

## **Rumen Sıvısının Aşısı Olarak Kullanıldığı Büyükbaş Hayvan Dışkısı İle İşletilen Anaerobik Çürütücülerde Asidifikasyon Veriminin İncelenmesi**

Gülşah Günel<sup>1</sup>, Orhan İnce<sup>2</sup>, E. Gözde Özbayram<sup>2</sup>, Çağrı Akyol<sup>1</sup>,  
Bahar İnce<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Boğaziçi Üniversitesi, Çevre Bilimleri Enstitüsü, 34342 İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>İstanbul Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 34469 İstanbul, Türkiye

### **Özet**

Hayvan dışkısından biyogaz geri kazanımı anaerobik çürütücülerin en önemli uygulamalarından biridir. Bu sistemlerde yüksek selüloz ve lignin içeriği, hidroliz aşamasında hız kısıtlamasına sebep olmaktadır. Hidroliz ve asidifikasyon verimlerinin artırılması, biyometan üretimini önemli ölçüde artırmaktadır. Rumen bakterilerinin yüksek selüloolitik aktiviteleri, büyükbaş hayvan dışkısı gibi lignoselülozik atıkların anaerobik çürütücülerdeki arıtımında bir avantaj oluşturmaktadır. Bu çalışmada, büyükbaş hayvan midelerinden alınan rumen sıvısının aşısı olarak kullanıldığı büyükbaş hayvan dışkısı ile işletilen anaerobik çürütücülerde, farklı oranlarda kullanılan aşının hidroliz ve asidifikasyon verimlerine etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır. Uçucu yağ asidi (UYA) üretiminin en yüksek olduğu optimum karıştırma oranının tespit edilmesi amacıyla, rumen sıvısı ile büyükbaş hayvan dışkısı farklı karıştırma

oranlarında (%0, %10, %20, %30, %40, %50, %100) 100 mL'lik serum şişelerinde 4 paralelli olarak hazırlanmış ve 40 °C'de inkübe edilmiştir. Bununla birlikte, günlük olarak gaz ölçümleri manometre ile yapılmış, her 10 günde bir paralel şişelerden biri açılarak numune alınmış ve pH, toplam katı madde (TKM), toplam uçucu katı madde (TUKM), toplam Kjeldahl azotu (TKN) ve UYA (uçucu yağ asidi) miktarları tayin edilmiştir. Bu çalışmada en yüksek asidifikasyon verimi %40 rumen sıvısı içeren deney setinde (R5) elde edilmiştir. Deney setlerinde TUKM/TKM oranları %80-85 arasında değişirken, sadece rumen ile işletilen R7(%100) setinde bu oran %50 mertebesinde kalmıştır. En yüksek UYA üretimi 6700 mg asetik asit/L ile R5 (%40)'te elde edilmiştir. Rumen sıvısının aşı çamuru olarak kullanıldığı anaerobik sistemlerde, rumen sıvısının asidifikasyon verimi üzerine olumlu yönde etkisi olduğu görülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** Anaerobik çürütücü, asidifikasyon, büyükbaş hayvan dışkısı, rumen sıvısı

## **Investigation The Acidification Yield Of Anaerobic Digesters Operating With Cattle Manure By Rumen Fluid**

### **Abstract**

Biogas production from animal manure is one of the most important applications of anaerobic digesters. High cellulose and lignin content of animal manure limit the hydrolysis phase. An enhancement in the yield of hydrolysis and acidification phases increases

the biomethane production substantially. Rumen bacteria which reside in the digestive system of herbivores are indicated as an alternative solution to this case. In this study, it was aimed to investigate the effect of the rumen fluid taken from the digestive tract of cattle on the hydrolysis and acidification yields in the anaerobic digesters fed with animal manure. In order to detect the maximum volatile fatty acid production conditions, rumen fluid-cattle manure mixture were prepared at 7 different mixing ratios (0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 100 %) in 100 ml serum bottles with 4 replicates and were incubated at 40 °C. Biogas production was measured by manometer daily and samples were taken from parallel bottle every 10 days in order to measure pH, total solids (TS), total volatile solids (TVS), total Kjeldahl nitrogen (TKN) and VFA concentrations. In this study, the highest acidification rate was found in the set of R5 (included 40% of rumen fluid). In the experimental sets; TS/VS rates were found between 80-85%, but this rate was found as 50% in R7 (100%) which included only rumen fluid. Maximum VFA production was obtained in R5 (40%) as 6700 mg acetic acid/L. The results indicated that the using of rumen fluid as seed in anaerobic digesters had significant effect on acidification yield.

