T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

GAP BÖLGESİNDEKİ YAYGIN TARIMSAL ENDÜSTRİYEL ATIKLARIN BİYOHİDROJEN ÜRETİM POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BİYOHİDROJEN ÜRETİMİ İÇİN OPTİMUM KOŞULLARIN BELİRLENMESİ

Mustafa GÜMÜŞ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ xi
1. GİRİŞ 1
1.1. Biyohidrojen Üretiminde Enerji Kaynakları 2
1.2. Fıstık Üretimi, Kavlama ve Atıkları 3
1.3. Nar Üretimi ve Atıkları 5
1.4. Pamuk Üretimi ve Atıkları 7
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 11
2.1. Yenilenebilir Bir Enerji Kaynağı: Hidrojen 11
2.2. Hidrojen Üretim Yöntemleri 12
2.2.1. Hidrojen üretiminde termal prosesler 13
2.2.2. Hidrojen üretiminde biyolojik prosesler 14
2.2.2.1. Direkt biyofotoliz 15
2.2.2.2. Dolaylı biyofotoliz 17
2.2.2.3. Mikrobiyal elektroliz hücresi 18
2.2.2.4. Fotofermantasyon 20
2.2.2.5. Karanlık fermantasyon 22
2.3. Biyolojik Hidrojen Üretim Proseslerinin Avantaj ve Dezavantajları 24
2.4. Biyohidrojen Üretiminde Kullanılan Hammadde 26
2.4.1. Endüstriyel atıklar 27
2.4.2. Kentsel atıklar 27
2.4.3. Organik atıklar 28
2.5. Hammaddeye Uygulanan Ön İşlemler 29
2.5.1. Fiziksel ön işlem 32
2.5.1.1. Mekanik ön işlem 32
2.5.1.2. Ultrasonik ön işlem 32
2.5.1.3. Termal ön işlem 33
2.5.2. Biyolojik ön işlem 34
2.5.2.1. Enzimatik ön işlem 34
2.5.2.2. Mantar ile ön işlem 35
2.5.2.3. Bakteriyel ön işlem 35
2.5.3. Kimyasal ön işlem 36
2.5.3.1. Asidik ön işlem 37
2.5.3.2. Alkali ön işlem 37
2.5.3.3. Oksidasyon ile ön işlem 38
2.5.3.4. Organik çözücülerle ön işlem 38
2.6. Biyohidrojen Üretiminde Kullanılan Mikrobiyal Topluluk 39
2.7. Hidrojen Tüketen Bakterilerin Giderilmesi 42
2.8. Hidrojen Verimine Etki Eden İşletme Parametreleri 44
2.8.1. pH etkisi 44
2.8.2. Sıcaklığın etkisi 46
2.8.3. Substrat konsantrasyonu 47
2.8.4. Nütrient ilavesi 47
2.8.5. Diğer parametreler 48
3. MATERYAL ve YÖNTEM 50
3.1. Materyal 50
3.1.1. Biyokütle kaynakları 50
3.1.1.1. Biyokütle kaynaklarına fiziksel ön işlem 51
3.1.2. Mikrobiyal topluluk 52

3.2. Yöntem 53
3.2.1. Nütrientin hazırlanması 53
3.2.2. Biyokütle kaynaklarına ön işlemin uygulanması 54
3.2.3. Sıcaklığın etkisi 57
3.2.4. Biyokütle konsantrasyonunun etkisi 58
3.2.5. pH'nın etkisi 59
3.2.6. Reaktörlerin hazırlanması 61
3.2.6.1. Reaktörlerdeki gaz verimlerinin ölçümü 62
3.3. Analitik Metotlar 64
3.3.1. Nem, toplam katı madde ve toplam uçucu katı madde tayini 64
3.3.2. Elementel analizler 65
3.3.3. Toplam protein ve karbonhidrat analizi 66
3.3.4. Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) tayini 66
3.4. Mikrobiyal Türlerin Analizi 67
3.4.1. Moleküler çalışmalar 67
3.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) 67
3.4.3. Denature Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE) 68
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 69
4.1. Hammadde Kompozisyonu 69
4.2. Mikrobiyal Türlerin Analizi 70
4.2.1. DGGE bantlarında tespit edilen mikrobiyal türler 71
4.2.2. Aşılardaki baskın tür sınıfları 73
4.3. Kullanılan mikrobiyal türlerin etkisi 75
4.4. Biyokütle Kaynaklarından Elde Edilen Gaz Verimleri 76
4.4.1. Ön işlemin etkisi 76
4.4.1.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine ön işlemin etkisi 77
4.4.1.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine ön işlemin etkisi 79
4.4.1.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine ön işlemin etkisi 81
4.4.1.4. Nar kabuklarından biyogaz üretimine ön işlemin etkisi 83
4.4.1.5. Pamuk küspesinden biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi 85
4.4.1.6. Fıstık küspesinden biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi 88
4.4.1.7. Pamuk atıklarından biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi 90
4.4.1.8. Nar kabuklarından biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi 92
4.4.2. Sıcaklığın etkisi 95
4.4.2.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi 96
4.4.2.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi 98
4.4.2.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi 100
4.4.2.4. Nar kabuğu atıklarından biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi 103
4.4.2.5. Pamuk küspesinden hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi 105
4.4.2.6. Fıstık küspesinden hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi 108
4.4.2.7. Pamuk atıklarından hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi 110
4.4.2.8. Nar kabuğu atıklarından hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi 113
4.4.3. Biyokütle konsantrasyonunun etkisi 115
4.4.3.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 116
4.4.3.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 118
4.4.3.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 121
4.4.3.4. Nar kabuğu atıklarından biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 123
4.4.3.5. Pamuk küspesinden hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 126
4.4.3.6. Fıstık küspesinden hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 128
4.4.3.7. Pamuk atıklarından hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 131
4.4.3.8. Nar kabuğu atıklarından hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 133
4.4.4. pH'nın etkisi 136
4.4.4.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 136
4.4.4.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine pH'ın etkisi 139
4.4.4.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine pH'ın etkisi 141
4.4.4.4. Nar kabuğu atıklarından biyogaz üretimine pH'ın etkisi 144

4.4.4.5. Pamuk küspesinden hidrojen üretimine pH'ın etkisi 146
4.4.4.6. Fıstık küspesinden hidrojen üretimine pH'ın etkisi 149
4.4.4.7. Pamuk atıklarından hidrojen üretimine pH'ın etkisi 151
4.4.4.8. Nar kabuğu atıklarından hidrojen üretimine pH'ın etkisi 154
4.5. Elde Edilen Gaz Verimlerinin Biyokütle Kaynağı Türlerine Göre Verimleri 156
4.5.1. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması 156
4.5.2. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı ön işlemler etkisi ile biyokütle türlerine göre kıyaslanması 159
4.5.3. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı pH'larda biyokütle türlerine göre kıyaslanması 161
4.5.4. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı sıcaklıklarda biyokütle türlerine göre kıyaslanması 163
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 165
KAYNAKLAR 171
ÖZGEÇMİŞ 181

ÖZET

Doktora Tezi

GAP BÖLGESİNDEKİ YAYGIN TARIMSAL ENDÜSTRİYEL ATIKLARIN BİYOHİDROJEN ÜRETİM POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BİYOHİDROJEN ÜRETİMİ İÇİN OPTİMUM KOŞULLARIN BELİRLENMESİ

Mustafa GÜMÜŞ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mustafa ASLAN
YIL:2022, Sayfa:182

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamında bulunan illerin biyokütle kaynakları tespit edilmiş; yüksek biyokütle potansiyeli olan pamuk, fıstık ve nardan açığa çıkan biyokütlelerin hidrojen üretim potansiyelleri araştırılmıştır. Fermantasyon için Adana Anadolu Efes fabrikası anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru (A1), Şanlıurfa evsel atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru (A2) ve Düzce Pakmaya maya endüstrisi anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru (A3) temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan olan biyokütle kaynakları ve aşılar için toplam katı madde (TKM), toplam uçucu katı madde (TUKM), kül, toplam karbonhidrat, toplam protein, toplam yağ miktarları hesaplanmış; karbon (C), hidrojen (H), azot (N) ve kükürt (S) için elementel analizler yapılmıştır. Aşı olarak kullanılacak olan karışık kültür kaynakları için Genomik DNA analizleri yapılmıştır. Bu analiz sonucunda aşılarda hidrojen üretiminde kullanılabilecek *Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes ve Proteobacteria* türlerinin baskın olduğu ve bu aşıların hidrojen üretimi için uygulanabilirliği görülmüştür. Aşı kaynaklarına ısıl şok, havalandırma, kimyasal madde ilavesi, asit ve alkali ilavesi ile ön işlemler uygulanarak ön işlemin hidrojen üretimine etkisi araştırılmıştır. Bu işlem sonucunda en yüksek biyogaz miktarı A1 aşısında, alkali ön işlem (%1'lik NaOH) uygulanarak pamuk küspesinden 54.04 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. En yüksek biyohidrojen miktarı ise 16.76 ml/g substrat değerinde A1 aşısı ilavesinde alkali (%1 NaOH) ön işlem ile pamuk küspesinden elde edilmiştir. Fermantasyon aşamasında biyokütle konsantrasyonunun etkisini araştırmak için reaktörlere 10 g/L, 20 g/L, 30 g/L, 40 g/L ve 50 g/L olmak üzere beş farklı değerde yükleme yapılmıştır. Biyokütle konsantrasyonunun etkisi incelendiğinde en yüksek biyogaz miktarı 201.4 ml/g substrat değerinde A3 aşısı ile, 50 g/L biyokütle konsantrasyonunda nar kabuklarından elde edilmiştir. En yüksek biyohidrojen miktarı ise 43.22 ml/g substrat değerinde A3 aşısı ile, 50 g/L biyokütle konsantrasyonunda nar kabuklarından elde edilmiştir. pH'ın etkisini belirlemek amacı ile pH 4-8 arasında 5 farklı pH'da çalışılmıştır. En yüksek biyogaz miktarı pH 5'te, A2 aşısı ilavesinde nar kabuklarından 122.8 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. En yüksek biyohidrojen miktarı 23.12 ml/g substrat değerinde A3 aşısı ile, pH 6'da nar kabuklarından elde edilmiştir. Sıcaklığın etkisini araştırmak için mezofilik, termofilik ve aşırı termofilik koşullarda çalışılmıştır. En yüksek biyogaz miktarı 55 °C sıcaklıkta, A2 aşısı ilavesinde pamuk atıklarından 62.6 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. En yüksek biyohidrojen miktarı ise miktarı 55 °C sıcaklıkta, A2 aşısı ilavesinde pamuk atıklarından 8.16 ml/g substrat olarak elde edilmiştir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda fıstık, pamuk ve nardan açığa çıkan biyokütle kaynaklarından en yüksek hidrojen üretim veriminin hangi koşullarda sağlandığı araştırmanın sonunda ortaya konulmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: GAP, biyokütle, hidrojen, karanlık fermantasyon

ABSTRACT

PhD Thesis

THE STUDY OF BIOHYDROGEN PRODUCTION POTENTIALS OF AGRICULTURAL INDUSTRIAL WASTES COMMON ON SAP REGION AND THE ASSESSMENT OF THE OPTIMUM CONDITIONS FOR BIOHYDROGEN PRODUCTION

Mustafa GÜMÜŞ

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Environmental Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Year: 2022, Page: 182

In this study, biomass sources found in cities covered by SAP (Southeastern Anatolian Project) have been detected; and biomasses emerging from cotton, peanut, and pomegranate, which have high biomass potential, have been researched for their hydrogen production potential. For fermentation the inoculums A1, A2 and A3 were obtained which were respectively taken from the anaerobic treatment tanks of Adana Anadolu Efes Factory (A1), Şanlıurfa Sewage Treatment Facility (A2) and Düzce Pakmaya Yeast Industry (A3). For the biomass sources and inoculums used in the study, quantities of total solid matter (TSM), total volatile solids (TVS), ash, total carbohydrate, total protein, total fat have been calculated and then elemental analyses for carbon (C), hydrogen (H), nitrogen (N) and sulphur (S) have been made. For the mixed cultures used as the inoculum, Genomic DNA analysis has been made. As a conclusion of this analysis, it has been seen that species of *Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes and Proteobacteria,* which can be used in hydrogen production, is dominant in the inoculums and the applicability of these inoculums for hydrogen production has also been observed. The effect of pre-treatment on inoculums on hydrogen production has been examined by applying thermal shock, airing, adding chemicals, acids and alkali to the inoculums. As a result of this process, the highest biogas quantity was measured as 54.04 ml/g substrate from cotton pulp at A1 inoculum with the application of alkali pre-treatment (of %1 NaOH). The highest biohydrogen quantity was obtained as 16.76 ml/g substrate from cotton pulp at A1 inoculum with the application of alkali pre-treatment (of %1 NaOH). To study the effect of biomass concentration, five different loadings (namely 10 g/L, 20 g/L, 30 g/L, 40 g/L and 50 g/L) were applied to the reactor during the fermentation. When the effect of biomass concentration was examined the highest value of biogas (201.4 ml/g substrate) was reached with the A3 inoculum for pomegranate peels of 50 g/L biomass concentration. The highest level of hydrogen (43.22 ml/g substrate) was attained with the A3 inoculum from pomegranate peels of 50 g/L biomass concentration. To determine the impact of pH, 5 different pH values have been worked on. The highest biogas value was measured as 122.8 ml/g substrate through the pomegranate peels with the addition of A2 inoculum when pH was 5. The highest biohydrogen value obtained as 23.12 ml/g substrate through the pomegranate peels with the addition of A3 inoculum when pH was 6. To study the effect of temperature, the works have been done in mesophilic, thermophilic and extremely thermophilic conditions. The highest biomass quantity was measured to be 62,6 ml/g substrate from cotton waste with A2 inoculum addition at 55 °C. The highest biohydrogen amount was measured as 8,16 ml/g substrate from cotton waste with A2 inoculum addition at 55 °C. As a result of the studies, the conditions to obtain the highest hydrogen production efficiency for the biomass sources emerging from peanut, cotton and pomegranate have been shown at the end of the research.

KEY WORDS: SAP, biomass, hydrogen, dark fermentation

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, desteğiyle beni yalnız bırakmayan kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Mustafa ASLAN'a; doktora süreciminin başından sonuna kadar hep destek gördüğüm çok değerli hocam Doç. Dr. Harun TÜRKMENLER'e; tez sürecindeki eşsiz katkılarından dolayı değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet Fatih DİLEKOĞLU'na, Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'ya, Doç. Dr. Ergin TAŞKAN'a; deneysel çalışmalarda desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Deniz UÇAR'a ve kıymetli hocam Prof. Dr. Sinan UYANIK'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu süreçte dualarıyla yanımda olan anne ve babama; ayrıca gösterdikleri sabır ve anlayıştan dolayı eşim Songül, kızım Elif Gülrana ve oğlum Yusuf Berat'a çok teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Hidrojene ilişkin kavram haritası 2
Şekil 1.2. Şanlıurfa/Bozova ilçesinde yer alan Fırat fıstık kavlama tesisinde işlem basamakları 4
Şekil 1.3. Adıyaman/Samsat ilçesi nar bahçelerinden temin edilen narın işlem basamakları 6
Şekil 1.4. Pamuk bitkisi üretimi, pamuğun işlenmesi ve elde edilen ürünler 8
Şekil 2.1. Fosil yakıttan, nükleer enerjiden veya yenilenebilir enerji kaynaklarından veya hammaddeden H_2 üretme teknolojileri 12
Şekil 2.2. Biyokülenin geri dönüşümde kullanılması 13
Şekil 2.3. Başlıca biyohidrojen üretim prosesleri ve mekanizmaları 14
Şekil 2.4. Hidrojenaz enzimi ile direkt biyofotoliz şeması 17
Şekil 2.5. Tek öölmeli ve İki bölmeli Mikrobiyal Elektroliz Hücresi (MEH) 19
Şekil 2.6. Karanlık fermantasyon işlem basamakları 22
Şekil 2.7. Organik atıkların biyohidrojene ve yüksek karbon sayılı ürünlere dönüştürülmesi 24
Şekil 2.8. Biyokütle kaynaklarına uygulanan ön işlem prosesleri 30
Şekil 3.1. Pamuk atıkları ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle 50
Şekil 3.2. Yağ fabrikasından alınan pamuk küspesi ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle 50
Şekil 3.3. Şanlıurfa fıstık kavlatma tesisinden alınan fıstık küspesi ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle 51
Şekil 3.4. Adıyaman / Samsat ilçesi üretim bahçesinden alınan nar kabuğu örnekleri ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle 51
Şekil 3.5. Biyokütle kaynaklarının öğütücüden geçirilmesi 52
Şekil 3.6. Biyohidrojen üretiminde kullanılan mikrobiyal topluluk 53
Şekil 3.7. Ön işlem uygulanmış biyokütle kaynakları 55
Şekil 3.8. Biyokütle kaynaklarına uygulanan ön işlemler ve kullanılan aşılar 56
Şekil 3.9. Biyokütle kaynaklarına uygulanan sıcaklıklar ve kullanılan aşılar 57
Şekil 3.10. Reaktörlerin istenilen sıcaklığa gelmesini sağlamak için kullanılan su banyosu 58
Şekil 3.11. Farklı biyokütle konsantrasyonlarında hazırlanmış ve aşılarla fermantasyonu başlatılmış reaktörler 59
Şekil 3.12. Biyokütle kaynaklarından alınan farklı biyokütle konsantrasyonları ve kullanılan aşılar 59
Şekil 3.13. Farklı pH değerlerinde ve 3 farklı aşı ile hazırlanan reaktör diyagramı 60
Şekil 3.14. Reaktörlerde pH ölçümü 60
Şekil 3.15. Farklı pH değerlerinde hazırlanmış ve aşılarla fermantasyonu başlatılmış reaktörler 61
Şekil 3.16. Reaktörlerin azot gazından geçirilmesi 62
Şekil 3.17. Shimadzu GC-2010 gaz kromotografi cihazı 63
Şekil 3.18. Kalibrasoyon gaz karışımı 63
Şekil 3.19. Adana Efes bira fabrikası anaerobik arıtma tankından (a), Şanlıurfa atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından (b) ve Pakmaya Düzce tesisleri anaerobik arıtma tankından (c) alınmış aşıların katı madde miktarı tayini 64
Şekil 3.20. Pamuk küspesi (a), fıstık kabuğu (b), pamuk atıkları (c) ve nar kabuklarında (d) nem ve toplam katı madde tayini 65
Şekil 3.21. Toplam Katı Madde, Nem ve Uçucu Katı Madde miktarlarının tayini için krozelerin tartılması 65
Şekil 4.1. PCR işlemi sonucunda elde edilen agaroz jel görüntüsü (M: Marker, A: Pakmaya atıksu (A3), B: Şanlıurfa kenstel atıksu (A2) ve C: Efes Bira atıksu (A1)) 70
Şekil 4.2. Numunelere ait DGGE jel görüntüsü (A: Pakmaya atıksu, B: Urfa atıksu ve C: Efes atıksu) 71
Şekil 4.3. Fermantasyonda kullanılan aşılardaki baskın tür sınıfları (Filum seviyesinde) 73
Şekil 4.4. Fermantasyonda kullanılan A1, A2 ve A3 aşılarındaki baskın tür sınıfları (Class seviyesinde) 74
Şekil 4.5. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 77

Şekil 4.6. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 77
Şekil 4.7. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 78
Şekil 4.8. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 79
Şekil 4.9. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 79
Şekil 4.10. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 80
Şekil 4.11. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 80
Şekil 4.12. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 81
Şekil 4.13. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 81
Şekil 4.14. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 82
Şekil 4.15. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 82
Şekil 4.16. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 83
Şekil 4.17. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 83
Şekil 4.18. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 84
Şekil 4.19. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz 84
Şekil 4.20. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 85
Şekil 4.21. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 85
Şekil 4.22. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 86
Şekil 4.23. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 86
Şekil 4.24. Pamuk küspesinden biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 87
Şekil 4.25. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 88
Şekil 4.26. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 88
Şekil 4.27. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 89
Şekil 4.28. Fıstık küspesinden biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 89
Şekil 4.29. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 90
Şekil 4.30. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 90
Şekil 4.31. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 91
Şekil 4.32. Pamuk atıklarından biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 91
Şekil 4.33. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 92
Şekil 4.34. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 92

Şekil 4.35. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen 93
Şekil 4.36. Nar kabuklarından biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 94
Şekil 4.37. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 96
Şekil 4.38. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 96
Şekil 4.39. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 97
Şekil 4.40. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 97
Şekil 4.41. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 98
Şekil 4.42. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 98
Şekil 4.43. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 99
Şekil 4.44. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 99
Şekil 4.45. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 100
Şekil 4.46. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 101
Şekil 4.47. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 101
Şekil 4.48. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 102
Şekil 4.49. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 103
Şekil 4.50.Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 103
Şekil 4.51. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi 104
Şekil 4.52. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 104
Şekil 4.53. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 105
Şekil 4.54. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 106
Şekil 4.55. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 106
Şekil 4.56. Pamuk küspesinden hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 107
Şekil 4.57. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 108
Şekil 4.58. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 108
Şekil 4.59. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 109
Şekil 4.60. Fıstık küspesinden hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 109
Şekil 4.61. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 110
Şekil 4.62. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 111
Şekil 4.63. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 111

Şekil 4.64. Pamuk atıklarından hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 112
Şekil 4.65. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 113
Şekil 4.66. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 113
Şekil 4.67. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi 114
Şekil 4.68. Nar kabuklarından hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 114
Şekil 4.69. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 116
Şekil 4.70. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 116
Şekil 4.71. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 117
Şekil 4.72. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 117
Şekil 4.73. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 118
Şekil 4.74.Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 119
Şekil 4.75. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 119
Şekil 4.76. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 120
Şekil 4.77. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 121
Şekil 4.78. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 121
Şekil 4.79. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 122
Şekil 4.80. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 122
Şekil 4.81. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 123
Şekil 4.82. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 124
Şekil 4.83. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 124
Şekil 4.84. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 125
Şekil 4.85. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 126
Şekil 4.86. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 126
Şekil 4.87. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 127
Şekil 4.88. Pamuk küspesinden hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 127
Şekil 4.89. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 128
Şekil 4.90. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 129
Şekil 4.91. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 129
Şekil 4.92. Fıstık küspesinden hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 130

Şekil 4.93. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 131
Şekil 4.94. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 131
Şekil 4.95. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 132
Şekil 4.96. Pamuk atıklarından hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 132
Şekil 4.97. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 133
Şekil 4.98. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 134
Şekil 4.99. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi 134
Şekil 4.100. Nar kabuklarından hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 135
Şekil 4.101. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 136
Şekil 4.102. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 137
Şekil 4.103. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 137
Şekil 4.104. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 138
Şekil 4.105. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 139
Şekil 4.106. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 139
Şekil 4.107. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'nın etkisi 140
Şekil 4.108. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 140
Şekil 4.109. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 141
Şekil 4.110. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 142
Şekil 4.111. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 142
Şekil 4.112. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 143
Şekil 4.113. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 144
Şekil 4.114. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 144
Şekil 4.115. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi 145
Şekil 4.116. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 145
Şekil 4.117. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 146
Şekil 4.118. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 147
Şekil 4.119. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 147
Şekil 4.120. Pamuk küspesinden hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 148
Şekil 4.121. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 149

Şekil 4.122. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 149
Şekil 4.123. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 150
Şekil 4.124.Fıstık küspesinden hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 150
Şekil 4.125. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 151
Şekil 4.126. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 152
Şekil 4.127. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 152
Şekil 4.128. Pamuk atıklarından hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 153
Şekil 4.129. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 154
Şekil 4.130. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 154
Şekil 4.131. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi 155
Şekil 4.132. Nar kabuklarından hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle) 155
Şekil 4.133. Toplam biyogaz miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması 157
Şekil 4.134. Toplam biyohidrojen miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması 158
Şekil 4.135. Toplam biyogaz miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması 159
Şekil 4.136. Toplam biyogaz miktarlarının farklı ön işlemlerde biyokütle türlerine göre kıyaslanması 160
Şekil 4.137. Toplam biyogaz miktarlarının farklı pH'larda biyokütle türlerine göre kıyaslanması 161
Şekil 4.138. Toplam biyohidrojen miktarlarının farklı pH'larda biyokütle türlerine göre kıyaslanması 162
Şekil 4.139. Toplam biyogaz miktarlarının farklı sıcaklıklarda biyokütle türlerine göre kıyaslanması 163
Şekil 4.140. Toplam biyohidrojen miktarlarının farklı sıcaklıklarda biyokütle türlerine göre kıyaslanması 164

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Bölgede ve Türkiyede üretilen toplam Antep Fıstığı miktarı (ton) ve toplam üretim alanı (dekar) 4
Çizelge 1.2. Bölgede ve Türkiyede üretilen toplam nar miktarı (ton) 7
Çizelge 1.3. Bölgede ve Türkiye'de üretilen toplam çırçırlanmamış (kütlü) pamuk miktarları (ton) ve pamuk ekilen alan (hektar) 8
Çizelge 1.4. Bölgede ve Türkiye'de pamuktan üretilen toplam çiğit miktarları (ton) 9
Çizelge 2.1. Biyohidrojen üretiminde kullanılan başlıca proseslerin avantaj ve dezavantajları 25
Çizelge 2.2. Biyokütleye uygulanan çeşitli ön işlemlerin avantaj ve dezavantajları 31
Çizelge 3.1. Nütrient kaynağı olarak kullanılan kimyasallar ve miktarları (mg/L) 54
Çizelge 3.2. Fermantasyonla biyohidrojen üretimi için uygulanan ön işlem koşulları 55
Çizelge 3.3. PCR işleminde kullanılan primerlerine ait baz dizilimleri 67
Çizelge 4.1. Hammadde kompozisyonu 69
Çizelge 4.2. DGGE bantlarında tespit edilen mikrobiyal türler 72

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A1	Adana Anadolu Efes fabrikası-aşı çamuru
A2	Şanlıurfa evsel atıksu arıtma tesisi-aşı çamuru
A3	Düzce Pakmaya maya endüstrisi-aşı çamuru
AKM	Askıda Katı Madde
AnSBR	Anaerobik Sıralamalı Kesikli Reaktör
ATP	Adenozin Trifosfat
C/N	Karbon-Azot oranı
CSTR	Sürekli Karıştırmalı Tank Reaktörü
dm^3/kg	desimetre küp/kilogram
DGGE	Denature Gradyan Jel Elektroforezi
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
g	gram
GAP	Güneydoğu Anadolu Projesi
GC	Gaz kromotografisi
kJ	kilojoule
KOİ (COD)	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
kWh	kilowat saat
L	Litre
mg	miligram
mL	mililitre
ml/g	mililitre/gram
mm	milimetre
µl	mikrolitre
NADH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit Hidrit
nm	nanometre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	Çözeltideki Hidrojen İyonu Konsantrasyonu
PSII	Fotosistem II
TBE	Tris Borat Etilen Diamin Tetra Asetikasit
TCD	Termal iletkenlik dedektörü
TKM	Toplam Katı Madde
TUKM	Toplam Uçucu Katı Madde
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UASB	Yukarı Akışlı Anaerobik Çamur Yataklı
UV	Ultra Viyole Işık
V	volt
VS	Uçucu Katı Madde
w/v	ağırlık/hacim

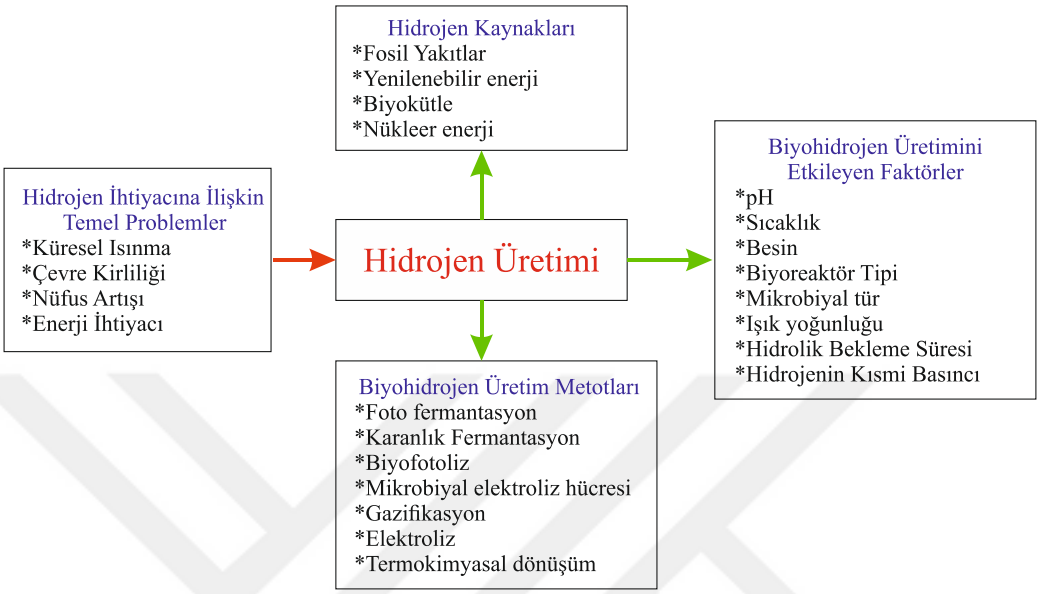
1. GİRİŞ

Enerji, ekonominin en önemli parametrelerinden biridir. Sanayileşmenin artması ile dünya enerji ihtiyacı da artmakta ve buna bağlı olarak fosil yakıtlar hızla tükenmektedir. Enerji tüketiminin yaklaşık %87'si ana kaynak olarak fosil yakıt kullanılarak elde edilmektedir (Xia ve ark., 2016). Tüketilen fosil yakıtlar aynı zamanda ciddi çevresel zararlara da neden olmaktadır. Hızla artan fosil yakıt tüketimi atmosfere zarar vermekte, sera gazı denilen ve küresel ısınmanın temelini oluşturan zararlı gazların atmosfere salınımına sebep olmaktadır. Kullanılan fosil yakıtlar sebebiyle CO_2 gazı kaynaklı sera gazı emisyonunu %40 oranında artmıştır. CO_2 emisyonlarındaki artış, küresel döngüyü kritik boyutlarda etkileyen sıcaklık artışlarına ve iklim değişikliklerine neden olmaktadır. Fosil yakıtlarının sınırlı rezervlerde olması, sera gazlarının atmosferi olumsuz etkilemeleri sebebiyle temiz ve yenilenebilir enerji kaynağı ihtiyacı giderek artmaktadır (Mona ve ark., 2020).

Hidrojen, yenilenebilir ve sürdürülebilir enerji kaynaklarından elde edilebilecek alternatif kaynaklardan biri olarak kabul edilmektedir. Hidrojen, su ve enerji üreten, fosil yakıtların kullanımından kaynaklanan olumsuz etkilerin üstesinden gelen sürdürülebilir bir yakıttır (Preethi ve ark., 2019). Hidrojen (H_2) gazı atmosfere zararı olmayan, çevre dostu, yenilenebilir enerji kaynağı olarak dünyada büyük ilgi görmektedir. Hidrojen, gram başına yaklaşık 122 kJ enerji sağlayan ve yanma sonucu tek ürün olarak su açığa çıkaran kimyasal bir enerji kaynağıdır (Zhang ve ark., 2020). Hidrojen üretimi için literatürde birçok üretim yöntemi olup, çevresel açıdan değerlendirildiğinde biyolojik yolla hidrojen üretimi önem arz etmektedir.

Biyokütle kaynakları kullanılarak üretilen hidrojene literatürde biyohidrojen denmekte ve biyohidrojenin üretim metotları arasında termokimyasal, elektrokimyasal ve biyokimyasal vb. temel üretim yöntemleri kullanılmaktadır. Biyokimyasal yöntemlerde çeşitli mikroorganizmalar ve kimyasallar kullanılmaktadır. Biyokimyasal yöntemlerden biri olan fermantasyon yöntemi düşük maliyet ve yüksek verim açısından diğer proseslere göre daha ön plana çıkmaktadır. Fermantasyon ile hidrojen

üretimi daha düşük sıcaklıklarda ve oda koşullarında uygulanabileceğinden diğer proseslere göre daha avantajlıdır. Şekil 1.1.'de hidrojene ilişkin kavram haritası verilmiştir.



Şekil 1.1. Hidrojene ilişkin kavram haritası (Mona ve ark., 2020)

1.1. Biyohidrojen Üretiminde Enerji Kaynakları

Potansiyel bir kaynak olan biyokütle, önemli bir yenilenebilir hidrojen kaynağı haline geldiğinden büyük tarım ekonomilerine sahip ülkeler, biyoenerjiyi biyosanayiye dahil ederek önemli ekonomik kalkınma potansiyeli oluşturmuşlardır (Bharathiraja ve ark., 2016). Biyokütlenin temel dönüşüm reaksiyonu Denklem 1.1'de verilmiştir.

$$\text{Biyokütle} + O_2 \longrightarrow CO + H_2 + CO_2 + \text{Enerji} \qquad (1.1)$$

Biyohidrojen üretiminde kullanılan temel kaynaklar biyokütle atıklarıdır. Sürdürülebilir bir hammadde olan biyokütle, çeşitli yenilenebilir organik malzemelerden elde edilen önemli bir enerji kaynağı olarak kabul edilmektedir. Biyohidrojen üretiminde kullanılacak olan biyokütle kaynağı doğal ve fosil olmayan materyal olmalı, bol miktarda bulunmalı, yenilenebilir olmalı ve tüketim temelli bitkisel kaynaklardan olmamalıdır (Chozhavendhan ve ark., 2020).

Hammadde seçiminde önemli kriterler; yeterli substrat, düşük maliyet, zengin karbonhidrat içeriği ve biyolojik parçalanabilirliktir. Tarımsal ürünler ve bunların yan ürünleri gibi kaynaklar, odun ve odun atıkları gibi lignoselülozik ürünler, gıda işleme ve su bitkileri ve alglerden kaynaklanan atıklar ve yerleşim yerlerinde üretilen atıklar hammadde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kanalizasyon çamuru, tarım ve hayvancılık atık suları ve hayvan atıkları gibi su içeren biyokütleden üretilen enerji de esas olarak mikrobiyal fermantasyon yoluyla enerji üretminde önemli bir potansiyele sahiptir (Bharathiraja ve ark., 2016; Chandel ve Sukumaran, 2017).

Glikoz, sakaroz ve laktoz gibi heksozlar biyolojik olarak parçalanabilir ve bu nedenle hidrojen üretimi için temel substrat modelleri olarak tercih edilir. Bununla birlikte, saf karbonhidrat kaynakları, kaynakların yenilenebilir ve ekonomik olması koşuluyla uygulanabilir olan gerçek ölçekli hidrojen üretimi için pahalı hammaddelerdir (Das ve Veziroğlu, 2001).

1.2. Fıstık Üretimi, Kavlama ve Atıkları

Biyokütle kaynaklarının yenilenebilir enerji kaynağı olarak kullanımı çevre dostu bir yaklaşım olup, sürdürülebilirlik açısından önemli yer tutmaktadır. Fıstık mali değeri yüksek bir ürün olup üretim ve kavlama tesislerinde sadece fıstığın iç kısmı kullanılmakta sert kabuğu ve sert kabuğun yüzeyini kaplayan yumuşak kısmı ısıtma amacıyla yakılmaktadır. Yumuşak dış kabuk meyvenin yaklaşık %18'lik bölümünü oluşturmaktadır (Demiral ve ark., 2009).

Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) bölgesinin önemli geçim kaynaklarından biri olan fıstık üretiminde hasat üç temel aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşama, dondurma ve baklava üretiminde kullanılan boz fıstığın elde edildiği aşamadır. İkinci aşamada elde edilen fıstık lokum ve çikolata üretiminde kullanılırken, son aşamada tamamen olgunlaşmış, kabuğu çatlamış olarak elde edilen fıstık çerez olarak kullanılmaktadır. Temmuz-Ağustos döneminde hasadı yapılan boz fıstığın kavlatma işlemi ve açığa çıkan biyokütle atıkları Şekil 1.2'de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Şanlıurfa/Bozova ilçesinde yer alan Fırat fıstık kavlama tesisinde işlem basamakları

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre Dünya fıstık üretiminde Türkiye, 2018 itibariyle 240 000 tonla 3. sırada yer almaktadır. 2020 yılında fıstık üretimi ise 296.376 ton olup bu rekolte Türkiye'yi Dünya fıstık üretiminde ikinci sıraya taşımıştır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) (2021) verilerine göre 2020 yılında ekilen alan 3 818 466 dekar olup bu alanın %96.7'si GAP bölgesinde bulunmakta ve fıstık üretiminin %95.9'u GAP bölgesinden karşılanmaktadır (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1. Bölgede ve Türkiyede üretilen toplam Antep Fıstığı miktarı (ton) ve toplam üretim alanı (dekar) (TÜİK, 2021)

	Yıllar	Adıyaman	Batman	Diyarbakır	Gaziantep	Kilis	Mardin	Siirt	Şanlıurfa	Şırnak	GAP	Türkiye	Bölge / Türkiye (% oran)	5 yıllık ortalama
Yıllara göre üretim alanı (Dekar)	2016	261298	24755	4603	1335385	64677	10029	198950	1129895	2575	3032167	3134316	96.74	96.70
	2017	258092	37983	5676	1363473	63355	10689	188073	1253983	4052	3185376	3288041	96.88	
	2018	263928	44793	5083	1363473	64829	14874	282071	1392160	4869	3436080	3545003	96.93	
	2019	269609	75122	8464	1393759	67921	21838	285206	1411482	5069	3538470	3662103	96.62	
	2020	273489	93055	10756	1408346	69665	28340	320600	1467436	6654	3678341	3818466	96.33	
Yıllara göre üretilen miktar (ton)	2016	18758	1518	2224	75298	2183	1921	6713	48106	45	156766	170000	92.22	93.12
	2017	10440	1206	1775	14762	3217	1397	7944	28507	19	69267	78000	88.80	
	2018	24015	960	1235	90183	4304	648	11301	100107	14	232767	240000	96.99	
	2019	2667	1037	454	26343	2169	1123	12208	31931	15	77947	85000	91.70	
	2020	25112	1203	899	100538	5022	1254	25624	124534	39	284225	296376	95.90	

Antep fıstığının kavlanması sonucu açığa çıkan biyokütle çeşitli yöntemlerle enerjiye, yakıtlara ve farklı kimyasallara dönüştürülebilmektedir. Doğrudan yakılarak ısıl enerji elde edilişinde kullanılan fıstık biyokütlesinden ayrıca biyokimyasal veya termokimyasal yöntemlerle biyogaz, biyoyağ, biyohidrojen ve biyodizel elde edilebilmektedir. Fıstık biyokütlesi biyokimyasal proses olarak aerobik, anaerobik ve alkolik fermantasyon yöntemleriyle enerji kaynaklarına dönüştürülebilmektedir. Piroliz ve gazlaştırma gibi termokimyasal yöntemler de fıstık biyokütlesinin enerji kaynaklarına dönüşmünde kullanılmaktadır (Taghizadeh-Alisaraei ve ark., 2017).

Son 5 yıllık fıstık üretiminin %93.12'sini GAP bölgesindeki illerin karşıladığı görülmektedir. TÜİK (2021) verilerine göre sadece 2020 yılında bölgede 284 225 ton fıstık üretildiği göz önüne alındığında bu fıstıktan yaklaşık 56 bin tonluk biyokütle atığı açığa çıkmaktadır. Bu sebeple bölgede üretilen fıstığın küspesi enerji eldesinde kullanılabilecek yenilenebilir enerji kaynaklarından olan hidrojen enerjisine dönüşümde oldukça önemli bir hammaddedir.

1.3. Nar Üretimi ve Atıkları

Bölgede üretimi hızla artan bir diğer biyokütle kaynağı ise nar meyvesidir. Nar *(Punica granatum L.)*, *Punicaceae* familyasından bir meyvedir. "Granül elma" anlamına gelen *malum granatum* meyvesinin Latince adından türetilmiştir. Narın anavatanı Hindistan ve İran'dır. Nar zamanla tüm Akdeniz ve Güney-Batı Amerika bölgelerine yayılmıştır (El Barnossi ve ark., 2021). Nar, vitamin ve mineral açısından zengin bir içeriğe sahip olan, güçlü antioksidanlar içeren bir meyve olup ayrıca gıda sektöründe nar ekşisi, meyve suyu gibi formlarda kullanıma sunulmaktadır.

Birçok türü bulunan meyvenin yıllık üretim miktarı her yıl giderek artmaktadır. Nar atıkları tarımsal üretim, endüstriyel üretim ve işleme sırası gibi aşamaların hepsinde açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan biyokülede flavonoidler, fenolik asitler ve tanenler gibi zengin bir biyoaktif bileşik kaynağı oldukları için nar yan ürünlerinden yararlanmak mümkündür (Sorrenti ve ark., 2019). Eylül-Ekim aylarında hasadı yapılan nar meyvesinin tanelenmesi ve atıkları Şekil 1.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Adıyaman/Samsat ilçesi nar bahçelerinden temin edilen narın işlem basamakları

Ülkemizde nar üretimi son yirmi yılda %848 oranında artarak 59 bin tondan 559 bin tona ulaşmıştır. Narın en çok üretildiği bölgelerin başında Akdeniz, Ege ve Güneydoğu Anadolu bölgeleri gelmektedir. Nar ihracatı da sonyirmi yılda %4235'lik bir artışla 3 600 ton dan 156 bin tona yükselmiştir. Her geçen yıl da hem üretimimiz hem de ihracatımız artmaktadır (Şahin, 2020).

Narın yetiştiği iklim, yetiştiği koşullar, olgunluk durumu ve depolama şartlarına bağlı olarak birleşimi değişmekte olup meyve suyu olarak kullanılan kısmı %45-65 arasında değişmektedir. Ülkemizde yetişen narların meyve suyu ekstraksiyon verimine bakıldığında ortalama %40 civarındadır (Cemeroglu ve ark., 1992).

Çizelge 1.2. Bölgede ve Türkiyede üretilen toplam nar miktarı (ton) (TÜİK, 2021)

	Yıllar	Adıyaman	Batman	Diyarbakır	Gaziantep	Kilis	Mardin	Siirt	Şanlıurfa	Şırnak	GAP	Türkiye	Bölge / Türkiye (% oran)	5 yıllık ortalama %
Yıllara göre üretim alanı (Dekar)	2016	14641	478	1119	17484	9051	1803	5417	21334	653	71980	305302	23.58	23.82
	2017	13952	718	1120	17249	8400	1893	5727	20592	1078	70729	297669	23.76	
	2018	13362	955	975	17249	8400	2295	5727	17250	2416	68629	291490	23.54	
	2019	13440	935	923	17244	8350	2275	6146	15006	2427	66746	285253	23.40	
	2020	13180	766	650	17254	8153	2775	10055	15265	2557	70655	284632	24.82	
Yıllara göre üretilen miktar (ton)	2016	7748	427	857	18578	6544	2965	6377	9489	367	53352	465200	11.47	11.36
	2017	9672	454	886	19234	6598	3057	6875	10240	554	57570	502606	11.45	
	2018	10295	434	1224	19376	5950	3478	6788	10016	413	57974	537847	10.78	
	2019	13890	432	1360	20098	5936	3575	6788	10456	426	62961	559171	11.26	
	2020	17003	529	1431	21097	6118	3456	9559	11549	436	71178	600021	11.86	

Çizelge 1.2 incelendiğinde ülkedeki nar rekoltesinin ortalama %11.36'sını GAP bölgesi karşılamaktadır. 2016 yılında bölgede üretilen nar miktarı 53 352 ton iken bu üretim yıldan yıla artarak 2020 yılında %33'lük bir artışla 71.178 tona ulaşmıştır. 2020 yılında GAP bölgesinde üretilen 71 178 tonluk nardan yaklaşık olarak 25 bin ton ile 40 bin ton arasında bir atık oluşturduğu düşünüldüğünde bu biyokütle kaynağının da önemli bir yenilenebilir enerji kaynağı olabileceği aşikârdır. Bu veriler göstermektedir ki bölgede nar üreticiliği ve buna bağlı olarak atık olarak değerlendirilen nar kabukları da artmaktadır. Bu sebeple nar kabukları da yenilenebilir enerji kaynağı olarak bölge ekonomisine katkı sağlayabilecek potansiyele sahiptir.

1.4. Pamuk Üretimi ve Atıkları

Dünyadaki pamuk üretimi yaklaşık 25 milyon ton olup bu üretimden geriye yaklaşık 50 milyon ton biyokütle atığı kalmaktadır. Bu atıklar çiftlik temelli ve endüstriyel temelli atıklar olarak iki şekilde açığa çıkmakta ve kompostlaştırma, gazlaştırma, piroliz, fermantasyon, anaerobik çürütme ve doğrudan yakma gibi yöntemlerle enerji eldesinde farklı alanlarda kullanılmaktadır (Hamawand ve ark., 2016). TÜİK verilerine göre Türkiye 2020 yılı itibariyle 1.773.646 tonluk pamuk üretimiyle Dünya pamuk üretiminde altıncı sırada yer almaktadır.



Şekil 1.4. Pamuk bitkisi üretimi, pamuğun işlenmesi ve elde edilen ürünler

TÜİK verilerine göre, 2020 yılında ülkemizde üretilen pamuğun %77'sini karşılayan ilk 5 il sırasıyla Şanlıurfa (%32), Aydın (%15), Diyarbakır (%12), Hatay (10) ve İzmir (%8)'dir. Bu üretimde 2020 yılındaki toplam üretime bakıldığında GAP bölgesi 888 035 tonla ülkedeki pamuk ihtiyacının %50'sini karşılamaktadır. Bu üretimden geriye yaklaşık iki katlık bir biyokütle kaldığı düşünüldüğünde yaklaşık 1.5 milyon tonluk biyokütle kalmaktadır. Çizelge 1.3.'te GAP bölgesinde ve Türkiye'de üretilen toplam pamuk miktarları ve pamuk ekilen alan miktarı verilmiştir.

Çizelge 1.3. Bölgede ve Türkiye'de üretilen toplam çırçırlanmamış (kütlü) pamuk miktarları (ton) ve pamuk ekilen alan (hektar) (TÜİK, 2021)

	Yıllar	Adıyaman	Batman	Diyarbakır	Gaziantep	Kilis	Mardin	Siirt	Şanlıurfa	Şırnak	GAP	Türkiye	Bölge / Türkiye (% oran)	5 yıllık ortalama %
Yıllara göre üretim alanı (Dekar)	2016	58496		331529	58900	400	88450	600	1802857	42101	2383333	4160098	57.29	57.85
	2017	65962	2524	427766	60800	400	83866	2750	2236785	50820	2931673	5018534	58.42	
	2018	80061	5298	480368	74280	4608	107819	2133	2314303	58934	3127804	5186342	60.31	
	2019	72301	4207	476866	57247	3722	130169	1371	2087920	55337	2889140	4778681	60.46	
	2020	55366	3731	403830	34864	4322	74419	4145	1287469	27391	1895537	3592200	52.77	
Yıllara göre üretilen miktar (ton)	2016	29461		169215	29161	159	43265	265	852391	23048	1146965	2100000	54.62	54.47
	2017	32052	1314	217221	29292	189	41847	1264	1028315	24174	1375668	2450000	56.15	
	2018	40635	2982	244497	38525	2073	56916	1003	1027625	35445	1449701	2570000	56.41	
	2019	35073	2210	233707	27972	1675	65365	649	813258	32794	1212703	2200000	55.12	
	2020	27021	2269	217642	16320	1922	39747	2000	567251	13863	888035	1773646	50.07	

Çizelge 1.4'te pamuktan elde edilen çiğit miktarlarının bölgesel ve Türkiye geneli üretim miktarları ton olarak verilmiştir.

Çizelge 1.4. Bölgede ve Türkiye'de pamuktan üretilen toplam çiğit miktarları (ton) (TÜİK, 2021)

	Yıllar	Adıyaman	Batman	Diyarbakır	Gaziantep	Kilis	Mardin	Siirt	Şanlıurfa	Şırnak	GAP	Türkiye	Bölge / Türkiye (% oran)	5 yıllık ortalama %
Yıllara göre üretilen miktar (ton)	2016	17677		101531	17498	95	25957	159	511434	13828	688179	1260000	54.62	54.47
	2017	19231	789	130332	17575	113	25110	758	616991	14507	825406	1470000	56.15	
	2018	24382	1789	146699	23115	1244	34149	602	616577	21267	869824	1542000	56.41	
	2019	21042	1326	140224	16782	1005	39218	390	487955	19677	727619	1320000	55.12	
	2020	16213	1361	130585	9792	1153	23849	1200	340351	8318	532822	1064189	50.07	

Çizelge 1.3. ve 1.4. birlikte incelendiğinde hem toplam pamuk miktarının hem de yağ ve küspe elde etmek amacıyla üretilen çiğit miktarının son beş yılda Türkiye üretim miktarının yaklaşık %55-57'sini oluşturduğu görülmektedir. Yani ülkedeki pamuk üretiminin önemli bir kısmı GAP bölgesinden karşılanmaktadır. Pamuk tekstil malzemeleri üretiminde önemli bir yere sahipken pamuktan geriye kalan çiğit ve küspe kısmı ise büyük miktarlarda biyokütle kalıntısı bırakmaktadır.

