerobic digesters under different operational circumstances: A review. *Bioresource Technology*, *341*, 125823.

Xu, R., Yang, Z. H., Zheng, Y., Liu, J. B., Xiong, W. P., Zhang, Y. R., ... Fan, C. Z. (2018). Organic loading rate and hydraulic retention time shape distinct ecological networks of anaerobic digestion related microbiome. *Bioresource Technology*, *262*, 184-193.

Yadav, T. C., Khardenavis, A. A., Kapley, A. (2014). Shifts in microbial community in response to dissolved oxygen levels in activated sludge. *Bioresource Technology*, *165*, 257-264.

Yang, J., Zhang, J., Du, X., Gao, T., Cheng, Z., Fu, W., Wang, S. (2025). Ammonia inhibition in anaerobic digestion of organic waste: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *22*(5), 3927-3942.

Ye, W., Li, L., Tang, Z., Peng, Y., Yang, P., Peng, X., Zhen, F. (2024). Biochar and modified magnetic biochar enhanced anaerobic digestion of swine wastewater under ammonia stress: Performance and microbial dynamics. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *12*(2), 111969.

Yenigün, O., Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review. *Process Biochemistry*, *48*(5-6), 901-911.

You, J., Farghali, M., Osman, A. I., Yoshida, G., Ihara, I. (2024). Mechanisms of biochar-mediated reduction of antibiotic-resistant bacteria and biogas production enhancement in anaerobic digesters. *Biochemical Engineering Journal*, *211*, 109465.

Zhang, B., Wang, G., Zhang, X., Fu, P., Chen, L., Chen, Y., ... Chen, R. (2024). Regulatory mechanisms of biochar alleviating ammonia inhibition to methanogenesis during long-term operation of anaerobic membrane bioreactor treating swine wastewater. *Chemical Engineering Journal*, *493*, 152591.

Zhang, B., Yu, Q., Yan, G., Zhu, H., Xu, X. Y., Zhu, L. (2018). Seasonal bacterial community succession in four typical wastewater treatment plants: correlations between core microbes and process performance. *Scientific Reports*, *8*(1), 4566.

Zhang, L., Gu, J., Wang, X., Zhang, R., Tuo, X., Guo, A., Qiu, L. (2018). Fate of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements during anaerobic co-digestion of Chinese medicinal herbal residues and swine manure. *Bioresource Technology*, *250*, 799-805.

Zhang, L., Loh, K. C., Lim, J. W., Zhang, J. (2019). Bioinformatics analysis of metagenomics data of biogas-producing microbial communities in anaerobic digesters: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *100*, 110-126.

Zhang, L., Shen, Z., Fang, W., Gao, G. (2019). Composition of bacterial communities in municipal wastewater treatment plant. *Science of the Total Environment*, *689*, 1181-1191.

Zhang, L., Tsui, T. H., Tong, Y. W., Aggarangsi, P., Liu, R. (2024). Applying current-carrying-coil-based magnetic field (CCC-MF) to promote anaerobic digestion of chicken manure: performance evaluation, mitigation of ammonia inhibition, microbial community analysis, and pilot-scale validation. *Energy Conversion and Management*, *300*, 117908.

Zhang, Y., Li, C., Yuan, Z., Wang, R., Angelidaki, I., Zhu, G. (2023). Syntrophy mechanism, microbial population, and process optimization for volatile fatty acids metabolism in anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*, *452*, 139137.

Zhao, Z. J., Liu, X. L., Wang, Y. X., Wang, Y. S., Shen, J. Y., Pan, Z. C., Mu, Y. (2024). Material and microbial perspectives on understanding the role of biochar in mitigating ammonia inhibition during anaerobic digestion. *Water Research*, *255*, 121503.

Zhu, X., Campanaro, S., Treu, L., Kougias, P. G., Angelidaki, I. (2019). Novel ecological insights and functional roles during anaerobic digestion of saccharides unveiled by genome-centric metagenomics. *Water Research*, *151*, 271-279.

Zielińska, M., Cydzik-Kwiatkowska, A. (2024). Effect of emerging micropollutants on the anaerobic digestion of sewage sludge. *Energies*, *17*(5), 1033.

Ziganshin, A. M., Liebetrau, J., Pröter, J., Kleinsteuber, S. (2013). Microbial community structure and dynamics during anaerobic digestion of various agricultural waste materials. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *97*, 5161-5174.

Ziganshina, E. E., Ibragimov, E. M., Vankov, P. Y., Miluykov, V. A., Ziganshin, A. M. (2017). Comparison of anaerobic digestion strategies of nitrogen-rich substrates: performance of anaerobic reactors and microbial community diversity. *Waste Management, 59*, 160-171.



Gazili Olmak Ayrıcalıktır