**Keywords:** Anaerobic digester, asidification, cattle manure, ruminal fluid

## 1. Giriş

Tarımsal faaliyetler ve gıda endüstrisi gibi aktiviteler sonucu açığa çıkan büyükbaş hayvan dışkıları uygun bir şekilde bertaraf

edilmediğinde, toprak, hava ve su kirliliğine yol açmaktadır. (Holm-Nielsen vd., 2009). Son yıllarda hızla tükenen fosil enerji kaynaklarından dolayı öne çıkan alternatif yenilenebilir enerji kaynakları arasında yer alan anaerobik çürütücüler, büyükbaş hayvan dışkısı gibi organik atıklardan biyogaz eldesi sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ülkemizin hayvancılık ve tarım alanlarındaki yüksek potansiyeli sebebiyle, önemli bir biyokütle kaynağı olarak kabul edilen hayvan dışkısının anaerobik çürütücülerde arıtımı sonucunda elde edilen biyogaz, yenilenebilir enerji kaynakları içerisinde önemli bir alternatif oluşturmaktadır (Akyol vd., 2015).

Hayvan dışkısından anaerobik koşullarda enerji eldesinde en önemli problem, hidroliz aşamasında hız kısıtlamasına sebep olabilen selülozlu maddelerdir. Bu maddeler, anaerobik çürütücülerin performansını olumsuz etkileyerek çürütücülerdeki biyometan üretimini düşürmektedir. Bu nedenle, hidroliz ve asidifikasyon hızlarının artırılması, proste bir sonraki adım olan biyometan üretimini önemli ölçüde artırmaktadır (Akyol vd., 2014). Bu soruna alternatif bir çözüm olarak, otçul hayvanların sindirim sisteminde bulunan rumen bakterileri gösterilmektedir. Otçul hayvanlar, bitkilerdeki selülozik maddeleri sindirim sistemlerindeki mikrobiyal popülasyonun simbiyotik ilişkisi sonucunda fermantasyonla uçucu yağ asitlerine (UYA) dönüştürerek enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Forsberg vd., 1997). Rumen mikroflora ve faunası ile tipik anaerobik çürütücü prosesleri, pH ve sıcaklık gibi çevresel koşullar açısından oldukça benzerdir. Örneğin sıcaklık değeri rumen için 39 °C iken anaerobik çürütücüler için 15-55 °C arasında değişir, bunun yanı sıra pH değeri rumen için 5,5-7,0 arasında değişirken anaerobik çürütücülerde ise 6,5-7,5 arasındadır (Bayane vd., 2011). Rumen bakterilerinin yüksek selüloolitik aktiviteleri, büyükbaş hayvan dışkısı gibi lignoselülozik atıkların anaerobik çürütücülerdeki arıtımında bir avantaj oluşturmaktadır (Quintero vd., 2012).

Bu çalışmada, büyükbaş hayvan midelerinden alınan rumen sıvısının aşı olarak kullanıldığı büyükbaş hayvan dışkısı ile

işletilen anaerobik çürütücülerde, farklı oranlarda kullanılan aşının hidroliz ve asidifikasyon verimlerine etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

## **2. Materyal ve Metot**

Çalışmada kullanılan rumen sıvısı ve dışkı numuneleri İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi çiftliğinden temin edilmiştir. Rumen sıvısı 4 yaşında ve 400 kg ağırlığındaki ilaç verilmeyen düve midesinde sonda metodu ile İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından verilen 29/07/2013 ve 2013/85 no'lu Etik Kurul belgesi kapsamında alınmış, dışkı numunesi günlük toplanmıştır. Rumen sıvısı ve büyükbaş hayvan dışkısı farklı karıştırma oranlarında R1 (%0, sadece dışkı), R2 (%10 rumen), R3 (%20 rumen), R4 (%30 rumen), R5 (%40 rumen), R6 (%50 rumen), R7 (%100 rumen); 80 mL aktif hacimle 100 mL'lik serum şişelerinde 4 paralelli olarak hazırlanmış ve 40 °C'de inkübe edilmiştir. Çürütücüler, bileşenler eklendikten sonra azot gazı ile yıkanarak anaerobik koşullar sağlanmıştır.