Sanayide birçok alanda hammadde kaynağı olan pamuktan hasat sonrası kütlece %55–60 çiğit açığa çıkmakta ve bunun %18-20'sinden pamuk yağı elde edilmektedir. Çiğitten arta kalan kısım ise küspe olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca %35–40 lif ve %1-5 çırçır artığıdır (Alkaya, 2010).

Bu bilgiler ışığında tablolar değerlendirildiğinde bölgede tarımsal üretimin önemli bir bileşeni olan pamuğun kütlü olarak üretiminin 2016- 2018 yılları arasında arttığı görülmektedir. 2019-2020 yıllarına bakıldığında ise artan petrol fiyatları, işçi maliyetleri, tarımın farklı alanlara kayması gibi faktörler üretimi kısmen etkilemiş ancak salgın hastalığın bu son iki yıldaki üretimi önemli ölçüde etkilediği tahmin edilmektedir. 2020 yılında bölgede üretilen kütlü pamuğun 888 035 ton olduğu; üretilen çiğit miktarının ise 532 822 ton olduğu çizelge 1.3. ve çizelge 1.4.'te

görülmektedir. Çiğitten yaklaşık %18-20 aralığında pamuk yağı elde edilmektedir (Cheng ve ark., 2020). Yani yaklaşık 100 000 tonluk bir çiğit atığı meydana gelmektedir. Bu miktar biyokütlesel atıklar açısından önemli bir miktar olup, bu sebeple biyohidrojen potansiyelinin varlığı araştırılıp değerlendirilmelidir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Enerji, artan nüfus ve gelişen teknoloji ile beraber en çok ihtiyaç duyulan sektör haline gelmiştir. Ülkelerin enerji ihtiyaçlarını karşıladıkları ölçüde dışa bağımlılıkları azalmaktadır. Artan enerji gereksinimi ile birlikte yeni enerji kaynaklarının araştırılması sürdürülebilirlik açısından bir zorunluluk haline gelmiştir (Bongiorno ve Thiringer, 2013)

Enerji kaynakları içerisinde çevreye etkileri ve süreklilikleri dikkate alındığında yenilenebilir enerji kaynaklarını önem arz etmektedir. Yenilenebilir enerji kaynaklarının üretiminde ortaya çıkan maliyet, düşük verim gibi sorunların giderilmesi durumunda dünya enerji gereksinimini önemli ölçüde karşılayacağı kabul edilmektedir (Kumar, 2020).

Atıklar enerji ihtiyacına cevap verebilecek önemli bir potansiyele sahiptirler. Örneğin gıda atıkları dünya atık potansiyelinin %15-63'ünü oluşturmakta olup taşıma, depolama ve boşaltma alanları gibi önemli sorunları da beraberinde getirmektedir (Jang ve ark., 2015). Bu atıklar yüksek enerji potansiyeline sahip olduklarından doğru değerlendirilirse hem yakıt tüketimine katkıda bulunmuş olunacak hem de atık miktarında azaltmaya gidilebilecektir (Breunig ve ark., 2017).

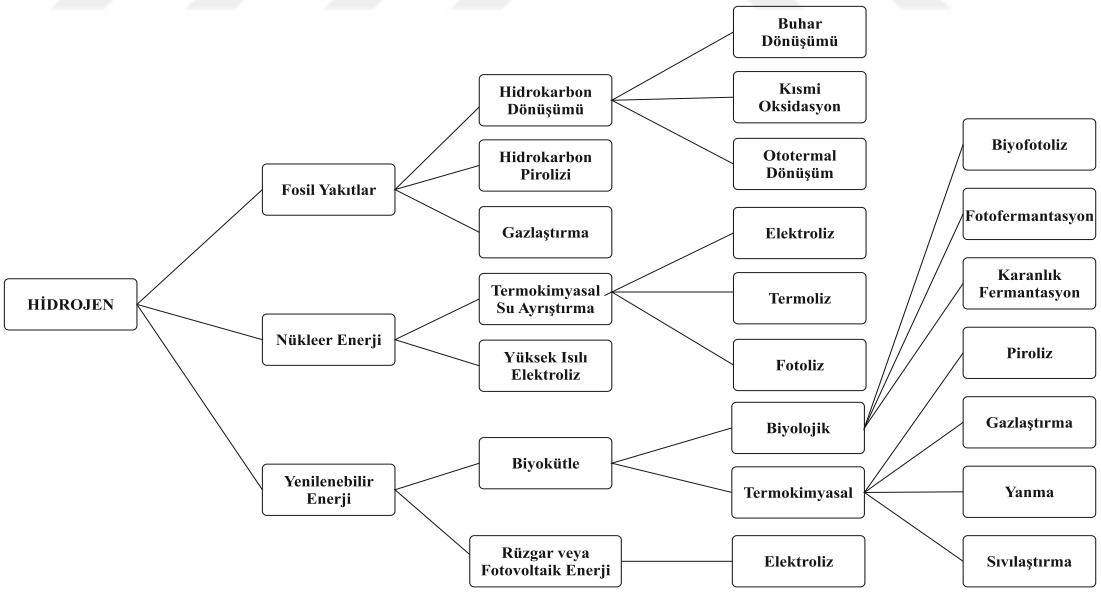
2.1. Yenilenebilir Bir Enerji Kaynağı: Hidrojen

Yenilenebilir enerji kaynakları arasında hidrojen önemli bir yer tutmaktadır. Hidrojen CO_2 emisyonuna yol açmayan, yanma reaksiyonu sonucu H_2O ve enerji açığa çıkaran çevre dostu bir enerjidir. Aynı zamanda fosil yakıtlardan 2.75 kat daha yüksek enerji verimine sahip karbonsuz bir enerji kaynağıdır. Hidrojen, kimyasal enerjiden elektrik üretimi için yakıt hücrelerinde de kullanılmaktadır. Ayrıca, gübre üretimi (amonyak), petrol rafinerilerinde safsızlıkların giderilmesi, metanol üretimi, ilaç endüstrilerinde, kriyojeniklerde, rotor soğutucularında, petrolün geri kazanımında,

roket motorlarında yakıt olarak, halojenleme ve yükseltgen ürenlerde indirgeyici olarak kullanılabilmektedir (Mona ve ark., 2020).

2.2. Hidrojen Üretim Yöntemleri

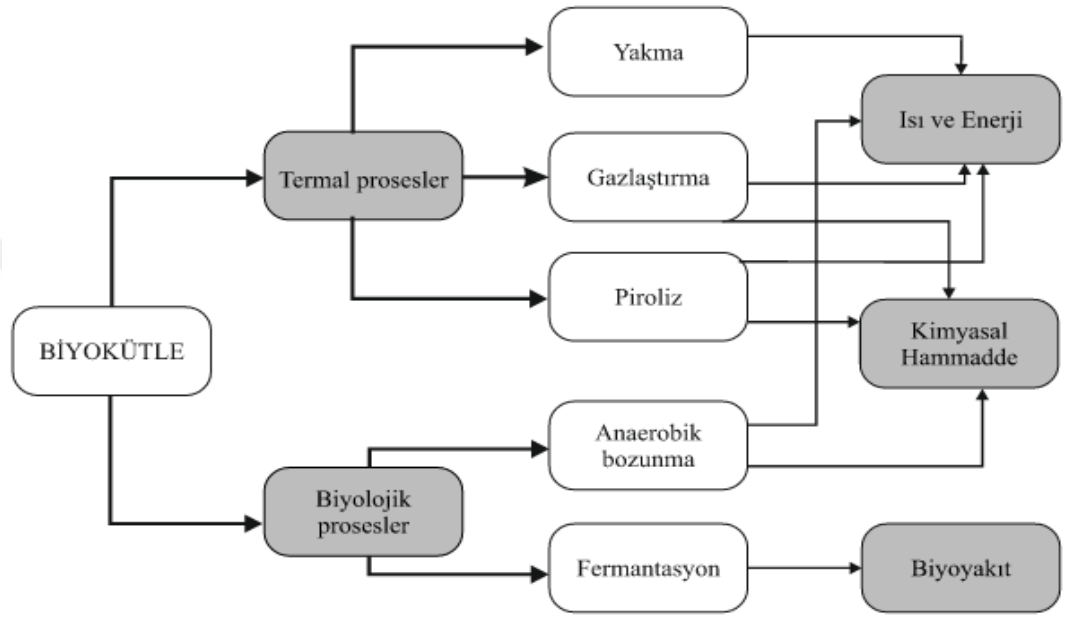
Hidrojen kimyasal veya biyolojik yöntemlerle üretilebilir. Kimyasal yöntemler arasında fosil yakıtlar, kömür gazlaştırma, katalitik parçalama, doğal gazdan, kısmi oksidasyon veya suyun elektrolizinden farklı yöntemlerle üretilebilmektedir. Günümüzde hidrojen üretiminin büyük bir miktarı hala fosil yakıtların fizikokimyasal yöntemlerle dönüşümünden elde edilmektedir. Potansiyel olarak tehlikeli olan maddelerin kanalizasyona, su kaynaklarına veya atık sahalarına girmeden önce arıtılması gerekir. Bu arıtım işlemleri üretim tesislerinin işletme maliyetlerini artırabilir. Biyolojik yöntemler, bu organik atıkları ayrıştırma ve zararlı yan ürünleri olmayan yararlı metabolik ürünler elde etme potansiyeline sahiptir (Ewan ve Allen, 2005; Sampath ve ark., 2020). Bu sebeple hidrojen üretiminde sürdürülebilir, çevre dostu yöntemler kullanmak daha uygundur. Şekil 2.1.'de hidrojen üretim teknolojileri verilmiştir.



Şekil 2.1. Fosil yakıttan, nükleer enerjiden veya yenilenebilir enerji kaynaklarından veya hammaddeden H_2 üretme teknolojileri (Baeyens ve ark., 2020).

Biyokütlenin substrat/hammadde olarak biyolojik makinelerle veya termokimyasal süreçle işlenmesiyle hidrojen üretimi biyohidrojen olarak adlandırılır

(Ebadi ve ark., 2019). Yenilenebilir enerji kaynakları arasında giderek önem kazanan biyokütle kaynakları ve bunların kimyasal enerji potansiyelini ortaya çıkaracak dönüşüm prosesleri literatürde hızla yaygınlaşmakta ve önemli çalışmaları ortaya koymaktadır. Şekil 2.2.'de biyokütle kaynaklarına uygulanan geri dönüşüm işlemlerinin genel basamakları görülmektedir (Hamawand ve ark., 2016).



Şekil 2.2. Biyokütlenin geri dönüşümde kullanılması (Hamawand ve ark., 2016)

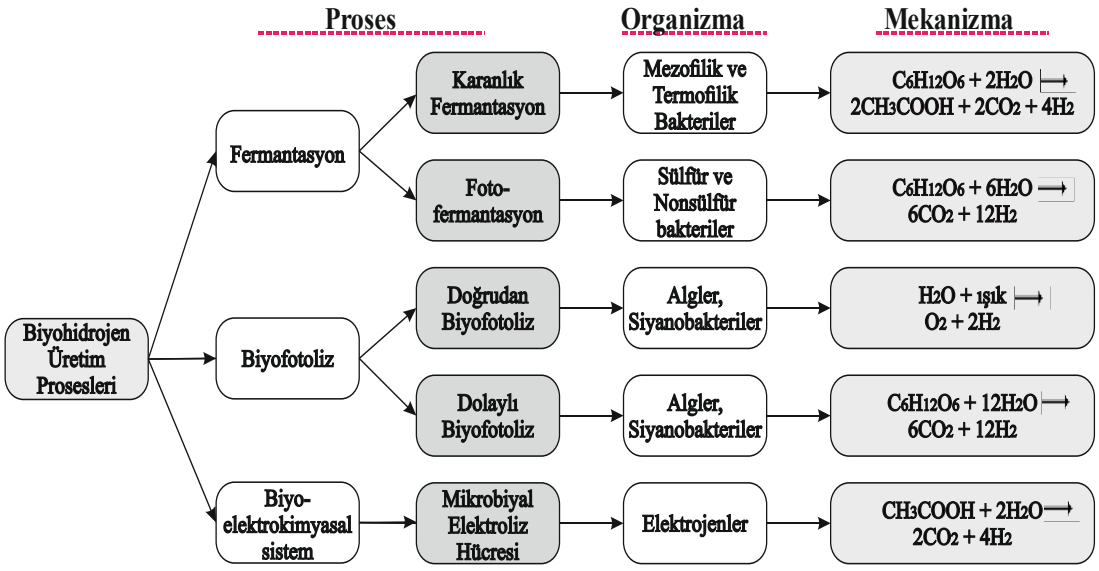
2.2.1. Hidrojen üretiminde termal prosesler

Termokimyasal proseslerde biyokütlenin biyolojik yolla dönüşümü gazlaştırma ve pirolizden aşamalarından oluşur. Biyokütle gazlaştırma, biyohidrojen üretiminin ekonomik ve uygun yöntemlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Biyokütle gazlaştırma, sınırlı miktarda hava ve oksijeni değerlendirerek yüksek sıcaklıkta çalıştırılan termokimyasal yöntemlerden biridir. Bu süreç, tarımsal kalıntılar, belediye atıkları ve tarımsal endüstriyel atıklar gibi çok çeşitli yenilenebilir biyokütle ve karbon bazlı kaynaklara uygulanır. Hidrojen üretimine biyokütle gazlaştırma ya buharla gazlaştırma ya da süper kritik su gazlaştırma yoluyla gerçekleşir. Biyokütleden hidrojen üretiminin bir başka termokimyasal yöntemi olan piroliz yüksek sıcaklık (200–600 °C) gerektirir. Isıtma işlemi hızına göre piroliz, hızlı ve yavaş piroliz olarak sınıflandırılır. Bu proseste hidrojen gazı, CO_2, H_2S, N_2 ve CH_4 gibi diğer üretici

gazlarla birlikte açığa çıkar. Termokimyasal prosesin verimliliği, katalizör tipi, partikül boyutu, yatak malzemesi, buhar/biyokütle oranı, sıcaklık ve gazlaştırma süresi gibi çeşitli parametrelere bağlıdır. Endüstriyel ölçekte hidrojen üretiminin verimliliği ve verimi, gazlaştırma yönteminde piroliz ile karşılaştırıldığında daha umut verici bulunmuştur. Bununla birlikte, su içeriği daha yüksekse, hidrojen gazının kalorifik değeri azalır (Chozhavendhan ve ark., 2020).

2.2.2. Hidrojen üretiminde biyolojik prosesler

Hidrojen üretiminin önemli uygulamalarından biri de biyolojik yolla hidrojen üretimidir. Biyolojik hidrojen üretimi ilk olarak yeşil mikroalglerde Gaffron tarafından rapor edilmiştir (Gaffron, 1939; Gaffron ve Rubin, 1942). Günümüzde hidrojen üretiminin çoğu fosil yakıtlara dayalı olmasına rağmen, atık su veya organik atıklar gibi farklı biyo-artıklardan biyohidrojen üretme çabalarının arttığı görülmektedir. Şu anda, organik atık malzeme kullanılarak biyohidrojen üretiminin en popüler, yaygın olarak tartışılan ve geliştirilmiş süreçleri (a) biyofermantasyon (karanlık fermantasyon ve fotofermentasyon), (b) biyofotoliz (doğrudan ve dolaylı), (c) mikrobiyal elektroliz hücreleri (MEH) ve (d) gazlaştırma gibi biyoelektrokimyasal sistemlerdir (Osman ve ark., 2020). Çizelge 2.3.'de biyohidrojen üretimine ilişkin farklı biyolojik prosesler verilmiştir.



Şekil 2.3. Başlıca biyohidrojen üretim prosesleri ve mekanizmaları (Osman ve ark., 2020)

Karanlık fermentasyon, mikrobiyal elektroliz hücreleri ve biyokütle gazlaştırma ile biyohidrojen üretimi, yüksek proses verimliliğine sahiptir ve biyokütle biyolojik hidrojen üretiminde ortak hammaddedir. Yine biyohidrojen üretimi için güneş enerjisine bağlı fotofermentasyon ve biyofotoliz görülebilir. Tüm bu süreçlerle, kendi önemleri olan farklı süreç parametreleri ilişkilendirilir (Osman ve ark., 2020). Biyohidrojen üretmenin ekonomik ve umut verici yolu, karanlık veya foto fermantasyon yöntemleri altında mikrokropları kullanmaktır (Argun ve Dao, 2017).

Fermantasyon, bir dizi farklı mikroorganizma kullanılarak organik atık maddelerin biyolojik yollarla ve kimyasal etkilerle dönüşü olarak tanımlanabilir. Fermentasyonun sonuçları, uygulanan katalizöre (izole enzim veya mikroorganizma üreticisi) ve kullanılan organik substrata (çoğunlukla karbonhidrat veya protein) ve proses parametrelerine bağlıdır. Fermantasyon süreci aerobik veya anaerobik koşullarda gerçekleşebilir. Organik atık maddelerin anaerobik koşullar altında mikroorganizmalar kullanılarak fermantasyonu, yan ürün olarak diğer organik alkoller/asitlerle birlikte H_2 üretmenin iyi bir yoludur. Mikroorganizmalar için ışığın gerekliliğine bağlı olarak, biyofermantasyon iki tipe ayrılabilir: (a) karanlık fermantasyon ve (b) foto fermantasyon. Karanlık fermantasyon, selülozik organik hammaddenin parçalanmasının organik asitler ve alkollerle birlikte biyolojik hidrojen üretimiyle sonuçlandığı, karanlık anaerobik koşullarda gerçekleştirilen fermantasyon sürecidir. Karanlık fermantasyondan farklı olarak, fotofermentasyon, anaerobik koşullar altında organik moleküllerden CO_2 ve H_2 üretmek için güneş ışığını kullanan fotosentetik bakterileri kullanır. Biyohidrojen verimini artırmak için, her iki fermantasyon işleminin entegrasyonu ile ilgili çalışmalar da bulunabilir (Osman ve ark., 2020).

2.2.2.1. Direkt biyofotoliz

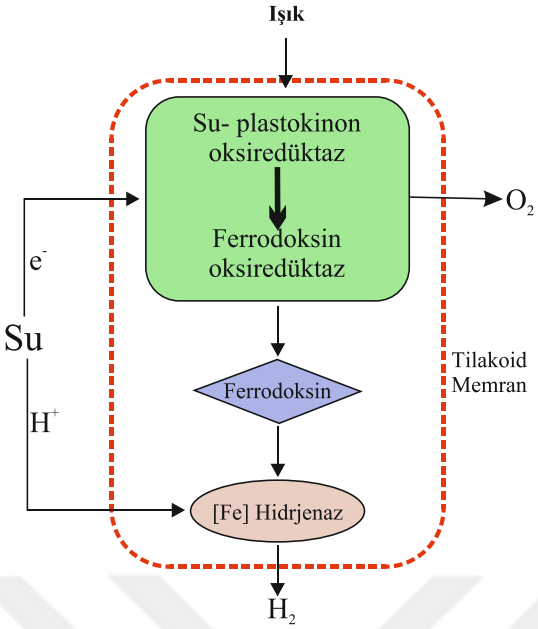
Direkt biyofotoliz, yeşil alg ve siyanobakterilerin güneş enerjisini kullanarak suyu oksijen ve hidrojene ayırdığı biyolojik bir prosestir. Fotosentetik bakterilerin büyümesi için 400-700 nm dalga boyundaki güneş ışınları absorbe edilir (Azwar ve ark., 2014).

Direkt biyofotoliz iki aşamadan oluşur. Birinci aşama bir yükseltgenme (oksidasyon) tepkimesi olup su molekülü hidrojen iyonu ve oksijen gazına ayrıştırılır (Denklem 2.1) (Show ve ark., 2018). İlk adımda güneş ışığı alg ve siyanobakterilerin yapısında bulunan plastokinon oksiredüktaz enzimini (fotosistem II veya PSII) aktive eder. Su molekülü PSII enzimi yardımıyla proton (H^+), elektron (e^-) ve O_2'ye ayrılır. İkinci adımda, e^-, moleküler H_2'yi üreten [Fe-Fe]-hidrojenaza Fd'ye taşınır. e^-'nin hareketi ışık enerjisinin yardımıyla yürütülür. Ayrıca, H^+ (H_2O'nun oksidasyonu yoluyla üretilir), ATP sentezi tarafından ATP üretimi için kullanılan proton gradyanı üretir. Bu mekanizma oldukça faydalıdır, ek besin (karbon) kaynağı ve süreç stabilitesi için ATP gerektirmez, süreç güneş enerjisi ile düzenlenebilir. [Fe-Fe]-hidrojenazın O_2'ye duyarlı olduğu, düşük O_2 seviyesi veya anaerobik koşullar altında etkin bir şekilde çalışan enzime bağlı bir işlemdir.

$$2H_2O \xrightarrow{\text{Güneş Işığı}} 4H^+ + 4\ _{e^-} + O_2 \quad (2.1)$$

$$4H^+ + 4_{e^-} + Fe_{ind} \xrightarrow{\text{Hidrojenaz}} 2H_2 + Fe_{yük} \quad (2.2)$$

Fotoliz, substrat olarak suyu kullanır ve ürün olarak hidrojen ve karbon dioksit üretir. Daha sonra elektronlar hidrojenazlara ve/veya nitrojenazlara kaydırılır. Anaerobik koşullar altında hidrojenaz enzimi, hidrojen iyonunu hidrojen gazına dönüştürür. Bununla birlikte, düşük verim ve oksijenin hidrojenaz enzimi tarafından inhibisyonu, işlemi kısıtlar. Oksijen iyonu organizma tarafından solunumu için kullanılır. Normal olarak, anaerobik koşullar altında bu algler tarafından hidrojen üretimi, hidrojenaz enzimini indüklemek için birkaç dakika ila birkaç saat gerektirir. İşlem, Denklem 2.1 ve 2.2'de görüldüğü gibi aynı anda 2:1 oranında H_2 ve O_2 üretir (Chozhavendhan ve ark., 2020). Şekil 2.4.'de hidrojenaz enzimi ile direkt biyofotoliz şeması verilmiştir.



Şekil 2.4. Hidrojenaz enzimi ile direkt biyofotoliz şeması (Show ve ark., 2018)

2.2.2.2. Dolaylı biyofotoliz

Dolaylı biyofotoliz, direkt biyofotolizin bazı sınırlılıklarını ortadan kaldıran, mikroalgler ve siyanobakterilerle sudan hidrojen üreten bir prosestir. Bu prosesin temelinde mikroalg ve siyanobakterilerin suyu hidrojen ve oksijene ayrıştırması şeklinde özetlenir (Denklem 2.3).

$$2H_2O + Işık \longrightarrow 2H_2 + O_2 \quad (2.3)$$

Denklem 2.3'te net reaksiyonu verilen dolaylı biyofotolizin reaksiyonları üç temel basamaktan oluşur. İlk basamak fotosentez temelinde yürüyen, H_2O ve CO_2 moleküllerinin ışık enerjisi altında karbonhidrata ve oksijene dönüştüğü basamaktır. Bu basamakta mikroalgler CO_2 moleküllerini depolar ve böylece elektron taşıma zincirlerine engel olan oksijen düzeyini dengeler (Denklem 2.4) (Azwar ve ark., 2014).

$$6H_2O + 6CO_2 + Işık \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \quad (2.4)$$

İkinci basamak karanlık anaerobik fermantasyon ile glikozun asetik asit, hidrojen ve CO_2 moleküllerine ayrıştığı aşamadır. Bu aşamada oluşan

biyomoleküllerin katabolizmasından e^- açığa çıkar. Oluşan elektronlar hidrojen eldesi için hidrojenaz enzimine aktarılır (Jiménez-Llanos ve ark., 2020) (Denklem 2.5).

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \longrightarrow 4H_2 + 2CH_3COOH + 2CO_2 \quad (2.5)$$

İkinci basamakta açığa çıkan organik asitlerin ve ışığın kullanılmasıyla gerçekleşen son basamakta ise hidrojen ve CO_2 açığa çıkmaktadır (Denklem 2.6) (Azwar ve ark., 2014).

$$2CH_3COOH + 4HO_2 + \text{ışık} \longrightarrow 8H_2 + 4CO_2 \quad (2.6)$$

Kossalbayev ve ark. (2020) farklı siyanobakteri türü kullanarak biyohidrojen verimini inceledikleri çalışmada 166 saatlik ışık inkübasyonunda *Desertifilum sp. IPPAS B-1220* türü bakteri ortamında 0.229 µmol H_2/mg Chl/h. verim elde ettiler.

Hoshino ve ark. (2013) tarafından *Chlamydomonas reinhardtii* mutant türlerinin PSI ışığının uygulanması yoluyla H_2 ve O_2 verimini araştırdılar. Sürekli 18 saatlik PSI ışık kaynağında, *cbn 1-48* (klorofil-b eksikliği olan bir mutant) ve *VHLR-S4* (yüksek ışık toleranslı mutant) için 220 dm^3/kg ve 176 dm^3/kg'da H_2 üretimi görüldü.

2.2.2.3. Mikrobiyal elektroliz hücresi

Mikrobiyal elektroliz hücreleri organik olarak parçalanabilen biyokütleyi kullunarak hidrojen açığa çıkaran bir üretim yöntemidir. Bu yöntem, anot ve katodun membran tarafından ayrıldığı ve organik maddenin oksidasyonunun membrandan aktarıldığında proton (H^+) ve elektronun (e^-) serbest bırakıldığı çift bölmeden oluşur. Hidrojen gazı, bir katalizör varlığında proton ve elektronun kimyasal olarak indirgendiği katot içinde üretilir (Chozhavendhan ve ark., 2020).

Mikrobiyal elektroliz hücreleri (MEH) kullanılarak çok çeşitli substratlardan H_2 üretimi yapılabilir. Biyoelektrokimyasal temelli bu yöntem son yıllarda popülerlik kazanan yeni bir teknolojidir (Chandrasekhar ve ark., 2015). Mikrobiyal elektroliz

hücresi biyolojik elektrokimyasal bir sistem olup H^+ iyonlarını H_2 moleküllerine indirgemek için kullanılan biyoelektrokimyasal bir prosestir. Tek bölmeli mikrobiyal elektroliz hücresi anot, katot ve harici güç kaynağı olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Eğer hücre içine proton geçirgen membran dahil edilirse iki bölmeli bir hücre elde edilir (Şekil 2.5.). İki bölmeli MEH'de anot bölmesi organik atık sularla doldurulurken katot bölmesinde tampon çözeltiler, tuz solüsyonları, zayıf asit çözeltileri eklenir (Osman ve ark., 2020)

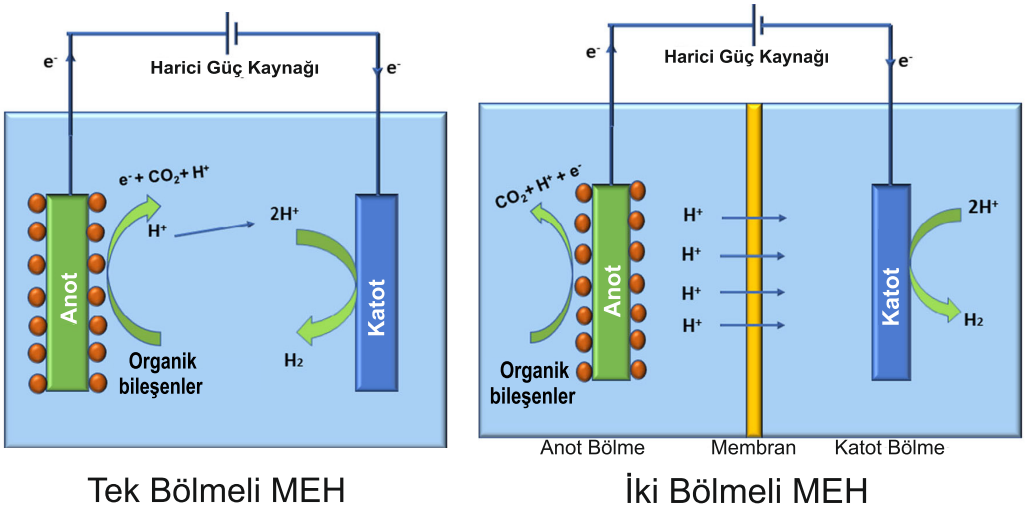
Mikrobiyal Elektroliz hücrelerinde hidrojen oluşumunun temel reaksiyonu organik asidin su ile CO_2 ve H_2 moleküllerine ayrışması şeklindedir (Denklem 2.7)

$$CH_3COOH + 2HO_2 \longrightarrow 2CO_2 + 4H_2 \quad (2.7)$$

Anot bölmesinde organik bileşikler yükseltgenirken proton ve elektronlar açığa çıkar. Açığa çıkan protonlar katot bölmesine ilerler ve burada indirgenerek H_2 moleküllerini oluştururlar (Denklem 2.8, 2.9) (Osman ve ark., 2020).

$$\text{Anot: } CH_3COOH + 2HO_2 \longrightarrow 2CO_2 + 8e^- + 8H^+ \quad (2.8)$$

$$\text{Katot: } 8e^- + 8H^+ \longrightarrow 4H_2 \quad (2.9)$$



Şekil 2.5. Tek bölmeli ve İki bölmeli Mikrobiyal Elektroliz Hücresi (MEH) (Osman ve ark., 2020)

Literatürde mikrobiyal elekroliz ile hidrojen eldesinde birçok farklı substrat kullanılmıştır. Glikoz, bütirat, asetak, glikol gibi saf kimyasalların yanı sıra, evsel atık sular, atık aktif çamur, endüstriyel atıklar, çiftlik atıkları gibi farklı kaynaklarda kullanılmıştır (Osman ve ark., 2020).

2.2.2.4. Fotofermantasyon

Fotofermantasyon, biyolojik hidrojen üretiminde karanlık fermantasyondan sonra gelen en önemli proseslerden biridir (Reungsang ve ark., 2018). Bu proses organik substratın fotosentetik bakteriler tarafından hidrojene dönüştürüldüğü ışığa bağlı fermantatif bir süreçtir (Hoàng ve ark., 2021). Fotofermantasyon ile hidrojen üretiminde ışık ve organik atıkları reaktant olarak kullanan mor kükürt bakterileri, mor kükürtsüz bakteriler, yeşil kükürt bakteriler rol alır. *Rhodopseudomonas palustris, Rhodobacter capsulatus* ve *Rhodospirillum rubrum* türü mor kükürtsüz bakteriler, foto fermantasyon için yaygın olarak kullanılan fotosentetik bakterilerdendir (Al-Mohammedawi ve ark., 2018). Bu bakteriler, ışık kaynağı varlığında nitrojenaz enzimi yoluyla verimli bir şekilde H_2 ve ilgili metabolitlere dönüştürülebilen uzun ve kısa zincirli uçucu yağ asitlerini kullanabilir (Pandey ve ark., 2021).

Literatürde fotofermantasyon için genel olarak enerji bitkileri, organik katı atıklar ve endüstriyel atık sular gibi substratlar kullanılmıştır. Bu proses için optimum pH 5 ile 7.5 ve optimum sıcaklığın sırasıyla 30 °C ila 40 °C arasında değiştiği bildirilmiştir. Fotofermantasyonla elde edilen hidrojen verimini arttırmak için kullanılan substrat ve mikroorganizmaların etkisinin yanı sıra fizikokimyasal parametrelerin optimizasyonu da çok önemlidir. Biyolojik fotofermentatif hidrojen üretim prosesinde elde edilen hidrojen verimi her zaman teorik verimden daha azdır. Bunun nedeni sıcaklık, pH, mikroorganizmanın fermentatif ortamdaki canlılık oranı, substrat üretiminin inhibisyonu gibi çeşitli çevresel etkileri olabilir (Singh ve ark., 2021).

Literatürde genel olarak 1-5 karbonlu karbonlu organik asitler, fotofermentatif H_2 üretimi için kullanılan uçucu yağ asitleridir. Bazı araştırmalarda glikoz ve sakaroz

gibi şekerlerden de fotofermentatif H_2 üretimi rapor edilmiştir. Kullanılan substrata göre elde edilen hidrojen verimi de değişkenlik göstermektedir. Fotofermantasyon formik asit, laktik asit, propiyonik asit, bütirik asit gibi substratlar kullanılmaktadır. Malat, laktat ve asetatın dönüşüm verimliliği Denklem 2.10, 2.11 ve 2.12'de verilmiştir (Singh ve ark., 2021):

$$\text{Laktat: } C_3H_6O_3 + 3H_2O \longrightarrow 6H_2 + 3CO_2 \quad (2.10)$$

$$\text{Malat: } C_4H_6O_5 + 3H_2O \longrightarrow 6H_2 + 4CO_2 \quad (2.11)$$

$$\text{Asetat: } C_2H_4O_2 + 2H_2O \longrightarrow 4H_2 + 2CO_2 \quad (2.12)$$

Assawamongkholsiri ve ark. (2018) aşı olarak *Rhodobacter sp.* türü bakteri kullanmış ve 7500 lx ışık yoğunluğunda pH= 7 ve sıcaklığı 25.6 °C olan 1.7 L'lik bir fotobiyoreaktörde, 5.24 mL $L^{-1}h^{-1}$, aynı işletme parametreleriyle kesikli reaktörde 9.05 mL $L^{-1}h^{-1}$ hidrojen üretildi.

Liu ve arkadaşları (2015), substrat olarak asetik asit kullanarak, pH 7'de ve *Rhodopseudomonas sp.* bakterisini kullanarak 14 saatlik aşılama süresiyle 160 mL H_2/60 mL asetik asit hidrojen verimi kaydetmiştir (Liu ve ark., 2015).

Mandıra atıksularından biyohidrojen üretiminde *R. sphaeroides* türü bakteri ile 9000 lüks ışık yoğunluğunda 0.36 g/L substrattan 3.6 L H_2/L gaz elde edildi. Bu çalışmada mandıra atıklarının iyi bir hidrojen kaynağı olduğu ortaya konulmuş ancak amonyum inhibisyonunun önlenmesi için hammaddenin en az %60 oranında seyreltilmesi gerektiği rapor edilmiştir (Seifert ve ark., 2010).

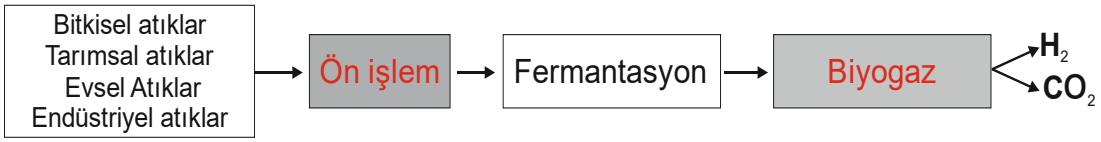
Fotofermantasyon prosesi düşük karbon sayılı moleküllerin işlenmesi ile yürümektedir. Bu sebeple biyokütle kaynaklarında bulunan nişasta, selüloz gibi kompleks moleküllerin hidrojen üretiminde kullanılmadan önce bazı ön işlemlere ve depolimerizasyona ihtiyaç duymaktadır. Ayrıca proseste kullanılan suşların ışık ihtiyacından dolayı kullanılan hammaddenin ışığı geçirgen özellikte olması istenir. Kullanılan atık suların optik berraklığı hidrojen verimini önemli ölçüde etkiler. Farklı

atık sular farklı şeffaflık derecelerine sahiptir ve bu nedenle optimum hidrojen üretimi için farklı aydınlatma yoğunlukları gerektirebilir. Işık emici bileşikler veya bulanıklık, ışık penetrasyonunu azaltacak ve bu nedenle ışık dönüşüm verimliliğini azaltacaktır. Yüksek amonyak konsantrasyonlarına sahip atık sular, nitrojenaz sentezi veya aktivitesinin amonyak inhibisyonu nedeniyle problemlidir. Ek olarak, yüksek organik madde içeriği veya ağır metaller, fenolikler veya diğer aromatik hidrokarbonlar gibi toksik bileşiklerin varlığı da hidrojen üretimini olumsuz etkileyebilir (Keskin ve ark., 2011).

Foto fermentasyonun ana avantajı, hidrojen üretmek için ışık enerjisi kullanması ve hidrojen üretmek için karanlık fermentasyon atık suyundan organik etabolitleri (örneğin organik asitler) kullanabilmesi, böylece genel biyohidrojen verimini önemli ölçüde arttırması ve ayrıca KOİ (Kimyasal Oksijen İhtiyacı) seviyesini etkili bir şekilde düşürmesidir. Bununla birlikte, foto fermantasyonun, zayıf ışık dönüşüm verimliliği ve hidrojen şeffaf geçirimsiz biyoreaktörlerin gerekliliğini içeren sınırlılıkları vardır (Wang ve ark., 2021).

2.2.2.5. Karanlık fermantasyon

Biyolojik hidrojen üretiminde yaygın olarak kullanılan karanlık fermantasyon prosesi, biyokütle kaynaklarının çeşitli mikrobiyal toplulukların etkisiyle hidrojen üretimine dayanmaktadır. Şekil 2.6.'da karanlık fermantasyonun işlem basamakları verilmiştir (Singla ve ark., 2022).



Şekil 2.6. Karanlık fermantasyon işlem basamakları

Karanlık fermantasyonda kullanılan substrat çeşitliliği ve çalışma koşullarının diğer proseslere göre daha elverişli olması, kullanılan fermentatif mikroorganizmaların temininin kolay olması ve yüksek hızlı hidrojen üretimi diğer biyolojik yöntemlere göre bu prosesi üstün kılmaktadır (Preethi ve ark., 2019). Ayrıca

düşük maliyet, yüksek hidrojen üretim hızı ve büyük ölçekli tesislerde kullanıma uygunluğu, atık su arıtımı ile entegre edilmesinin kolaylığı bu teknolojinin geleceği açısından umut vericidir (Saravanan ve ark., 2021).

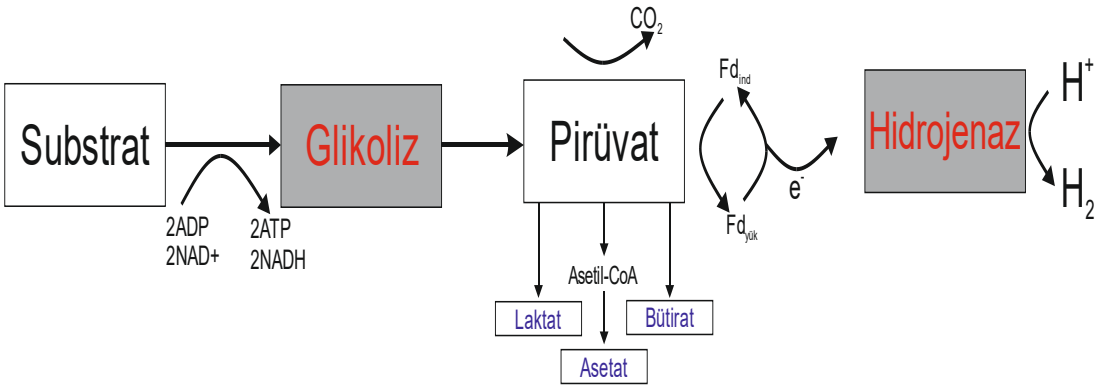
Karanlık fermantasyon çevre dostu, düşük maliyetli bir prosestir. Bu proseste yan ürün olarak laktik asit, bütirik asit ve asetik asit gibi çok çeşitli organik asitler açığa çıkmaktadır (Goswami ve ark., 2021). Glikozun hidrojene dönüşümü Denklem 2.13, 2.14 ve 2.15'te gösterilmektedir (Saravanan ve ark., 2021)

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 12H_2 \quad (2.13)$$

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 2CO_2 + 2CH_3COOH + 4H_2 \quad (2.14)$$

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 2CO_2 + CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2 \quad (2.15)$$

Karanlık fermentasyonda, anaerobik bakteriler substratı glikolizle piruvata dönüştürmekte ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit hidrit (NADH) ve karbondioksit oluşmaktadır. Sonraki aşamada piruvat asetil-CoA ile asetat molekülüne veya bütirat, laktat gibi diğer uçucu yağ asitlerine dönüşmektedir. Ayrıca ferredoksin katalizörlüğünde hidrojenaz enzimleriyle biyohidrojen oluşmaktadır. Karanlık fermantasyona dayalı çalışmaların çoğu, hidrojen üretimi için prosesin etkinliğini ortaya koymaktadır (Saravanan ve ark., 2021). Şekil 2.7. organik atıkların biyohidrojene ve yüksek değerli ürünlere dönüştürülmesine genel bakışı göstermektedir.



Şekil 2.7. Organik atıkların biyohidrojene ve yüksek karbon sayılı ürünlere dönüştürülmesi (Ong ve ark., 2021)

Karanlık fermantasyonun dezavantalarından biri %40 ile %60 aralığındaki düşük hidrojen konsantrasyonlarının olmasıdır. Bu düşük konsantrasyon beraberinde saflaştırma işlemi gerektirir (Mona ve ark., 2020). Bununla birlikte bu işlemin ana dezavantajı hidrojenin geri kazanımını daha zor ve pahalı hale getiren CO_2 ve diğer yan ürünlerin açığa çıkmasıdır (Goswami ve ark., 2021). Bu proseste birçok yan ürünün oluşumu ile substratlar üzerindeki düşük H_2 verimi önemli bir dezavantajdır. Karanlık fermantasyondaki bu düşük verim, esas olarak asetik asit, propiyonik asit ve butirik asit gibi diğer yan ürünlerin üretiminden kaynaklanmaktadır (Osman ve ark., 2020). Karanlık fermantasyon yöntemleri, hidrojen üretimini arttırmak için oluşturulmuştur ancak bu yöntemin ticari olarak kullanımı gaz verimliliği bakımından zordur (Kumar ve ark., 2017).

2.3. Biyolojik Hidrojen Üretim Proseslerinin Avantaj ve Dezavantajları

Biyolojik hidrojen üretiminde kullanılan başlıca prosesler, kullanılan mikroorganizmalar ve proseslerin avantajları/dezavantajları çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Biyohidrojen üretiminde kullanılan başlıca proseslerin avantaj ve dezavantajları (Miandad ve ark., 2017)

Proses	Kullanılan Mikroorganizma	Avantajları	Dezavantajları
Direk biyofotoliz	Siyanobakteriler Algler	✓ Hidrojen eldesinde doğrudan su ve güneş ışığı kullanılır. ✓ Biyokütleye (ağaçlar, ekinler, çimenler, vb.) kıyasla dönüşüm enerjisinde on kat artış olmakta	✓ Yüksek ışık yoğunluğu gerektirir ✓ Açığa çıkan O_2 sisteme zarar verebilir ✓ Düşük O_2 konsantrasyonları hidrojenaz enzimine zarar verebilir ✓ Fotokimyasal verimlilik düşüktür
Dolaylı biyofotoliz	Algler Siyanobakteriler	✓ Siyanobakteriler ve güneş ışığı kullanılır ✓ Azotu atmosferden sağlar	✓ H_2 başka moleküllere dönüşümünü engellemek için hidrojenaz enzimi uzaklaştırılmalı ✓ Düşük fotokimyasal verimlilik ✓ Gaz karışımında yaklaşık %30 oranında O_2 bulunur ✓ Oksijenin nitrojenaz üzerindeki inhibitör etkisi
Mikrobiyal elektroliz hücresi	Elektrojenik bakteriler	✓ Hidrojen doğrudan atıklardan elde edilir ✓ Düşük organik içerikli atıksular kullanılabilir ✓ Sürdürülebilir ve etkin bir prosestir	✓ Metabolik yollar iyi tanımlanmamıştır ✓ Çalışmaların çoğu, yalnızca halihazırda zenginleştirilmiş ve aktif mikrobiyal yakıt hücrelerinde kullanılan karışık kültürlere odaklanmıştır. ✓ Elektrot yüzeyinde azalan güç yoğunluğu H_2 verimini azaltmaktadır ✓ Yüksek voltaj enerji verimliliğini olumsuz etkiler
Foto-fermantasyon	Sülfür Non-sülfür bakteriler	✓ Proseste kullanılan bakteriler geniş bir ışık tayfı kullanabilir ✓ Proseste farklı organik atıklar kullanılabilir ✓ Substrat dönüştürme verimliliği yüksektir ✓ Substrat çeşitliliği fazladır	✓ H_2 verimliliği düşüktür ✓ Mevcut oksijen hidrojenaz enzimini inhibe eder ✓ Substratın toksik yapısı nedeniyle ön arıtma gereklidir. ✓ Yüksek maliyetli işletme kurulumu ve geniş reaktör yüzey alanları nedeniyle maliyet fazladır
Karanlık fermantasyon	Mezofilik ve termofilik bakteriler	✓ Uygulaması kolay ve düşük maliyetlidir ✓ Proseste ışığa ihtiyaç yoktur ✓ Hammadde çeşitliliği fazladır	✓ O_2 hidrojenaz enzimini inhibe eder ✓ H_2 verimi düşüktür ✓ Artan hidrojen miktarı prosesin ilerlemesini olumsuz etkiler ✓ Açığa çıkan CO_2'i karışımdan ayırmak gerekir

2.4. Biyohidrojen Üretiminde Kullanılan Hammadde

Biyohidrojen üretiminde birçok biyokütle kaynağı kullanılabilmektedir. Biyohidrojen üretiminde kullanılan kaynakları endüstriyel, kentsel ve organik atıklar olarak 3 temel başlıkta toplamak mümkündür. Fermantasyonda kullanılan substratlar, farklı biyolojik bozunabilirliklerinden dolayı fermantasyon süreci üzerinde kesin bir etkiye sahiptir. Mevcut proseslerde genel olarak glikoz, maltoz ve ksiloz gibi karbonhidratlar kullanılırken nişasta, selüloz gibi büyük moleküllü organik bileşenler, asidik veya enzimatik hidroliz yoluyla glikoz veya maltoza dönüştürülmesi için bir ön işlem gerektirir. Ayrıca, çoğu mikroorganizma doğrudan veya dolaylı olarak selülozu tüketemediğinden, selüloz kullanımı en zor olanıdır. Şeker fabrikalarından ve bira fabrikalarından gelen atık su gibi karbonhidrat açısından zengin atık besleme kaynakları biyolojik yolla hidrojen üretiminde maliyeti büyük ölçüde azaltabilir (Baeyens ve ark., 2020). Biyohidrojen üretimi için substrat olarak şeker endüstrisinden, içecek endüstrisinden, kimya endüstrisinden, hurma yağı sıvısından, damıtım endüstrisinden gelen endüstriyel atık sular da literatürde yer almaktadır (Boodhun ve ark., 2017). Biyohidrojen üretiminde hammadde olarak genellikle zengin karbonhidrat içerikli atıklar kullanılmakta olup, bu atıkların enerji sağlayan kimyasal bileşenlere dönüşmesi için birçok uygulama bulunmaktadır (Keskin ve ark., 2011).

Karanlık fermantasyon işleminde H_2 üretmek için bir substrat olarak farklı kimyasal bileşimlere sahip çeşitli atık türlerinin kullanıldığı görülmektedir. Bunlar arasında en yaygın kullanılan pirinç, buğday, mısır gibi tarımsal atıklar; peyniraltı atıksuyu, zeytin yağı atıksuyu gibi çeşitli atıksular; gıda atıkları ve kentsel atıklar yer almaktadır. Şeker veya karbonhidrat açısından zengin atık substratlar, lipid veya protein açısından zengin substratlarla karşılaştırıldığında daha fazla H_2 üretme eğilimindedir (Osman ve ark., 2020). Substrat, biyohidrojen üretiminde yer alan mikropların metabolizması için gerekli olan önemli faktörlerden biridir ve verim, karbon/azot (C/N) oranının optimizasyonu ile arttırılabilir (Hernández-Mendoza ve ark., 2014).