### **2.1. Analitik Metotlar**

Belirli aralıklarla paralel şişelerden biri açılarak numune alınıp toplam katı madde (TKM), toplam uçucu katı madde (TUKM) ve toplam Kjeldahl azotu (TKN) parametreleri ölçülmüştür (APHA 1999). UYA ölçümü için numuneler önce 0,45 µm'lik, sonra 0,22 µm'lik filtrelerden süzölmüş ve 1:10 oranında 10 N fosforik asit eklenmiştir. UYA analizi Elite-FFAP kolonunun (30 m x 0.32 mm) kullanıldığı Perkin Elmer Clarus 600 gaz kromatografi cihazında gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklık programı, 100 °C'de 2 dakika bekleme süresi ardından 240 °C'e kadar dakikada 8 °C artış olarak belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. UYA analizinde asetik, bütrik ve propionik asite bakılmış, sonuçlar asetik asit cinsinden sunulmuştur. C/N oranı, ECS 4010 model Elemental yakma cihazı Costech CHNS-O (ABD) ile tayin

edilmiştir. Günlük olarak gaz ölçümleri PM-9107 model manometre, gaz kompozisyonu ise gaz kromatografi cihazı GC-2014 Shimadzu ile belirlenmiştir (Akyol vd., 2014). pH değişimi HANNA HI 221 pH metresi kullanılarak takip edilmiştir.

### 3. Bulgular ve Tartışma

İnkübasyon süresi boyunca deney setlerinde pH 5,3-7,18 arasında ölçülmüştür (Çizelge 3.1.). Çalışmanın başlatıldığı ve sonlandırıldığı günler arasında alınan numuelerde pH değerinde UYA üretimine bağlı olarak düşüş meydana gelmiştir. Kübler and Schertler (1994) tarafından yürütülen çalışmada oksijensiz çürütmede en elverişli pH değeri 6.7 olarak saptanmıştır. Cooney ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2007), asidojenlerin düşük pH değerlerinde (pH=5-6) daha aktif oldukları ve UYA üretiminin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Çalışmada ölçülen pH değerlerinin asit üretimi için uygun olduğu görülmüştür.

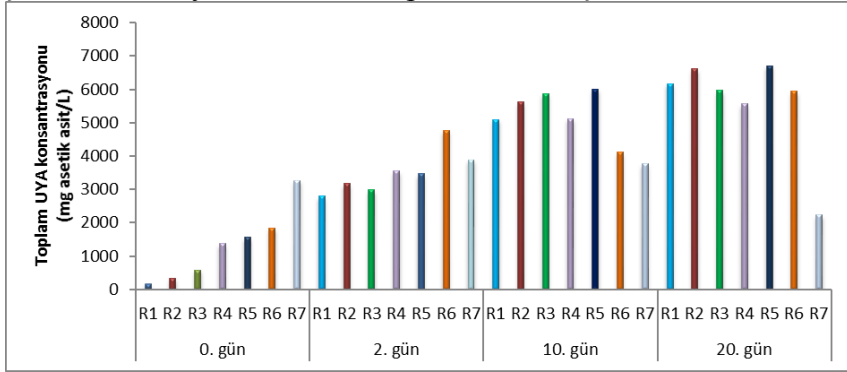
Çizelge 3.1. Deney setlerine ait pH ölçümleri

	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>	<b>R7</b>
<b>0.gün</b>	6,45	6,2	6,25	6,02	5,96	5,72	6,28
<b>2.gün</b>	6,23	6,15	6,18	5,84	5,83	5,68	6,58
<b>10.gün</b>	5,46	5,51	5,42	5,55	5,51	5,47	6,72
<b>20.gün</b>	5,34	5,51	5,37	5,42	5,41	5,44	7,18

TUKM/TKM oranı için en yüksek değer R1(%0)'de yani içinde sadece hayvan dışkısı olan sette ölçülmüş olup, %80-85 olarak bulunmuştur. Sadece rumen sıvısı ile işletilen R7(%100) setinde ise bu oran %50 mertebesinde kalmıştır.

Rumen sıvısının hayvan dışkısındaki oranı arttıkça, UYA üretiminde de artış görülmüş, sadece R6(%50) oranında rumen içeren deney setinden sonra substrat eksikliği nedeniyle verim azalmıştır. UYA sonuçlarına göre, en yüksek UYA üretimi 6700 mg asetik asit/L ile R5 (%40)'te en düşük ise 2229 mg asetik asit/L ile R7 (%100)'de elde edilmiştir (Şekil 3.1).