2.4.1. Endüstriyel atıklar

Sanayileşmenin sürekli büyümesi endüstriyel atıklarda da büyük bir artışa neden olmakta, artan endüstriyel atıklar canlı ekosistemlerini olumsuz etkilemektedir. Bu olumsuz etkiyi azaltmak için bu tür atıkların yeniden kullanılabilir kaynaklara dönüştürülmesi araştırmacıların önemli çalışma alanlarından biri olmuştur. Yapılan çalışmalar önemli veriler ortaya koymaktadır. Analiz edilen çeşitli atıklardan birkaçı; kağıt ve kağıt hamuru işletme atıkları, narenciye işleme atıkları, kimyasal atıksular, atık aktif çamuru, içecek atık suları, kahve içme atıksuyu, peynir altı suyu atıksuyu, damıtım atıksuyu ve farmasötik atıksu (Prabakar ve ark., 2018).

Karbonhidrat açısından zengin endüstriyel sıvılar biyolojik olarak parçalanabilen atıklar olup hidrojen üretim kapasitelerini anlamak için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Hidrojen üreten organizmalar için, endüstriyel atıklar bazen diğer hammaddeler ve besin kaynakları ile desteklenir. Örneğin, şeker rafinerisi atık suyu besleme olarak kullanıldığında, nispeten düşük bir kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) vardı ve bu nedenle yüksek substrat konsantrasyonunu karşılamak için atık su ile ilave şeker (sakaroz) karıştırılmıştır. Benzer şekilde, anaerobik hidrojen fermentasyonu için yardımcı substratlar olarak karışık meyve kabukları ve kağıt fabrikası çamuru karıştırılmıştır (Prabakar ve ark., 2018).

2.4.2. Kentsel atıklar

Kentsel atıklar enerji dönüşümü açısından ekonomik ve fermentatif hidrojen üreten bakteriler için biyolojik parçalanabilirliği yüksek substratlardır. Bu atıkların kimyasal içeriği genellikle protein, nişasta, lipid, selüloz ve hemiselülozdan oluşur (De Gioannis ve ark., 2013). Ayrıca, kentsel atıkların nakliye maliyetlerinin düşük olması bu atıkları fermantasyon için uygun birer substrat haline getirir (Wang ve Yin, 2017a).

Srivastava ve arkadaşları (2021) mutfak atıklarından biyohidrojen üretimi üzerine yaptıkları çalışmada organik atıkların önemli bir potansiyel olduğunu vurgulamışlardır. Organik biyoatık olarak mutfak atıkları, optimize koşullar altında

fermentatif mikroorganizmalar tarafından biyohidrojen üretimi için kullanılabilecek önemli miktarda günlük yaşamda üretilmektedir. Bu nedenle, biyohidrojen üretiminin substratı olarak mutfak atıklarını uygulama stratejisi, temiz, yenilenebilir ve sürdürülebilir enerji kaynağı üretimi için benzersiz ve sürdürülebilir bir yaklaşım olabilir (Srivastava ve ark., 2021).

Alavi-Borazjani ve ark. (2021) organik içerikli kenstel atıklardan karanlık fermantasyonla hidrojen üretimi üzerine farklı substrat konsantrasyonları ve sıcaklıklarda çalıştılar. Maksimum hidrojen verimini 6 g-VS/L substrat konsantrasyonu ve 55 °C sıcaklıkta 62.5 mL H_2/g-VS olarak hesapladılar. Zhou ve ark., (2013) hidrojen üretimi için çamur ve gıda atıklarının anaerobik birlikte fermantasyonunu optimizasyonnunu incelediler ve 1:3 oranında çamur/gıda atığı ile elde edilen maksimum hidrojen verimini 66 mL/g-COD'ye olarak hesapladılar. Bu çalışma da ayrıca gıda atığı ilavesinin artmasıyla hidrojen veriminin arttığını da ortaya koymuştur.

2.4.3. Organik atıklar

Organik atıklar, biyohidrojen üretiminde hammadde olarak kullanılan düşük maliyetli substratlardır. Organik atığı enerjiye veya yakıta dönüştürmenin atık yönetimi ve temiz enerji üretiminde ikili bir rolü vardır. Organik atık, bol, ucuz ve karbonhidrat, protein ve besin açısından zengin olduğu için biyohidrojen üretimi için uygun bir hammadde görevi görür. Organik atıklar, tarımsal ve tarımsal-endüstriyel atıklardan, odun atıkları, hayvan atıkları, belediye atıkları, gıda atıkları, atık aktif çamur ve endüstrilerden gelen atık sulardan gelen biyokütle kaynakları hidrojen üretimi için kullanılabilir. Hidrojen üretiminde kullanılan biyokütle kaynakları nişasta, karbonhidrat ve şeker açısından zengin olan şeker kamışı, mısır, şeker pancarı, soya fasulyesi birinci nesil biyokütle kaynağı; tarım atıkları, hayvan atıkları, orman kalıntıları ve atık su gibi ikinci nesil biyokütle kaynağı ve ayrıca alg biyokütlesi dahil üçüncü nesil biyokütle besleme kaynağı olarak sınıflandırılabilir (Saravanan ve ark., 2021).

Pirinç ve patates gibi karbonhidrat bakımından zengin organik atıklardan hidrojen üretiminin, yağ bakımından ve protein bakımından zengin organik atıklara göre 20 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2013)

Solowski ve ark. (2020) pamuk atıklarından karanlık fermantasyonla biyohidrojen üretimi için yapmış oldukları çalışmada pH 6.4 ve 38 °C sıcaklıkta 0.917 ml H_2/g VSS olarak hesapladılar. Aynı çalışmada lahana atıklarından pH: 7.8'de ve 38 °C sıcaklıkta H_2 verimini 1.08 ml olarak bulmuşlardır (Sołowski ve ark., 2020).

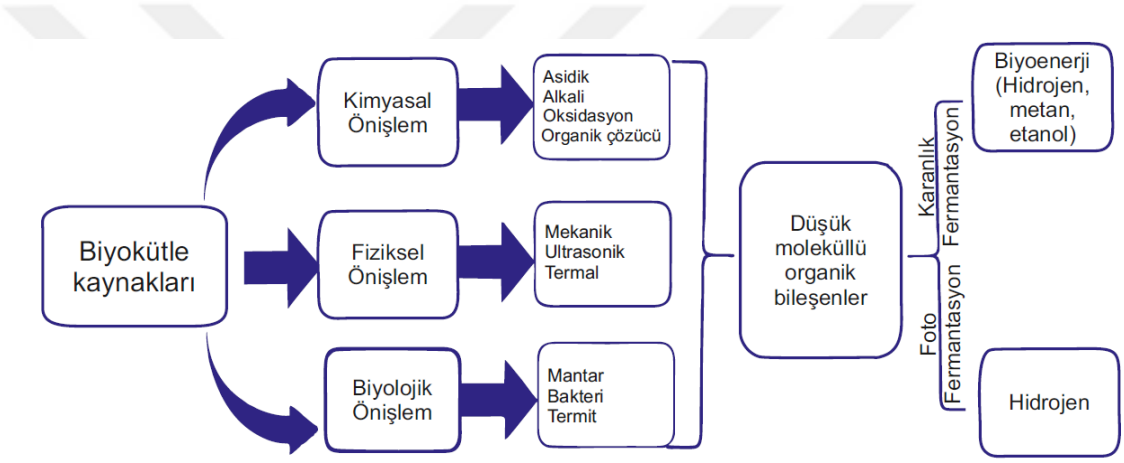
Chen ve arkadaşlarının (2012) pirinç samanından kesikli reaktörle yapmış oldukları çalışmada 55 °C sıcaklıkta pH 6.5'te 24.8 ml H_2/g substrat olarak hesapladılar (Chen ve ark., 2012).

Chen ve ark. (2022) arkadaşları 37 ve 55 °C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta toplam katı madde miktarının %3, %6 ve % 12 olduğu üç farklı derişimdeki pirinç samanının karanlık fermentasyonlarından biyohidrojen üretimi üzerine çalıştılar. %6'lık organik yükleme oranında en yüksek verim olan 63,6 mL/g VS hacmine ulaştılar.

2.5. Hammaddeye Uygulanan Ön İşlemler

Biyolojik yolla hidrojen üretim proseslerinde kullanılan tüm ham hammaddelerin gaz verimini arttırmak için ön arıtma sürecine ihtiyacı vardır. Lignoselülozik yapılı biyokütle kaynakları biyoenerji üretimi için büyük bir potansiyele sahiptir, ancak sert heterojen yapı, prosesin uygulanmasını sınırlar. Bu sebeple fiziksel, kimyasal veya biyolojik ön işleme tabi tutulurlar. Ön arıtma teknolojisi, lignoselülozun ana bileşenlerini parçalara ayırmak ve mevcut selülozu ortaya çıkarmak için etkili bir çözüm sunar. Elde edilen besleme stoğu, örneğin biyoetanol, biyogaz, biyohidrojen vb. gibi enerjiye biyodönüşüm için uygulanabilir (Zhao ve ark., 2022).

Benzer şekilde organik atıklar ve gıda atıkları ve endüstriyel atıklardan kaynaklanan atık su kaynakları doğrudan kullanılmamaktadır. Bu sorunların üstesinden gelmek için, hammaddelerin ön işleme tabi tutulması için birçok yöntem mevcuttur. Ön işlem, biyohidrojen araştırmalarında çok önemli bir adımdır. H_2 veriminin iyileştirilmesi için fiziksel (yüksek sıcaklık, ultrasonikasyon ve mikrodalga), mekanik (öğütme), kimyasal (asidik, alkali, oksidasyon), enzimatik, radyasyon ve hidrotermal ön arıtma gibi ön arıtma yöntemleriyle ile ilgili literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır Farklı substrat türleri, hidrojenin üretim verimliliğini artırabilen farklı ön arıtma yöntemlerine ihtiyaç duyar. Şekil 2.8'de biyokütle kaynaklarına uygulanan farklı ön işlem prosesleri gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Biyokütle kaynaklarına uygulanan ön işlem prosesleri (Karim ve ark., 2021)

Biyokütleye uygulanan ön işlem proseseleri mikroorganizmaların aktivasyonunun arttırmakta ve fermentasyon işlemi hızlı gerçekleşmekte ayrıca elde edilen hidrojen üretimi daha yüksek bir oran ile sonuçlanmaktadır. Bu ön işlemler tek tek veya çoklu kombinasyonlarla uygulanabilmektedir. Çizelge 2.2.'de çeşitli ön işlem yöntemlerinin avantaj ve dezanavantajları gösterilmiştir (Chozhavendhan ve ark.. 2020; Zhao ve ark., 2022)

Çizelge 2.2. Biyokütleye uygulanan çeşitli ön işlemlerin avantaj ve dezavantajları (Chozhavendhan ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2022)

Ön işlem Yöntemi		Avantajları	Dezavantajları
Fiziksel ön işlem	✓ Mekanik ön işlem	✓ Kolay uygulanabilir ✓ Tek basamaklı işlem ✓ İnhibitor oluşumu yok	✓ Yüksek maliyet gerektirir ✓ Yüksek enerji tüketimi gerektirir ✓ Düşük hidroliz oranı
	✓ Ultrasonik ön işlem	✓ Kolay ve basit işletme prosedürü ✓ Düşük enerji gereksinimi ✓ Düşük bakım maliyeti	✓ Endüstriyel düzeyde ölçeklendirmek mümkün değildir
	✓ Termal ön işlem	✓ Zararlı kimyasal açığa çıkmaz ✓ Çevre dostudur	✓ Yüksek enerji gereksinimi ✓ Substratta ısınmadan kaynaklı polimerleşme reaksiyonu veya değişiklik meydana gelebilir
Kimyasal ön işlem	✓ Asidik ön işlem	✓ Yüksek verimli selüloz bozunması ✓ Düşük enerji girişi ✓ Yüksek glikoz verimi ✓ Ölçek büyütmek kolaydır	✓ Reaktörde korozyon sorunu ✓ Sürekli reaktif tedariki gerekli ✓ Kimyasalların geri dönüştürülmesi ve boşaltılması
	✓ Alkali ön işlem	✓ Yüksek verim ✓ Düşük inhibitör oluşumu	✓ Çevresel kirlilik ✓ Yüksek enerji tüketimi ✓ Kimyasal katlıntı
	✓ Oksidasyon	✓ Çevre dostu ✓ Yüksek seçicilik	✓ Zararlı ve zehirli bileşenlerin açığa çıkması
	✓ Organik çözücü kullanımı	✓ Kısa reaksiyon süresi	✓ Yüksek korozyon riski ✓ Zehirli bileşen oluşumu
Biyolojik ön işlem	✓ Mantar kullanımı	✓ Çevre dostu ✓ Basit koşulları ✓ Düşük enerji tüketimi ✓ Lignin ve hemiselüloz yıkımı yüksektir ✓ Basit reaksiyon koşulları	✓ Karbon kaynaklarının tüketimi ✓ Kontaminasyon sorunu ✓ Uzun süreli olması
	✓ Bakteriyal ön işlem	✓ Düşük enerji gereksinimi ✓ Zararsız kimyasal bileşen oluşumu ✓ Çevre dostu	✓ Uzun işletme süresi
	✓ Termit kullanımı	✓ Çevre dostu ✓ Basit koşullar ✓ Düşük enerji gereksinimi	✓ Uzun işletme süresi

Organik atıklar doğada bol olmalarına ve düşük maliyetlerine rağmen, selüloz ve hemiselüloz gibi lignin ile sıkı bir şekilde birleşen ve fermantasyon sırasında salınan çözünür karbonhidratlara dirençli kompleks karbonhidrat polimerler içerirler. Fermantasyon işleminde selülolitik mikroorganizmaların kullanılmasına rağmen genelde bu kaynakların hidrojene biyotransformasyonları zor bir iştir (Ntaikou ve ark., 2010). Ön işlem selüloz ve hemiselüloz yapısının gevşemesini, ardından çözünür karbonhidratların salınmasını ve bunların hidrojen gazı veya organik asit üretimine dönüştürülmesini kolaylaştıracaktır (Panagiotopoulos ve ark., 2010).

2.5.1. Fiziksel ön işlem

Fiziksel ön işlem, mekanik yöntem, ultrasonik yöntem, termal yöntem gibi temel basamakları içerir. Fiziksel ön işlemin temel amacı, hammaddenin partikül boyutunu küçültmek, spesifik yüzey alanını artırmak ve prosese ilave edilen bileşenlerin substrata erişilebilirliğini arttırmaktır. Genel olarak, diğer kimyasal yöntemlerle birleştirildiğinde ön işlem daha da etkin olmaktadır (Chozhavendhan ve ark., 2020).

2.5.1.1. Mekanik ön işlem

Mekanik ön işlem, lignoselülozun sert yapısını kırmak için mekanik kesme kuvveti uygular ve böylece kimyasalların/mikroorganizmaların/enzimlerin selüloz ve hemiselüloza erişimini geliştirir. Yaygın olarak kullanılan mekanik ön işlem, öğütme, kesme ve karıştırmayı içerir. Günümüzde, bu ön işlem genellikle düşük lignin içeren otsu bitkilere ön işlemden önce veya tek başına uygulanır. Bu uygulama polimer yapısını azaltırken lignin düzeyini de %55'ler oranında düşür (Zhao ve ark., 2022).

2.5.1.2. Ultrasonik ön işlem

Ultrasonik yöntemde yüksek enerjili ses dalgaları ile lignoselülozun kristal yapısının bozunması sağlanarak daha düşük moleküllerin oluşumu sağlanır. Ultrasonik ön işlemin performansı lignoselüloz tipi, ultrasonik frekans, yoğunluk ve süre ile yakından ilişkilidir. Normalde daha yüksek ultrasonik frekans ve süre, daha yüksek bir

ön arıtma verimliliğine neden olabilir, ancak frekans 100 kHz'den büyük olduğunda ön arıtma verimliliği artmayacaktır. Genel olarak, ultrasonik ön işlem 20-80 kHz'de 20-150 dakika süreyle gerçekleştirilir (Zhao ve ark., 2022).

2.5.1.3. Termal ön işlem

Termal ön işlem, enzimatik hidroliz için hemiselüloz ve selüloz erişilebilirliğini geliştirerek lignoselüloza gömülü ksilan, araban ve mannanın çözünmesini sağlar. 90 dakika boyunca 200 °C üzerinde hidrotermal ön işlemin, lignoselülozdaki oligomerleri çözmenin ve lignini çıkarmanın etkili bir yolu olduğu bulunmuştur. Mikrodalga radyasyonu, lignoselüloz yapısını parçalayabilen ve hücre içi selülozu serbest bırakabilen yeni bir termal ön işlem türüdür (Zhao ve ark., 2022).

Termal ön işlem, hidrojen üretimi için organik bileşiklerin biyokütlesinin çözündürülmesi/hidrolize edilmesinde en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Termal ön işlem, karmaşık substratı biyokütle sıvılaştırma yoluyla daha basit bir substrata ayrıştırır ve anaerobik çürütme sürecini arttırır. Yüksek sıcaklıklarda, hücre duvarı ve membranın kimyasal bağlarının bozulması nedeniyle termal denatürasyon meydana gelir. Daha yüksek sıcaklık sadece hidrojen üretimini arttırmakla kalmaz, aynı zamanda hidrojen üretmeyen ters üretken mikropları da devre dışı bırakır. Biyokütlenin çürümesi için benimsenen sıcaklık, birkaç substrat termal olarak sorumlu olduğundan, substratlara bağlı olarak değişir (Chozhavendhan ve ark., 2020).

En yaygın olarak kullanılan sıcaklık 20-30 dakika için 121 °C'dir, ancak atık aktif çamur için sıcaklık 100 °C ile 175 °C arasında değişir ve hidrojen üretimi için süre yaklaşık 15-60 dakikadır. Selüloz bazlı bileşikler, sıcaklık 50 °C ila 220 °C arasında büyük bir ölçekte değişir ve süre 20 dakika ila 24 saat arasında değişir. Çünkü selüloz bazlı hammaddeler için ısıl ön işlem her zaman diğer yöntemlerle birlikte yürütülür (Chozhavendhan ve ark., 2020).

2.5.2. Biyolojik ön işlem

Selüloz bazlı hammaddelerin ve alg biyokütlesinin işlenmesinde yaygın olarak kullanılan biyolojik ön arıtma, yüksek sıcaklık ve kimyasallar gerektirmez. Ancak biyolojik ön işlem genellikle fiziksel veya kimyasal ön işlemden sonra gerçekleştirilir. Biyolojik yöntem, ön-muameledir, yüksek alıkonma süresi gerektirir, bu da sonuçta zaman alıcı bir işlemle sonuçlanır ve mikroorganizma/enzimler, ön-muamele işlemi sırasında karbonhidratları kolayca kullanır (Chozhavendhan ve ark., 2020).

2.5.2.1. Enzimatik ön işlem

Enzimatik hidroliz, şekerlerin organik maddeden salınmasında önemli bir adımdır ve genellikle fiziksel/kimyasal ön işlemden sonra gerçekleştirilir. Zhang ve arkadaşları (2021) enerji otunu hidrolize etmek için selülaz kullandı ve enzimatik hidroliz süresinin enerji otundan hidrojen üretimi üzerindeki etkisini inceledi. 147.64 mL/g toplam katı ile en yüksek hidrojen verimi 60 saatlik enzimatik hidroliz süresi ile elde edilmiştir. Fiziksel ve kimyasal ön işlemlerle karşılaştırıldığında, biyolojik ön arıtma, düşük işletme maliyeti ve nadiren engelleyici yan ürünler üretme avantajlarına sahiptir, ancak düşük verimlilik her zaman uygulamasını engeller. Lignoselülozda lignin ve hemiselülozun parçalanmasızna yardımcı olmak için seçilen mikroorganizmalara veya enzimlere uygulanan biyolojik ön arıtma işlemidir (Zhang ve ark., 2021).

Enzimler eylemde spesifiktir ve biyokatalizör olarak adlandırılır. Hammaddeler, çeşitli fiziksel veya kimyasal ön-işlemlerden sonra uygun hammaddeye dönüştürülür ve hidrojen üretimi için kararlı bir süreç olarak enzimatik ön işlem sürecini gerektirir. Gıda atıkları ve diğer lignoselüloz bazlı besleme stoklarında bulunan lignin, hemiselüloz ve selüloz bileşenleri genellikle sırasıyla lakkazlar, ksilanazlar ve selüloz enzimleri tarafından parçalanır. Hammaddede bulunan ligninin toksin türevi, ham maddenin hidrolizini engeller ve dolayısıyla ligninin kimyasalların yardımıyla ekstraksiyonu biyokütle şişmesine yol açar. Biyokütle şişmesi lignin yapısını değiştirir ve selülolitik enzimin lignini parçalamasına izin verir. Bu enzimler, hammadde

üzerinde hareket eder ve onları glikoz, ksiloz, arabinoz veya mannoz gibi beş veya altı karbon atomuna dönüştürür. Mikroorganizma bu beş ve altı karbonu kullanabilir ve bir fermantasyon işlemi yoluyla biyohidrojen üretebilir. Ön arıtma işlemi için, fermantasyon işlemi sırasında ya enzimin saf formu ya da enzim salgılayan mikroplar kullanılır. Ancak enzimatik ön arıtma prosesinde atıkların etkin hidrolizi için uygun koşulların devam etmesi çok önemlidir (Chozhavendhan ve ark., 2020).

2.5.2.2. Mantar ile ön işlem

Beyaz çürüklük mantarları, kahverengi çürüklük mantarları ve yumuşak çürüklük mantarları gibi mantarlar lignin peroksidaz, manganez peroksidaz, Lakkaz gibi bileşenler salgılayabilir ve bunlar lignini etkili bir şekilde parçalayabilir. Bu özellik sayesinde, mantar ön işlemi biyoyakıt üretimi için ayrı hidroliz ve fermentasyon işlemi sırasında lignoselüloz hidrolizini önemli ölçüde iyileştirebilir (Zhao ve ark., 2022).

2.5.2.3. Bakteriyel ön işlem

Bakteriler etkili enzim üreticileridir ve lignoselülozun polimerizasyonunu azaltmada iyi bir potansiyele sahiptirler. *Bacillus* toprakta yaygın olarak bulunur ve hem selüloz hem de peroksidaz salgılayabilir, bu da selüloz ve lignini uygun şekilde bozabilir. Çoklu mikroorganizmalar genellikle daha iyi lignoselüloz ön işleme kapasitesi gösterir. Örneğin, anaerobik kompostlama, %40 lignin bozunması dahil olmak üzere 3 gün içinde buğday samanının %47 katı çözünürlüğüne ulaşabilir (Zhao ve ark., 2022).

Termitler, gezegendeki en doğal lignoselüloz ayrıştıran organizmalardan biridir. (Brune, 2014), termitlerin bağırsak mikroflorasını incelemiş ve lignoselülozu parçalayan, oldukça etkili enzimler salgılayabilen çeşitli lignoselülozu ayrıştıran mikroorganizmalar olduğunu bulmuştur. Li ve ark. (2017) ayrıca termitlerin odun parçacıklarının boyutunu önemli ölçüde azaltabildiğini ve kavak ağacının yapısını 45

gün boyunca 27 °C'de tahrip edebildiğini ve nihai lignin bozulmasının %60'a ulaştığını göstermiştir (Zhao ve ark., 2022).

2.5.3. Kimyasal ön işlem

Kimyasal ön işlem, sert lignoselülozik yapıyı yok etmek ve lignoselüloz bileşenini seçici olarak çözmek için özel kimyasalların kullanıldığı bir prosestir. Kimyasal yöntemler hem lignoselüloz yüzey alanını arttırmada hem de lignoselülozun biyolojik olarak parçalanabilirliğini iyileştirmede etkilidir (Paudel ve ark., 2017).

Kimyasal ön işlemler genellikle kolay ölçek büyütme ve düşük enerji talepleri nedeniyle tercih edilir. Birçok organik ve inorganik çözücü, hücre bozulmasında ve alglerden pigmentlerin ekstraksiyonunda ve lignoselülozik bileşenlerin gıda atıklarından hidrolizinde kullanılır. (Chozhavendhan ve ark., 2020).

Biyokütlenin kimyasal ön arıtması genellikle asitler ve alkaliler gibi güçlü kimyasalların eklenmesiyle gerçekleştirilir. Lipid ekstraksiyonunda ve mikroalgal biyorafinerilerinde hücre bozulması için birçok organik ve inorganik çözücü de kullanılmaktadır. Asitler, hücre duvarı polimerlerinin asit hidrolizi ile hücre bozulmasına neden olarak çalışır, oysa bazlar hücre yapısını parçalamak için membran/hücre duvarı lipidlerini sabunlaştırır. Asit hidroliz performansı, daha yüksek sıcaklıklarla iyileştirilirken, alkali muamelesi ile partikül boyutunun küçüldüğü bilinmektedir. Ön arıtma verimliliği mikroalgal türlere, kullanılan kimyasala, ön arıtma süresine, diğer seçeneklerle kombinasyona ve istenen ürünün geri kazanımına bağlıdır (Nagarajan ve ark., 2020)

Düşük enerji talepleri ve ölçeklenebilirlik kolaylığı nedeniyle kimyasal ön işlemler tercih edilir. Potansiyel dezavantajlar, aşırı pH değerleri, protein/pigment denatürasyonu, sürekli kimyasal tedarik ihtiyaçları ve kullanılan kimyasalların güvenli bir şekilde imha edilmesi nedeniyle reaktör kaplarının korozyonunu içerir (Nagarajan ve ark., 2020).

2.5.3.1. Asidik ön işlem

Asitdik ön işlem biyokütlenin hidrolizinde kullanılan en etkili ön işlemlerden biridir. Bu ön işlem, lignoselülozik materyalin sert yapısını parçalamak, şekerleri serbest bırakmak, inhibitör bileşikleri ve lignini çökeltmek için konsantre veya seyreltik asitlerin, özellikle sülfürik asit (H_2SO_4) ve hidroklorik asit (HCl) kullanımını içerir (Soares ve ark., 2020). Asidik ön işlem için yaygın olarak kullanılan reaktifler arasında sülfürik asit, asetik asit ve fosforik asit vb. bulunur. Asidik reaktiflerin lignoselülozdaki glikosidik bağları yok ettiği, selüloz, hemiselüloz ve az miktarda lignini çözdüğü ve böylece fermente edilebilir şekerlerin salınımını desteklediği kanıtlanmıştır (Zhao ve ark., 2022).

Asidik ön işlem performansının asit konsantrasyonu, sıcaklık, süre ve lignoselüloz konsantrasyonları ile yakın ilişkisi vardır. Daha uzun ön işlem süresi ile daha yüksek asit konsantrasyonu, kaçınılmaz olarak ekipman korozyonuna, fermente edilebilir şekerlerin kaybına ve furfural ve 5-hidroksi metil furfurral (HMF) gibi inhibitörlerin üretilmesine neden olacaktır (Mankar ve ark., 2021).

2.5.3.2. Alkali ön işlem

Alkali ön işlemi, enzimlerin selüloza erişimini iyileştirmek için ligninin ve hemiselülozun bir kısmının NaOH, kireç veya amonyak suyu ile uzaklaştırılması anlamına gelir (Zhang, 2021). Alkali ön işlemdeki yüksek pH, daha fazla lignini ve hemiselülozun bir kısmını çözebilir, selüloz kristalliğini azaltabilir ve böylece müteakip enzimatik hidrolizi ve kalan katı fermantasyonunu teşvik edebilir (Zhao ve ark., 2022). Alkali muamelesinin mekanizması hidroksitin selüloz ve hemiselüloz arasındaki hidrojen bağını ve sabunlaştırılmış hemiselüloz ile lignin molekülleri arasındaki ester bağını zayıflatabilmesidir. Alkali ön işlemde genellikle yüksek lignin içeren lignoselüloz için uygulanır, normal olarak kullanılan reaktif olarak NaOH en yaygın kullanılan kimyasal olup bunun yanında KOH, NH_3, $Ca(OH)_2$, gibi bazik kimyasallar kullanılmaktadır (Veluchamy ve ark., 2019).

Kullanılan kimyasallar hammaddelerdeki odunsu liflerin şişmesine, artan iç yüzey alanına, azalan polimerizasyon derecesine, azalan kristalliğe, lignin ve karbonhidratlar arasındaki kimyasal bağların kırılmasına ve lignin yapısının bozulmasını sağlar. Alkali ön arıtma için tipik çalışma koşulları, kısa bir temas süresi (10-90 dakika) için 100–200 °C altında %2 ila %7 arasında alkali konsantrasyonu veya 50–100°C'de % 0–2 konsantrasyon aralığını içerir. Ayrıca alkali ön işlemi daha geniş bir sıcaklık aralığı için uygulanabilir ve düşük sıcaklıklarda bile çok yönlü performans gösterir (Zhao ve ark., 2022). Asitle muamele ile karşılaştırıldığında, alkali muamelesi lignin, hemiselüloz ve selüloz arasındaki ester bağlarına daha fazla zarar verir ve hemiselüloz polimerinin kırılmasını önleyebilir (Gáspár ve ark., 2007).

2.5.3.3. Oksidasyon ile ön işlem

Oksidasyon ile ön işlem, lignoselülozik hammaddelerin alkali koşullarda ozon, oksijen veya hidrojen peroksit kullanılarak enzimatik hidroliz oranını arttırmak için kısmi oksidasyonunu ifade eder. Ozon, lignin ile reaksiyona girebilen ve hemiselülozu parçalayabilen radikallere ayrışır (Tang ve ark., 2021). Lignoselülozik hammaddeleri işlemek için H_2O_2 kullanıldığında, pH değeri büyük bir etkiye sahiptir. pH değeri 10'dan düşük olduğunda, hemen hemen hiç lignin uzaklaştırılmamıştır. pH değeri 12.5'ten büyük olduğunda, H_2O_2 işleminin enzimatik hidroliz üzerinde çok az etkisi vardır. Bu nedenle H_2O_2 ile muamele edilen lignoselülozik hammaddelerin pH değeri 11.5 ile 11.6 arasında kontrol edilmelidir. Düşük pH değerinin, ligninin ozon tarafından giderilmesine daha elverişli olduğunu göstermektedir. Ancak ozon ön arıtmasında çok miktarda ozona ihtiyaç duyulur ve arıtma maliyeti yüksektir, bu nedenle pratik uygulama imkânı yoktur. Ozon yoğunluğu, tedavi süresi ve pH, lignin bozunmasını açıkça etkiler (Zhang, 2021).

2.5.3.4. Organik çözücülerle ön işlem

Lignoselülozik biyokütle, biyoyakıt ve biyokimyasal üretim için en büyük potansiyel hacmi ve en düşük maliyeti temsil eder. Ön arıtma, enzimatik hidroliz, fermantasyon ve nihai ürün ayrımı dahil olmak üzere sonraki proseslerin çoğunu

etkileyen biyokütle dönüştürme prosesinin önemli bir bileşenidir. Organik solvent ön-muamelesi, lignoselülozik biyokütleyi yüksek saflıkta selüloz, lignin ve hemiselüloz bileşenlerine ayırma yeteneği ve ayrıca kolay solvent geri kazanımı ve solventin yeniden kullanımı gibi doğal avantajlarından dolayı gelişmekte olan bir yol olarak kabul edilmektedir (Zhang ve ark., 2016).

Organik çözücülerle ön işlem, yüksek saflıkta selülozun sadece küçük bir bozulma ile ayrılmasını sağlar. Selüloz katı olarak geri kazanılırken, çoğu lignin ve hemiselüloz organik çözücü içinde çözülür. Organik çözücülerle ön işlem, geleneksel işlemlere kıyasla hemiselüloz fraksiyonasyonu için daha yüksek verimlilik gösterir. Yüksek asit konsantrasyonlu organik solvent ön işleminde neredeyse tamamen hidrolize olan hemiselüloz, biyoetanole ve furfural ve ksilitol gibi diğer yüksek değerli kimyasallara dönüştürülebilir. Organik çözücü ön işlemi, damıtma kullanarak çözücüyü kolayca geri kazanır ve çözücüyü ön işleme geri dönüştürür (Zhao ve ark., 2009).

Yaygın olarak kullanılan organik çözücüler arasında metanol, etanol, tetrahidrofuranol, etilen glikol, aseton vb. bulunur. Bazı organik asitler ayrıca organosolv reaktifleri olarak da kullanılabilir. Organosolv ön işlemi genellikle 150–220°C aralığında gerçekleştirilir, daha düşük sıcaklık (60°C'nin altında) lignin giderme veriminin düşmesine neden olabilir (Zhao ve ark., 2022).

2.6. Biyohidrojen Üretiminde Kullanılan Mikrobiyal Topluluk

Biyokütle kaynaklarından hidrojen eldesinde kullanılan aşılarda bulunan mikrobiyal topluluk fermentatif hidrojen üretiminde önemli bir rol oynar. Biyohidrojen saf veya karışık kültürler kullanılarak üretilebilir. Saf kültür, yüksek seçicilik ve yüksek hidrojen üretimi sağlar. Çünkü mikroorganizmaların metabolizması değişen büyüme ve çalışma koşulları ile kolayca kontrol edilebilir. Bununla birlikte, saf kültür kullanılan proseslerde steril ortam ve saf kültürün temini proses maliyetini artırır. Mühendislik açısından bakıldığında, anaerobik çamurdan, belediye kanalizasyon çamuru kompostundan ve aşı olarak topraktan elde edilen

karışık kültürlerin kullanılması daha çok tercih edilen kültürlerdir (Chozhavendhan ve ark., 2020).

Karışık kültür aşılar steril olmayan koşullar altında kullanılabilir Ayrıca çeşitli metabolik aktiviteleri destekleyebildiği gibi çevresel koşullardaki değişikliklere karşı potansiyel olarak daha dirençlidir. Ancak karma konsorsiyumlar, hidrojen üretmeyen ancak karbon kaynağı için tamamlanmış bakteriler de içerebilir. Bu nedenle, hidrojen üretimini engelleyen bakterilerden kurtulmak ve hidrojen üreten bakterilerin baskınlığını artırmak için uygun çalışma koşulları veya ön arıtma adımı gereklidir (Aslam ve ark., 2018).

Organik atıklardan biyohidrojen üretim prosesleri çevresel etkileri göz önüne alındığında tercih edilebilirliği yüksektir. Ancak organik atıkların çok çeşitli kimyasal içeriklere sahip olması kullanılacak mikroorganizmaların da çeşitliliğini gerektirir (Baeyens ve ark., 2020). Biyohidrojen üretiminin etkinliği çoğunlukla sistemde bulunan mikrobiyal çeşitliliğe bağlıdır ve mikrobiyal çeşitlilik genellikle aşı kaynaklarına göre değişir. Biyokütlenin hidrojene dönüşme süreci hidrojenazlar ve nitrojenazlar gibi farklı mikrobiyal enzimler aracılığıyla gerçekleşir. Mikroorganizmalar, fermantasyon işlemi sırasında biyohidrojen üretimi için çok önemli bir rol oynar. Genel olarak, kompleks substratta bulunan sakkaritler, lipidler ve proteinler gibi çeşitli organikler, fermentatif bakteriler tarafından kısa zincirli yağ asitleri oluşturmak üzere katabolize edilir ve daha sonra bu asitler, asetojenler tarafından ayrıca asetat, CO_2 ve H_2'ye hidrolize edilir (Karim ve ark., 2021).

Karanlık fermantasyonu gerçekleştirmek için, çok sayıda ve çeşitte anaerobik fermentatif bakteri türü mevcuttur (Sen ve ark., 2008). Genel olarak, *Bacillus* türü, *Clostridium* türü, *Thermoanaero* bakterisi vb. dahil olmak üzere spor oluşturan bakteriler, fermentatif yolla hidrojen üretiminde baskın olarak kullanılan mikroorganizmalardır (Mishra ve ark., 2017). Çoğu literatür kaynağı, yüksek hidrojen üretim oranları nedeniyle *Clostridium* cinsinin mikroorganizma türlerini kullanmıştır. Bu bakteriler, endospor oluşturma ve yüksek büyüme oranları dahil olmak üzere endüstriyel uygulama için de ideal özelliklere sahiptir (Baeyens ve ark., 2020). Bu

hidrojen üreten mikroorganizmalar, bakteri metabolizması sırasında enerjinin ATP ve hidrojen olarak üretildiği hidrojenaz enzimini içerir (Yasin ve ark., 2013).

Saf kültürlerle fermantasyon sınırlı bir metabolik kapasiteye sahiptir, bu nedenle karanlık fermentasyonda üretilen uçucu yağ asitlerinin fotosentezde daha fazla kullanılabilmesi ve hidrojene dönüştürülebilmesi açısından substrat aralığını genişlettikleri için karışık kültürler önerilmiştir. H_2 üretebilen mikroorganizmalar, toprakta, atık su arıtma çamurlarında, endüstriyel arıtma sistemlerinde bolca bulunur (Baeyens ve ark., 2020).

Karanlık fermantasyon ile biyohidrojen üretimi, çok çeşitli organik atık substratları dönüştürebilen çeşitli mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilir. Farklı yaşam sıcaklıklarına göre bu mikroorganizmalar termofiller (45–65 °C), mezofiller (25–45 °C) ve psikrofiller (0–25 °C) olarak sınıflandırılır. H_2 üretimi için yaygın olarak kullanılan mezofilik kültürler *Clostridium* ve *Enterobacter*'dir; en çok rapor edilen termofilik ise *Thermoanaerobium*'dur. Yine oksijen varlığında metabolizmalarının büyümesine bağlı olarak fakültatif (örn. *E. cloacae, Enterobacter aerogenes, Citrobacter intermedius ve Escherichia coli*) veya zorunlu bakteriler (örn. *C. paraputrificum, Ruminococcus albus* ve *Clostridium beijerinckii*) olarak ikiye ayrılırlar. Fakültatif bakteriler, aerobik solunumla (oksijen varlığında) ATP yapan ve ayrıca anaerobik solunum veya fermantasyon (oksijen yokluğunda) yapabilen organizmalardır. Aksine zorunlu bakteriler (oksijen yokluğunda) ATP üretemezler ve oksijen varlığında yaşayamazlar. *Enterobacter* ve *Clostridium*, hızlı büyüme ve endospor oluşturma yetenekleri nedeniyle büyük ölçekli hidrojen üretimi için iki gram pozitif bakteri türüdür. *Klebsiella pneumoniae*, *Cellulomonas* gibi laktik bakteriler ve *Thermotoga neapolitana* ve *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* gibi bazı termofilik arkeler de karanlık fermantasyon yoluyla H_2 üretimi için iyi sonuçlar gösterdiği bulunmuştur (Osman ve ark., 2020).

Karışık ve saf kültürler arasında karşılaştırma yapıldığında, işlemin kontrol edilmesi ve çalıştırılması daha basit olduğu ve hammadde seçimi daha geniş olduğu için karma kültür kullanımı daha pratiktir. Karışık kültür ayrıca fermantasyon işlemi

sırasında pH ve sıcaklıktaki değişikliklere uyum sağlayabilir, oksijen kontaminasyonunu tolere edebilir ve steril olmayan koşullar altında büyütülebilir, bu da sterilizasyon maliyetinden büyük ölçüde tasarruf sağlayabilir. Bununla birlikte, saf kültürlerin daha yüksek hidrojen verimi ve daha yüksek hidrojen / CO_2 oranı sağlama avantajları vardır (Salakkam ve ark., 2021).

Literatürde, kentsel atıksu arıtma tesislerinden, süt çiftliği anaerobik çürütme tesisinden, palmiye yağı değirmeni plantasyonundaki çamur çukurundan, yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı (UASB) reaktörden, şeker fabrikası atıksularından aşı kullanan çalışmalar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda ise büyük ölçüde *Clostridium sp.* türü bakteri bulunduran aerobik çamur kullanılmıştır (Soares ve ark., 2020).

Karma kültürler, düşük işletme maliyetleri, operasyon kolaylığı ve daha kolay kontrol ve daha geniş bir hammadde kaynağı sundukları için saf kültürlere tercih edilmiştir. Karışık kültür, karanlık fermentatif biyohidrojen üretiminde furfural ve kısmen 5-HMF'yi tamamen parçalama kabiliyetini gösterdiği görülmüştür. Bununla birlikte, karma kültürler H_2 tüketen türler veya hidrojen tüketmeyen türler içerebilir. Bu da H_2 tüketen mikroorganizmaları elimine etmek ve özellikle *Clostridium sp.* H_2 üreticilerini aktive etmek için bu kültürlerin ön işleme tabi tutulmasını gerekli kılar (Soares ve ark., 2020).

2.7. Hidrojen Tüketen Bakterilerin Giderilmesi

Karanlık fermentatif hidrojen üretiminde gaz verimini arttırma yöntemlerinden biri de kullanılan aşının ön işleme tabi tutulmasıdır. Aşıya uygulanan ön işlem, metanojenlerin aktivitesini baskılar ve hidrojen üreten bakterilerin aktivitesini arttırır Metanojenler, anaerobik çürütme işlemi yoluyla hidrojen gazı, karbondioksit ve asetattan metan üretebilen arkebakterilerdir. Bu nedenle, metanojenlerin varlığı kaçınılmaz olarak hidrojen veriminde azalmaya yol açacaktır. Tipik olarak, anaerobik çamur ve granüllerin kullanımı, metanojenleri inhibe etmek için ek bir ön arıtma adımı gerektirir (Venkata Mohan ve ark., 2008).

Biyohidrojen üretiminde kullanılan anaerobik karışık kültürlerin ön işlemi, metanojenik bakterilerin aktivitesini inhibe etmek ve fermantasyon işlemi sırasında H_2 üreten bakterileri aktive etmek için gerçekleştirilir. Literatürde termal, kimyasal, havalandırma ve mikrodalga ön işlemlerini farklı çalışma koşullarında kullanan çalışmalar mevcuttur. Kullanılan substrat kaynaklarının içeriği, kullanılan aşı kaynaklarının farklı ön işlemlere tabi tutulmasını gerektirir (Soares ve ark., 2020).

Proseste kullanılan ön işlemler genel olarak kimyasal ve fiziksel yöntemler içerir. Kimyasal ön işlem, pH ön işlem, katalizör ve inhibitör olarak kullanılan kimyasalların eklenmesi ile gerçekleştirilir. Fiziksel ön işlem ise ultrason, havalandırma, dondurma, çözdürme, ısı ve ultraviyole ışınlamayı içerir (Park ve ark., 2021). Bakteriler, karbon kaynaklarının türü ve konsantrasyonları, pH ve sıcaklık gibi fiziko-kimyasal özelliklerine göre fermentatif süreç sırasında metabolik yollarını değiştirebilirler (Karim ve ark., 2021). H_2 üretiminde yer alan mikroorganizmalar çeşitlidir ve uygulanan ön işlem bakterilerin farklı reaksiyonlar vermelerine yol açabilir, bu nedenle uygun bir ön arıtma tekniğinin seçilmesi esastır (Poladyan ve ark., 2018).

Literatürde ısıl işlem, yük şoku, asit, alkali ve 2-bromoetansülfonat gibi kimyasalların kullanımı, havalandırma ve elektrik ön işlemi gibi yöntemler bulunmaktadır. Bunlar arasında ısıl işlem, basit ve ucuz olduğu için en yaygın olarak kullanılanıdır. Bu yöntemde çamur veya granüller belirli bir süre boyunca genellikle 80 °C'nin üzerinde yüksek bir sıcaklığa ısıtılır. Daha sonra ön işlemden geçirilen çamur ve granüller kullanımdan önce soğumaya bırakılır. Daha az sıklıkla, saf hidrojen üreten bakteri kültürü mikroalgal biyokütle ile birlikte kullanılır (Salakkam ve ark., 2021).

Biyohidrojen üreten bakterilerin metabolik yolları ve hidrojenaz aktiviteleri, pH'dan kuvvetli bir şekilde etkilenir, çünkü hidrojenaz aktivitesi, fermentatif proses sırasında uygun bir pH aralığına bağlıdır. 5 ila 6 arasında değişen pH'nın fermantasyon yoluyla hidrojen üretimi için optimal olduğu belirtilmiştir. Fermentatif hidrojen üretimi sırasında oluşan yan ürünler de bakteri türlerinin tipine ve fizikokimyasal

koşullarına bağlı olarak asetat, bütirat, propanoat, laktat ve alkoller vb. gibi çeşitlidir (Karim ve ark., 2021).

Isıl işlemde kullanılan sıcaklık ve zaman koşulları 70 ile 121 °C ve 10 dakika ile 24 saat aralığında olup, farklı biyohidrojen üretimi ve verimi ile sonuçlanır. Bu sebeple her bir aşı kaynağı farklı bir mikroorganizma bileşimine sahip olduğundan, her proses için uygun koşulun belirlenmesi ihtiyacını göstermektedir (Soares ve ark., 2020).

2.8. Hidrojen Verimine Etki Eden İşletme Parametreleri

Fermantasyonla biyohidrojen üretimi, kullanılan birçok mikroorganizma grubunun dahil olduğu karmaşık bir biyolojik süreçtir (Wang ve Yin, 2017b). Biyohidrojen verimini arttırmada önemli rol oynayan işletme koşulları birçok parametreden oluşur. Bu uygulamaların başlangıcında kullanılan mikroorganizmalar, kullanılan biyokütle kaynağına uygulanan ön işlemler, seyreltme oranları, pH, sıcaklık, hidrolik bekletme süreleri, işletme koşulları, kullanılan biyokütle kaynağının yapısı ve bileşenleri gibi faktörler elde edilecek enerji kaynağının yapısını ve verimini etkilemektedir (Sinha ve Pandey, 2011; Prabakar ve ark., 2018). Bu faktörlerin fermantasyon üzerindeki etkilerini aydınlatmak, hidrojen verimini ve substrat kullanım verimliliğini optimize etmek için hayati önem taşır. Ayrıca, yukarıda belirtilen parametrelerin etkilerinin birbiriyle sıkı bir şekilde ilişkili olduğu kabul edilir, böylece bir parametredeki değişiklik, diğer proses parametreleriyle birleşik etkileşimlere neden olabilir (Wang ve Yin, 2017c).

2.8.1. pH etkisi

pH, hidrojen üretiminin verimliliğini etkileyen çok önemli bir parametredir (Stavropoulos ve ark., 2016). Ortamın pH'sı fermantasyonda kullanılan hidrojenaz ve nitrojenaz enzimlerini ve buna bağlı olarak da hidrojen üretimini etkiler. Karanlık fermantasyonda ortamda oluşan asidik bileşenlerin neden olduğu düşük pH değerleri, hidrojen üreten bakterilerin metabolik yolunun hidrojen ve asit üretiminden solvent üretimine kaymasına neden olur (Phanduang ve ark., 2017). Uygun bir pH, besinlerin alımını kolaylaştırabilir ve böylece hidrojen üreten bakterilerin büyümesini

sürdürebilir. Ayrıca metanojenik hidrojen tüketicilerinin faaliyetlerini bastırmak için de önemlidir (Wang ve Yin, 2017c).

Aşı kaynağına, aşının zenginleştirme yöntemine, substrat tiplerine, ön işleme ve kullanılan işleme bağlı olarak, biyohidrojen üretimi için optimum pH 4,5 ila 9,0 gibi geniş bir aralıkta değişebilir (Salakkam ve ark., 2021). Karanlık fermantasyon prosesleri sırasında biyohidrojen üretimi, 4'ten düşük pH'larda engellenir. Düşük pH, hidrojenaz enzimlerinin aktivitesini etkiler ve hidrojen üreticilerinin etkisini engeller. pH 5'te biyokütle daha az büyümesi nedeniyle hidrojen verimi düşer, etkin hidrojen üretimi, 5.5 pH'ın üzerinde gerçekleşir (Preethi ve ark., 2019). Öte yandan, yüksek pH seviyelerinde hidrojen verimi giderek azalsa da hidrojenin oluşum süresi daha kısa olmaktadır (Luo ve ark., 2010). Aşırı pH koşullarında, sporla çoğalan, hidrojen üreten mikroorganizmalar hayatta kalabilirken metanojenler elimine edilecektir. Kümülatif hidrojen üretim hızı ve hidrojen verimi genel olarak pH ile ters orantılı olarak değişir (Silva ve ark., 2019). Literatürden, pH'ın 5.5-6.5'te tutulduğu ve bunun da biyohidrojen üretimini %60-70 oranında arttırdığı kaydedilmiştir (Salakkam ve ark., 2021). pH, bakterilerin büyümesini sınırlamada önemli bir rol oynar ve ayrıca toplam solvent konsantrasyonunu gösterir. Yüksek hidrojen üretimi ve daha düşük solvent üretimi için de optimum pH 5.5 ile 6.5 arasındadır (Preethi ve ark., 2019).