Şekil 3.1 Deney setlerine ait Toplam UYA ölçümleri



Rumen sıvısının hayvan dışındaki oranı arttıkça, UYA üretiminde de artış görülmüş, sadece (R6) %50 oranında rumen sıvısı içeren deney setinden sonra substrat eksikliği nedeniyle verim azalmıştır. Başlangıç gününde setler arasında en düşük UYA üretimi R1’de 156 mg asetik asit/L olarak ölçülürken R7’de 3226 mg asetik asit/L olarak belirlenmiştir. Çalışmanın son gününde alınan örneklerde ise UYA değeri R1 setinde 6167 mg asetik asit/L , R7 setinde 2229 mg asetik asit/L olarak ölçülmüştür. UYA üretimleri ve pH değerleri ele alındığında; pH değeri düştükçe UYA üretimi artışı gözlemlenmiştir. R1(%0) setinde ilk gün ve son gün alınan numunelerde pH değerleri sırasıyla 6,45-5,34 olarak, UYA konsantrasyonu ise 156-6167 mg asetik asit/L olarak tespit edilmiştir. UYA sonuçlarına göre, en yüksek UYA üretimi 6700 mg asetik asit/L ile R5 (%40)’te en düşük ise 2229 mg asetik asit/L ile R7 (%100)’de elde edilmiştir. R7 setinde ise pH değerleri 6,28-7,18 olarak, UYA üretimi 3226-2229 mg asetik asit/L olarak ölçülmüştür. Bulgular Yılmaz ve Demirel (2008)’in çalışmaları ile uyumlu olup, tüm çürütücülerde ana UYA ürünlerinin, asetik asit, kaproik, heptanoik, propiyonik asit ve butirik asit olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek UYA üretiminin gözlemlendiği R5(%40)’de ilk gün ile son gün ölçülen değerler arasında %330’luk bir artış görülmüştür.

Asidik şartlar altında işletilen bu çürütücülerde üretilen gaz ölçümleri günlük olarak takip edilmiş ve numune günlerinde GC ile gaz kompozisyonuna bakılmıştır. Beklendiği üzere, gaz üretimi çok düşük miktarlarda olup, üretilen gaz içindeki metan oranı tüm çürütücülerde %7-10 arasında ölçülmüştür. Literatüre baktığımızda Nopharatana vd. (2014) yaptığı çalışmalarda ise mikrobiyal büyümenin durağan fazı nedeni ile ilk 10 gün gaz üretimi oldukça yavaş olmuş ya da hiç olmamıştır. Literatürde bulunan diğer çalışmalarla kıyaslandığında rumen sıvısının asidifikasyon hızını pozitif yönde etkilediği görülmüştür. Castillo vd. (1995) yaptığı benzer çalışmada da %50 rumen sıvısı içeren setin rumen sıvısı içermeyen sete göre daha yüksek gaz ürettiği gözlemlenmiştir. Yirminci günün sonunda toplam gaz üretimi açısından setler arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Richard ve Wilkie (1996), anaerobik bakterilerin lignin ve diğer hidrokarbonları çok yavaş çürüttüklerini ya da hiç çürütmediklerini ortaya koymuştur. Gaz üretim hızı genel olarak sigmoid fonksiyonu (S eğrisi) eğilimi göstermektedir (Budinyo vd.,2014). Yine Budinyo vd. (2010) tarafından yürütülen benzer çalışmada farklı oranda karıştırılan rumen sıvısı ile büyükbaş hayvan dışkılarıyla kurulan deney düzenekleri, oda sıcaklığı ve 38.5<sup>0</sup>C’de inkübe edilmiştir. Bu çalışmada gaz üretimi için en iyi performans rumen sıvısı ve TUKM içeriği sırasıyla %25-50 ve % 7- 9 arasında ölçülen çürütücülerde elde edilmiştir. Buna ek olarak literatürde gaz üretimi için en iyi performansın %12.5-50 arasında (Dennis vd., 2015) ve %20-30 arasında (F.Cameiro vd., 2008) olduğu gözlemlenmiştir. UYA üretimine paralel olarak en düşük gaz miktarı da yine R7’de gözlemlenmiştir. Literatürde, asidifikasyon fazında işletilen çürütücülerdeki metan veriminin düşük ve üretilen gazın yaklaşık olarak %5-15’inin metan olduğu belirtilmiştir (Cooney, 2007).