Gıda atıkları veya asitle ön işleme tabi tutulmuş biyokütle dışındaki çoğu organik atık kaynağı, nötr bir pH'a sahiptir. Ancak karanlık fermantasyonun son yan ürünleri olan organik asitler pH'yı hızla düşürür. Bu nedenle pH genellikle NaOH veya KOH ile kontrol edilir (Park ve ark., 2021)

Biyohidrojen üretimi için şeker kamışı küspesi, çam ağacı pelet, atık buğday tozu, atık kâğıt, hurma çekirdeği keki, pirinç kepeği ve buğday samanı gibi lignoselülozik biyokütle üzerine seyreltik asit ön işleminin uygulandığı bazı örneklerdir. Kullanılan kimyasalların konsantrasyonu ayrıca karanlık fermentatif hidrojen üretimini etkiler. Yüksek asit konsantrasyonları, lignoselülozik biyokütlelerden daha yüksek miktarda şeker salınımı sağlasa da bu, H_2 üreten

bakterileri engelleyebileceğinden, karanlık fermentatif biyohidrojen üretimi için uygun değildir (Soares ve ark., 2020).

2.8.2. Sıcaklığın etkisi

Sıcaklık, hidrojen üreten bakterilerin aktivitelerini, onların metabolik reaksiyonlarını ve popülasyon dinamiklerini etkilediği için, fermentatif hidrojen üretim sürecinin verimliliğini ve kararlılığını etkileyen çok önemli bir faktördür (Chozhavendhan ve ark., 2020). Genel olarak, sıcaklık belirli bir seviyeye yükseltildiğinde hidrojen üretimi artar ve sıcaklığın daha da arttırılması enzimlerin termal inaktivasyonuna neden olarak düşük mikrobiyal aktivite ve düşük hidrojen üretimine yol açar. Hidrojen fermantasyon işlemi için sıcaklık aralığının mezofilik (25 °C-40 °C), termofilik (40 °C-65 °C), aşırı termofilik (65 °C-80 °C), ve hipertermofilik (>80 °C) sıcaklıklar ve çoğu çalışma mezofilik ve termofilik sıcaklıklarda (30 °C-60 °C) yürütülür. Sıcaklık, bakteri metabolizmasında olduğu kadar substrat dönüşümünde de önemli bir rol oynar. Başta lipid olmak üzere bakteri hücre zarı bileşiminde değişikliklere neden olarak, zarın stabilitesini ve geçirgenliğini etkileyen zar yapısında değişikliklere neden olur (Salakkam ve ark., 2021).

Genel olarak biyokütle fermantasyonu için yürütülen sıcaklık 30–55 °C aralığındadır ve araştırmaların çoğu mezofilik sıcaklıklarda (35–37 °C) yapılmaktadır. Hidrojen üretimi için 30–49 °C mezofilik sıcaklık ortamı ve ayrıca maliyetler ve diğer teknik özellikler açısından prosesi desteklemektedir. Bununla birlikte, biyohidrojen üretim performansı ve substrat bozunması, daha yüksek bir sıcaklıkta etkili bir şekilde elde edilebilir ve ayrıca propiyonik asit ve metan üreten mikroorganizmaların aktivitesini sınırlar. Substrata ve organizmaya bağlı olarak, hidrojen üretimi için sıcaklık uygun şekilde korunur. Mezofillerin, hidrojen üretimi için bir selüloz alt tabakası üzerinde hareket etme eğilimi olmadığından, yüksek hidroliz hızı için termofiller kullanılabilir. Genel olarak, yüksek sıcaklık, sistem entropisini artırarak hidrojen üretimini teşvik eder ve yüksek enerji yatırımı ve işletme bakımı ile sonuçlanır (Chozhavendhan ve ark., 2020). Substrat dönüşümü açısından, artan sıcaklık, substrat hidroliz hızını artırarak hidrojen üretiminin artmasına neden olur.

Sıcaklık ayrıca fermantasyon sürecinden sorumlu enzimlerin aktivitesini de etkiler (Salakkam ve ark., 2021).

2.8.3. Substrat konsantrasyonu

Substratlar, farklı biyolojik bozunabilirliklerinden dolayı fermantasyon süreci üzerinde etkili olup, biyokütle konsantrasyonunun biyohidrojen üretimi üzerinde büyük etkisi vardır. Karanlık fermantasyonda kullanılan substratlar, basit şekerlerden lignoselülozik ve mikroalgal biyokütleler gibi karmaşık substratlara kadar çok çeşitli olabilir (Salakkam ve ark., 2021). Karbonhidratın toplam dönüşümü, organik içeriğin aşırı yüklenmesini gösteren ve reaktörün performansını etkileyen reaktördeki organik yükleme ile ters orantılıdır. Organik substratların aşırı yüklenmesi nedeniyle artan konsantrasyon hidrojen verimini düşürür. Glikoz, maltoz ve ksiloz hali hazırda kullanılırken, örneğin nişasta gibi diğer substratlar, asit veya enzimatik hidroliz yoluyla glikoz veya maltoza bir ön dönüşüm gerektirir. Ayrıca, çoğu mikroorganizma doğrudan veya dolaylı olarak selülozu tüketemediğinden, selüloz kullanımı en zor olanıdır. Öte yandan, şeker fabrikalarından, bira fabrikalarından, manyok işlemeden ve diğerlerinden gelen atık su gibi karbonhidrat açısından zengin atık besleme stoğu, biyohidrojenin maliyetini büyük ölçüde azaltabilir (Baeyens ve ark., 2020).

2.8.4. Nütrient ilavesi

Biyohidrojen üretim süreci, Fe, Ni ve Mg gibi metallerin iyonlarına ihtiyaç duyar. Enzimler, hidrojen üretim reaksiyonları dahil olmak üzere tüm metabolizma ve biyoreaksiyonların spesifik uygulayıcılarıdır. Na^{+}, Mg^{+}, Zn^{+}, Fe^{+2} gibi metal iyonlar enzimleri katalizleyen bu sebeple hidrojen sentezi için temel faktörlerdendir (Bhatia ve ark., 2021). Wang ve Wan (2008) yaptıkları çalışmada demir ilavesinin hidrojen sentezini yükselttiğini bildirdiler. 25 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ eklendikten sonra üretilen hidrojen miktarının 2.93 mol/mol glikozdan 3.06 mol/mol glikoza yükseldiğini bildirdiler (Wang ve Wan, 2008).

Azot, sülfat ve fosfat gibi inorganik bileşenler, mikroorganizmaların büyümesi için gerekli makro besinlerdir ancak H_2 üretimini azaltmak için inhibitör etkilere neden olabilirler. Besleme stoğunda yüksek amonyak azot konsantrasyonu ve yüksek C/N oranında karanlık fermantasyon işlemi engellenir. Yüksek amonyak nitrojen konsantrasyonu, hücre içi pH'ı engeller ve enzimatik aktiviteyi inhibe eder. Biyohidrojen fermentasyonunda nitrojen kaynaklı inhibisyonu önlemek için uygun C/N oranının dengelenmesi oldukça önemlidir (Kothari ve ark., 2017). Optimum mikrobiyal büyümeyi sürdürmek için karbon, nitrojen, vitaminler, fosfatlar ve eser elementler gibi besinlerin mevcudiyeti esastır. Fermentasyon reaksiyonunun stabilizasyonu için optimum bir C/N'nin korunması önemlidir. En uygun C/N oranı aralığı 13 ila 25 olarak bildirilmiştir. Aşırı oranlar, biyohidrojen üretimi üzerinde olumsuz bir etki geliştirebilir (Rughoonundun ve ark., 2012).

2.8.5. Diğer parametreler

Hidrojen verimini etkiliyen faktörlerden biri fermantasyon süresidir. Fermantasyon süresi veya hidrolik bekletme süresi, hidrojen üretimini etkileyen ve üretilen gazın verimliliğini değerlendiren bir parametredir. Asidojenik fermantasyon sırasında metanojenik süreci kısıtlayan en önemli işletme faktörlerinden biridir. Daha uzun süreler, metabolik aktivitede asidojenikten metanojenik faza geçişe yol açar ve bu da sonunda hidrojen üretimini engeller. Daha kısa fermantasyon süresi, metanojenlerin etkisini engeller. Hidrojen üretimi için optimum bekleme süresi 8-14 saat arasıdır (Preethi ve ark., 2019).

Fermantasyon sürecinde açığa çıkan gaz reaktör içinde basınç artışına neden olur. Hidrojenin birikmesi, Le Chateliers İlkesine göre reaktörde ileri reaksiyonun engellenmesine yol açar ve böylece gaz basıncı, reaktördeki hidrojen üretimini azaltır. Üretilen hidrojenin sistemden çıkarılması, reaktör içinde biriken hidrojen nedeniyle kısmi basınçtaki artışın etkisinin üstesinden gelmeye yardımcı olur. Kısmi basınçta bakım, hidrojen üretimini arttırır ve nitrojen gazının eklenmesi, hidrojen gazının %68 oranında çıkarılmasına yardımcı olur. Biyohidrojen üretimini etkileyen ana parametrelerden bir diğeri ise biyoreaktör konfigürasyonudur. Kesikli reaktörler

laboratuvar ölçekli çalışmalarda yaygın olarak kullanılırken, ticari ölçekte sürekli karıştırmalı tank reaktörü (CSTR) yaygın olarak kullanılmaktadır (Preethi ve ark., 2019).

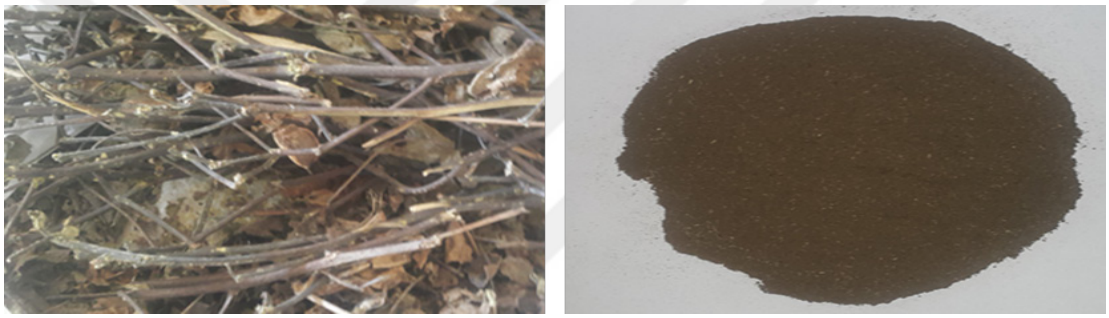
Asetik asit, laktik asit ve propiyonik asitler gibi uçucu yağ asitleri, anaerobik olarak hidrojen üretimi sırasında ara yan ürünler olarak oluşur. Buna karşılık, ara ürünler olarak laktik asit ve propiyonik asit üretilirse hidrojen üretimi olmaz. Hidrojen üretiminin fermantasyonu sırasında laktik asit bakterilerinin ve diğer hidrojen tüketen bakterilerin etkisini önlemek için bir dizi substrat ön arıtma adımı izlenir. Bunların dışında, seyreltme oranı, kritik faktör, hidrojen kısmi basıncı ve besinlerin bileşimi gibi hidrojen üretimini de etkileyen birkaç faktör daha vardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

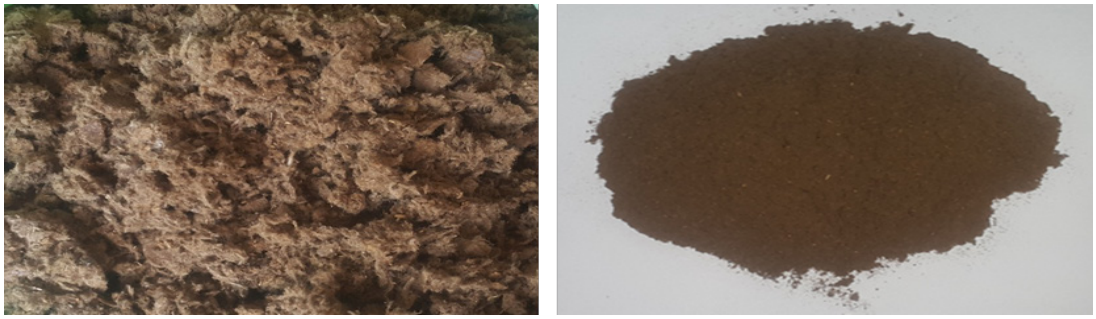
3.1.1. Biyokütle kaynakları

Biyokütle kaynaklarından biyohidrojen üretimi için bölgede organik atık olarak değerlendirilen kaynaklar araştırılmış ve bölgede yüksek miktarda üretilen kaynaklar belirlenmiştir. Bölgede üretimi yüksek olan pamuk bitkisi için Adıyaman'da üretilen pamuk tarlasından hasat sonrası atıklar toplanarak kurutulmuştur (Şekil 3.1.).



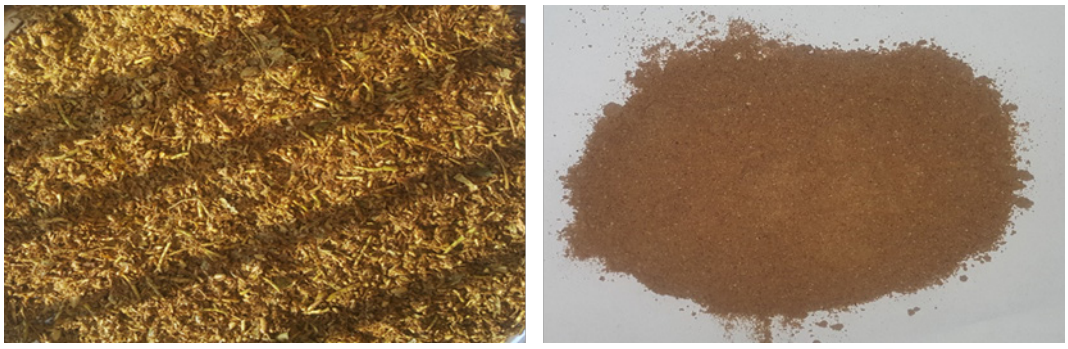
Şekil 3.1. Pamuk atıkları ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle

Adıyaman Organize Sanayi Bölgesinde yer alan Güçlü Yağ fabrikasından pamuk küspesi temin edilerek bunlar öğütücüde öğütülmüş ve deneysel çalışmalar için hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Yağ fabrikasından alınan pamuk küspesi ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle

Bölgede önemli bir üretim kapasitesi olan fıstık bitkisinin küspesi atık olarak değerlendirilmiş ve fıstık küspesi Şanlıurfa'da bulunan fıstık kavlatma tesisinden temin edilerek öğütülmüş ve fermantasyona hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Şanlıurfa fıstık kavlatma tesisinden alınan fıstık küspesi ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle

Son yıllarda hızla üretimi artan önemli bitkilerden biri de nar bitkisidir. Nar kabuğu Adıyaman'da nar bahçesinden toplanan narlar içindeki meyve kısmı ayrıştırılarak kurumaya bırakılmış ve kuruduktan sonra öğütücüden geçirilerek fermantasyona hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Adıyaman/Samsat ilçesi üretim bahçesinden alınan nar kabuğu örnekleri ve öğütücüden geçirilerek elenmiş biyokütle

3.1.1.1. Biyokütle kaynaklarına fiziksel ön işlem

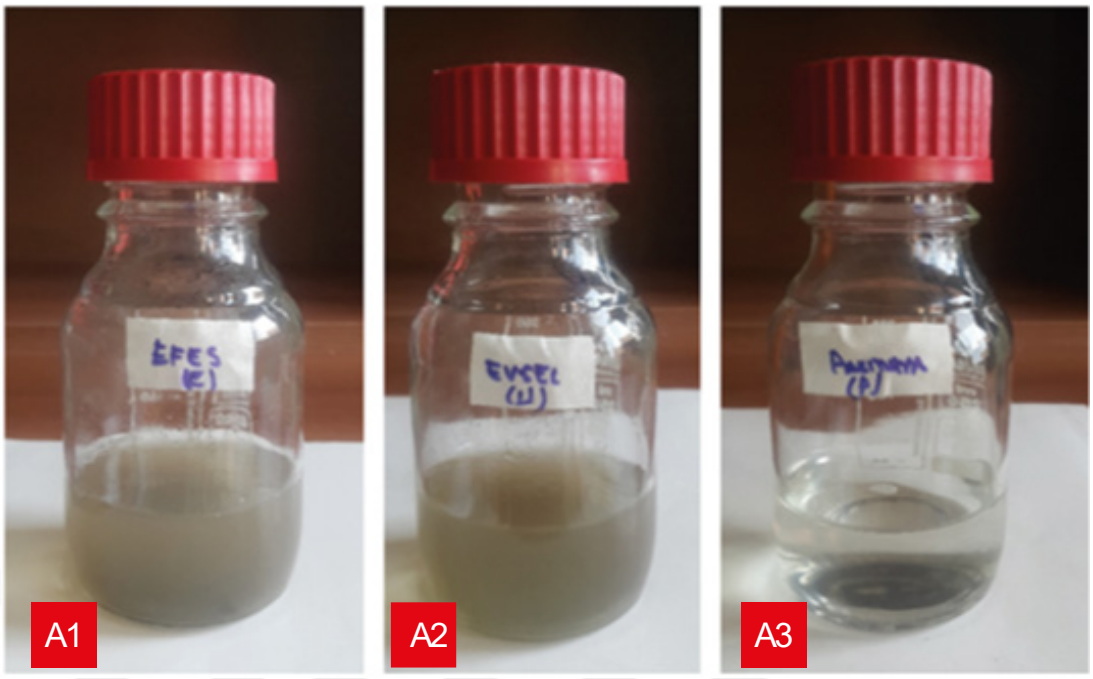
Çalışmanın bu aşamasında biyokütle kaynaklarına fiziksel ön işlem uygulamak amacıyla kurutulmuş hammaddeler öğütücüde öğütülmüş, daha sonra 700 µm gözenekli metal eleklerden geçirilerek deneysel çalışmaya hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. Biyokütle kaynaklarının öğütücüden geçirilmesi

3.1.2. Mikrobiyal topluluk

Fermantasyon için Adana Anadolu Efes fabrikası anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru **(A1),** Şanlıurfa evsel atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru **(A2)**, Düzce Pakmaya maya endüstrisi anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru **(A3)** temin edilmiştir (Şekil 3.6.).



Şekil 3.6. Biyohidrojen üretiminde kullanılan mikrobiyal topluluk

Hidrojenotrofik metanojenler, metan üretmek için H_2 tüketerek H_2 verimini azaltan başlıca H_2 tüketen mikroorganizmalardan biri olarak işlev görür. Bu nedenle, H_2 tüketen bir mikroorganizma gibi davranan hidrojenotropik metanojenlerin üretiminin engellenmesi, karanlık fermantasyon için ana adımlardan biridir. H_2 üreten bakterileri zenginleştirmek ve H_2 tüketen metanojenleri baskılamak için düşünülen aşıların ön işlemden geçmesi gerekir. Metanojenler anaerobik mikroorganizmalar olduğundan, reaktör etrafındaki havalandırma metanojenleri inhibe eder ve böylece H_2 verimini artırabilir (Osman ve ark., 2020).

3.2. Yöntem

3.2.1. Nütrientin hazırlanması

Karanlık fermantasyon ile lignoselülozik biyokütle kullanılarak biyolojik H_2 üretimi, fermantasyon sırasında mikroorganizmalar tarafından üretilen asidik metabolitlerin zayıf kullanımı nedeniyle daha düşük bir verimle sonuçlanmıştır (Srivastava ve ark., 2020). Hidrojen verimini arttırmak için mikrobiyal kültürün büyümesinde gerekli olan besinlerin fermantasyon ortamına eklenmesi önemlidir.

Mikrobiyal topluluğu aktive etmek ve gaz verimini arttırmak için çizelge 3.1.'de belirtilen kimyasallar balon jojeye konulmuş ve saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

Çizelge 3.1. Nütrient kaynağı olarak kullanılan kimyasallar ve miktarları (mg/L) (Park ve ark., 2013)

Kimyasal Bileşen	**$MnSO_4.H_2O$**	**NH_4Cl**	**$MgSO_4.7H_2O$**	**KH_2PO_4**	**$CaCl_2$**	**$FeCl_2$**
Eklenen miktar (mg/L)	10	960	120	220	10	43

3.2.2. Biyokütle kaynaklarına ön işlemin uygulanması

Fermantasyon yoluyla verimli ve faydalı hidrojen üretimleri, substrat bileşimi, besin mevcudiyeti, reaktörlerin modu ve çalışması, bakteri konsorsiyumu ve verimi gibi çeşitli faktörlerden etkilenmiştir (Mota ve ark., 2018). Literatürde fermentasyon çalışmaları hem mezofilik hem de termofilik koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Reaktör olarak sürekli karıştırma tankı ve kesikli reaktörler kullanılmış ve başlangıç pH'sı 5 ila 8 arasında değişmiştir (Wang ve Yin, 2017a).

Genel olarak, karanlık fermantasyon, aşılama için çürütücü çamuru, kanalizasyon çamuru ve toprak gibi anaerobik mikroflora kullanır. H_2 üretmeyen ve H_2 kullanan mikroorganizmaları bastırmak ve sadece hidrojen üreten bakterileri aktive etmek için aşı üzerinde bir ön işlem yapılır. Ön arıtma yöntemleri, kimyasal ve fiziksel ön arıtma yöntemlerini içerir. Kimyasal ön işlem, pH ön işlemi, aktivasyon ve kimyasalların eklenmesi yoluyla inhibisyonu; fiziksel ön işlem, ultrason, havalandırma, dondurma, çözdürme, ısı ve ultraviyole ışınlamayı içerir. H_2 üretiminde kullanılan mikroorganizmalar çok çeşitlidir ve bu nedenle uygun bir ön arıtma yönteminin seçilmesi gerekir (Park ve ark., 2021).

Kullanılan biyokütle kaynaklarının mikrobiyal etkileşimini arttırmak için öğütme işleminin ardından kimyasal ve termal ön işlemler uygulanmış ve fermantasyonla biyohidrojen üretimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Fermantasyon için uygulanan ön işlemler ve uygulama koşulları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Fermantasyonla biyohidrojen üretimi için uygulanan ön işlem koşulları (Xu ve Deshusses, 2015)

Ön işlem metodu	Ön işlem reaktifi	Sıcaklık (°C)	Bekleme süresi (dk.)
Asidik Ön işlem	%1 lik H_2SO_4	85	60
Bazik Ön işlem	%1 lik NaOH	85	60
Termal Ön işlem	Saf su	120	60
Kontrol	Saf su	Oda koşulları	60

Ön işlemler için 250 ml'lik ısıya dayanıklı kapaklı hava sızdırmaz cam şişeler kullanılmıştır. Asidik ön işlem için kütlece %1 lik H_2SO_4, alkali ön işlem için kütlece %1 lik NaOH kullanılmış, termal ön işlem ve kontrol için ise saf su kullanılmıştır. Biyokütle kaynaklarının her 1 gramı için 20 ml ön işlem reaktifi ilave edilerek sıvı bir form elde edilmiş ve şişelerin ağzı kapatılarak kimyasal ön işlemler için 85 °C sıcaklıkta, termal ön işlem için ise 120 °C sıcaklıkta etüvde bir saat süre ile biyokütlelerin hidrolize edilmesi sağlanmıştır. Bir saatlik sürenin ardından hidroliz edilmiş biyokütleler derişik H_2SO_4 ve NaOH çözeltileri kullanılarak pH 7 olacak şekilde nötralize edilmiştir (Şekil 3.7.).

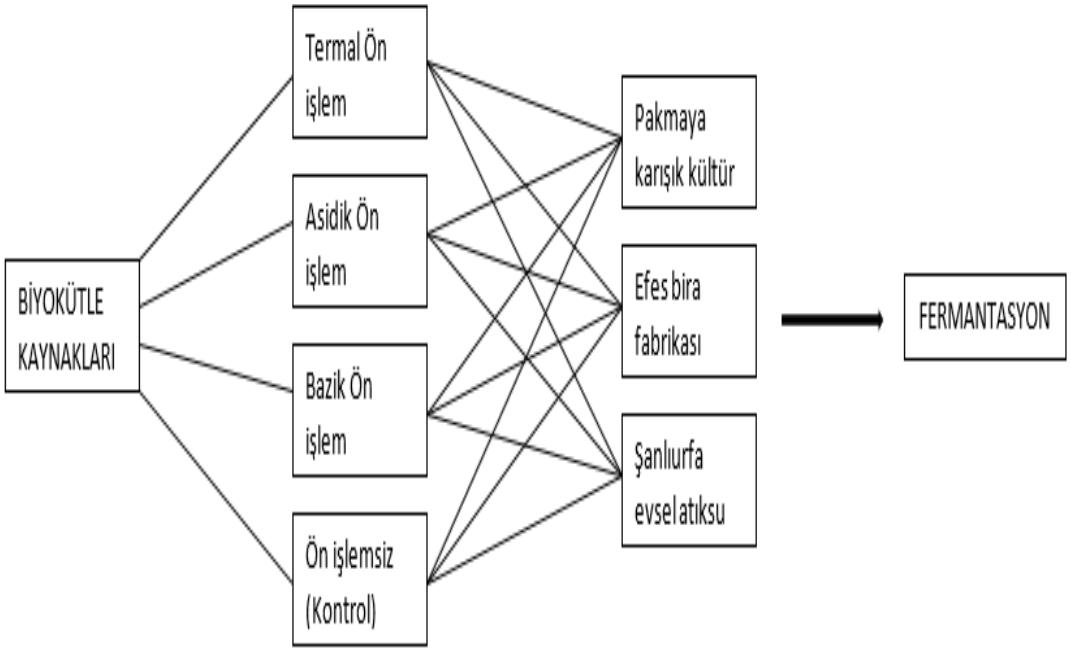


Şekil 3.7. Ön işlem uygulanmış biyokütle kaynakları

Termal, asidik ve alkali ön işlem uygulanmış ve nötralize edilmiş olan biyokütle kaynaklarının fermantasyonu için üç farklı karışık kültür aşı kullanılmıştır. Aşılar Pakmaya Düzce tesisleri anaerobik arıtma tankı, Adana Efes bira fabrikası anaerobik arıtma tankı ve Şanlıurfa atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından temin edilmiş ve fermantasyonda kullanılmadan önce 15 dakika boyunca 100 °C de ön işleme tabi

tutularak metanojenik bakterilerin ve hidrojen üretiminde rol almayan diğer bakterilerin giderilmesi sağlanmıştır (Torquato ve ark., 2017)

Reaktör şişelerinde hidrolize ve nötralize edilmiş olan biyokütlelere ön işlemden geçirilmiş aşılardan 2'şer ml nütrient ve 0.5 ml ilave edilerek karışımın hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır. Şişelerden 5 dakika süre ile azot gazı geçirilerek şişedeki oksijen giderimi sağlanmış, şişeler hava geçirmez kauçuk kapakla kapatılıp fermantasyona başlanmıştır (Xu ve Deshusses, 2015). Biyokütleler için farklı kaynaklardan temin edilen 3 mikrobiyal karışık kültür aşı kullanılarak 3 farklı ön işlem ve bir de kontrol olmak üzere her bir biyokütle kaynağı için 12 farklı koşul denenmiştir (Şekil 3.8.).



Şekil 3.8. Biyokütle kaynaklarına uygulanan ön işlemler ve kullanılan aşılar

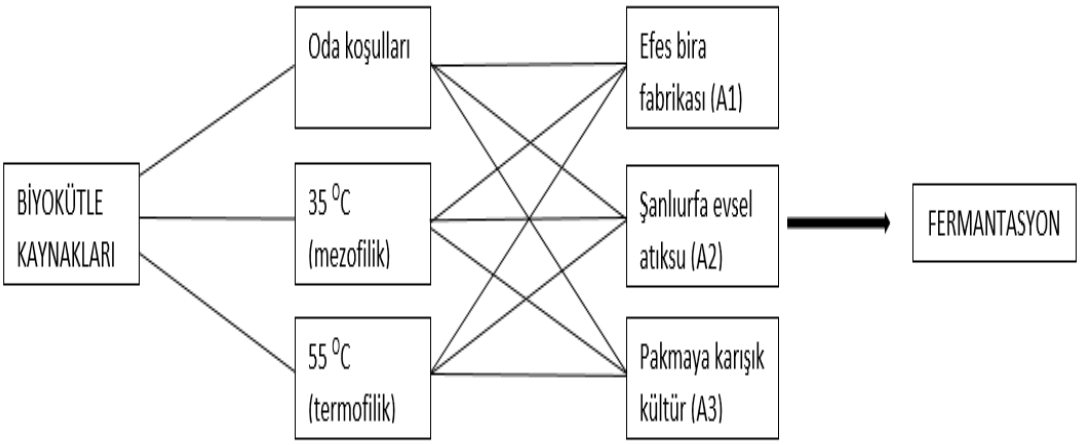
Hidrojen üretim verimi toplam 51 reaktörde günlük basınç takibi basınç ölçer yardımıyla yapılmış, hidrojen gaz üretimi ise GC ile takip edilmiştir.

3.2.3. Sıcaklığın etkisi

Önemli işletme parametrelerinden biri de sıcaklıktır. Sıcaklık, proseste kullanılan mikroorganizmaların aktifliklerini, büyüme koşullarını, fermentatif hidrojen üretim sürecini etkileyen önemli bir faktördür (Chozhavendhan ve ark., 2020).

Literatürde mezofilik (25-35 °C), termofilik (35-55 °C), aşırı termofilik (55-80 °C) olmak üzere genel olarak 3 farklı sıcaklık parametresi kullanılmaktadır. Bunun dışında hipertermofilik (>80 $^{\circ C}$) koşullarda yapılan çalışmalar da bulunmaktadır ancak yüksek sıcaklık maliyeti de arttırdığından genel olarak mezofilik ve termofilik koşullarda çalışmalar yapılmıştır (Sinha ve Pandey, 2011).

Deneyde kullanılacak biyokütle kaynaklarından öğütülmüş halde 1'er gram alınmış ve fermantasyon şişelerine konulmuştur. Fermantasyon için 250 ml'lik ısıya dayanıklı kapaklı hava sızdırmaz cam şişeler kullanılmıştır. Biyokütle kaynaklarının fermantasyonu için üç farklı karışık kültür aşı kullanılmıştır (Şekil 3.9.).



Şekil 3.9. Biyokütle kaynaklarına uygulanan sıcaklıklar ve kullanılan aşılar

A1, A2 ve A3 aşıları fermantasyonda kullanılmadan önce 15 dakika boyunca 100 °C de ön işleme tabi tutularak metanojenik bakterilerin ve hidrojen üretiminde rol almayan diğer bakterilerin giderilmesi sağlanmıştır (Torquato ve ark., 2017).

Reaktör şişelerinde bulunan biyokütlelere ön işlemden geçirilmiş aşılardan 2'şer ml ve besi maddesinden 0.5 ml ilave edilerek karışımın hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır. Şişelerden 5 dakika süre ile azot gazı geçirilerek şişedeki oksijen giderimi sağlanmış, şişeler hava geçirmez kauçuk kapakla kapatılıp fermantasyona başlanmıştır. Hazırlanan reaktörler oda koşulları, mezofilik (35 °C) ve termofilik (55 °C) koşullar olmak üzere üç farklı sıcaklıkta gaz verimleri ölçülmüştür (Şekil 3.10.).



Şekil 3.10. Reaktörlerin istenilen sıcaklığa gelmesini sağlamak için kullanılan su banyosu

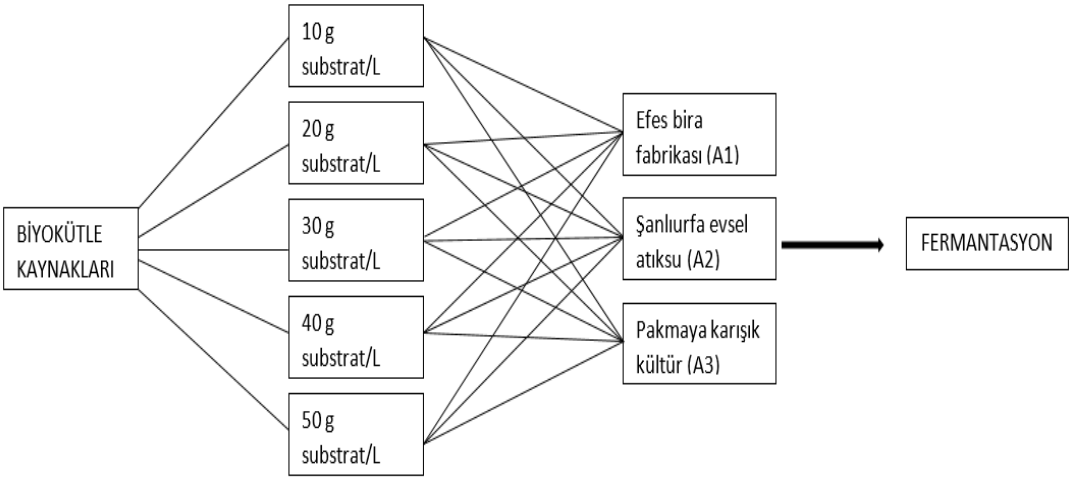
3.2.4. Biyokütle konsantrasyonunun etkisi

Hidrojen üretiminde gaz verimini etkileyen önemli parametrelerden biri de biyokütle konsantrasyonudur. Yapılan çalışmalar farklı biyokütle konsantrasyonlarında elde edilen biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının da değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur (Aslan ve ark., 2020). Çalışmada kullanılacak biyokütle kaynaklarından her 100 ml çözelti için 1 g, 2 g, 3 g, 4 g ve 5 g olmak üzere 5 farklı biyokütle konsantrasyonu hazırlanmış ve fermantasyon şişelerine konulmuştur. Fermantasyon için 250 ml'lik ısıya dayanıklı, kapaklı hava sızdırmaz cam şişeler kullanılmıştır (Şekil 3.11.).



Şekil 3.11. Farklı biyokütle konsantrasyonlarında hazırlanmış ve aşılarla fermantasyonu başlatılmış reaktörler

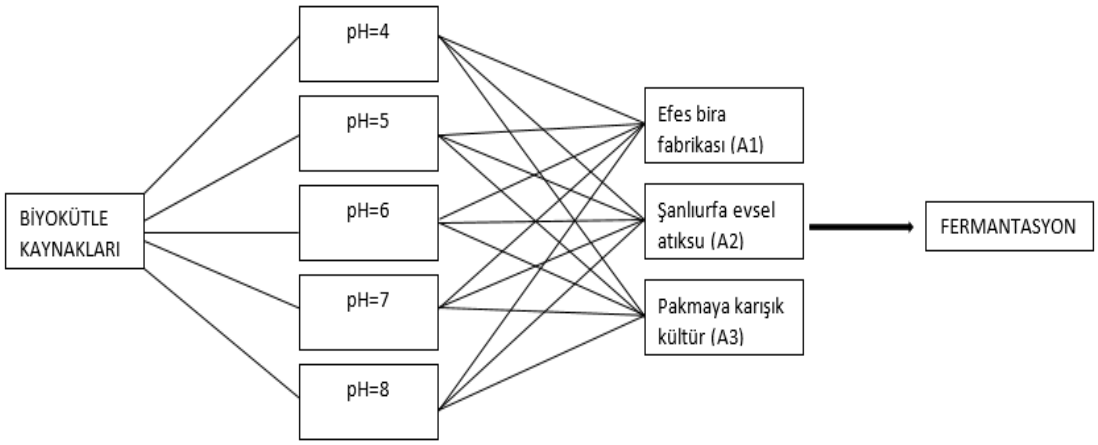
Reaktör şişelerinde bulunan biyokütlelere ön işlemden geçirilmiş aşılardan 2'şer ml ve besi maddesinden 0.5 ml ilave edilerek karışımın hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır. Şişelerden 5 dakika süre ile azot gazı geçirilerek şişedeki oksijen giderimi sağlanmış, şişeler hava geçirmez kauçuk kapakla kapatılıp fermantasyona başlanmıştır (Şekil 3.12.). Hazırlanan reaktörlerin fermantasyon sonucu oda koşullarında gaz verimler ölçülmüştür.



Şekil 3.12. Biyokütle kaynaklarından alınan farklı biyokütle konsantrasyonları ve kullanılan aşılar

3.2.5. pH'nın etkisi

Biyokütle kaynaklarından hidrojen üretiminde gaz verimini etkileyen önemli parametrelerden biri de fermantasyon ortamının pH'sıdır. Karanlık fermantasyon ortamında hidrojen üretiminde rol alan hidrojenaz enziminin aktifliği ortamın hidrojen iyonu konsantrasyonuna göre değişkenlik gösterir. Literatürde karanlık fermantasyonla hidrojen üretiminde genellikle 4.5-8 aralığında pH'larla çalışılmıştır (Aslan ve ark., 2020).



Şekil 3.13. Farklı pH değerlerinde ve 3 farklı aşı ile hazırlanan reaktör diyagramı

Biyolojik yolla hidrojen üretimi için kesikli reaktör kullanılmıştır. Reaktör şişelerine 1'er gram biyokütle konulmuş, üzerine ön işlemden geçirilmiş aşılardan 2'şer ml ve besi maddesinden 0.5 ml ilave edilerek karışımın pH değeri seyreltik NaOH ve/veya H_2SO_4 çözeltileri ile 100 ml olacak şekilde pH 4-8 aralığında 5 farklı pH değerinde çözeltiler hazırlanmıştır (Şekil 3.13.). Hazırlanan reaktörlerin pH'ları HANNA marka HI-9812-5 model pH cihazı ile ölçülmüştür (Şekil 3.14.).



Şekil 3.14. Reaktörlerde pH ölçümü

Şişelerden 5 dakika süre ile azot gazı geçirilerek şişedeki oksijen giderimi sağlanmış, şişeler hava geçirmez kauçuk kapakla kapatılıp fermantasyona

başlanmıştır. Hazırlanan reaktörlerin fermantasyon sonucu oda koşullarında gaz verimler ölçülmüştür (Şekil 3.15.).



Şekil 3.15. Farklı pH değerlerinde hazırlanmış ve aşılarla fermantasyonu başlatılmış reaktörler

3.2.6. Reaktörlerin hazırlanması

Kontrolsüz karanlık fermantasyon süreci, hidrojenin hidrojenotrofik veya H_2 tüketen, homoasetojenler gibi metan üreten bakteriler ve sülfat indirgeyen bakteriler tarafından hızla tüketildiği metanojenez aşamasına yol açar. Bu nedenle, asetogeneze kadar karanlık fermantasyonu düzenlemek, gelişmiş H_2 üretimi için kritik öneme sahiptir (Sarkar ve Mohan, 2016). Fermantasyon için üç farklı karışık kültür aşı kullanılmıştır. Temin edilen A1, A2 ve A3 aşıları fermantasyonda kullanılmadan önce 15 dakika boyunca 100 °C de ön işleme tabi tutularak metanojenik bakterilerin ve hidrojen üretiminde rol almayan diğer bakterilerin giderilmesi sağlanmıştır

Temin edilen biyokütle kaynakları kurutulup, öğütüldükten sonra elekten geçirilmiş ve fermantasyon için birer gram tartılmıştır. 250 ml'lik serum şişelere konulan biyokütlelerin hacmi 97.5 ml su ilave edilmiş ve şişelere 2'şer ml aşı ve 0.5 ml besi maddesi ilave edilmiştir. Ortamdaki oksijen ve diğer gazların giderimi için şişeler azot gazından geçirilmiştir. Şişelerin ağzı hava geçirmez kauçuk kapaklarla kapatılarak fermantasyon başlatılmıştır (Şekil 3.16.).



Şekil 3.16. Reaktörlerin azot gazından geçirilmesi

3.2.6.1. Reaktörlerdeki gaz verimlerinin ölçümü

Fermantasyonun başlatılması ile reaktörlerde açığa çıkan gaz basıncı HMG 01 basınç ölçer ile takip edilmiştir. Basınç değişiminden günlük açığa çıkan toplam gaz verimi hesaplanmıştır. Elde edilen biyogazdaki hidrojen ve karbondioksit miktarlarının hesaplanması için termal iletkenlik dedektörüne (TCD) sahip Shimadzu marka GC-2010 model kromotografi cihazı (GC) kullanılmıştır (Şekil 3.17.).



Şekil 3.17. Shimadzu GC-2010 gaz kromotografi cihazı

GC cihazında taşıyıcı gaz olarak yüksek saflıkta helyum gazı ve Supel-Co 30mx0,32mm kolon kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 35 °C'ye, fırın sıcaklığı 235 °C'ye ve dedektör sıcaklığı 250 °C'ye ayarlanmıştır.

GC cihazında gaz kalibrasyonu için H_2, CH_4, CO_2, CO, He ve N_2 gazlarından oluşan ve konsantrasyonu belli olan gaz karışımından (Şekil 3.18.) cihaza 0,5'er mL enjekte edilerek 3 tekrarlı bir kalibrasyon yapılmıştır.



Şekil 3.18. Kalibrasoyon gaz karışımı

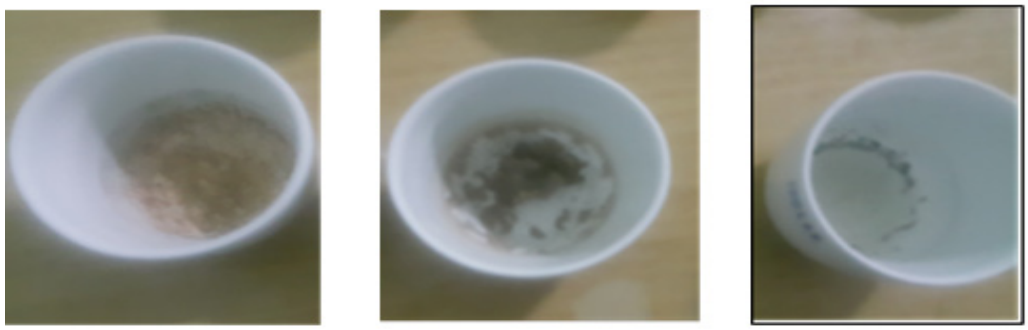
Analizler için her bir reaktördeki numuneden cihaz şırıngası ile 0,5 ml alınmış ve GC'ye enjekte edilmiştir. Analiz prosesi sonucunda açığa çıkan veriler bilgisayara kaydedilmiştir.

3.3. Analitik Metotlar

Deneyde kullanılan her bir hammadde için nem miktarı, toplam katı madde (TKM), toplam uçucu katı madde (TUKM), toplam uçucu olmayan katı madde (Kül), pH, KOİ ölçümleri ve elementel analizler yapılmıştır. Her bir biyokütle kaynağı için toplam karbonhidrot, protein ve yağ miktarları belirlenmiştir.

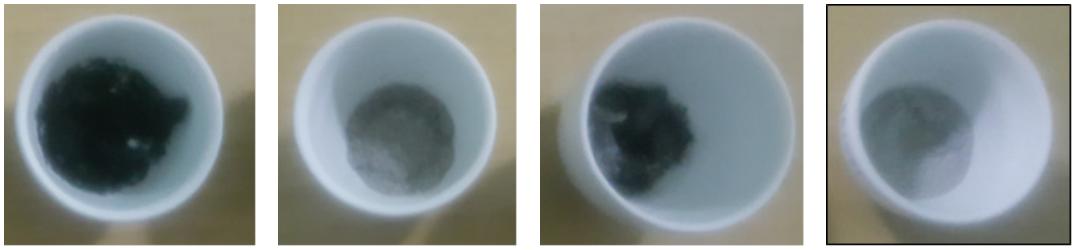
3.3.1. Nem, toplam katı madde ve toplam uçucu katı madde tayini

Aşılardaki toplam katı madde miktarını 2540 nolu standart metodla belirlenmiştir. Bu metoda göre aşılardan 10'ar ml alınmış ve 105 °C sıcaklıkta 2 saat süreyle etüvde ısıtılmıştır (Şekil 3.19.).



Şekil 3.19. Adana Efes bira fabrikası anaerobik arıtma tankından (a), Şanlıurfa atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından (b) ve Pakmaya Düzce tesisleri anaerobik arıtma tankından (c) alınmış aşıların katı madde miktarı tayini

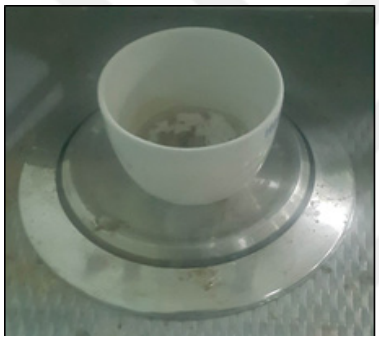
Biyokütle kaynağı olarak kullanılan pamuk küspesi, pamuk atıkları, nar kabukları ve fıstık kabuklarındaki toplam katı madde ve nem miktarı tayini için her bir biyokütle kaynağından 1 gram alınarak darası alınmış krozelere konulmuş ve etüvde 105 °C'de 2 saat süre ile ısıtılmıştır (Şekil 3.20.).



(a) (b) (c) (d)

Şekil 3.20. Pamuk küspesi (a), fıstık kabuğu (b), pamuk atıkları (c) ve nar kabuklarında (d) nem ve toplam katı madde tayini

2 saatlik ısıtma sonunda krozeler fırından alınarak desikatöre konulmuştur. Oda sıcaklığına gelen krozeler tartılmış ve bu yolla biyokütlelerin nem ve katı madde miktarları tayin edilmiştir (şekil 3.21.).



Şekil 3.21. Toplam Katı Madde, Nem ve Uçucu Katı Madde miktarlarının tayini için krozelerin tartılması

Etüvde alınıp tartılan biyokütle kaynakları ve aşılardaki kül miktarı, toplam organik madde miktarı tayini için kül fırınana konulmuştur. Kül fırınında 550 °C sıcaklıkta ve 40 dakika süre ile organik maddenin giderimi sağlanmıştır. Kül fırınından alınan krozeler desikatörde soğumaya bırakılmış ve oda koşullarında tartımları yapılmıştır. Bu işlem sonunda her bir aşı ve biyokütle kaynağı için toplam uçucu katı madde, kül ve nem miktarları tayin edilmiştir.

3.3.2. Elementel analizler

Çalışmada kullanılan 4 farklı biyokütle kayanağı ve 3 aşı kaynağı için elementel analizler yapıldı. Elementel analizde karbon, azot, hidrojen ve kükürt elementlerinin

% derişimlerinin tespiti için Thermo Fisher Scientific FlashSmart elementel analiz cihazı kullanıldı.

3.3.3. Toplam protein ve karbonhidrat analizi

Çalışmada kullanılan pamuk küspesi, pamuk atıkları, fıstık küspesi ve nar kabukları için toplam protein miktarı için Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır. Bradford reaktifi için 50 ml etanolde içerisinde 50 mg *Coomassie Brilliant Blue* çözülmüştür. Çözelti üzerine 100 ml %85'lik (w/v) fosforik asit (H_3PO_4) çözeltisi ilave edilmiş ve çözelti saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

Standart olarak Bovin Serum Albumin (BSA) kullanılarak kalibrasyon yapılmıştır. Protein analizi için hazırlanan standart çözeltiden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan standart numune ve analizi yapılacak olan biyokütle çözeltilerinedn 1.5 ml alınarak üzerlerine aynı miktarda Bradford reaktifi ilave edilmiştir. Daha sonra elde edilen çözeltilerin spektrofotometrede dalga boyları ölçülerek protein miktarları belirlenmiştir.

Toplam karbonhidrat analizi için standart olarak farklı derişimlerde glikoz çözeltisi kullanılmıştır. Karbonhidrat miktarı tayininde sülfirik asit çözeltisi (%95-97'lik H_2SO_4) ve % 80'lik fenol çözeltisi kullanılmıştır. Biyokütle çözeltilerinden 1'er ml alınarak 25 µl %80'lik fenol ve 2.5 ml H_2SO_4 eklenmiş, 30 ^{0}C'de 15 dakika su banyosunda bekletilmiştir. Spektrofotometre'de 490 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur.

3.3.4. Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) tayini

Çalışmada kullanılan 4 farklı biyokütle kaynağı ve 3 farklı aşı kaynağı için Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) değerleri 5220B nolu standart metoda göre belirlenmiştir.

3.4. Mikrobiyal Türlerin Analizi

Biyolojik yolla hidrojen üretiminde kullanılan karışık mikrobiyal kültürlerin farklı biyokütle kaynaklarında farklı etkileri olduğu da bilinmektedir. Bu sebeple karışık mikrobiyal kültürlerin etkisini incelemek için muhteva ettikleri mikroorganizmaların genetik yapısını bilmek ortak koşullarda elde edilen gaz verimlerine nasıl etki ettiklerini ortaya koymayı sağlayacaktır.

3.4.1. Moleküler çalışmalar

Fermantasyon işleminde kullanılan aşılarda bulunan baskın mikrobiyal türleri tespit etmek amacıyla moleküler analizler gerçekleştirilmiştir. Kaynaktan alınan örnekler ilk olarak DNA ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. DNA ekstraksiyonu DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak üretici firmanın vermiş olduğu protokole göre gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda numunelere ait DNA örnekleri PCR işlemine kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

DNA ekstraksiyon işlemi ile elde edilen DNA örneklerinin 16S rRNA gen bölgeleri TECHNE /TC-512 marka PCR cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR işleminde Forward (ileri) primer olarak BacV3f-GC ve reverse (geri) primer olarak 907R primerleri kullanılmıştır. Primerlere ait baz dizilimleri çizelge 3.3.'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR işleminde kullanılan primerlerine ait baz dizilimleri

Primer adı	Baz dizilim	Referans
BacV2f	5′-CCTACGGGAGGCAGCAG-3′	(Muyzer ve ark., 1993)
BacV3f-GC	5′-CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGG GGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3′	(Muyzer ve ark., 1993)
907R	5′-CCGTCAATTCMTTTGAGTTT-3′	(Muyzer ve ark., 1995)

PCR analizinde kullanılan işlem basamakları; 95 °C'de 5 dk ilk denaturasyon, 94 °C'de 30 sn denaturasyon, 50 °C'de 1 dk primer bağlanması, 72 °C'de 2 dk uzama şeklinde 30 döngü olarak gerçekleştirilmiştir. Bu basamaklardan sonra 72 °C'de 10 dk son uzama adımı ile PCR işlemi tamamlanmış ve numuneler 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Bu işlemlerden sonra numunelere ait PCR işleminin başarısını tespit etmek amacıyla PCR ürünleri elektroforez sistemi (Owl Easycast™ B2, Thermo Scientific) kullanılarak agaroz jel analizi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 10X konsantre Tris Borat Etilen Diamin Tetra Asetikasit (TBE) tampon kullanılarak %1'lik (w/v) agaroz jel hazırlanmıştır. İşlem sonunda PCR ürünü içerisindeki DNA fragmentlerinin ultra viyole (UV) ışığı altında ışıma yapması sağlamak amacıyla agaroz jel içerisine etidyum bromür boyası ilave edilmiştir. Agaroz jel hazırlandıktan sonra numunelerin yüklemesi gerçekleştirilmiş ve PCR ürünleri 100 V elektrik altında 30 dk boyunca elektroforez sisteminde yürütülmüştür.

3.4.3. Denature Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE)

Boyama işlemi yapıldıktan sonra jel içerindeki DNA'lar UV ışığı altında steril bistüri kullanılarak kesilmiştir. Gel içerisindeki saf DNA'lar QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak üretici firmanın vermiş olduğu prosedüre göre izole edilmiştir. Bu işlemin ardından DNA fermentleri BacV2f ve 907R primerleri kullanılarak PCR işlemine tabi tutulmuştur. PCR işleminden sonra elde edilen ürünler %1'lik (w/v) agaroz jel içerisinde elektroforez sisteminde yürütülmüş ve PCR işleminin başarısı tespit edilmiştir. Çoğaltılmış olan saf DNA fragment'leri sekans analizine gönderilmiş ve DNA dizilimleri belirlenmiş ve ardından tür tanımlaması gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Hammadde Kompozisyonu

Bu çalışmada pamuk küspesi, pamuk atıkları, fıstık küspesi ve nar kabukları hammadde olarak kullanılmıştır. Fermantasyon için A1, A2 ve A2 aşıları temin edilmiştir.

Deneyde kullanılan her bir hammadde için nem miktarı, toplam katı madde (TKM), toplam uçucu katı madde (TUKM), toplam uçucu olmayan katı madde (Kül) miktarları ölçülmüştür. Elementel analizler yapılmıştır. Fermantasyonda açığa çıkan biyogaz (ml/g substrat) ve biyohidrojen (ml/g substrat) miktaralarının tespiti için analizler GC ile ölçülmüştür. Kullanılan biyokütle kaynakları ve aşılar için ölçülen bu parametreler Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

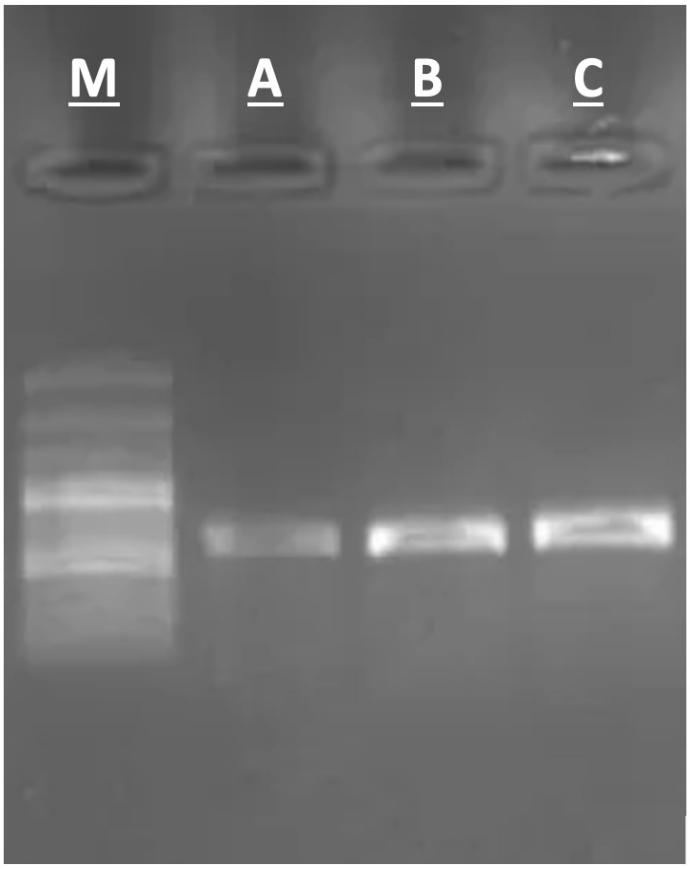
Çizelge 4.1. Hammadde kompozisyonu

	AŞILAR			BİYOKÜTLE KAYNAKLARI			
	A1 (Efes Bira)	**A2 Şanlıurfa Kentsel**	**A3 Düzce Pakmaya**	**Pamuk Küspesi**	**Fıstık Küspesi**	**Pamuk Atıkları**	**Nar Kabuk-ları**
pH	8,0	7,9	7,5	6,8	8,1	6,9	4,8
KOİ (mg/L)	648.3	773,5	912,4	1142	6144	1235	6452
Toplam (%) Karbonhidrot	-	-	-	42,7	46,3	38,6	86,5
Toplam protein (%)	-	-	-	32,4	4,52	11,7	7,06
Toplam yağ (%)	-	-	-	1,7	8,8	2	3,3
Nem (%)	84.81	97.877	99.963	6.935	5.805	0.211	7.605
UKM (%)	3.013	0.992	0.078	76.570	74.150	75.325	80.465
Kül (%)	12.18	1.133	0.229	16.535	20.101	14.241	11.482
Azot (%)	4,04	2,21	3,35	1,03	2,79	4,09	1,46
Karbon (%)	46,12	48,89	48,01	46,91	21,57	38,37	26,40
Hidrojen (%)	5,60	5,98	5,75	5,23	1,87	4,69	2,96
Kükürt (%)	-	-	-	-	-	-	-

4.2. Mikrobiyal Türlerin Analizi

Biyohidrojen üretiminin etkinliği çoğunlukla sistemde bulunan mikrobiyal çeşitliliğe bağlıdır ve mikrobiyal çeşitlilik genellikle aşı kaynaklarına göre değişir. Karışık kültür aşı ve fermentatif ortamda hidrojen tüketicilerinin varlığı veya yokluğu, metabolik süreci dengelemek için önemli bir rol oynar ve sonuç olarak, fermentatif hidrojen üretimi ve yan ürün oluşumu üzerinde bir etki gösterir (Karim ve ark., 2021).

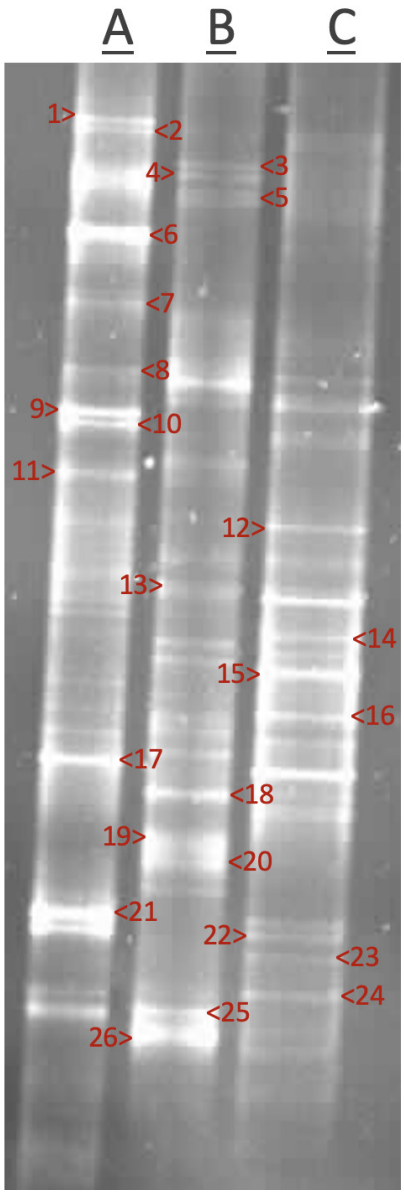
PCR ürünleri elektroforez sistemi kullanılarak agaroz jel analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonunda agaroz jel UV görüntüleme cihazına (vilber lourmat) transfer edilmiş ve görüntüleme işlemi gerçekleştirilerek PCR ürünlerinin mevcudiyeti tespit edilmiştir (Şekil 3.22).



Şekil 4.1. PCR işlemi sonucunda elde edilen agaroz jel görüntüsü (M: Marker, A: Pakmaya atıksu (A3), B: Şanlıurfa kenstel atıksu (A2) ve C: Efes Bira atıksu (A1))

4.2.1. DGGE bantlarında tespit edilen mikrobiyal türler

DGGE analizi PCR ürünü içerisinde bulunan karışık DNA fragmentlerinin denature edici bir gradyan jel içerisinde ayrılmasını sağlayan bir analizdir. PCR işlemi ile elde edilen örneklerin DGGE analizi gerçekleştirilmiş ve numunelere ait DGGE jel görüntüsü şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Numunelere ait DGGE jel görüntüsü (A: Pakmaya atıksu (A3), B: Şanlıurfa kenstel atıksu (A2) ve C: Efes Bira atıksu (A1))

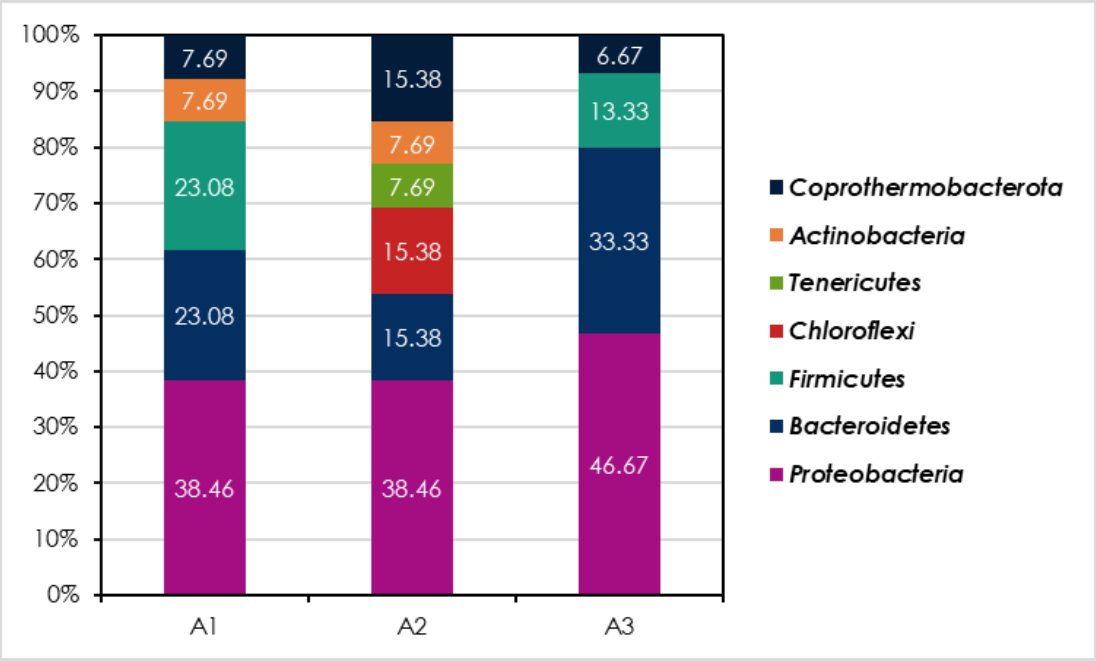
DGGE jel görüntüsünde tespit edilen mikrbiyal türler çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. DGGE bantlarında tespit edilen mikrobiyal türler

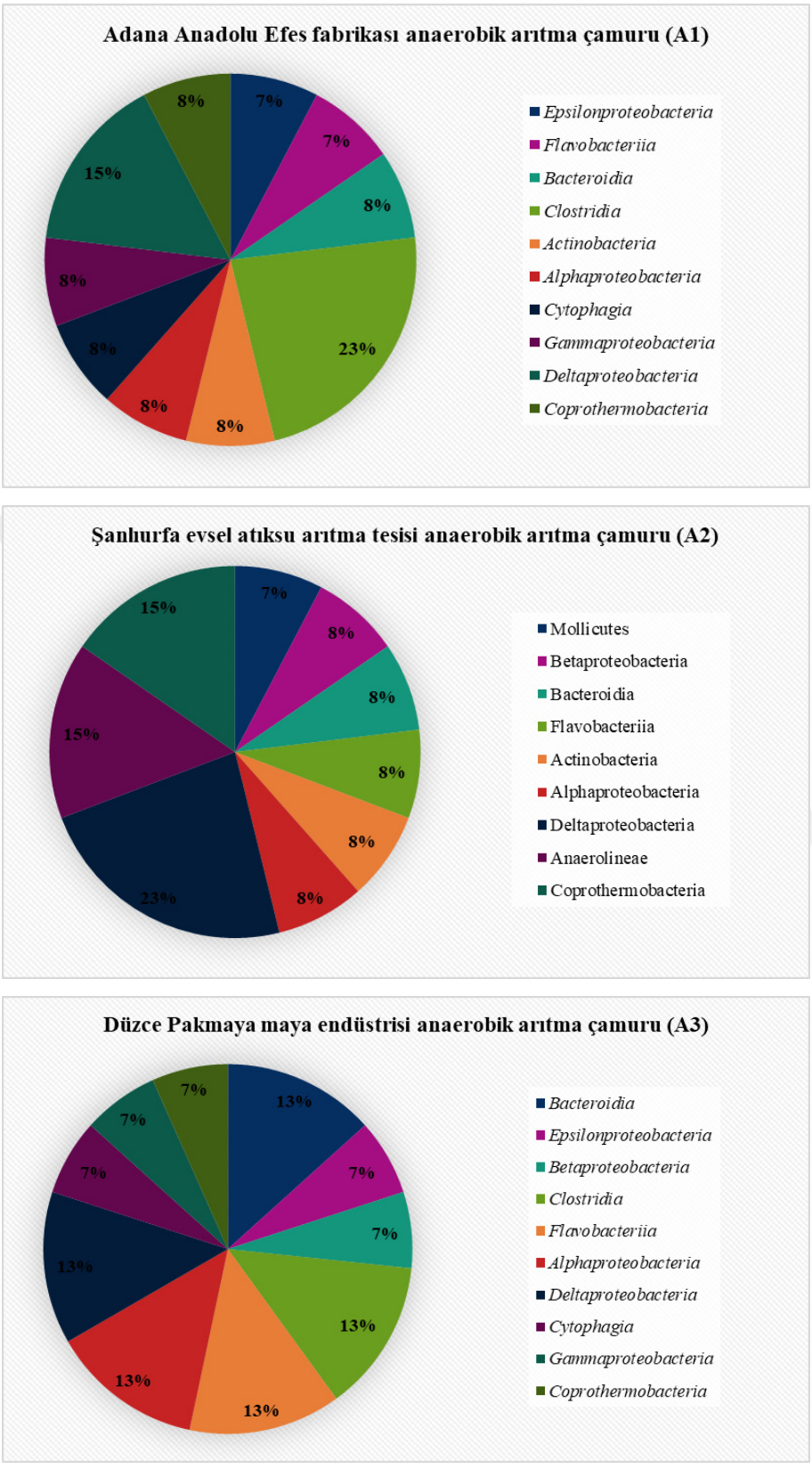
Bant No	Acession Numarası	Bakteri ismi	Benzerlik (%)	Phylum	Class
1	AP018040	*Petrimonas sp.*	92	*Bacteroidetes*	*Bacteroidia*
2	CP001816	*Sulfurospirillum deleyianum*	91	*Proteobacteria*	*Epsilonproteobacteria*
3	CP017950	*Tenericutes bacterium*	99	*Tenericutes*	*Mollicutes*
4	MK453094	*Oxalobacteraceae bacterium*	91	*Proteobacteria*	*Betaproteobacteria*
5	NR_028963	*Anaerophaga thermohalophila*	92	*Bacteroidetes*	*Bacteroidia*
6	Tespit edilemedi	-	-	-	
7	MK170164	*Clostridiales bacterium*	97	*Firmicutes*	*Clostridia*
8	DQ012327	*Capnocytophaga sp.*	94	*Bacteroidetes*	*Flavobacteriia*
9	NR_149795	*Lentimicrobium saccharophilum*	99	*Bacteroidetes*	*Bacteroidia*
10	AY428760	*Alpha proteobacterium*	99	*Proteobacteria*	*Alphaproteobacteria*
11	LC537909	*Blattabacterium sp.*	98	*Bacteroidetes*	*Flavobacteriia*
12	MF496372	*Clostridium sp.*	92	*Firmicutes*	*Clostridia*
13	KR181796	*Arthrobacter sp.*	96	*Actinobacteria*	*Actinobacteria*
14	KU886095	*Brassicibacter sp.*	92	*Firmicutes*	*Clostridia*
15	MT905137	*Lachnospiraceae bacterium*	92	*Firmicutes*	*Clostridia*
16	DQ486507	*Rhodobacteraceae bacterium*	98	*Proteobacteria*	*Alphaproteobacteria*
17	CP019913	*Desulfococcus multivorans*	97	*Proteobacteria*	*Deltaproteobacteria*
18	NR_132293	*Thermomarinilinea lacunifontana*	98	*Chloroflexi*	*Anaerolineae*
19	CP069394	*Chloroflexi bacterium*	94	*Chloroflexi*	*Anaerolineae*
20	EU190359	*Desulfovibrio intestinalis*	98	*Proteobacteria*	*Deltaproteobacteria*
21	AJ431236	*Cytophaga sp.*	98	*Bacteroidetes*	*Cytophagia*
22	KY485299	*Pantoea agglomerans*	90	*Proteobacteria*	*Gammaproteobacteria*
23	KJ459865	*Desulfovibrio desulfuricans*	97	*Proteobacteria*	*Deltaproteobacteria*
24	MN537481	*Desulfovibrio sp.*	97	*Proteobacteria*	*Deltaproteobacteria*
25	NR_074653	*Coprothermobacter proteolyticus*	98	*Coprothermobacterota*	*Coprothermobacteria*
26	AB794885	*Coprothermobacter sp.*	96	*Coprothermobacterota*	*Coprothermobacteria*

4.2.2. Aşılardaki baskın tür sınıfları

Anaerobik bozunma sürecinde farklı mikrobiyal gruplar rol alır. *Clostridium sp., Bacillus sp., Enterobacterium sp.* dahil olmak üzere mikrobiyal türler fermentatif hidrojen üreten bakteri olarak bilinen en yaygın cinslerdir (Liu ve ark., 2012). Biyokütle dönüşümünün ilk aşamasında *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* filumlara ait çeşitli hidrolitik bakteriler etkindir. Biyokütleyi basit şekerlere parçalayabilen bu bakteriler, hızla iki katına çıkma süresine sahiptir ve metanojenlere kıyasla çeşitli çevresel koşullarda yaşayabilir. *Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes* ve *Proteobacteria* türü asidojenik bakteriler ise, basit şekerleri uçucu yağ asitlerine, CO_2 ve H_2'ye dönüştüren baskın türlerdir (Mehariya ve ark., 2018).



Şekil 4.3. Fermantasyonda kullanılan aşılardaki baskın tür sınıfları (Filum seviyesinde)



Şekil 4.4. Fermantasyonda kullanılan A1, A2 ve A3 aşılarındaki baskın tür sınıfları (Class seviyesinde)

4.3. Kullanılan mikrobiyal türlerin etkisi

Her üç aşıda da filum seviyesinde *proteobacteria* ve *bacteroides* türleri en yüksek oranda tespit edildi. *Bacteroides, Prevotella ve Rikenellaceae* vb. cinsleri de dahil olmak üzere *Bacteroidetes* filumu, selülaz ve hemiselülaz salgılayarak şekerleri uçucu yağ asitlerine dönüştürme yeteneğine sahiptir (Xing ve ark., 2020). *Clostridium sp.* ve *Enterobacter sp.* hidrojen üretmek için verimli oldukları kabul edilir, ancak düşük pH'da (<5.5) önemli miktarda H_2 üretemezler (Hawkes ve ark., 2007).

Clostridium sp. hidrojen üretmek için katı anaerobik koşullara ihtiyaç duyar. Bununla birlikte, *Enterobacter sp.*, özellikle *Enterobacter aerogenes*, farklı substratları tüketebilen fakültatif, anaerobik ve mezofilik bir bakteridir ve diğer katı anaerobların kültivasyonunun aksine, fermantasyon sisteminden oksijeni çıkarmak için hiçbir özel operasyonel parametreye gerek yoktur. Ayrıca, *E. aerogenes* çok kısa sürede kendilerini ikiye katlayabilir, hidrojen oluşum hızı için verimli ve yüksek hidrojen kısmi basıncı ile tolere edilebilir; bununla birlikte, üretim etkinlikleri diğer katı anaeroblara, özellikle *Clostridia*'ya kıyasla daha düşüktür. *Clostridium sp.* bir reaktördeki O_2 miktarına oldukça duyarlıdırlar, bu nedenle L-sistein genellikle stabil bir H_2 üretimi elde etmek için bir indirgeyici ajan olarak bir ortama eklenir. Bununla birlikte, indirgeyici madde *(L-sistein)* pahalıdır, dolayısıyla *Enterobacter sp.*'nin fakültatif bir anaerobunu ve *Clostridium sp.* gibi katı anaerobları içeren bir ortak kültür aşısı, ilave indirgeyici ajan olmadan biyohidrojen üretmeyi önermiştir. Bunun nedeni, fakültatif anaerobik konsorsiyumun bir ortamda O_2 tüketebilmesi ve böylece bir reaktördeki zorunlu anaeroblar için anaerobik bir koşul oluşturulabilmesidir (Karim ve ark., 2021).

Kullanılan mikrobiyal türler arasında *Bacillus sp.* nişasta hidrolizinden sorumludur ve *Brevumdimonas sp.* hidrojen sentezinden sorumludur (Bao ve ark., 2012). Wainaina ve arkadaşları (2020) yaptıkları çalışmada, 16S rRNA gen amplikon dizilimi kullanılarak bakteri popülasyonlarını analiz etmiş ve biyohidrojen üretiminde Firmicutes, Actinobacteria ve Proteobacteria baskın olduğunu ortaya koydular. Ayrıca

Clostridium ve Lactobacillus cinslerinin varlığı asetat, bütirat, kaproat ve laktat üretimi ile ilişkilidir (Wainaina ve ark., 2020).

Kanniah Goud ve ark. (2017) biyohidrojen üretimi ve mikrobiyal topluluklardaki değişimler için seçici olarak zenginleştirilmiş mikrobiyal topluluğun etkisini, anaerobik sıralamalı kesikli reaktör (AnSBR) kullanılarak gözlemledi. Yüksek verimli pyrosequence analizinde, *Filum Firmicutes* ve *Proteobacteria*'daki türleri ortaya koydu. (Mostafa ve ark., 2016) jelatinli atık sudan hidrojen üretimi üzerine yaptıkları çalışmada kullanılan mikroorganizmaların 16S rRNA geni yüksek verimli DNA dizilimini belirlemiş ve yüksek yoğunluklu *Proteobacteria, Firmicutes, Clostridia ve Bacilli*'nin öne çıktığını gösterdiler.

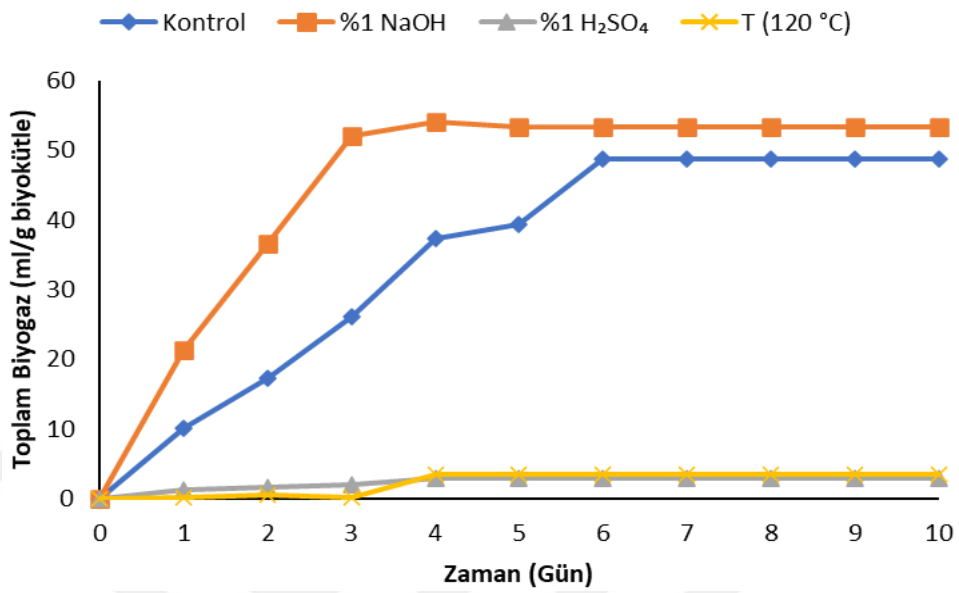
(Chen ve ark., 2022) arkadaşları 37 ve 55 °C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta toplam katı madde miktarının %3, %6 ve % 12 olduğu üç farklı derişimdeki pirinç samanının karanlık fermentasyonlarından biyohidrojen üretimi üzerine çalıştılar. En yüksek hidrolitik bakteri bolluğu *Ruminiclostridium* %54.24 en yüksek biyohidrojen üretimine yol açtığını ortaya koymuştur.

4.4. Biyokütle Kaynaklarından Elde Edilen Gaz Verimleri

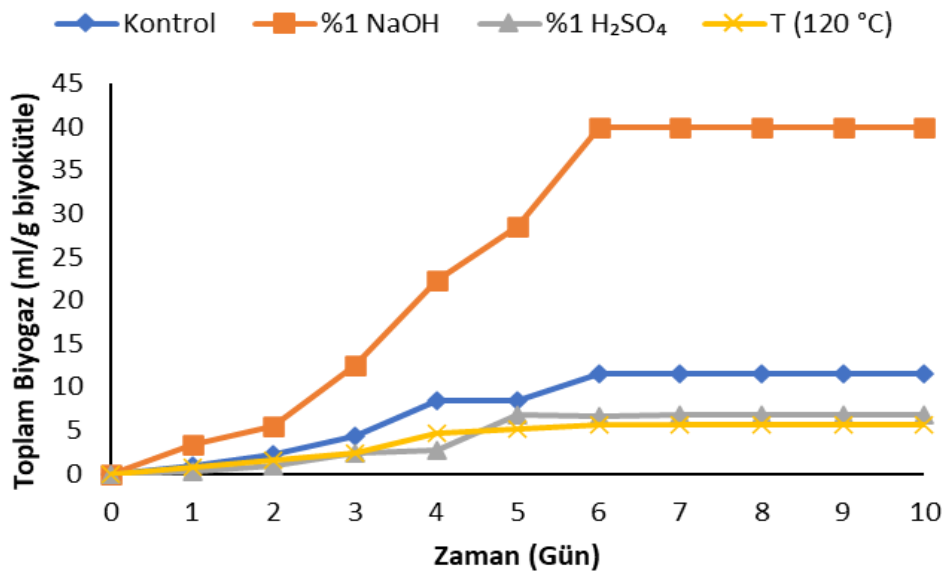
4.4.1. Ön işlemin etkisi

Biyokütle kaynaklarının fermantasyonu asit ön işlem (%1'lik H_2SO_4), alkali ön işlem (%1'lik NaOH), termal ön işlem (120 °C) ve kontrol (oda sıcaklığı) olmak üzere 4 koşulda gerçekleştirilmiştir. Deneylerde Adana Efes bira fabrikası anaerobik arıtma tankından (A1), Şanlıurfa atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından (A2) ve Pakmaya Düzce tesisleri anaerobik arıtma tankından (A3) temin edilen karışık kültür aşılar kullanılmıştır. 4 farklı ön işlemin uygulandığı ve üç farklı karışık kültür aşı kullanılan deneylerde pamuk küspesi, fıstık küspesi, pamuk atıkları ve nar kabuklarından elde edilen toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarları aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.

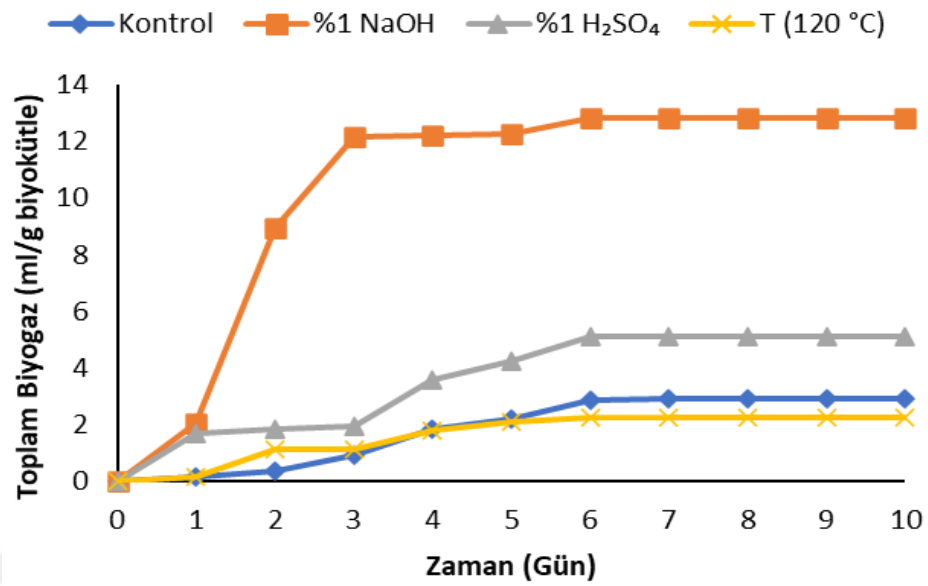
4.4.1.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.5. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

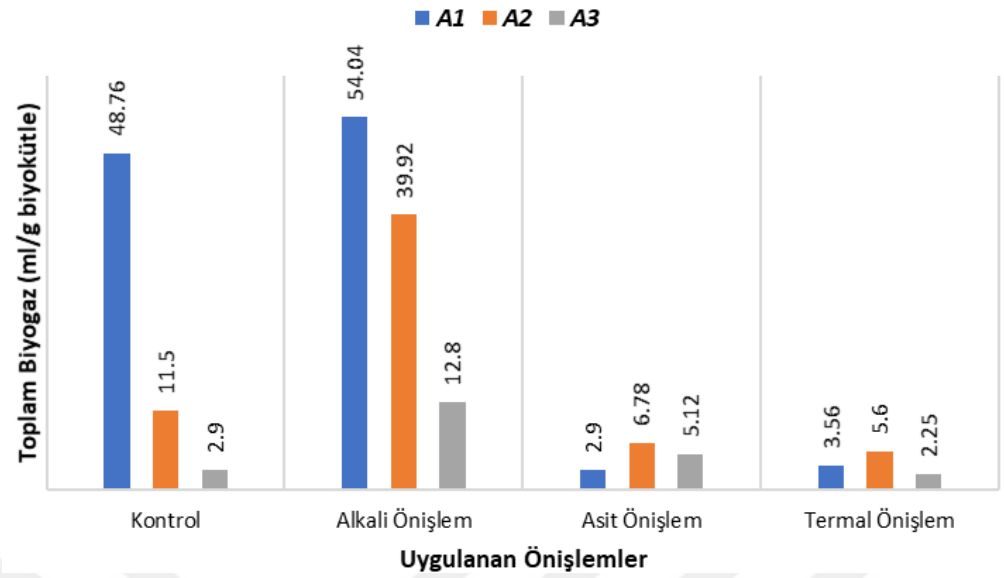


Şekil 4.6. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz



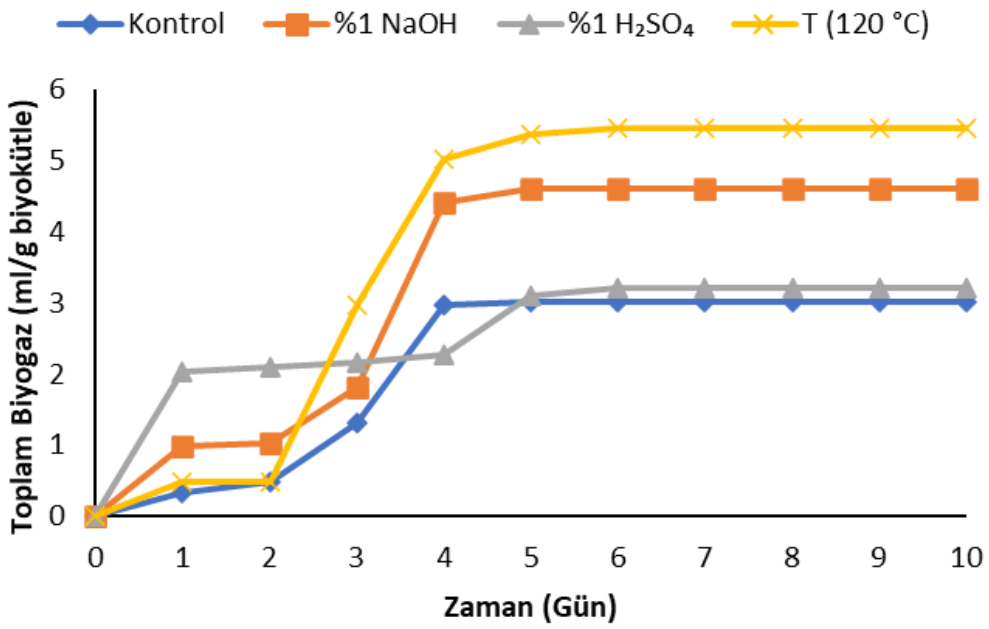
Şekil 4.7. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7'ye bakıldığında her üç aşı için de alkali ön işlemde (%1'lik NaOH) en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Aşılar kendi aralarında kıyaslandığında A1 ve A3 aşılarının gaz üretimine etkisi kısa sürede gerçekleşirken A2 aşısı biraz daha zamana yayılmıştır. Aynı zamanda elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk küspesi için biyogaz üretiminde deney koşullarında alkali ön işlem ve A1 aşısı kullanıldığında 54.04 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu A2 aşısı kullanıldığında ise bu değerin azaldığı görülmektedir (Şekil 4.8.). Ayrıca asit ve termal ön işlemlerin uygulandığı durumlarda gaz verimlerinin oldukça düştüğü de deney verilerinden anlaşılmıştır. Bu durum pamuk küspesi açısından aşı seçiminin ve ön işlemin biyogaz verimini etkileyen önemli faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

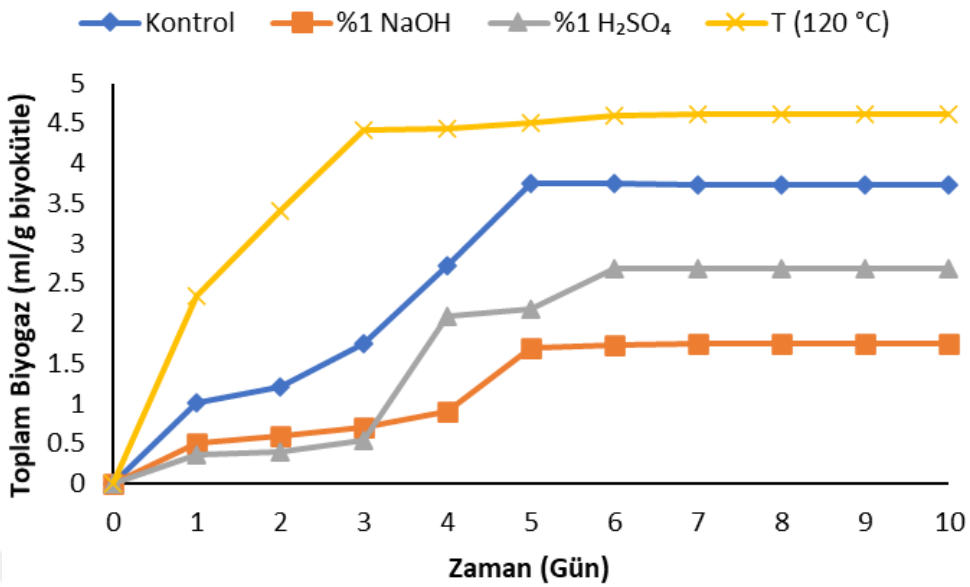


Şekil 4.8. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

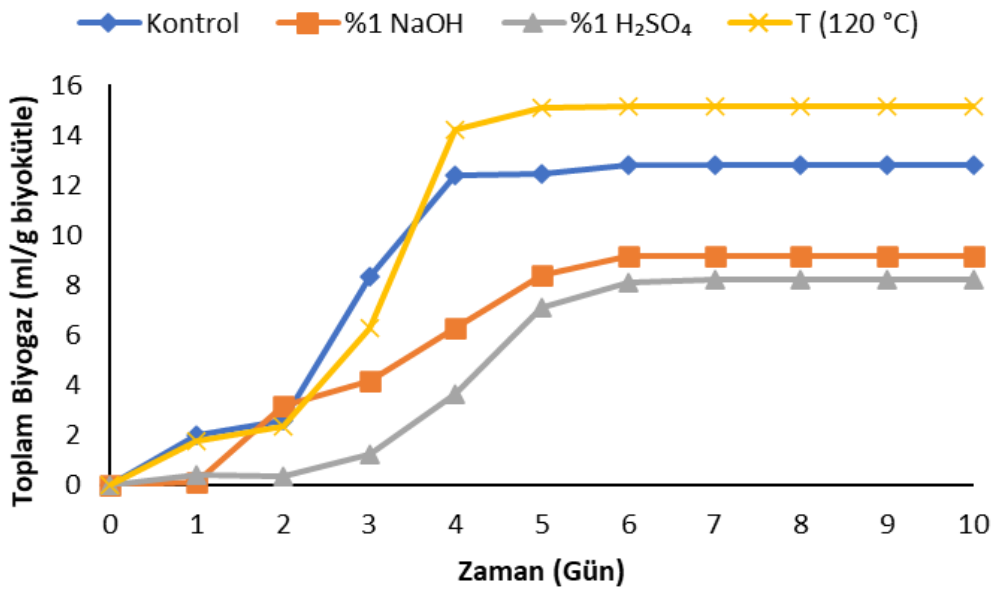
4.4.1.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.9. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

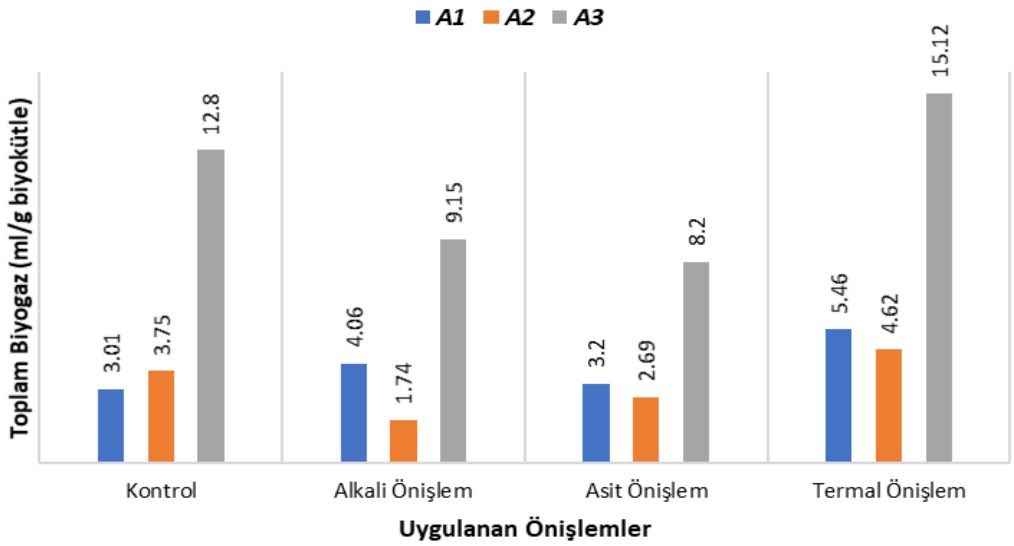


Şekil 4.10. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz



Şekil 4.11. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

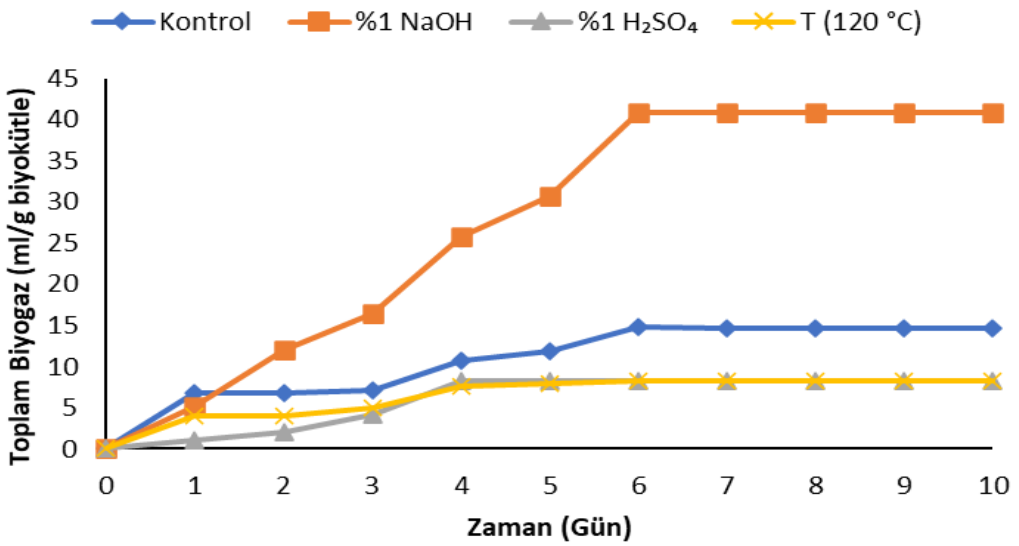
Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11 incelendiğinde fıstık küspesinden elde edilen biyogaz verimlerinin düşük olduğu görülmektedir. Her üç aşı için de termal ön işlemde (120 °C) en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Fıstık küspesinden biyogaz üretiminde deney koşullarında termal ön işlem ve A3 aşısı kullanıldığında 15.12 ml/g substrat ile en yüksek biyogaz hacmi elde edilmiştir.



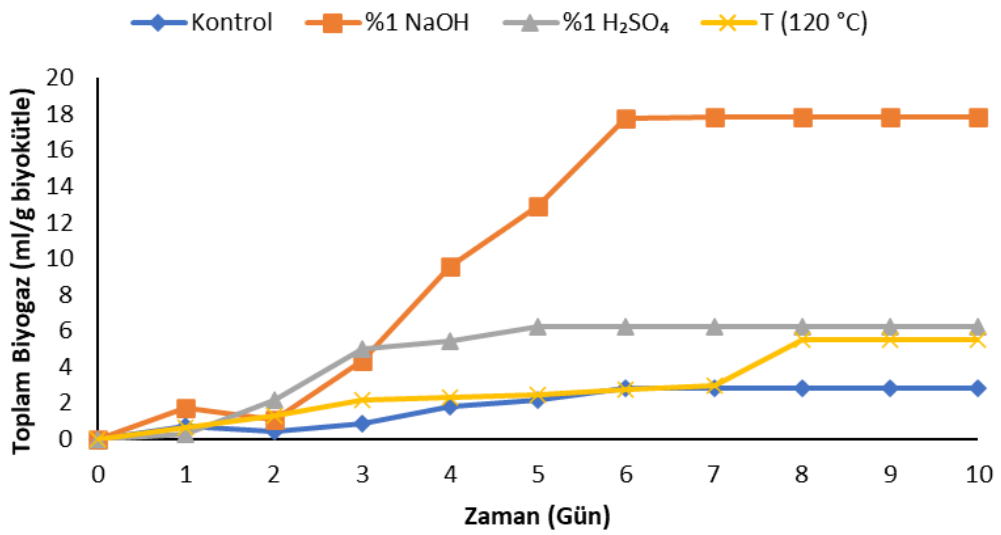
Şekil 4.12. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.12 incelendiğinde A3 aşısının tüm ön işlemlerde önemli bir etkisinin olduğu görülmekte olup diğer iki aşıya göre yaklaşık üç kat daha yüksek biyogaz verimine ulaştığı görülmektedir.

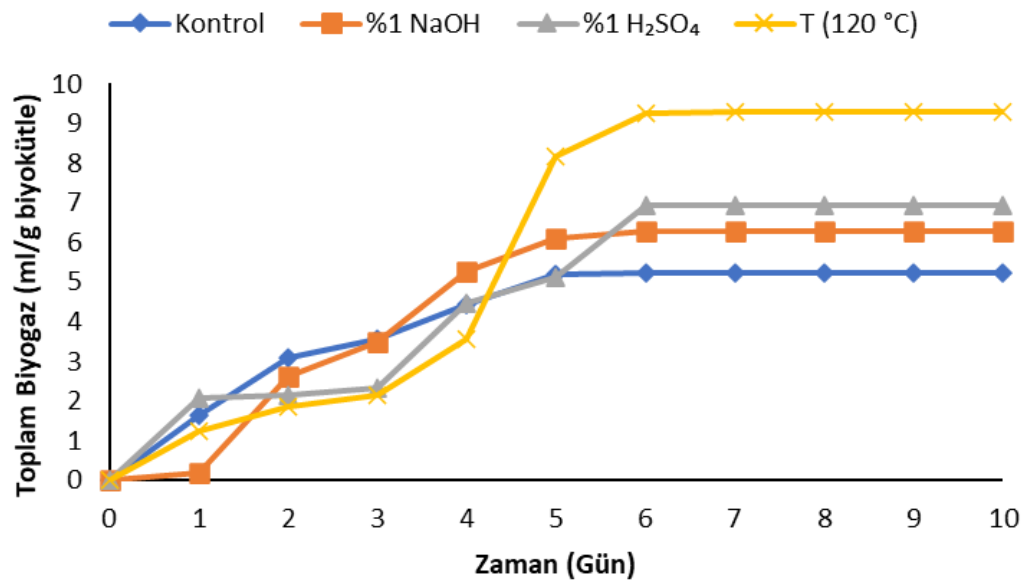
4.4.1.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.13. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

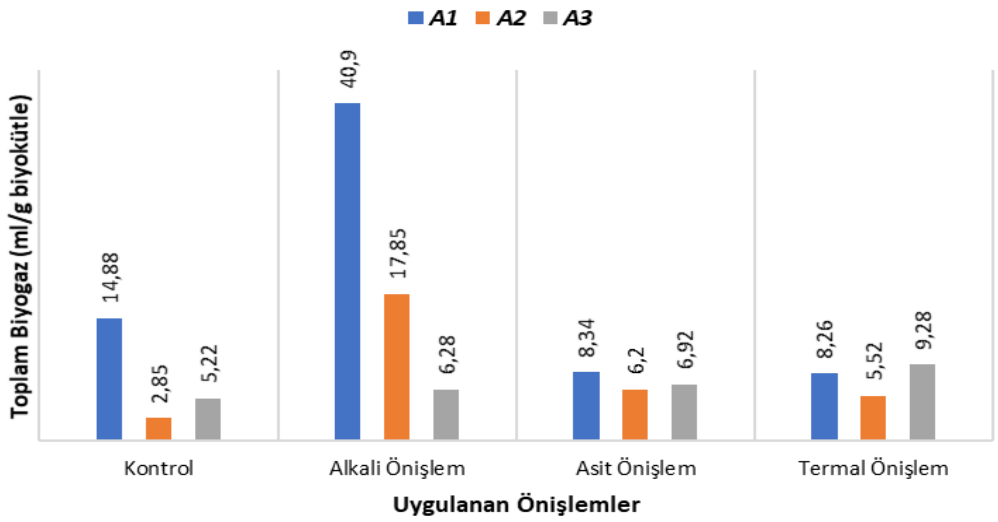


Şekil 4.14. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz



Şekil 4.15. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

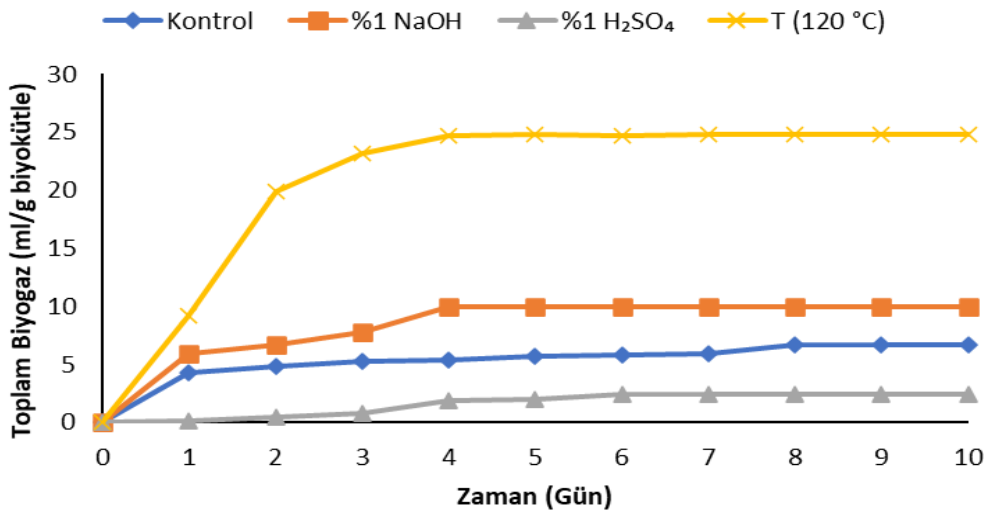
Şekil 4.13, 4.14 ve 4.15'e bakıldığında A1 ve A2 aşıları kullanıldığında alkali ön işlemde en yüksek biyogaz verimine ulaşılmış ancak A3 aşısı kullanıldığında termal ön işlemin daha yüksek biyogaz açığa çıkardığı görülmektedir.