#### **4. Sonuç**

Bu çalışmada; rumen sıvısının aşı çamuru olarak kullanılmak sureti ile asidifikasyon verimi üzerine etkisi bir dizi laboratuvar deneyi yapılarak incelenmiştir. En iyi performans %40 rumen sıvısı içeren deney setinde elde edilmiştir. Substrat eksikliğine bağlı olarak sadece rumen sıvısı ile işletilen R7 (%100) setinde asidifikasyon verimi açısından önemli bir gelişme olmadığı görülmüştür. Tüm deney setlerinde asetik asit ana asidifikasyon ürünü olarak elde edilmiştir. Hidroliz ve asidifikasyon veriminin artması ile biyometan üretiminin önemli ölçüde arttırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmada, rumen sıvısının asidifikasyon verimini arttırdığı görülmüş ve bir sonraki adım olan biyometan üretimi için optimum karıştırma oranı %40 olarak tespit edilmiştir.

#### **Teşekkür**

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 113Y451 numaralı “Spesifik Rumen Bakteriler ve Hidroliz Enzimleri Kullanılarak Anaerobik Çürütücülerdeki Biyometan Verimliliğinin Artırılması” isimli proje tarafından desteklenmektedir.

#### **Kaynakça**

Akyol.C., Ozbayram E.G., Ince. O., Kleinstauber.S.,and Ince.B  
2015. Anaerobic Co-Digestion of Cow Manure and Barley:  
Effect of Cow Manure to Barley Ratio on Methane  
Production and Digestion Stability. Environmental Progress  
& Sustainable Energy, DOI 10.1002/ep.12250.

Akyol Ç., Ince O., Ince B., Türker G., 2014. Acidification of

Non-medicated and Oxytetracycline-medicated Cattle Manures During Anaerobic Digestion. *Environmental Technology* 35: 2373-2379.

APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington, DC: American Public Health Association; 1999.

Bayane A and Guiot R.S, Animal digestive strategies versus anaerobic digestion bioprocesses for biogas production from lignocellulosic biomass, *Rev Environ Sci Biotechnol* (2011); 10: 43–62.

Budiyono., Widiassa I.N., Johari S., Sunarso., 2010. The Kinetic of Biogas Production Rate from Cattle Manure in Batch Mode. *International Journal of Chemical and Biological Engineering* 3:1.

Budiyono., Johari S., Widiassa I.N., Sunarso., 2014. Increasing Biogas Production Rate from Cattle Manure Using Rumen Fluid as Inoculums. *International Journal of Science and Engineering* 6(1): 31-38.

Castillo, R.T., Luengo, P.L., and Alvarez J.M., 1995. Temperature effect on anaerobic of bedding manure in a one phase system at different inoculums concentration, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 54, pp.55-66.

- Cooney M., Maynard N., Cannizzaro, C., & Benemann, J. 2007. Two-phase anaerobic digestion for production of hydrogen-methane mixtures, *Bioresource Technology*, 98, 2641–2651.
- Dennis E.O, 2015 Effect of Inoculums on Biogas Yield, *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC) Volume 8, Issue 2 Ver. I. , PP 05-08.*
- Forsberg CW, Cheng KJ, White BA., 1997. Polysaccharide degradation in the rumen and large intestine. Mackie, R.I. ve White, B.A. *Gastrointestinal Microbiology*. Chapman & Hall, New York, 319-379. (Kitap İçinde Bölüm)
- Foster-Cameiro, T. 2008. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresource Technology* 99(15): 6994-7002
- Holm-Nielsen JB., Al Seadi T., Oleskowicz-Popiel P., 2009. The Future of Anaerobic Digestion and Biogas Utilization. *Bioresource Technology* 100: 5478-5484.
- Kübler H., Schertler C., Three-Phase Anaerobic Digestion of Organic Wastes. *Water Science and Technology* 30(12): 367-374, 1994.
- Nopharatana, A., P. C. Pullammanappallil, W. P. Clarke. Kinetics and dynamic modeling of batch anaerobic digestion of municipal solid waste in a stirred reactor,

Waste Management, 27: 595–603,2007.

Quintero M, Castro L and Ortiz C, Guzmán C and Escalante H,  
Enhancement of starting up anaerobic digestion of  
lignocellulosic substrate: fique's bagasse as an example,  
*Bioresource Techn* ; 108: 8–13, 2012.

Yilmaz V. and Demirer GN., Enhancing the performance of  
anaero-bic digestion of dairy manure through phase-  
separation.Clean36:760–766, 2008.