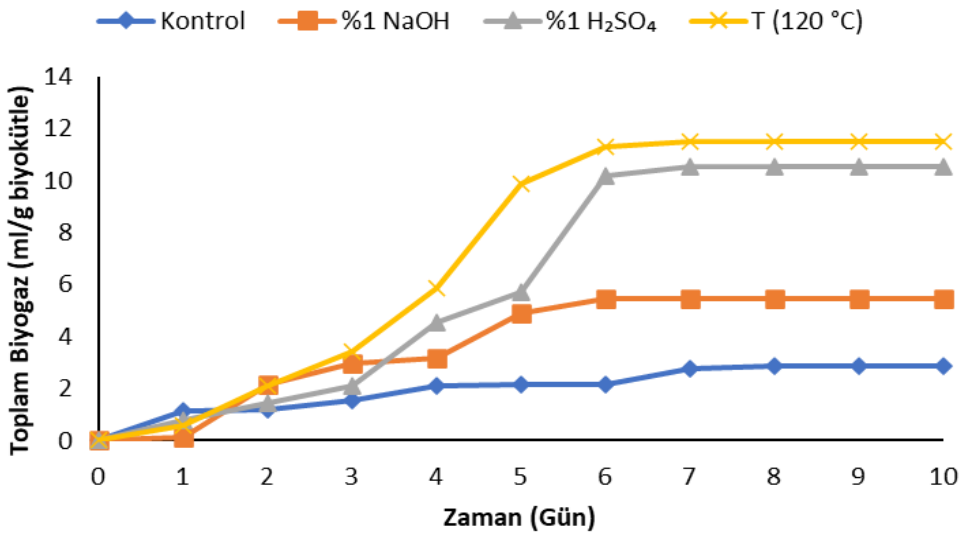
Şekil 4.16. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Pamuk atıklarından biyogaz üretiminde deney koşullarında alkali ön işlem ve A1 aşısı kullanıldığında 40.9 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu diğer aşılar kullanıldığında ise bu değerin azaldığı görülmektedir (Şekil 4.16.). Bu durum pamuk atıklarından biyogaz üretiminde aşı seçiminin ve ön işlemin önemli faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

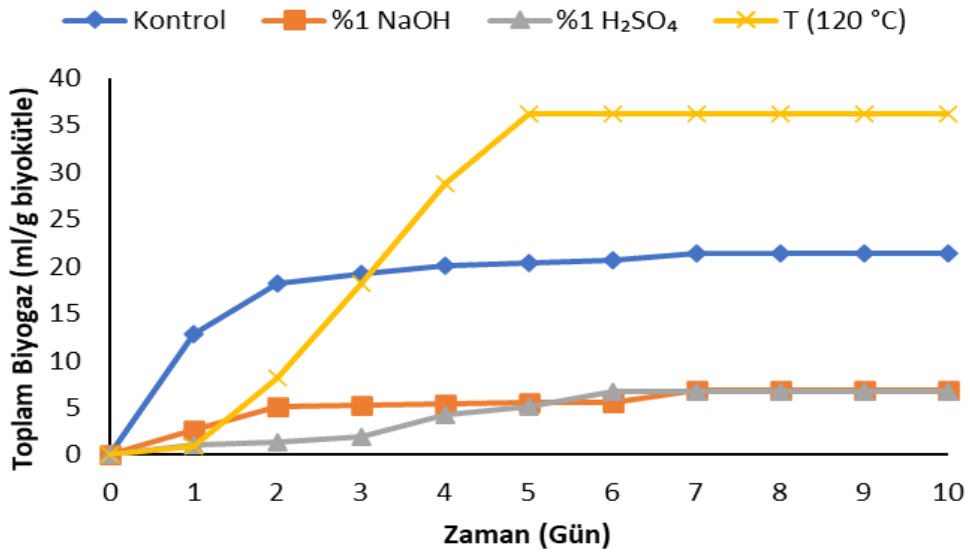
4.4.1.4. Nar kabuklarından biyogaz üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.17. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

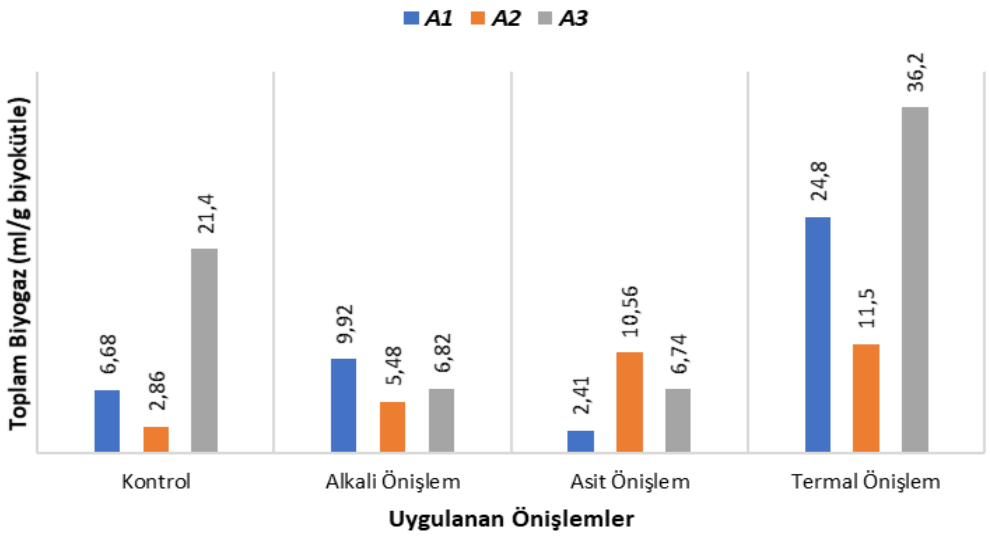


Şekil 4.18. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz



Şekil 4.19. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz

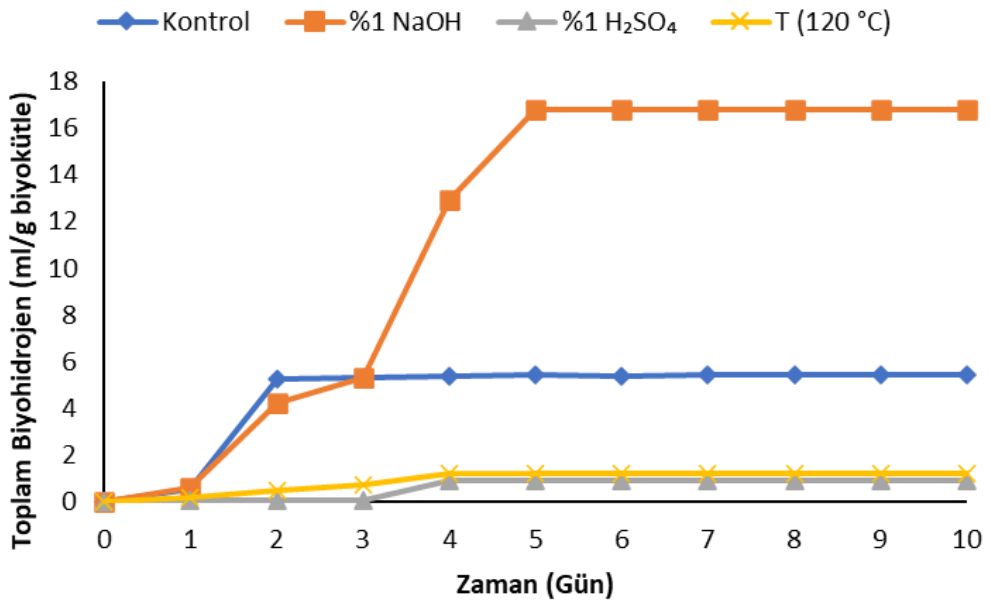
Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonucu elde edilen toplam biyogaz verimleri şekil 4.17, 418 ve 4.19'da verilmiştir. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemlerden sonra A1, A2 ve A3 aşılarının ilavesi ile başlatılan fermantasyon sonrasında elde edilen biyogaz verimleri grafik verilerinden incelendiğinde her üç aşı için de termal ön işlem önemli bir faktör olduğu görülmektedir. Burada belirleyici faktör ön işlem etkisi olmuş ve nar kabuklarında termal ön işlem uygulanması halinde biyogaz veriminin arttığı belirlenmiştir.



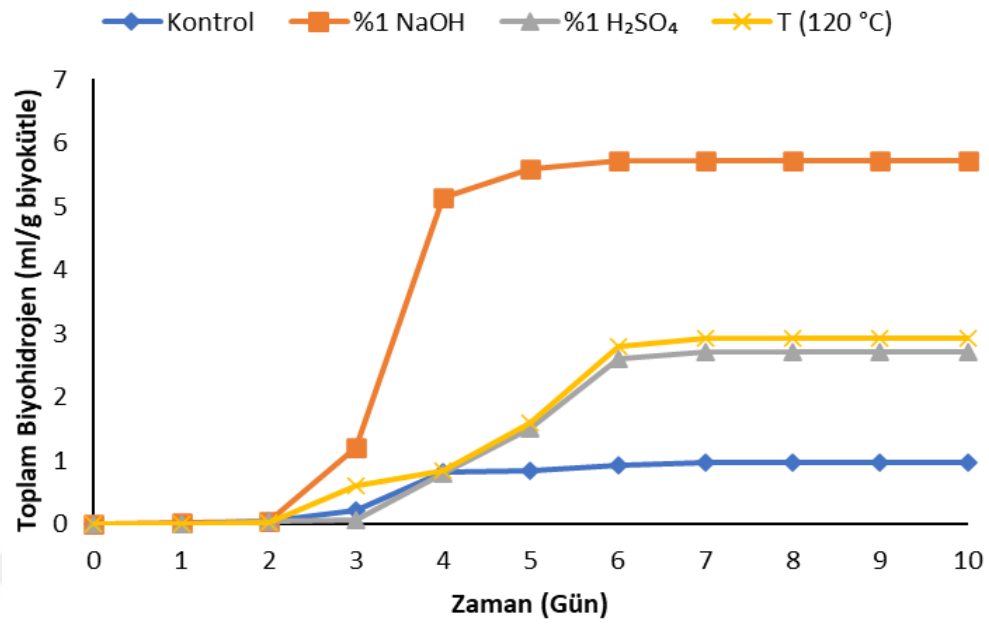
Şekil 4.20. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.20 incelendiğinde en yüksek biyogaz veriminin termal ön işlem sonrası A3 aşısı kullanıldığında 36.2 ml biyogaz elde edildiği görülmektedir. Burada kullanılan ön işlem ve aşı birlikte değerlendirildiğinde nar kabukları için de bu iki faktörün biyogaz üretimi için önemli parametreler olduğu anlaşılmaktadır.

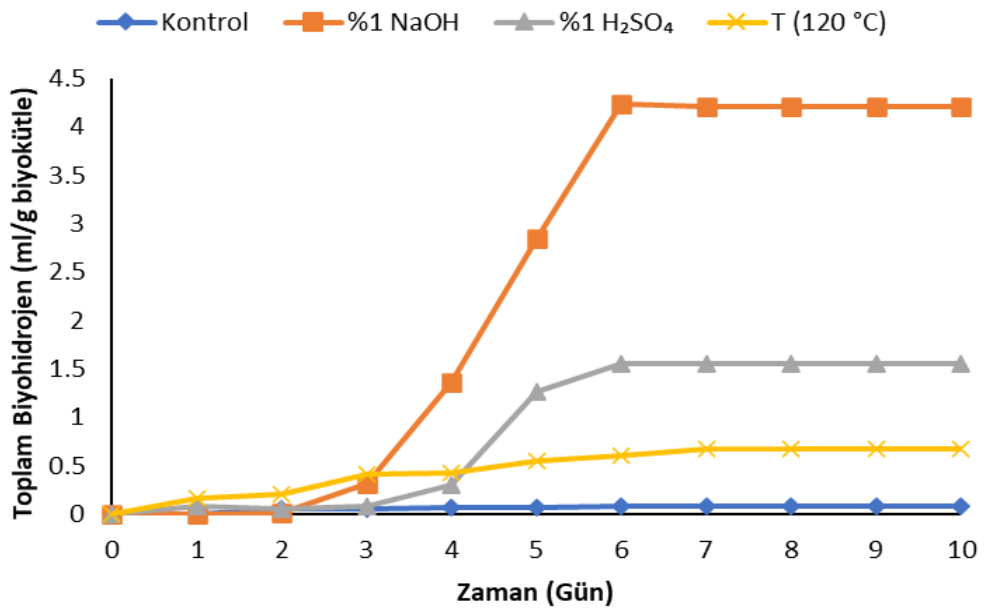
4.4.1.5. Pamuk küspesinden biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.21. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

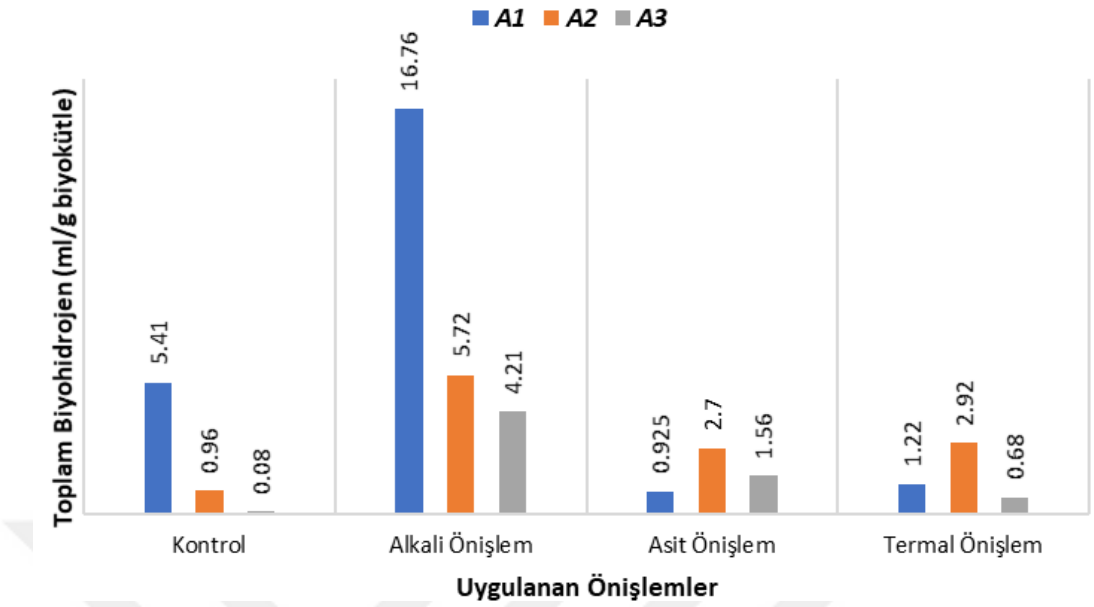


Şekil 4.22. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen



Şekil 4.23. Pamuk küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

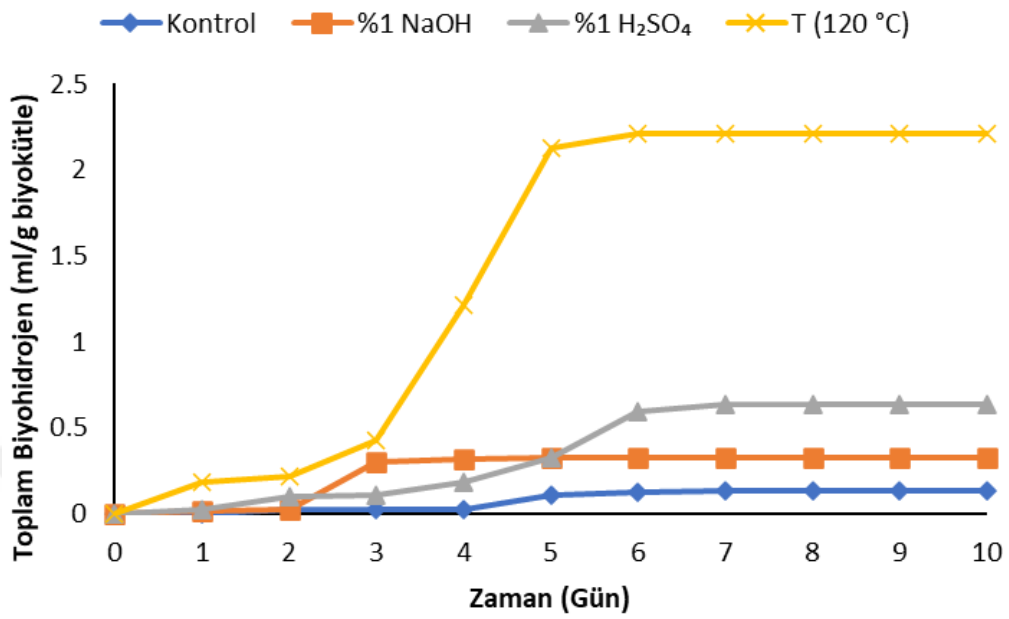
Şekil 4.21, 4.22 ve 4.23'e bakıldığında her üç aşı için de alkali ön işlemde en yüksek biyohidrojen verimine ulaşılmıştır. Yukarıda verilen grafikler ön işlemin ve kullanılan karışık mikrobiyal kültürün biyohidrojen üretiminde önemli rollerinin olduğunu göstermektedir.



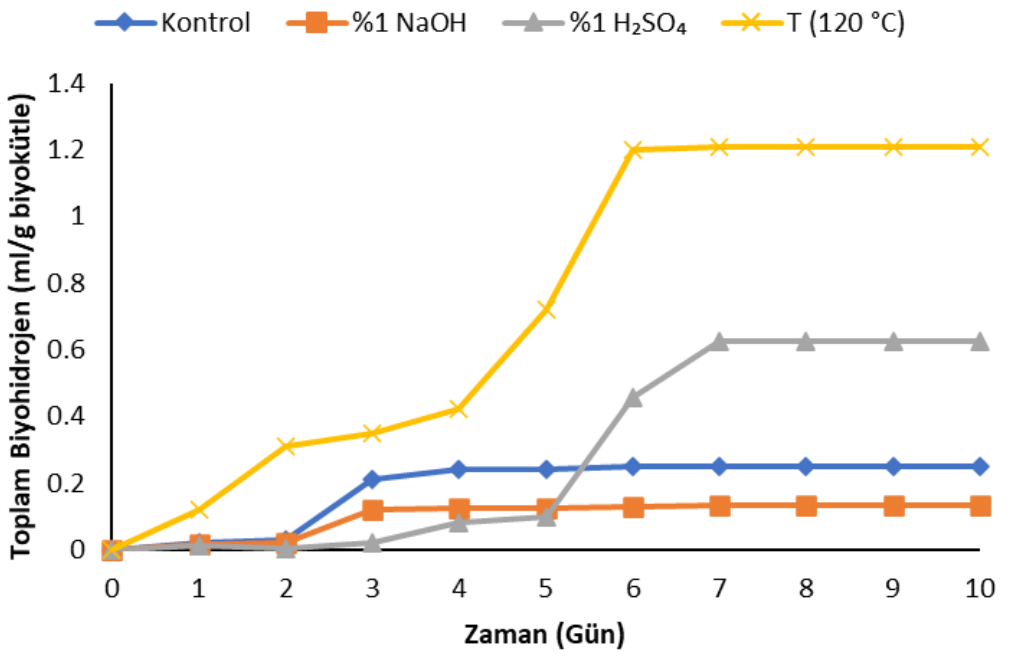
Şekil 4.24. Pamuk küspesinden biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.24. pamuk küspesinden biyohidrojen üretiminde kullanılan farklı aşıların gaz verimine etkilerini göstermektedir. Buna göre en yüksek gaz veriminin A1 aşısı kullanıldığında elde edildiğini göstermektedir. Pamuk küspesine uygulanan %1'lik NaOH ön işlemi sonucu hidrolize uğramış biyokütleye A1 aşısı ilave edildiğinde 16.76 ml biyohidrojen elde edilmiştir.

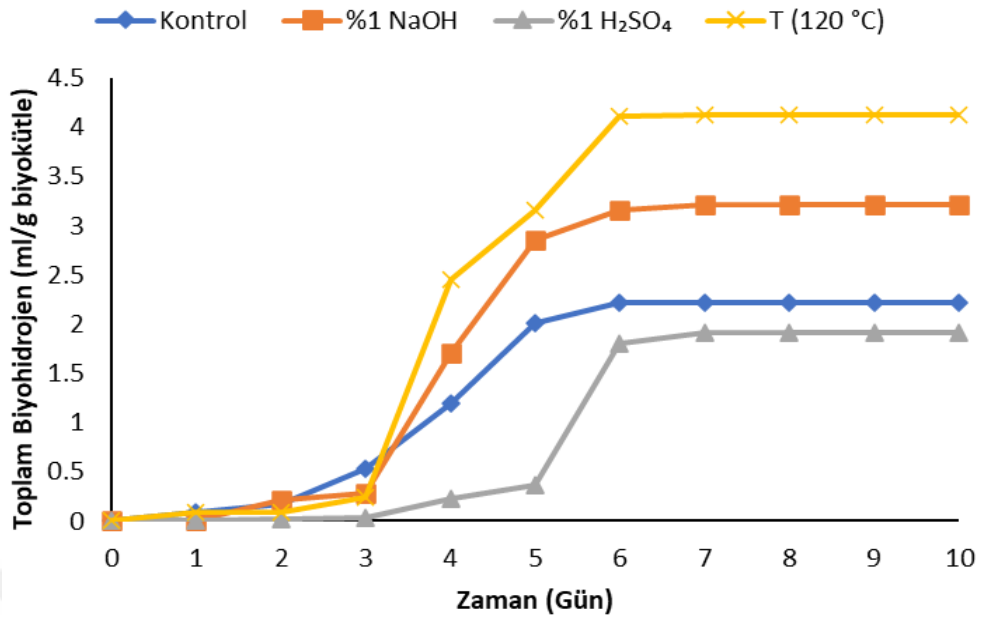
4.4.1.6. Fıstık küspesinden biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.25. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

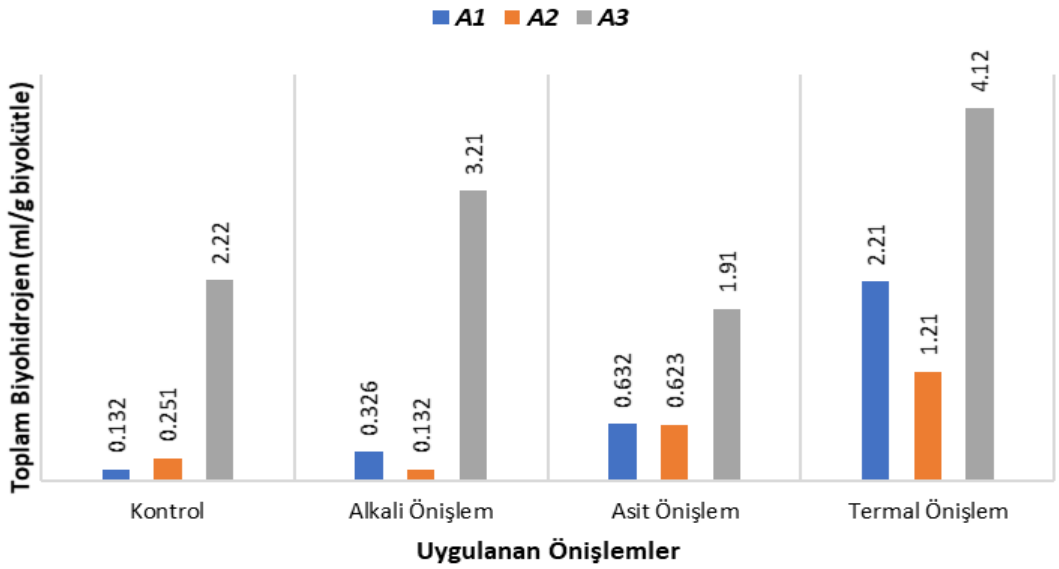


Şekil 4.26. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen



Şekil 4.27. Fıstık küspesine uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

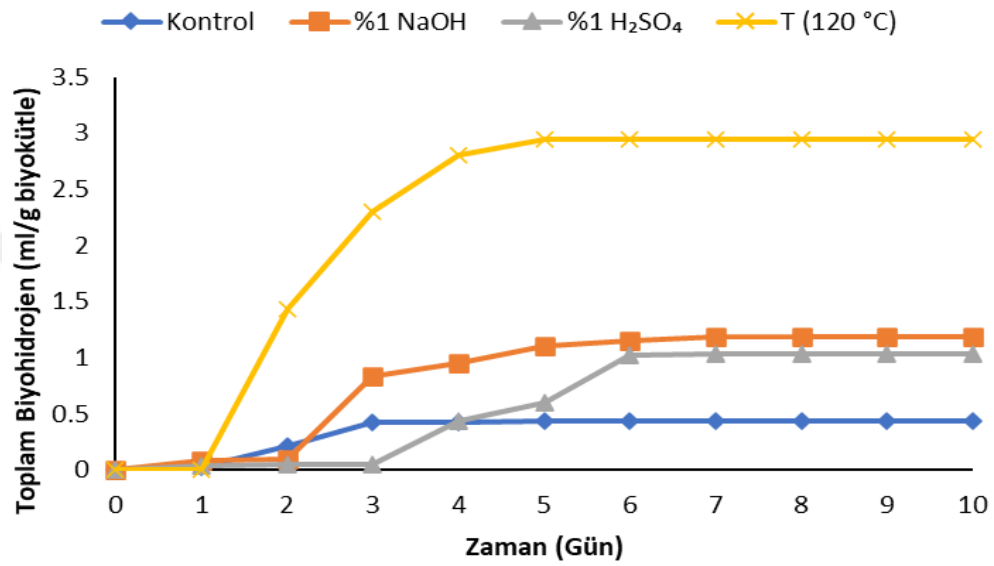
Şekil 4.25, 4.26 ve 4,27 incelendiğinde fıstık küspesine uygulanan ön işlemlerden sonra A1, A2 ve A3 aşıları ilavesi ile başlatılan fermantasoyonun 3. gününden sonra hidrojen gaz verimlerinin hızlandığı ve 7. günün sonunda maksimum gaz verimine ulaştıkları görülmektedir. Fıstık küspesinden biyohidrojen eldesinde en ideal ön işlemin 120 °C uygulanan termal ön işlem olduğu anlaşılmaktadır.



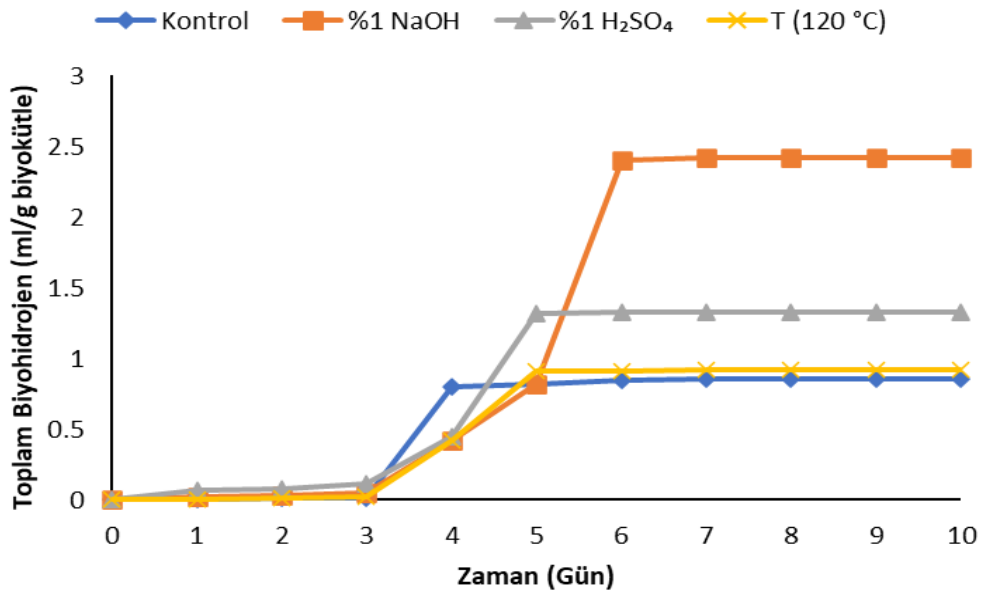
Şekil 4.28. Fıstık küspesinden biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.28 incelendiğinde fıstık küspesinden biyohidrojen üretiminde deney koşullarında termal ön işlem ve A3 aşısı kullanıldığında 4.12 ml ile en yüksek biyohidrojen hacmi elde edildiği görülmektedir.

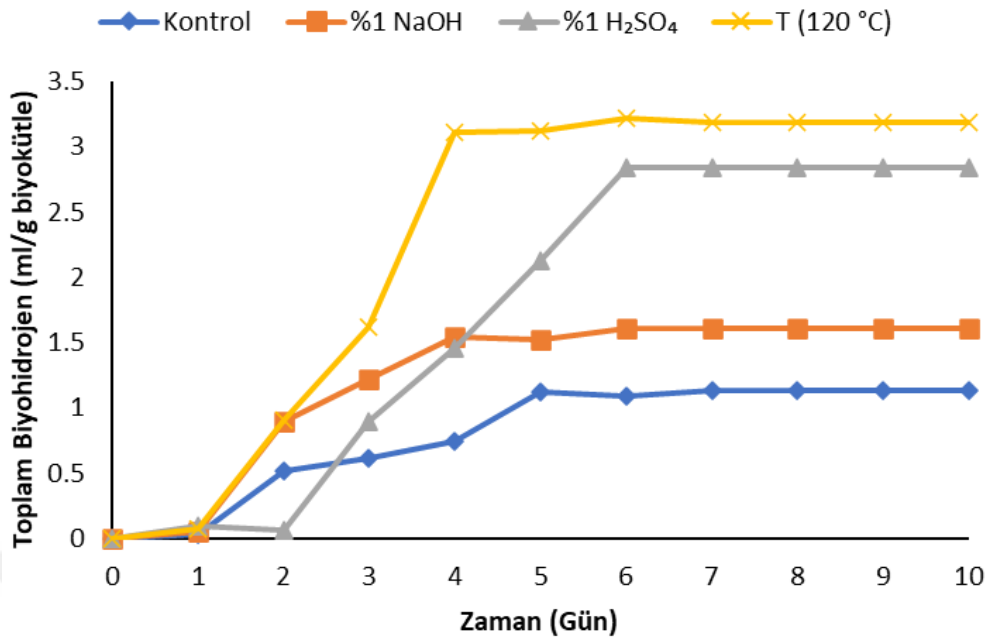
4.4.1.7. Pamuk atıklarından biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.29. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

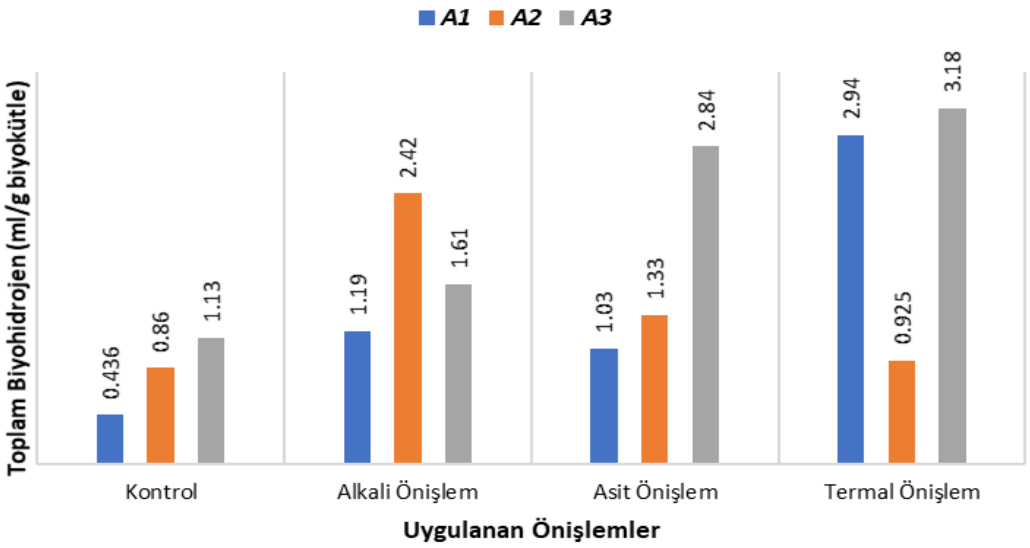


Şekil 4.30. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen



Şekil 4.31. Pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

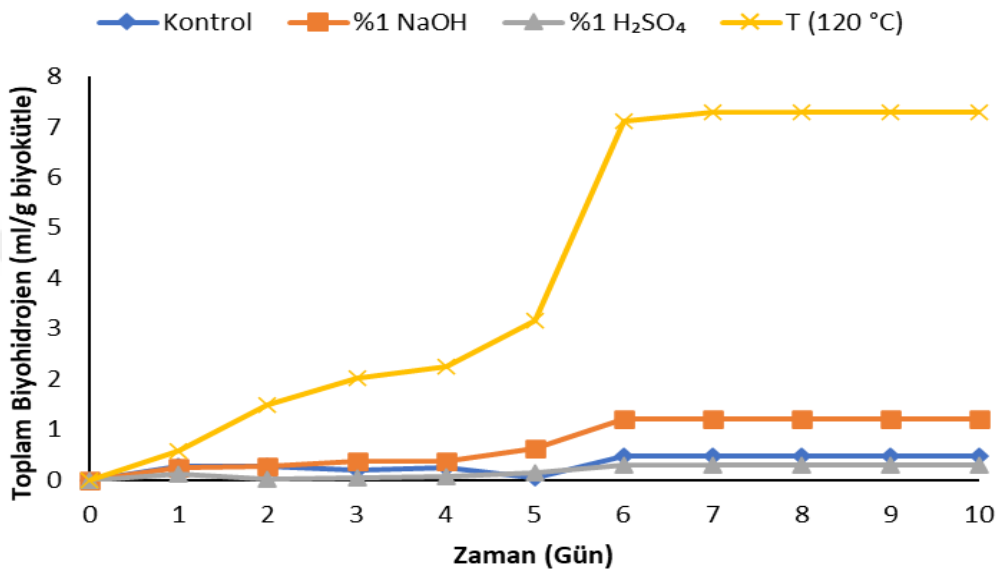
Şekil 4.29, 4.30 ve 4.31'e göre pamuk atıklarına uygulanan ön işlemler sonrası ilave edilen aşıların gaz verimini farklı etkilediği görülmektedir. A1 ve A3 aşıları kullanıldığında termal ön işlemin daha verimli olduğu ancak A2 aşısı kullanıldığında ise alkali ön işlemin etkin olduğu belirlenmiştir.



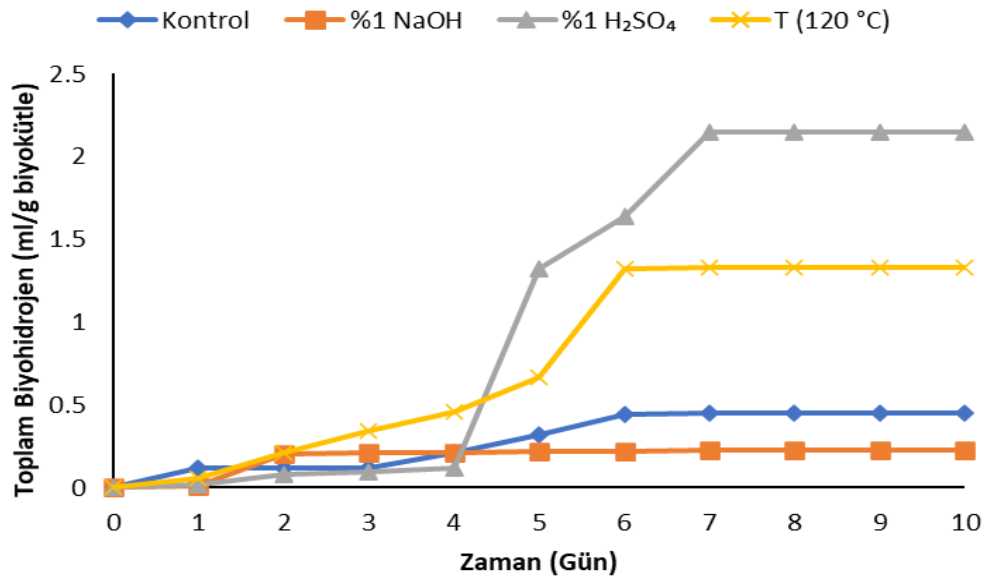
Şekil 4.32. Pamuk atıklarından biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.32'ye göre pamuk atıklarından biyohidrojen üretiminde maksimum verimin termal ön işlem ve A3 aşısı kullanıldığında gram biyokütle başına 3.18 ml biyohidrojen olduğu hesaplanmıştır.

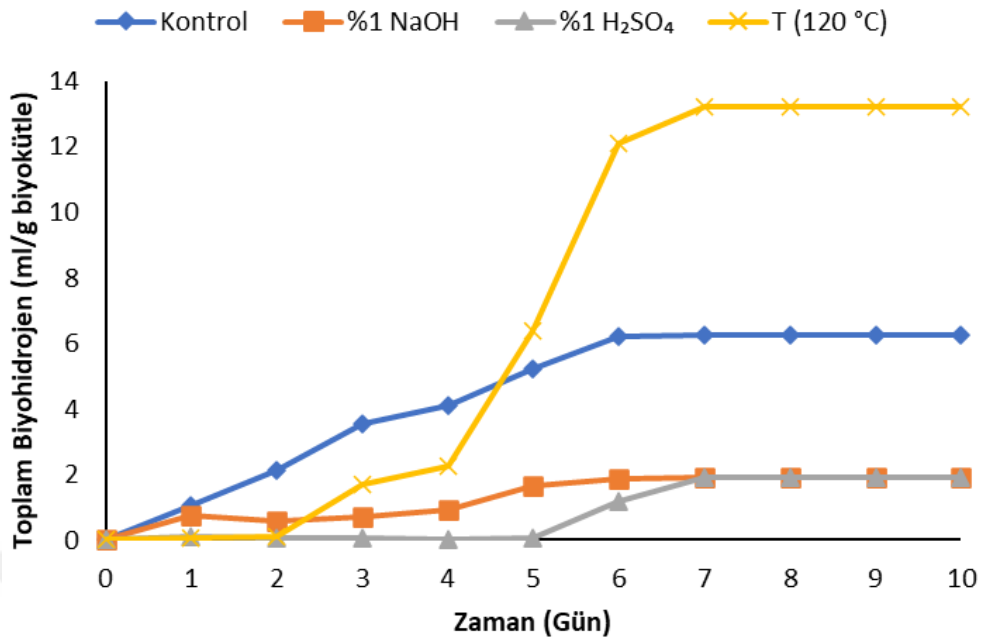
4.4.1.8. Nar kabuklarından biyohidrojen üretimine ön işlemin etkisi



Şekil 4.33. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

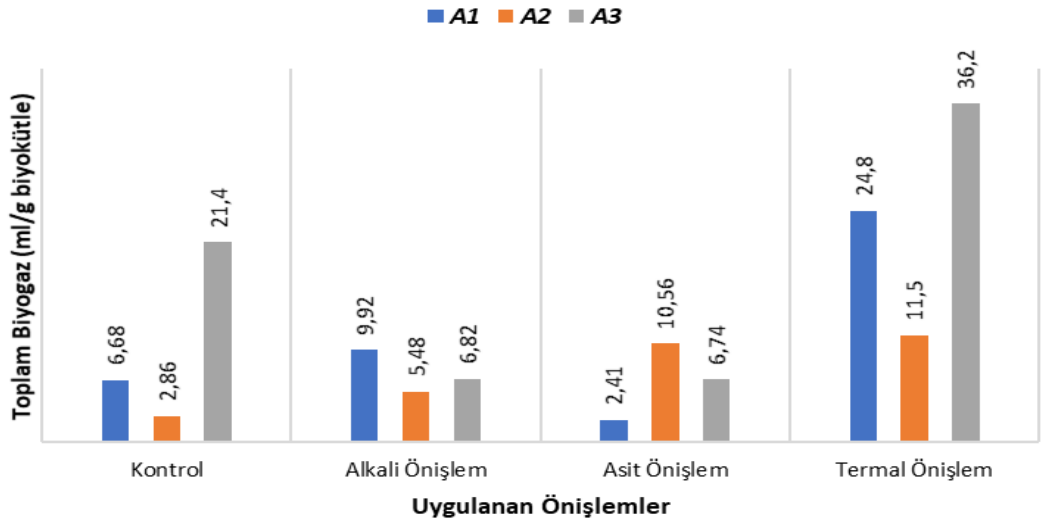


Şekil 4.34. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen



Şekil 4.35. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonrası A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyohidrojen

Şekil 4.33, 4,34 ve 4,35'te nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonucu elde edilen toplam biyohidrojen miktarları verilmiştir. Nar kabuklarına uygulanan ön işlemlerden sonra A1, A2 ve A3 aşılarının ilavesi ile başlatılan fermantasyon sonrasında elde edilen biyohidrojen verimleri grafik verilerinden incelendiğinde A1 ve A3 aşıları için termal ön işlemin etkin olduğu görülmektedir. Ancak A2 aşısı kullanıldığında elde edilen gaz miktarının asit ön işlemde daha fazla olduğu görülmektedir.



Şekil 4.36. Nar kabuklarından biyohidrojen eldesinde farklı ön işlemler ve aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.36'ya göre nar kabuklarına uygulanan ön işlemler sonucu elde edelin maksimum biyohidrojen miktarı termal ön işlem ve A3 aşısı kullanıldığında 13.2 ml olarak hesaplanmıştır.

Farklı substrat türleri, hidrojenin üretim verimliliğini artırabilen farklı ön arıtma yöntemlerine ihtiyaç duyar. Isıl ön işlem, karanlık fermantasyon için en genel ön işlemdir. Hidrojen tüketen bakterileri ortadan kaldırmak için en verimli ve en kolay yöntem olduğu için ticarileştirme olasılığının yüksek olduğu bildirilmektedir. Baghchehsaraee ve ark. (2008), 65 °C'de ön işleme tabi tutulan tohum çamurunda H_2 veriminin en yüksek olduğunu bildirmiştir (Kumar ve ark., 2016), 2 saat boyunca 90 °C'de ön işlemin genellikle metanojenik bakterilerin inaktivasyonunu indüklediğini bildirmiştir. Bir literatür incelemesi, 65-90 °C'de ön işleme tabi tutulan tohum çamurunun H_2 üreten bakteri türlerinin çoğunu koruduğunu göstermiştir. Ren ve ark. (2008) ısıl işlemi asit işlemiyle karşılaştırmış ve ısıl işlemle 10 kat daha yüksek H_2 üretimi bildirmiştir (Park ve ark., 2021).

Gonzales ve ark., (2016) seyreltik asit ön işlem ile karanlık hidrojen fermantasyon performansının ilişkisini incelediler. Palmiye salkımı, pirinç kabuğu ve çam ağacı odunu %5 (h/h) H_2SO_4'te %10 (w/v) katı/sıvı oranında ve 121 °C'de 30, 60 ve 90 dakika süreyle hidrolize edildi ve ardından toplu hidrojen fermantasyonunun

substratı olarak kullanıldı. Maksimum hidrojen verim sırası ile 2640, 3340 ve 2565 mL H_2 L^{-1} $gün^{-1}$ H_2 üretim oranlarına ulaşılmıştır.

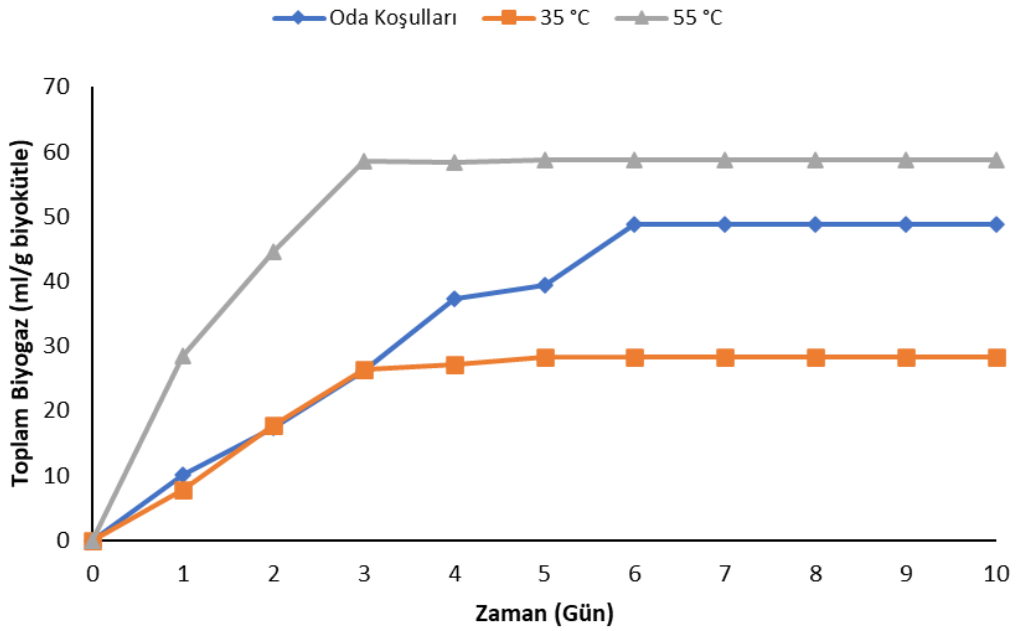
Aynı şekilde alkali ön işlem de gaz verimini önemli ölçüde etkileyen faktörlerdin biridir. (Cao ve ark., 2012) kireç ile ön işleme tabi tutulmuş mısır sapından elde edilen hidrojenin işlenmemiş mısır sapına göre %35 yüksek H_2 verimi görülmüştür.

Biyohidrojen verimini etkileyen bir diğer parametre de asidik ön işlemdir. Shao ve ark. (2020) karanlık fermentasyon kullanarak H_2 üretimi için seyreltik asit (%1 H_2SO_4) ile ön işlem uygulanmış su mercimeği biyokütlesini kullandı. 35 °C' sıcaklık ve pH 7'de 169.30 mL/g kuru ağırlıkta maksimum H_2 verimi buldular. Bu nedenle, karanlık fermentasyonda iyi biyohidrojen verimi için substratların ön muamelesinin şiddetle tavsiye edildiği görülebilir (Osman ve ark., 2020).

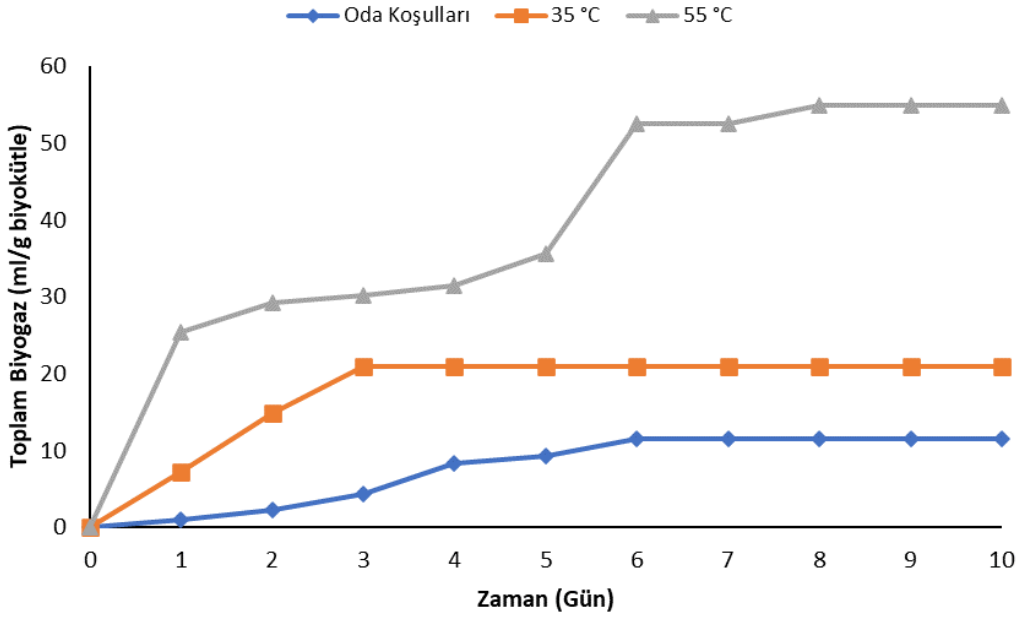
4.4.2. Sıcaklığın etkisi

Biyokütle kaynaklarının fermantasyonu oda sıcaklığı, mezofilik ve termofilik olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Deneylerde A1, A2 ve A3 karışık kültür aşılar kullanılmıştır. 3 farklı sıcaklığın uygulandığı ve üç farklı karışık kültür aşı kullanılan deneylerde pamuk küspesi, fıstık küspesi, pamuk atıkları ve nar kabuklarından elde edilen toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarları aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.

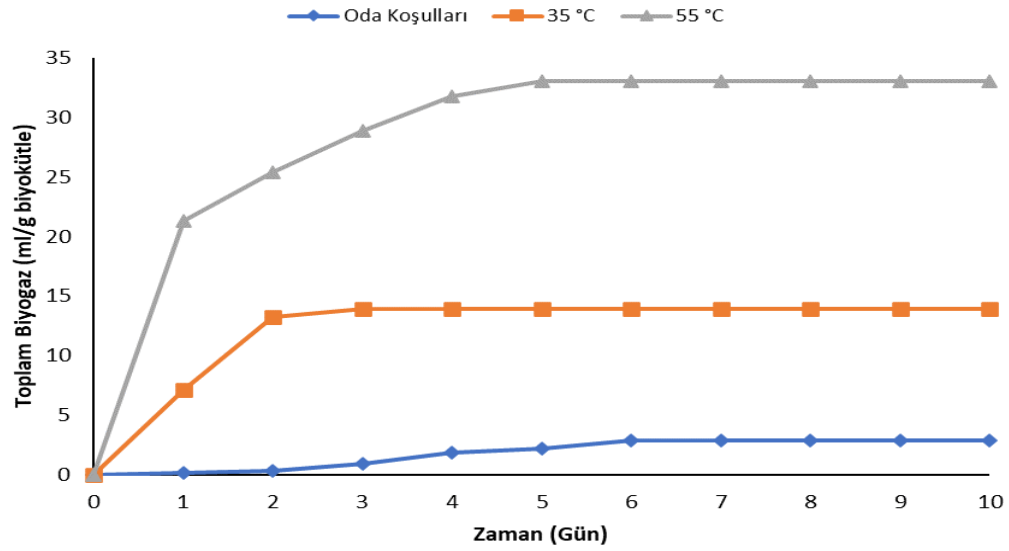
4.4.2.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi



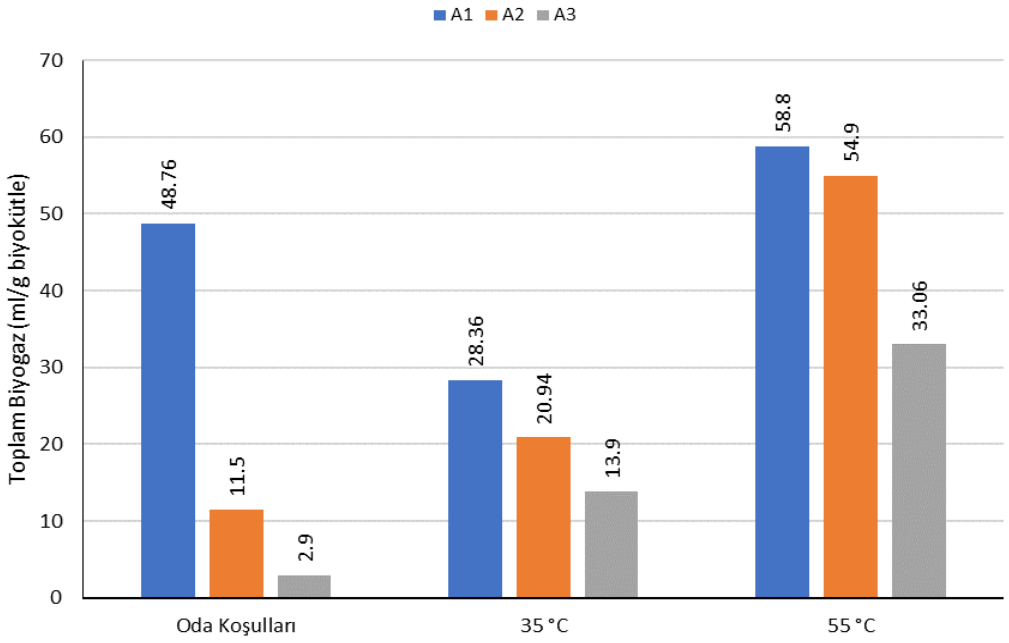
Şekil 4.37. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.38. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.39. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi

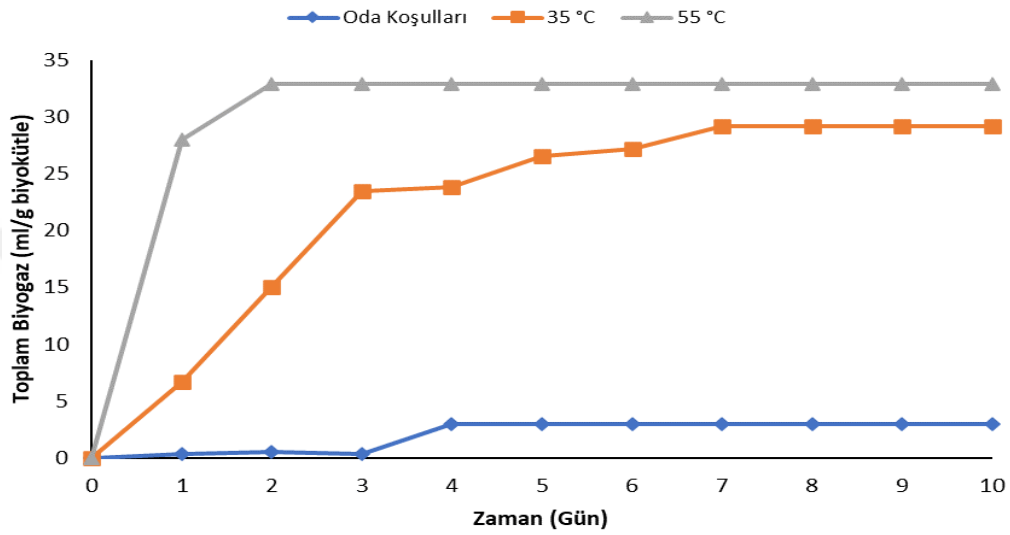


Şekil 4.40. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

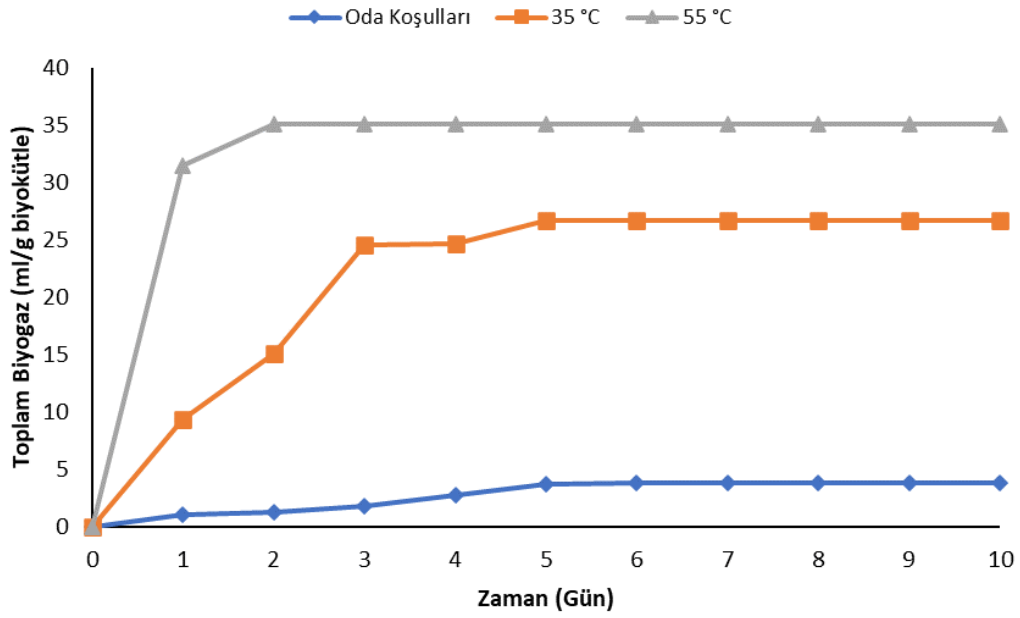
Şekil 4.37, 4.38 ve 4.39'a bakıldığında her üç aşı için de 55 °C sıcaklıkta en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk küspesi için biyogaz üretiminde deney koşullarında 55 °C ve A1 aşısı kullanıldığında 58.8 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A2 aşısı kullanıldığında ise bu değerin azaldığı görülmektedir (Şekil 4.40). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında A1 aşısı için her üç sıcaklıkta da verimin yüksek olduğu görülmüştür. A3

aşısı için ise sıcaklık arttıkça gaz veriminin de arttığı grafikten anlaşılmaktadır Bu durum pamuk küspesi açısından aşı seçiminin ve sıcaklığın biyogaz verimini etkileyen önemli faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

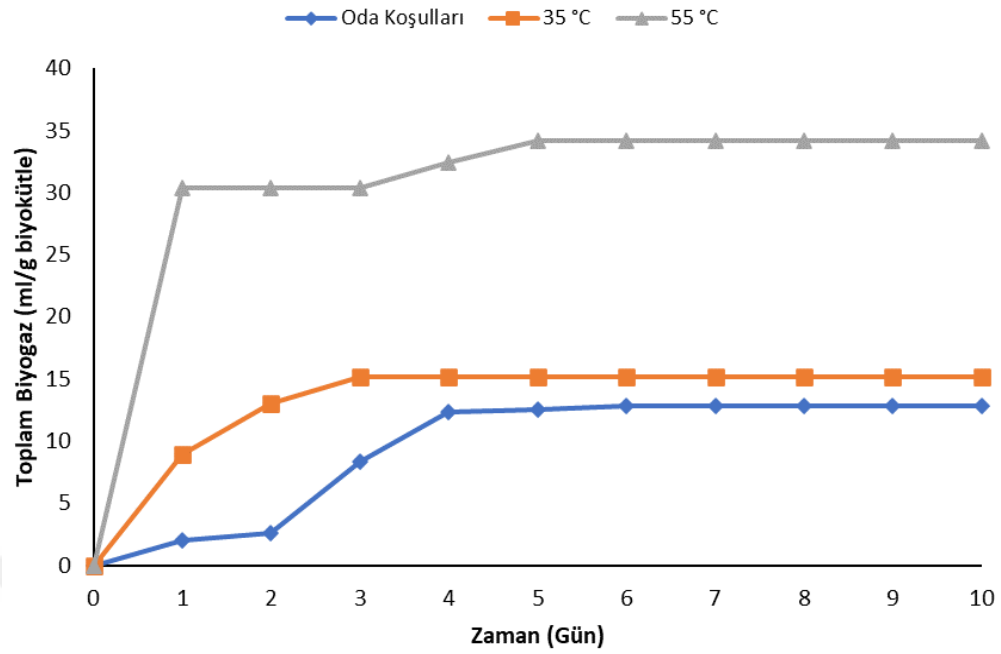
4.4.2.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi



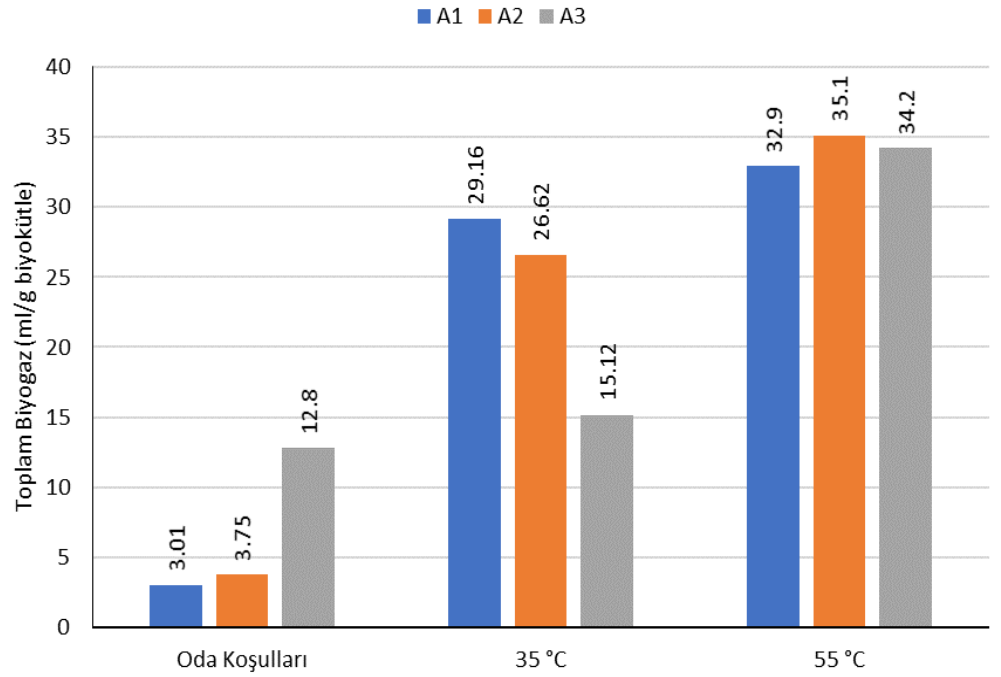
Şekil 4.41. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.42. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.43. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi

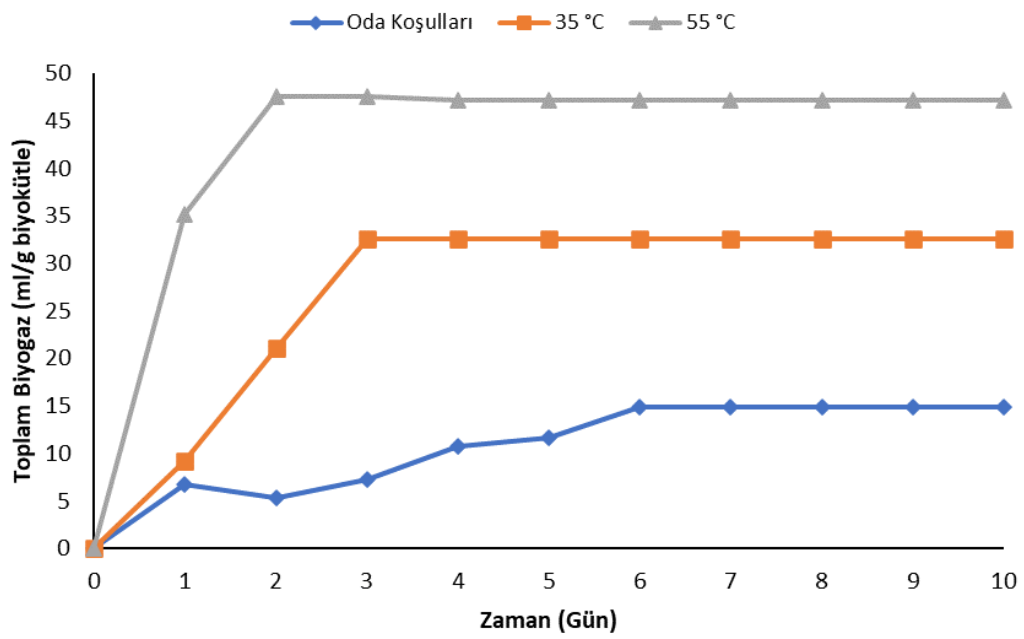


Şekil 4.44. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

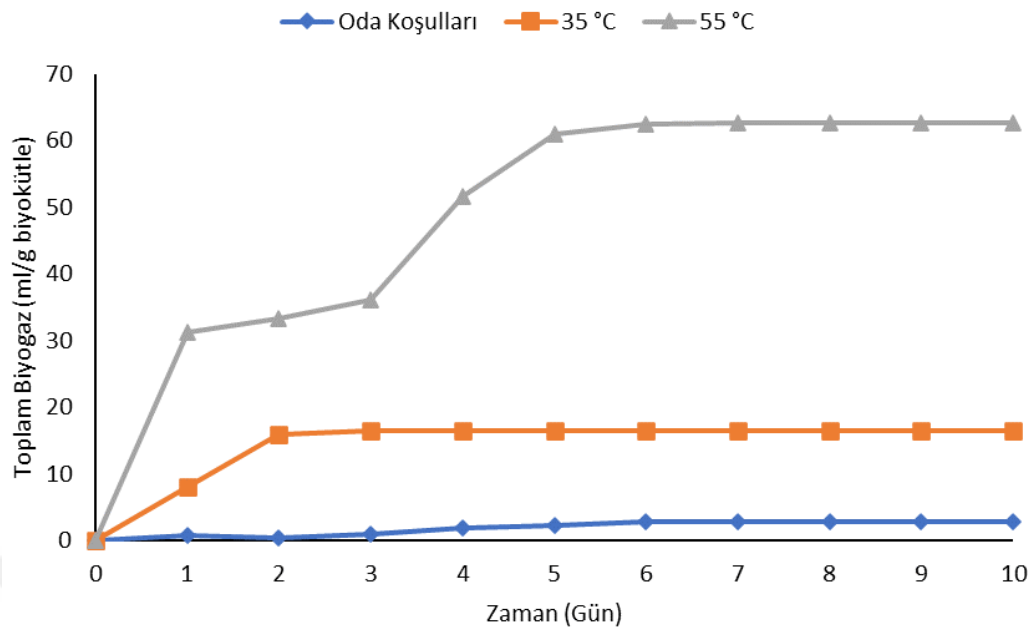
Şekil 4.41, 4.42 ve 4.43'e bakıldığında her üç aşı için de 55 °C sıcaklıkta en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında fıstık küspesi için biyogaz üretiminde deney koşullarında 55 °C ve A2 aşısı kullanıldığında

35.1 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A1 ve A3 aşılarında da bu verimin bariz bir farklılık göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4.44.). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında A3 aşısının düşük sıcaklıkta diğer iki aşıya göre daha etkin olduğu ancak sıcaklık arttıkça diğer iki aşının gaz verimine etkisinin arttığı görülmüştür. Genel olarak her üç aşı için sıcaklık artışını gaz verimlerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler fıstık küspesi açısından artan sıcaklıklarda aşıların etkisinin arttığı, aşı seçiminin gaz verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

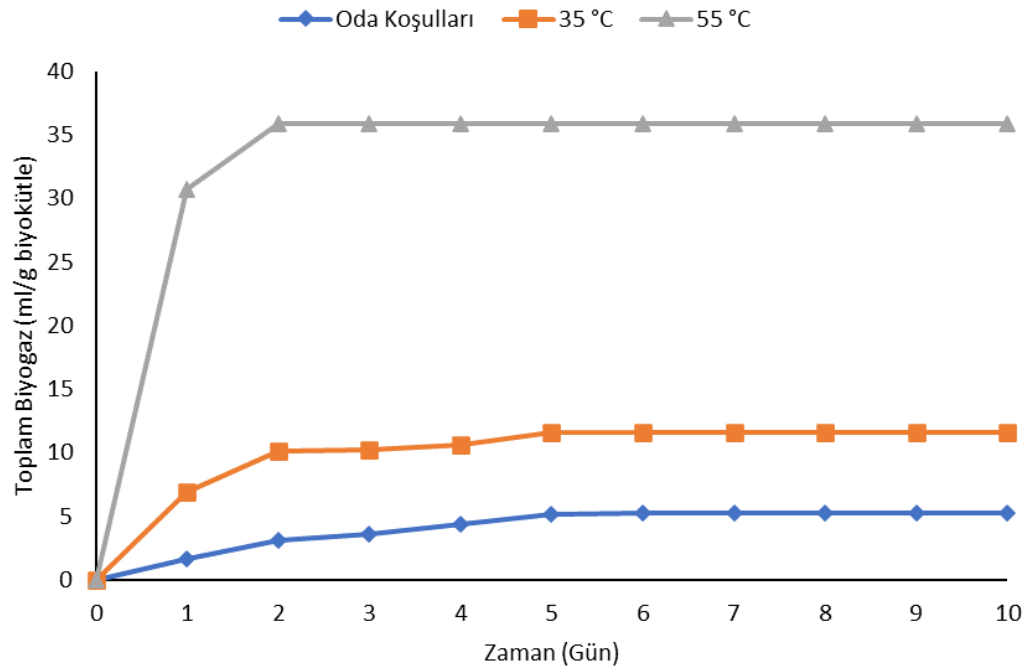
4.4.2.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi



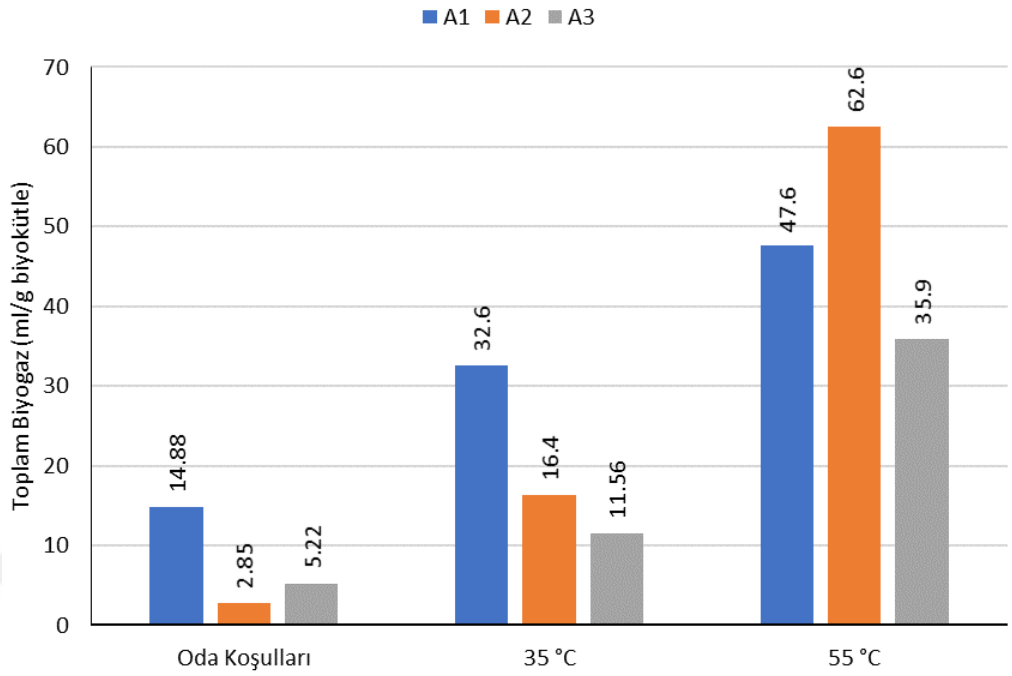
Şekil 4.45. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.46. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



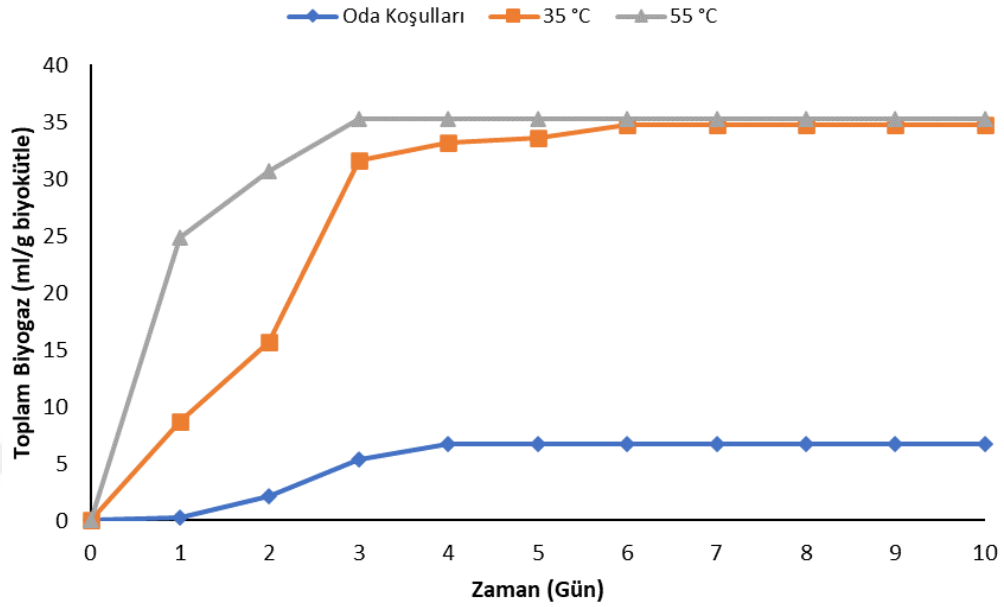
Şekil 4.47. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



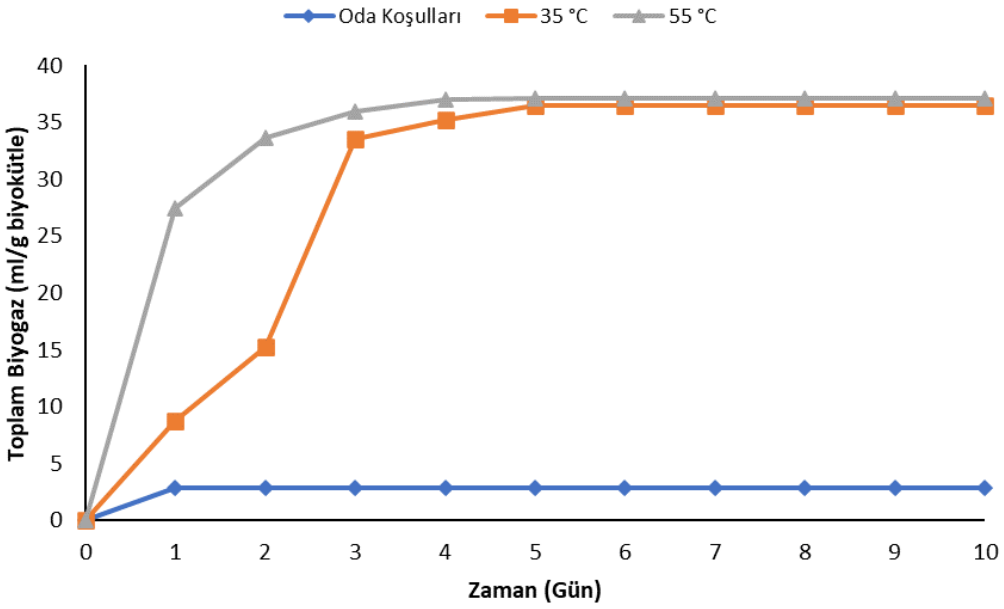
Şekil 4.48. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.45, 4.46 ve 4.47'ye bakıldığında her üç aşı için de 55 °C sıcaklıkta en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk atıkları için biyogaz üretiminde deney koşullarında 55 °C ve A2 aşısı kullanıldığında 62.6 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A1 ve A3 aşılarında da gaz veriminin düştüğü gözlenmiştir (Şekil 4.48). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında A1 aşısının düşük sıcaklıkta diğer iki aşıya göre daha etkin olduğu ancak sıcaklık arttıkça diğer iki aşının gaz verimine etkisinin arttığı görülmüştür. Genel olarak her üç aşı için sıcaklık artışını gaz verimlerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler pamuk atıkları açısından artan sıcaklıklarda aşıların etkisinin arttığı, aşı seçimi ve sıcaklığın gaz verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

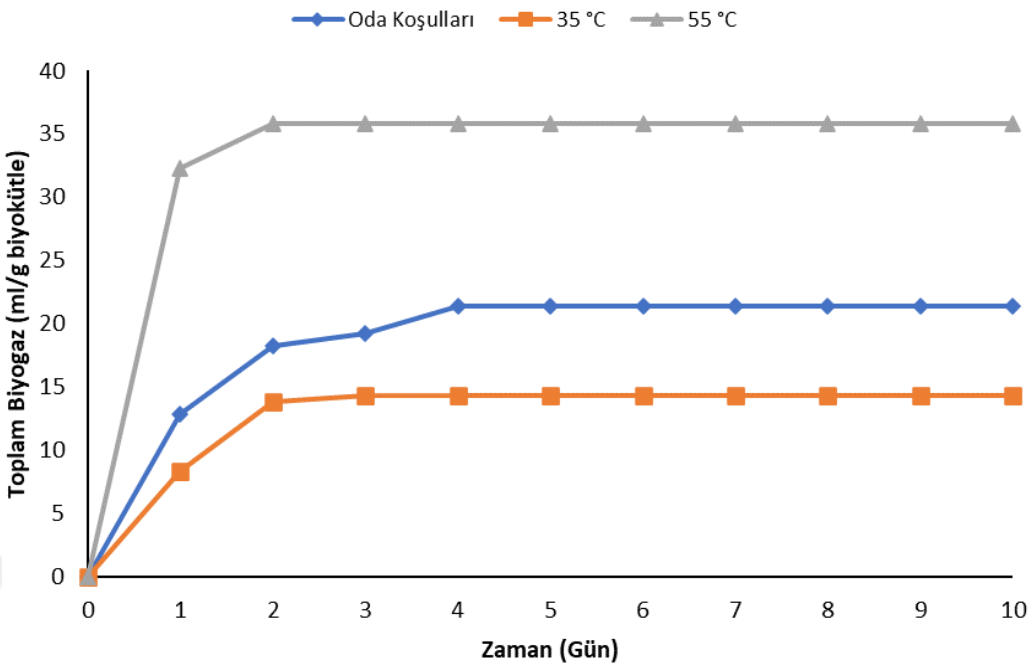
4.4.2.4. Nar kabuğu atıklarından biyogaz üretimine sıcaklığın etkisi



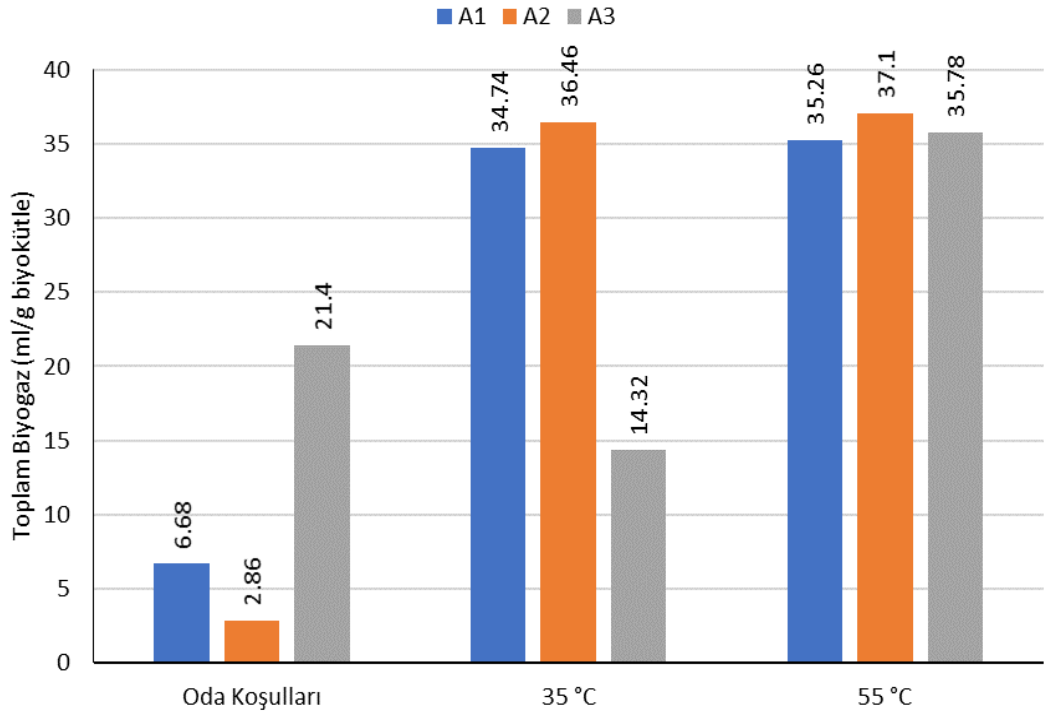
Şekil 4.49. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.50.Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



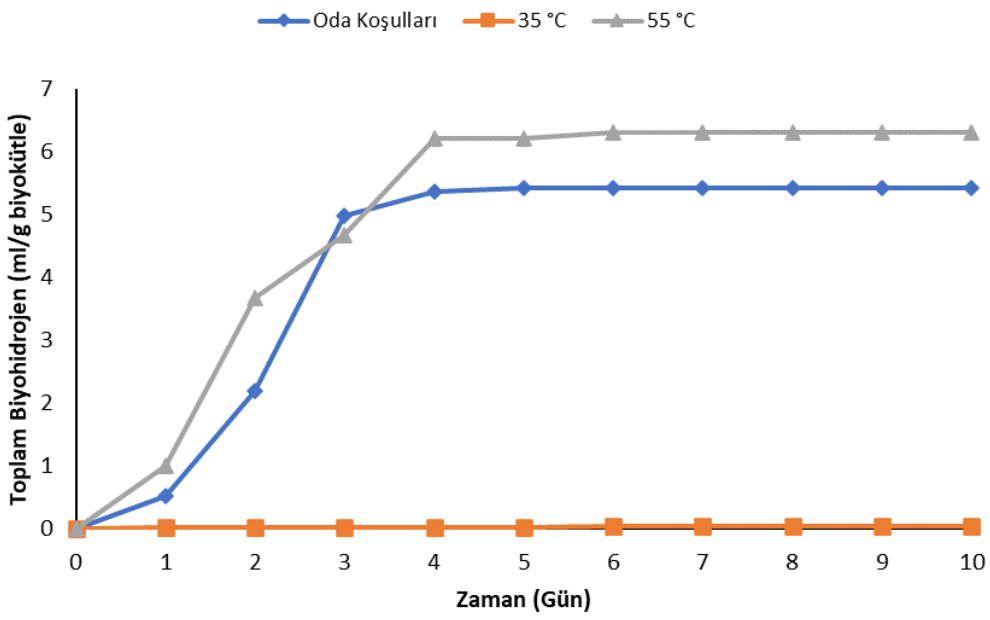
Şekil 4.51. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine sıcaklığın etkisi



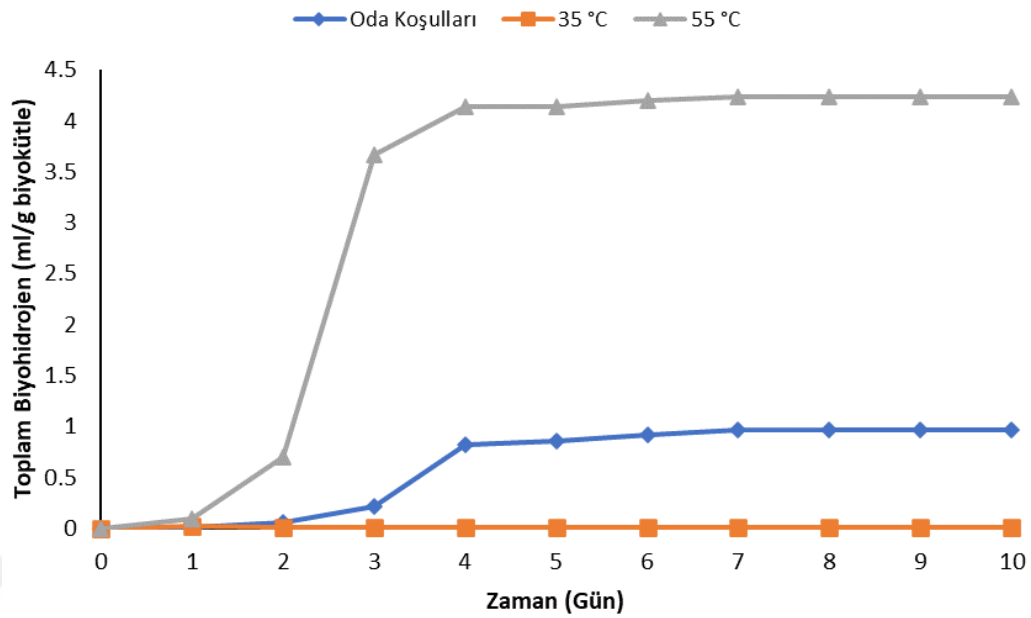
Şekil 4.52. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.49, 4.50 ve 4.51'e bakıldığında her üç aşı için de 55 °C sıcaklıkta en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında nar kabukları için biyogaz üretiminde deney koşullarında 55 °C ve A2 aşısı kullanıldığında 37.1 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A1 ve A3 aşılarında da bu verimin çok farklılık göstermediği görülmektedir (Şekil 4.52.). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında A3 aşısının düşük sıcaklıkta diğer iki aşıya göre daha etkin olduğu ancak sıcaklık arttıkça diğer iki aşının gaz verimine etkisinin arttığı görülmüştür. Genel olarak her üç aşı için sıcaklık artışını gaz verimlerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler nar kabukları açısından artan sıcaklıklarda aşıların etkisinin arttığı, aşı seçimi ve sıcaklığın gaz verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

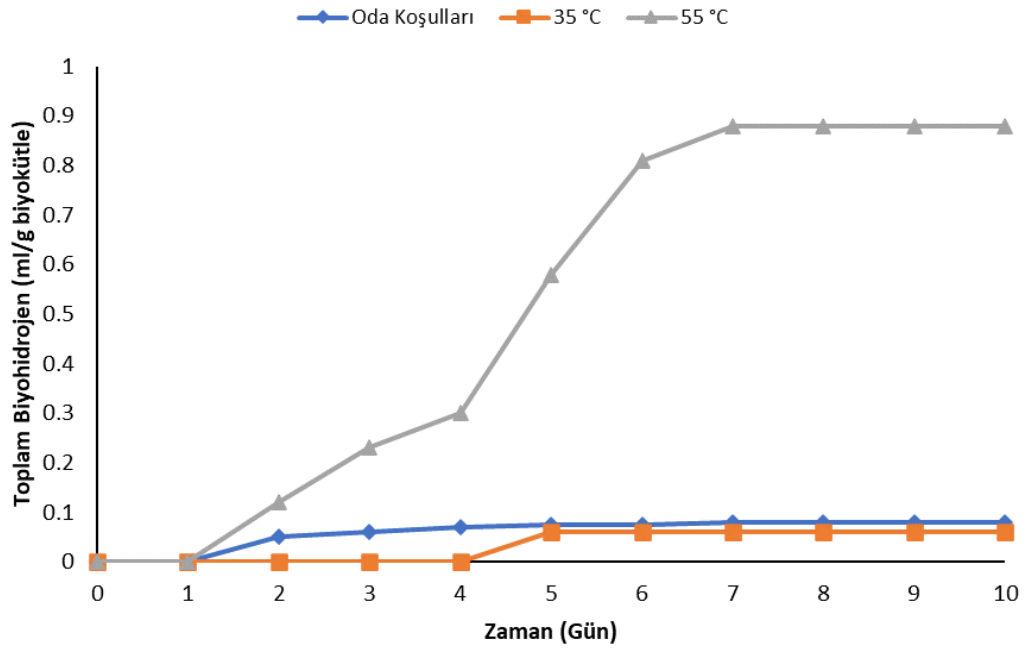
4.4.2.5. Pamuk küspesinden hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi



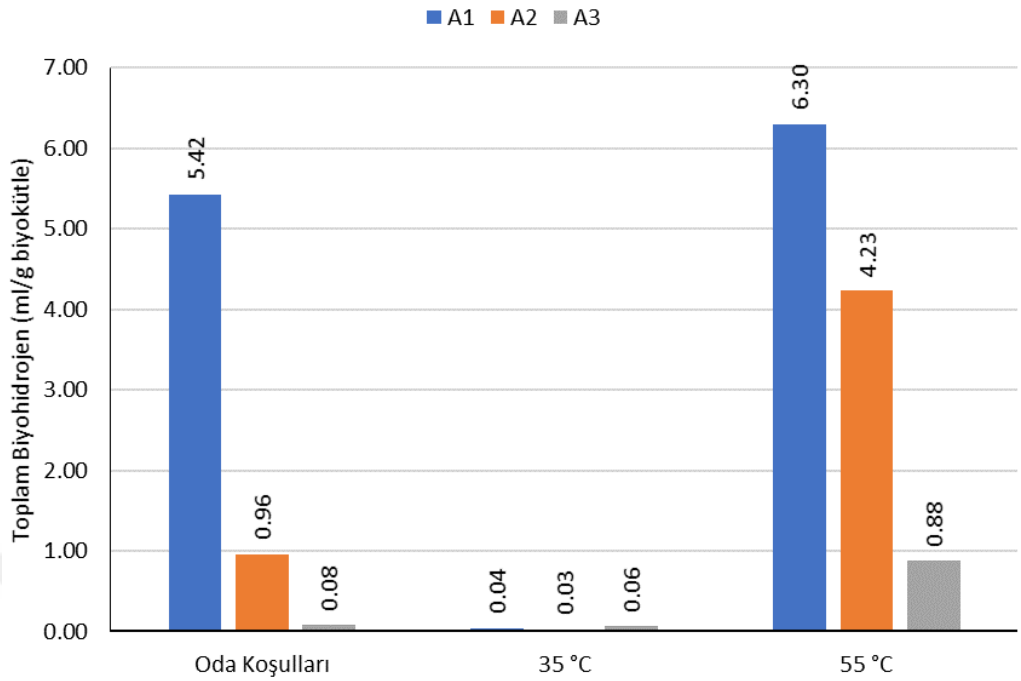
Şekil 4.53. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.54. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



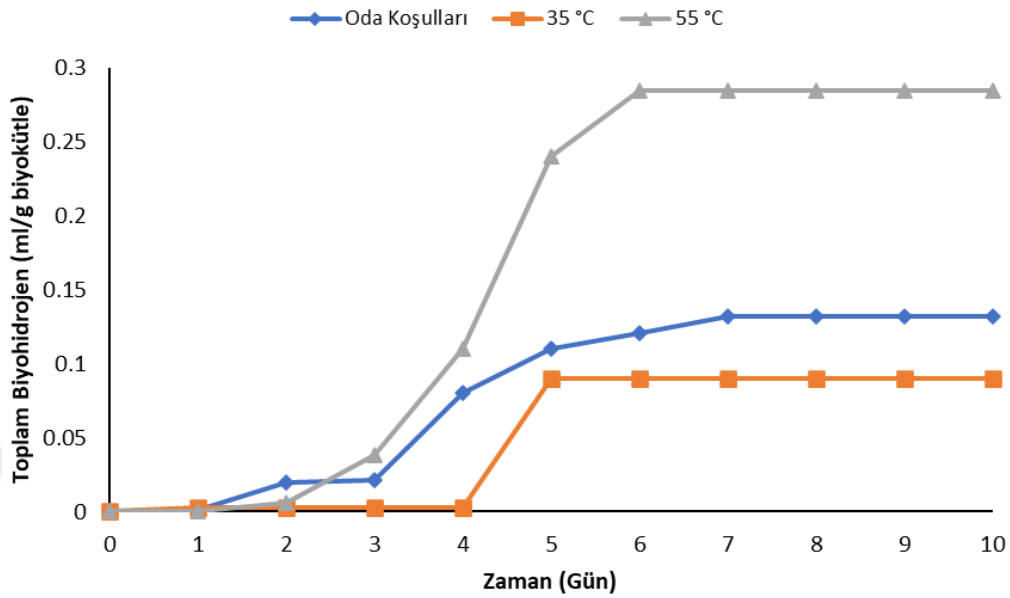
Şekil 4.55. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



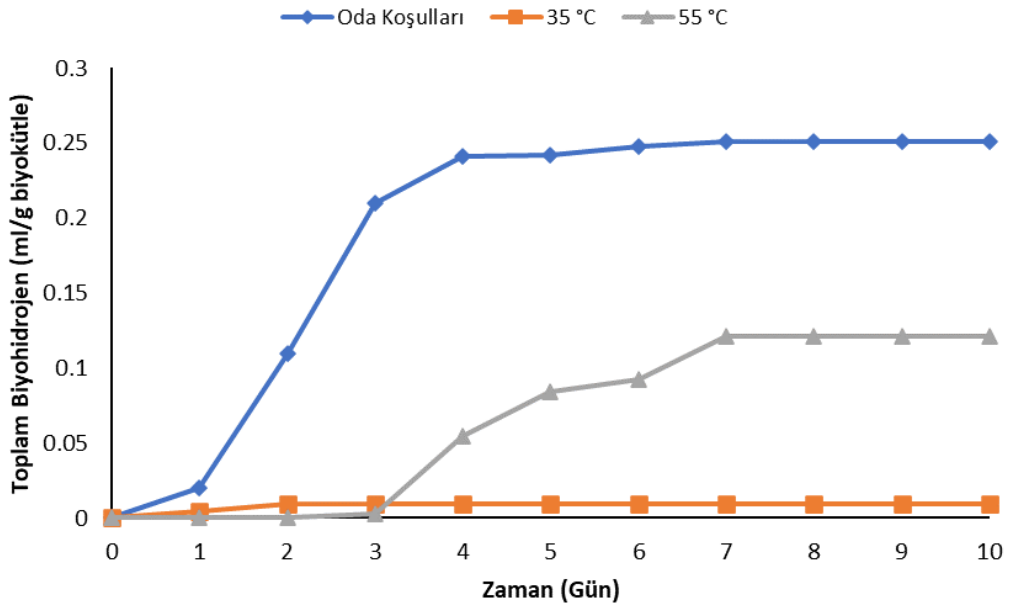
Şekil 4.56. Pamuk küspesinden hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.53, 4.54 ve 4.55'e bakıldığında her üç aşı için de 55 °C sıcaklıkta en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk küspesi için hidrojen üretiminde deney koşullarında 55 °C ve A1 aşısı kullanıldığında 6.3 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A2 ve A3 aşısı kullanıldığında ise bu değerin azaldığı görülmektedir (Şekil 4.56). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında A1 aşısı için her üç sıcaklıkta da verimin yüksek olduğu görülmüştür. Tüm aşılar için sıcaklık arttıkça gaz veriminin de arttığı grafikten anlaşılmaktadır. Bu durum pamuk küspesi açısından aşı seçiminin ve sıcaklığın hidrojen verimini etkileyen önemli faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

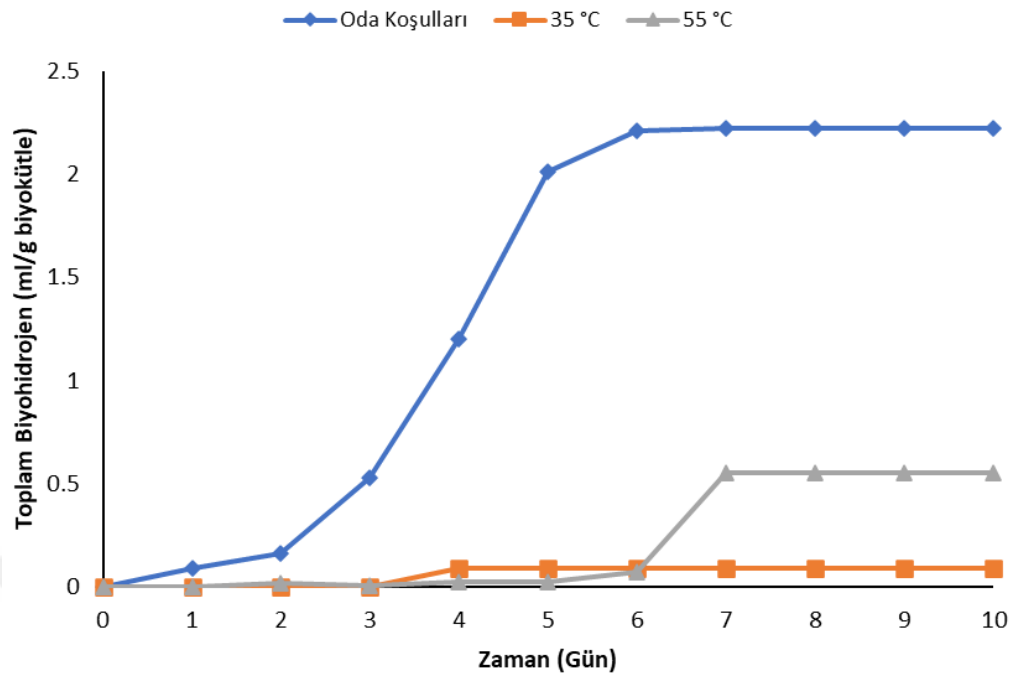
4.4.2.6. Fıstık küspesinden hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi



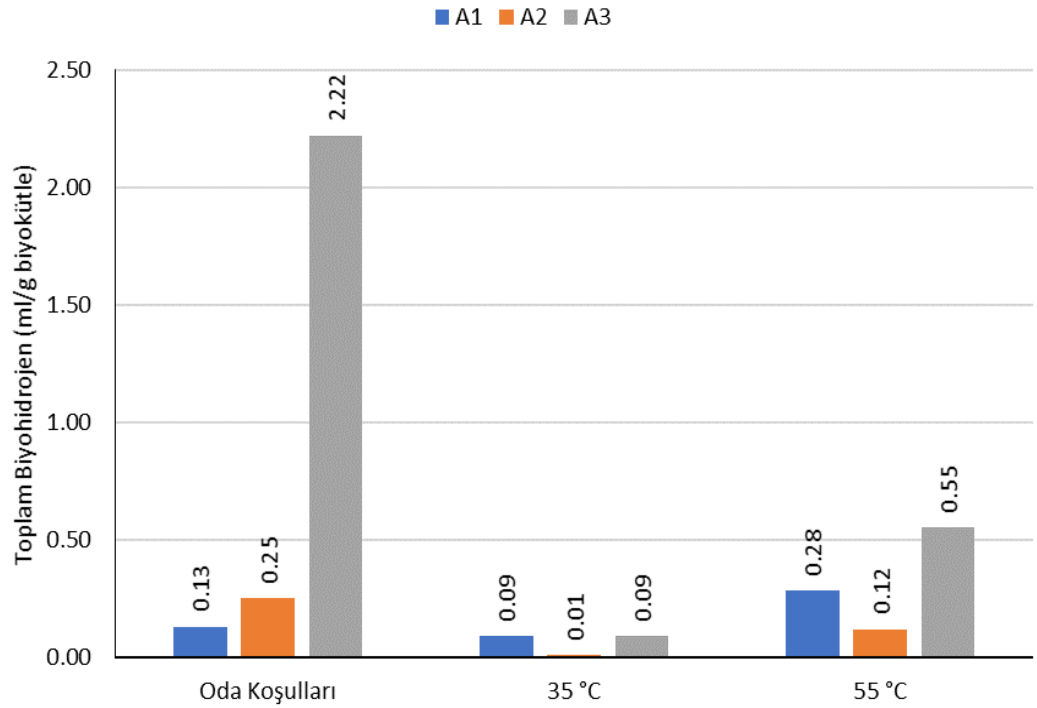
Şekil 4.57. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.58. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



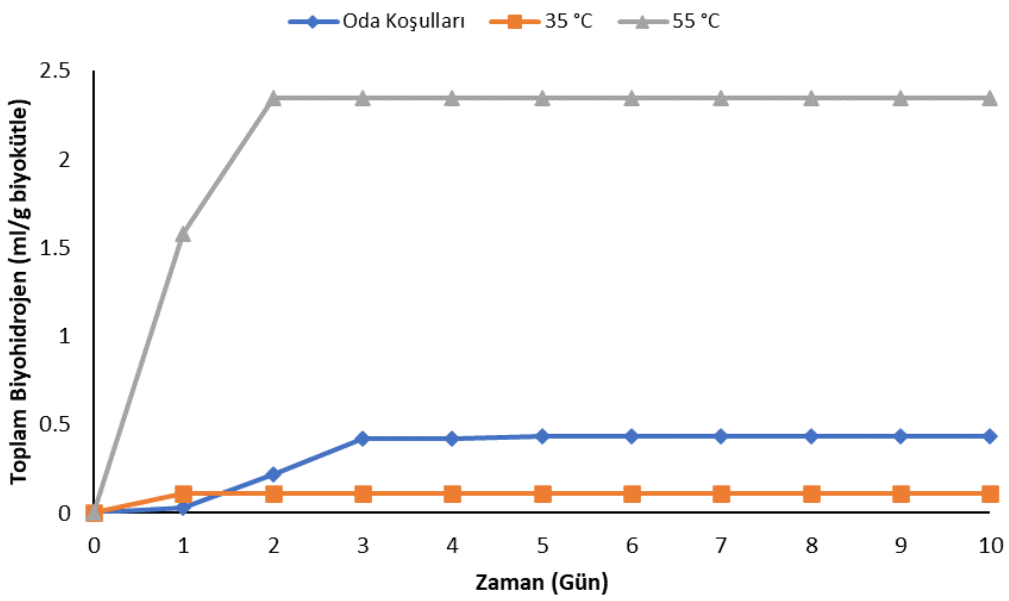
Şekil 4.59. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



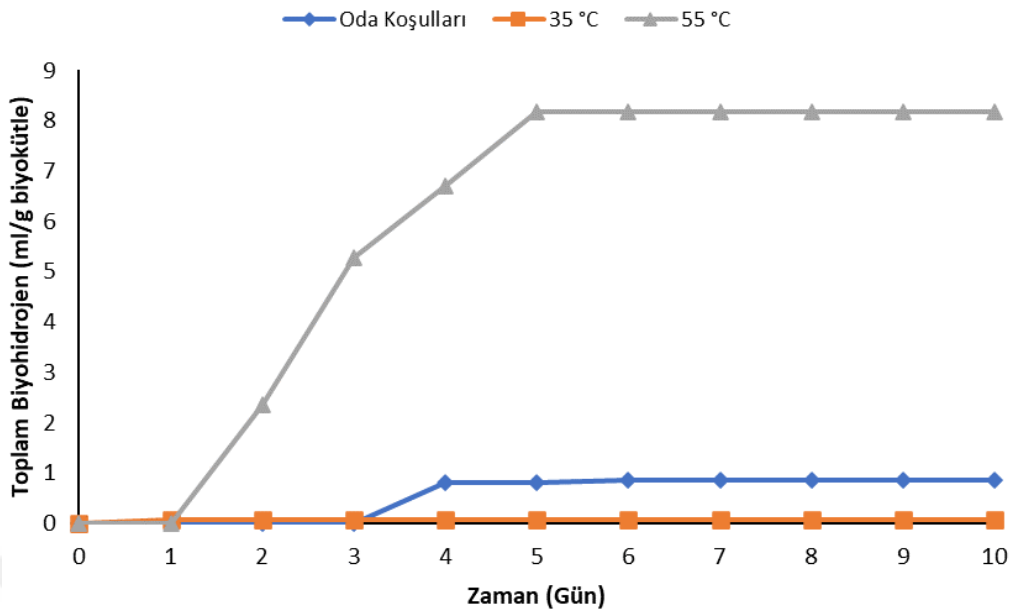
Şekil 4.60. Fıstık küspesinden hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.57, 4.58 ve 4.59'a bakıldığında her üç aşı için de mezofilik (oda koşulları) sıcaklıkta en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında fıstık küspesi için hidrojen üretiminde oda sıcaklığında ve A3 aşısı kullanıldığında 2.22 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A1 ve A2 aşılarında bu verimin çok düşük olduğu hesaplanmıştır (Şekil 4.60). Genel olarak her üç aşı için sıcaklık artışının gaz verimlerini azalttığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler fıstık küspesi açısından değişen sıcaklıklarda aşıların etkisinin değiştiği, aşı seçiminin ve sıcaklık etkisinin hidrojen verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

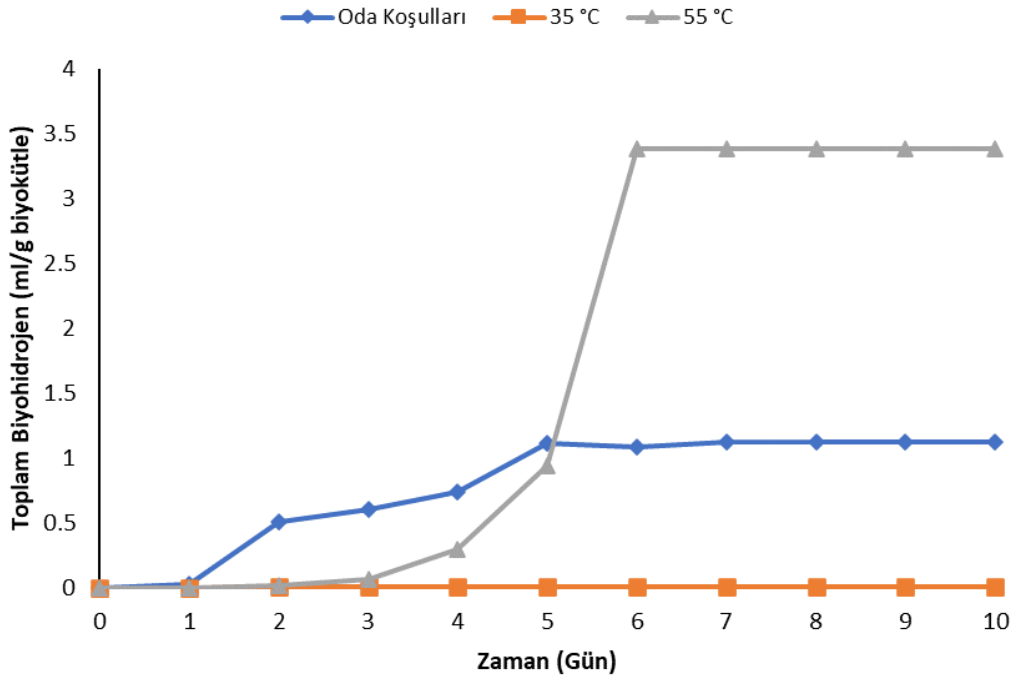
4.4.2.7. Pamuk atıklarından hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi



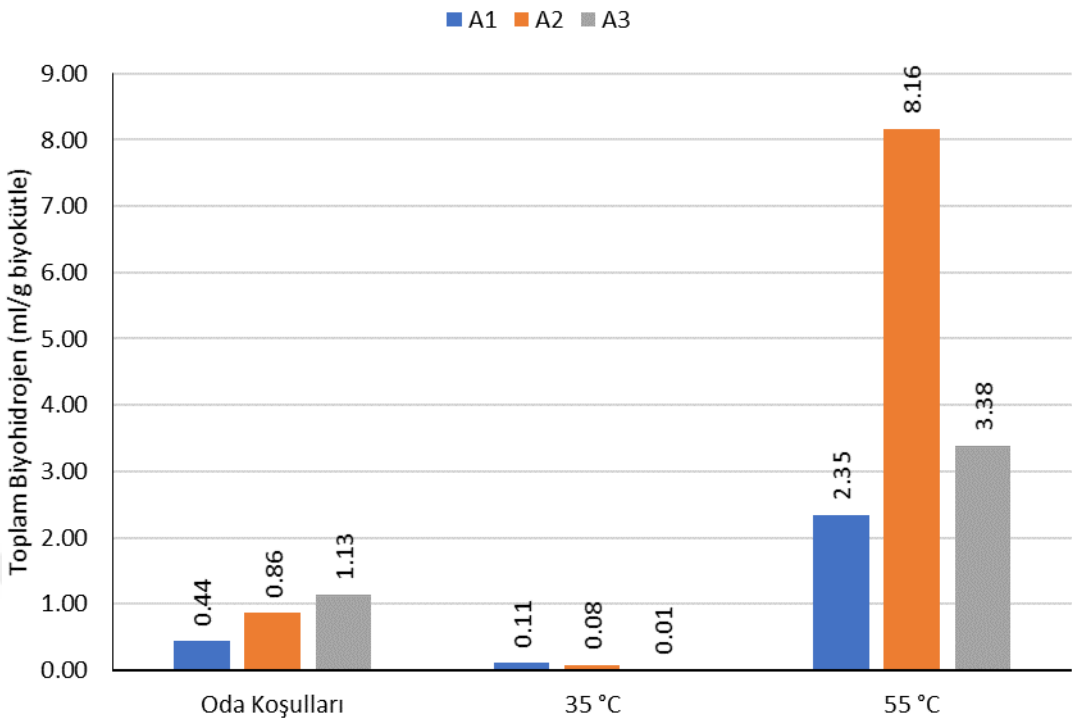
Şekil 4.61. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.62. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



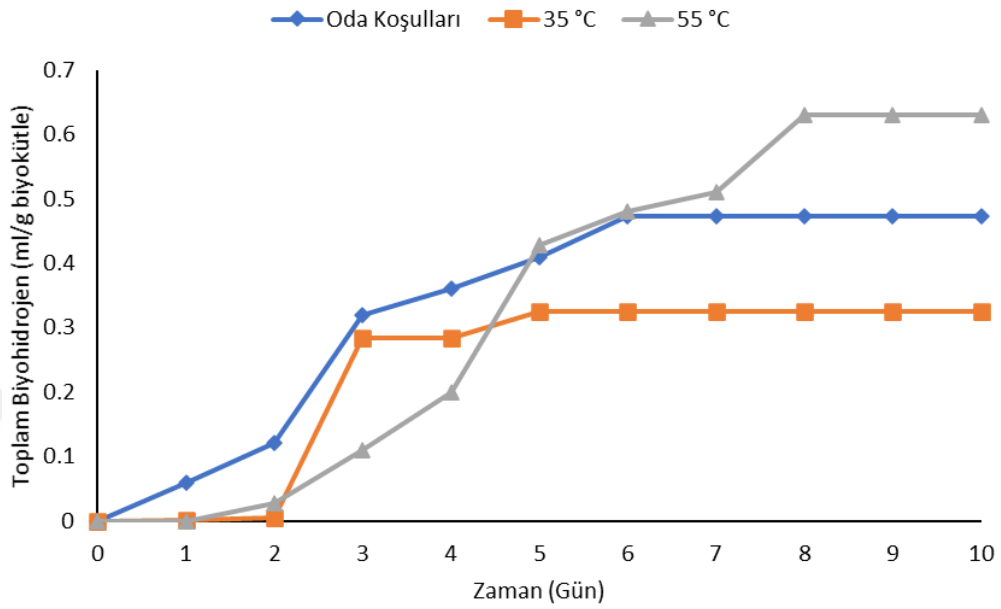
Şekil 4.63. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



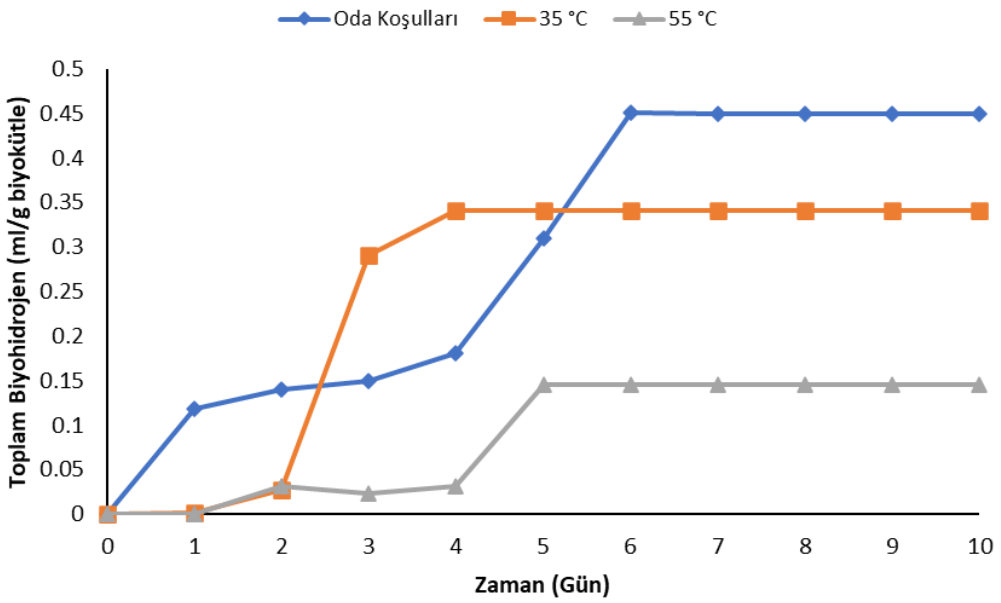
Şekil 4.64. Pamuk atıklarından hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.61, 4.62 ve 4.63'e bakıldığında her üç aşı için de 55 °C sıcaklıkta en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk atıkları için hidrojen üretiminde deney koşullarında 55 °C ve A2 aşısı kullanıldığında 8.16 ml verimle hidrojen veriminin en yüksek olduğu, A1 ve A3 aşılarında verimin düştüğü gözlenmiştir (Şekil 4.64). Genel olarak her üç aşı için sıcaklık artışını gaz verimlerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler pamuk atıkları açısından artan sıcaklıklarda aşıların etkisinin arttığı, aşı seçimi ve sıcaklığın hidrojen verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

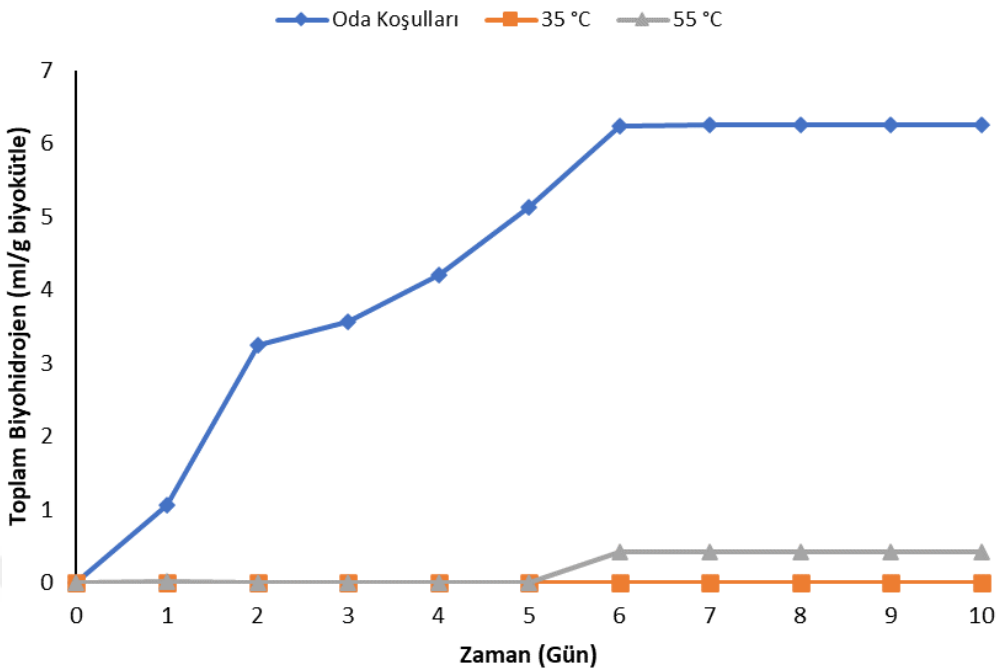
4.4.2.8. Nar kabuğu atıklarından hidrojen üretimine sıcaklığın etkisi



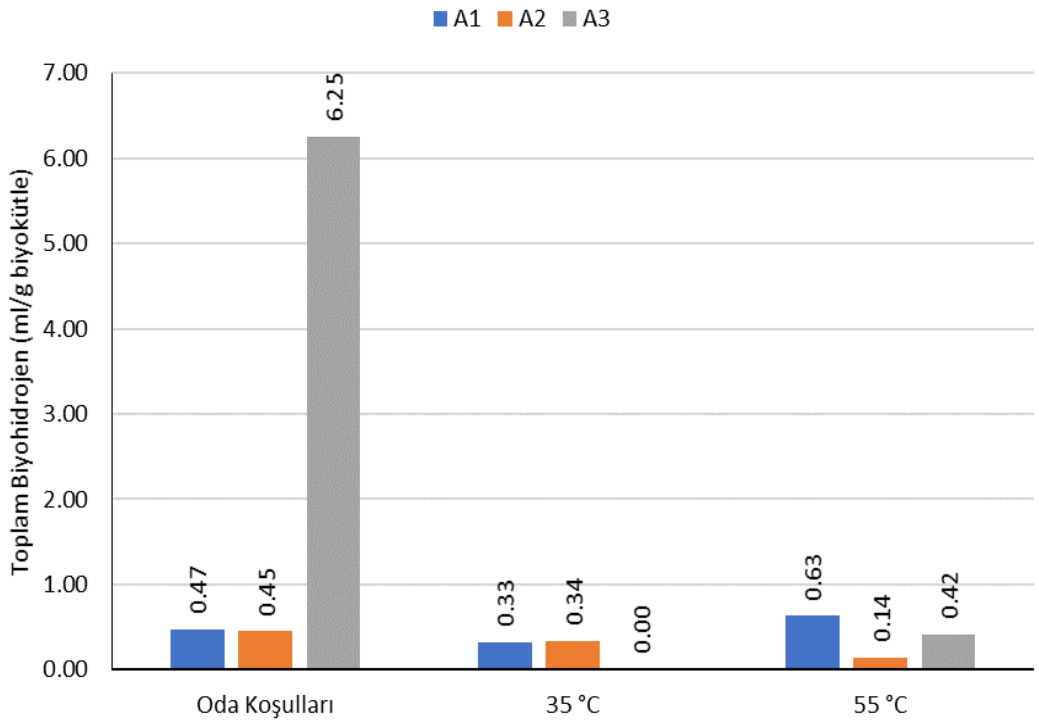
Şekil 4.65. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.66. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.67. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine sıcaklığın etkisi



Şekil 4.68. Nar kabuklarından hidrojen eldesinde farklı sıcaklıklarda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

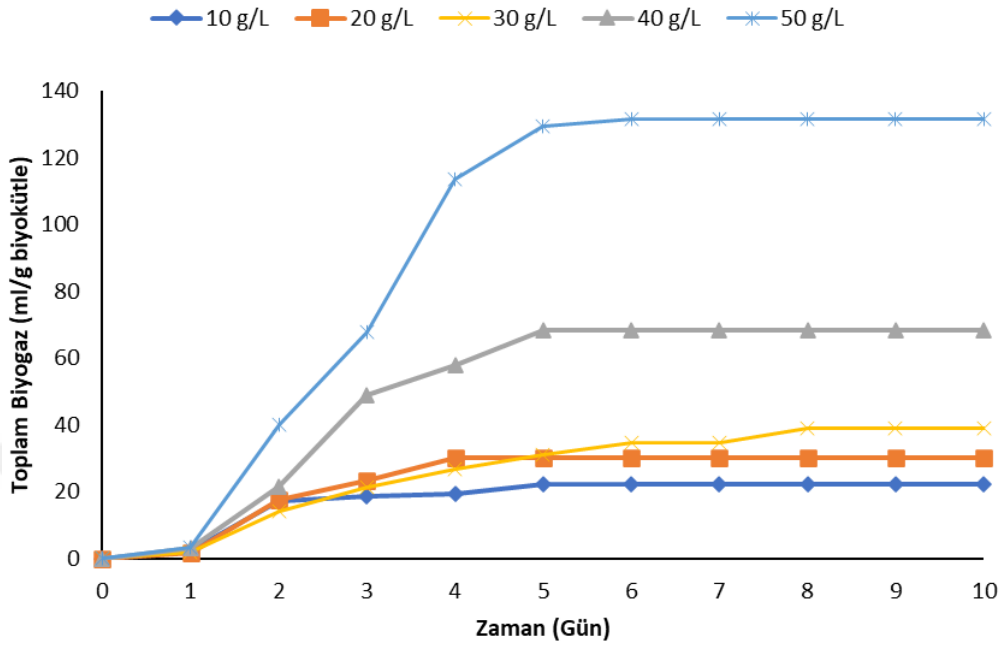
Şekil 4.65, 4.66 ve 4.67'ye bakıldığında her üç aşı için de oda koşullarında en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında nar kabukları için hidrojen üretiminde oda koşullarında ve A3 aşısı kullanıldığında 6.25 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A1 ve A2 aşılarında bu verimin çok farklılık gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.68). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında A3 aşısının düşük sıcaklıkta diğer iki aşıya göre daha etkin olduğu ancak sıcaklık arttıkça bu aşının gaz verimine etkisinin azaldığı görülmüştür. Genel olarak sıcaklık değişiminden A3 aşısı kullanıldığında verimin değişkenlik gösterdiği diğer iki aşı açısından çok farklılık göstermediği anlaşılmıştır. Elde edilen veriler nar kabuklarından hidrojen üretiminde aşı seçimi ve sıcaklığın önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

Wan ve ark. (2016) kanalizasyon çamurunun termofilik (55 °C) ve mezofilik (37 °C) fermentasyonundan elde edilen hidrojen verimini karşılaştırmış ve 55 °C'de elde edilen hidrojen veriminin 37 °C'de elde edilenden 3,17 kat daha yüksek olduğunu bulmuştur. Lin ve ark. (2012) ayrıca 55 °C'de elde edilen kümülatif hidrojen üretiminin 37 °C'de elde edilenden 1.42 kat ve 45 °C'de elde edilenden %20.4 daha yüksek olduğunu gözlemledi. Bunun nedeni, termofilik koşulun hidrojen üreten bakterilerin ve hidrojenazın büyüme hızını artırabilmesi olabilir (Wang ve Yin, 2017c).

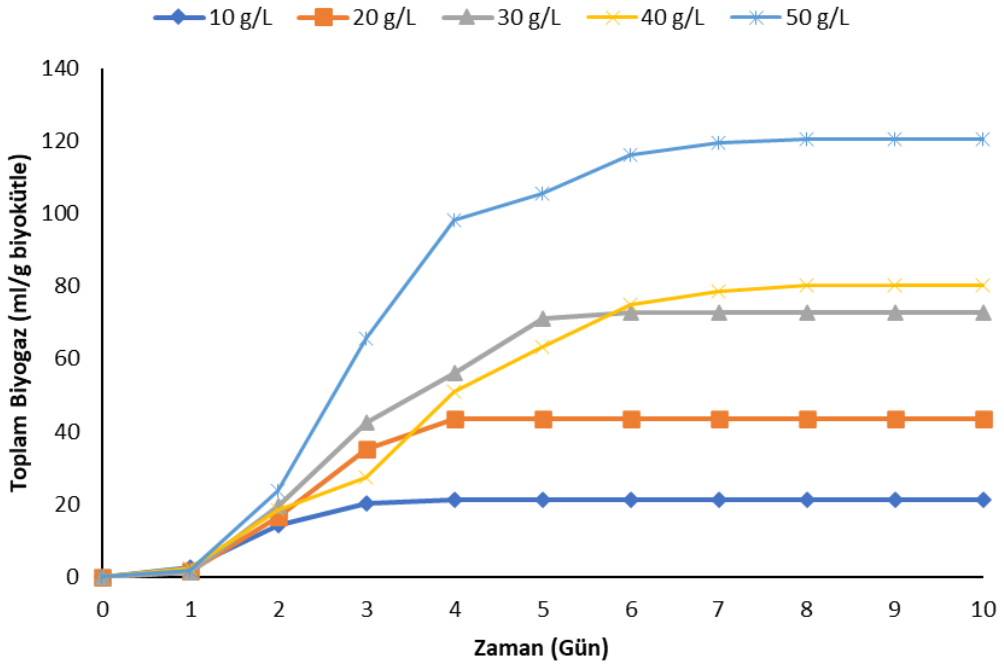
4.4.3. Biyokütle konsantrasyonunun etkisi

Biyokütle kaynaklarının fermantasyonu 10 g substrat/L, 20 g substrat/L, 30 g substrat/L, 40 g substrat/L ve 50 g substrat/L olmak üzere beş farklı biyokütle konsantrasyonunda gerçekleştirilmiştir. Deneylerde A1, A2 ve A3 karışık kültür aşılar kullanılmıştır. Deneylerde pamuk küspesi, fıstık küspesi, pamuk atıkları ve nar kabuklarından elde edilen toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarları aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.

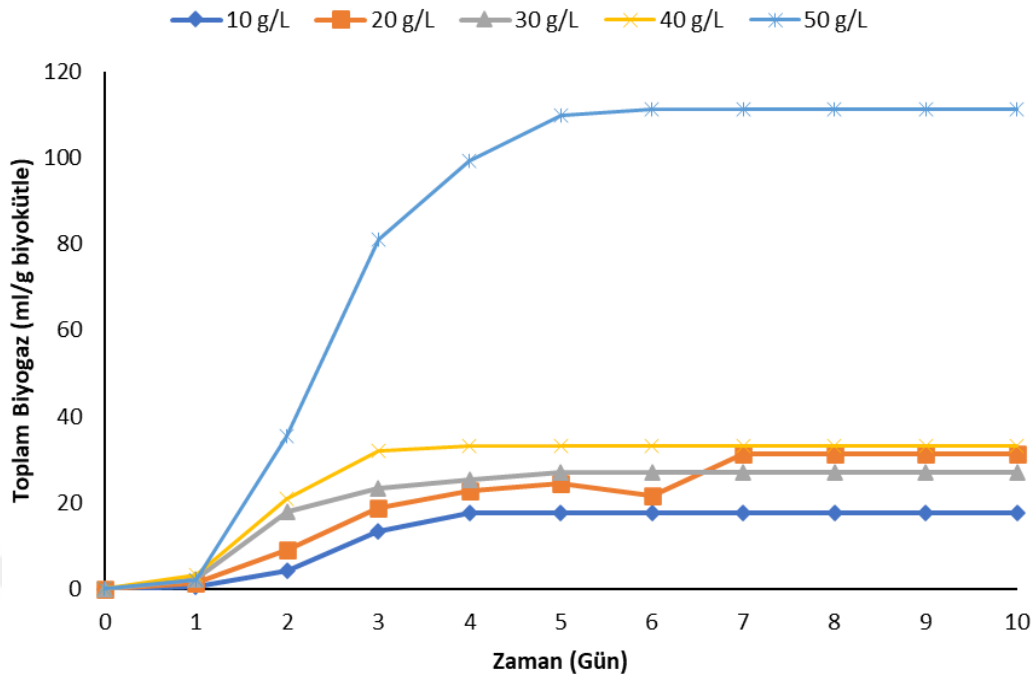
4.4.3.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



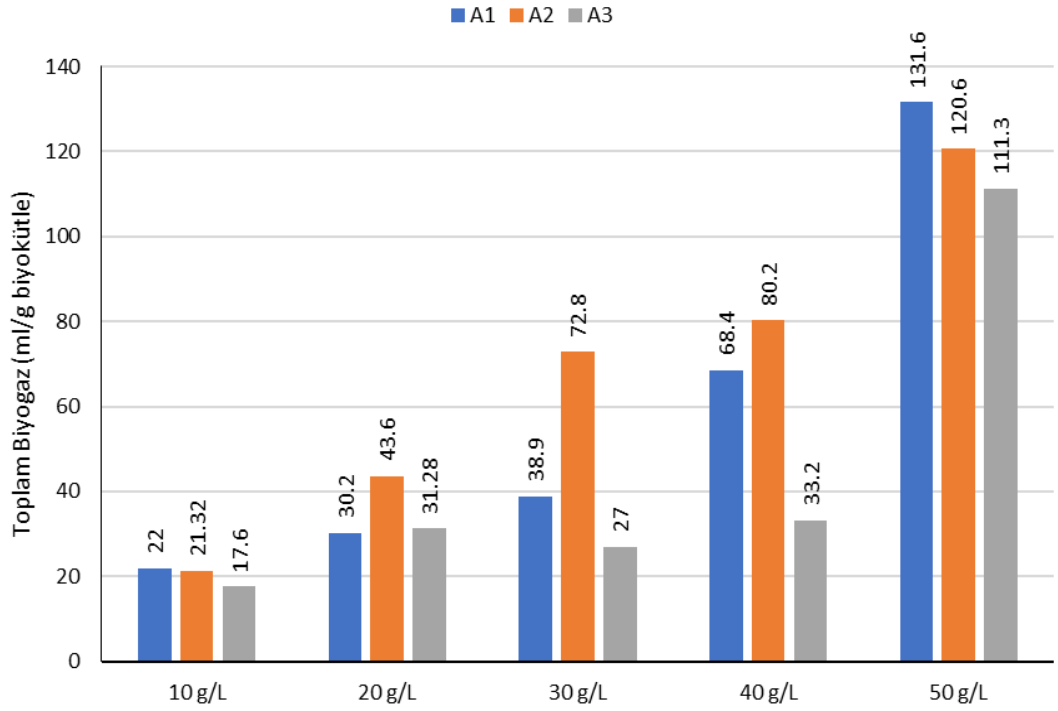
Şekil 4.69. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.70. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



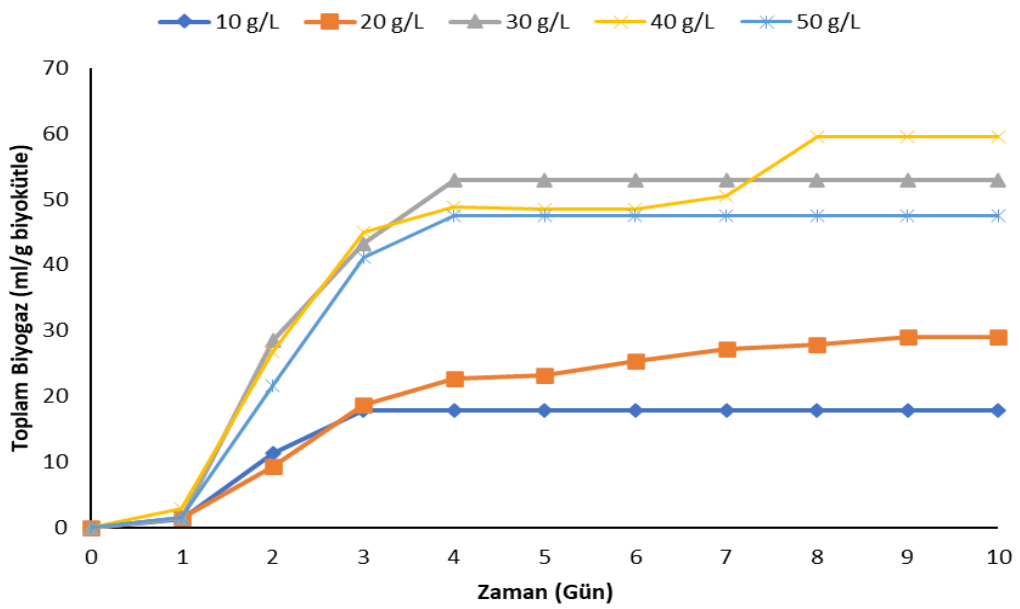
Şekil 4.71. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



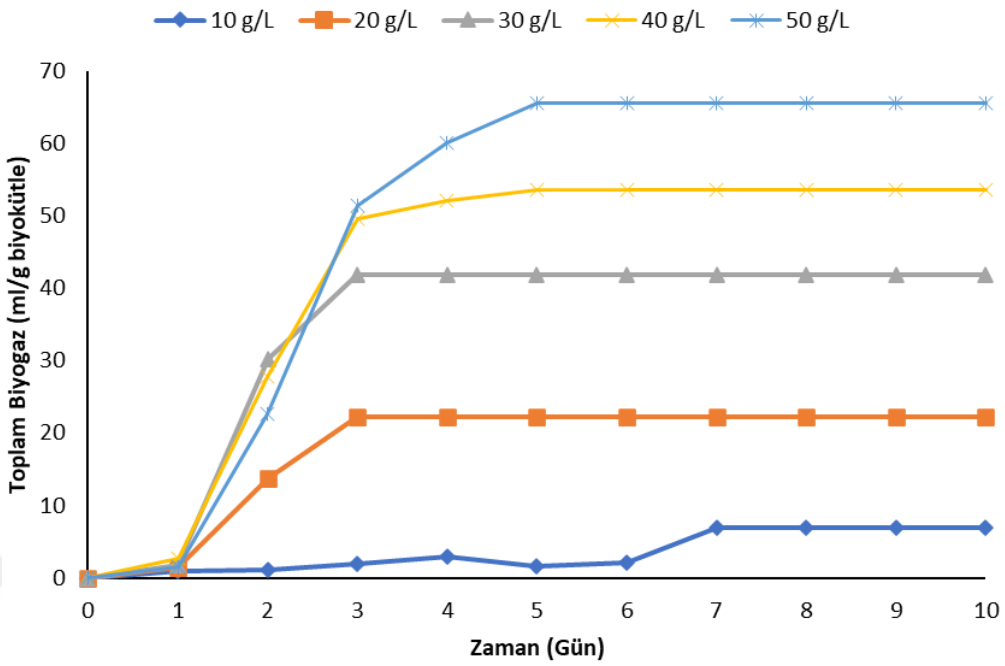
Şekil 4.72. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.69, 4.70 ve 4.71'e bakıldığında her üç aşı için de 50 g substrat/L değerinde en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk küspesi için biyogaz üretiminde deney koşullarında biyokütle konsantrasyonu 50 g substrat/L olduğunda ve A1 aşısı kullanıldığında 131.6 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A2 ve A3 aşıları kullanıldığında bu değerin bir miktar azaldığı görülmektedir (Şekil 4.72). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında biyokütle konsantrasyonu arttıkça gaz veriminin de arttığı görülmüştür. Bu durum pamuk küspesi açısından aşı seçiminin ve biyokütle konsantrasyonunun biyogaz verimini etkileyen önemli faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

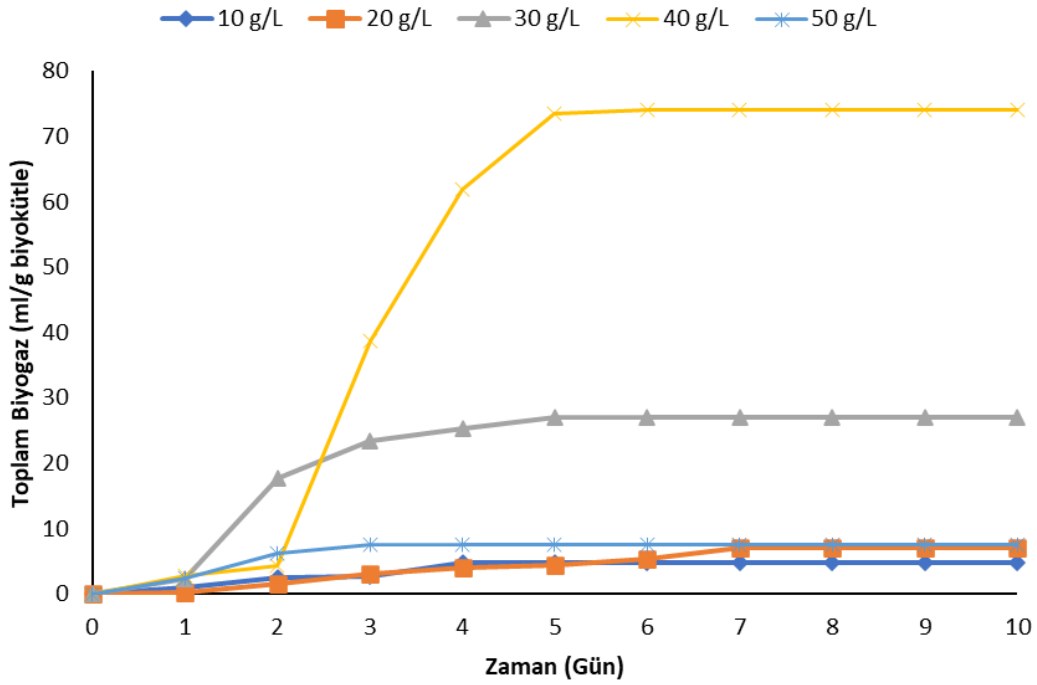
4.4.3.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



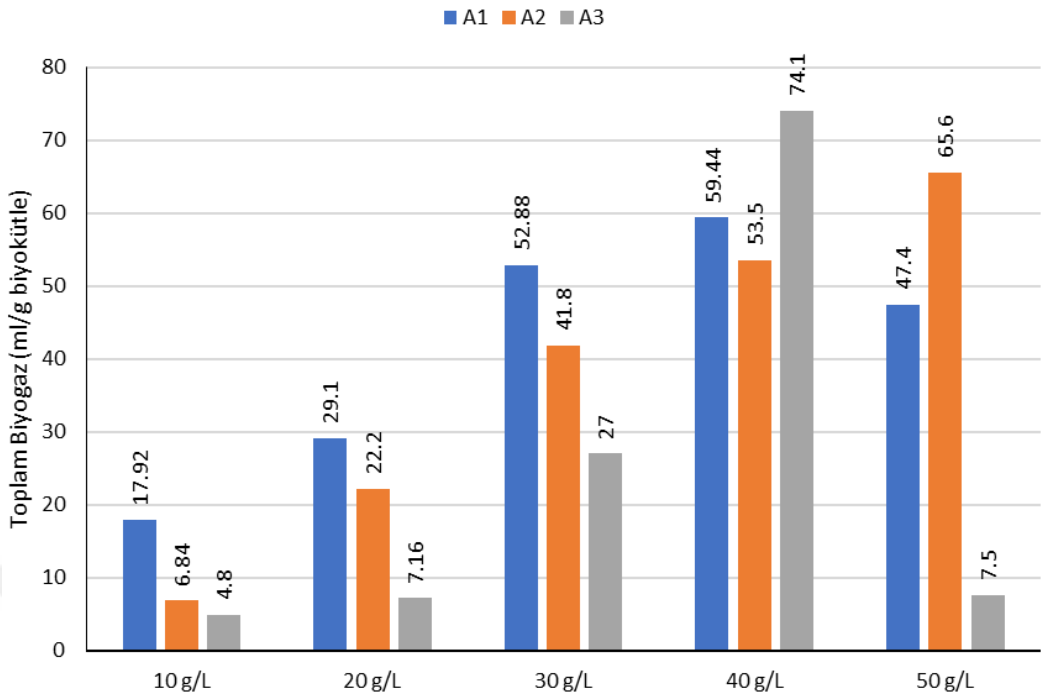
Şekil 4.73. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.74.Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



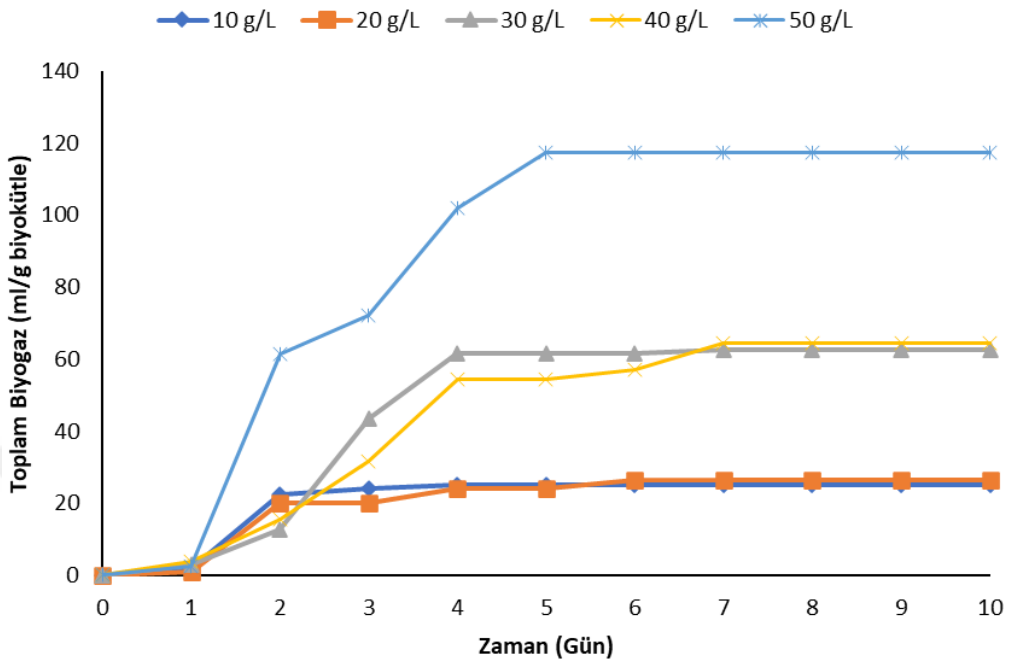
Şekil 4.75. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



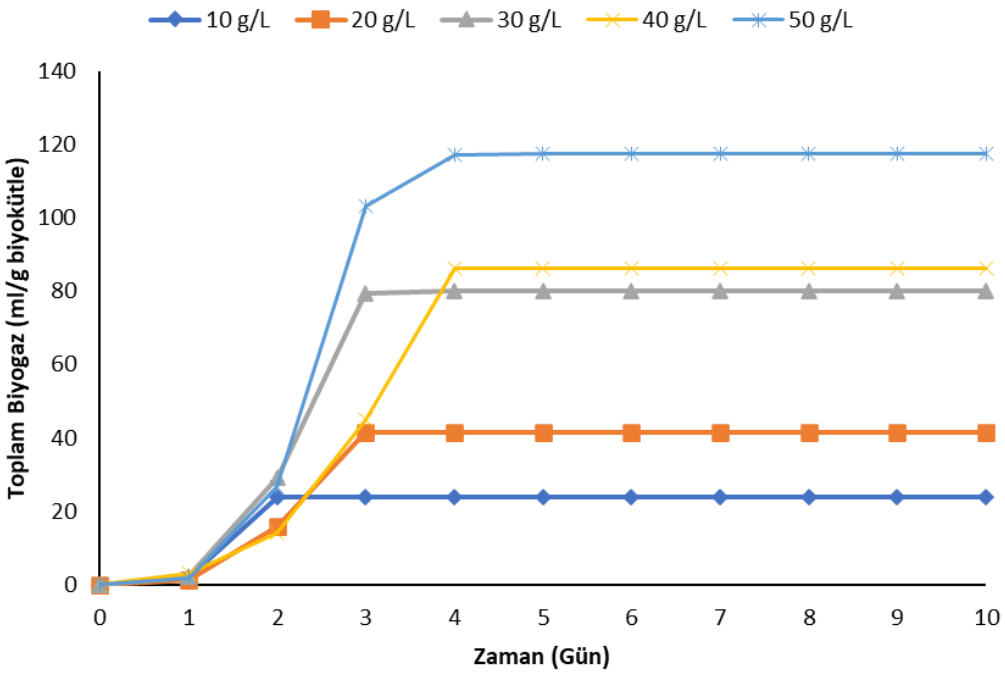
Şekil 4.76. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.73, 4.74 ve 4.75'e bakıldığında A1 ve A3 aşıları kullanıldığında 40 g substrat/L biyokütle konsantrasyona kadar gaz veriminin arttığı ancak sonraki aşamada verimin düştüğü görülmektedir. A2 aşısı kullanıldığında ise artan biyokütle konsantrasyonlarıyla doğru orantılı olarak gaz veriminin de arttığı görülmektedir. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında fıstık küspesi için biyogaz üretiminde deney koşullarında 40 g subsrat/L biyokütle konsantrasyonunda ve A3 aşısı kullanıldığında 74.1 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A1 ve A2 aşılarında bu verimin düştüğü belirlenmiştir (Şekil 4.76). Elde edilen veriler fıstık küspesi açısından artan biyokütle konsantrasyonlarında genellikle aşıların etkisinin arttığı, aşı seçiminin ve biyokütle konsantrasyonunun gaz verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

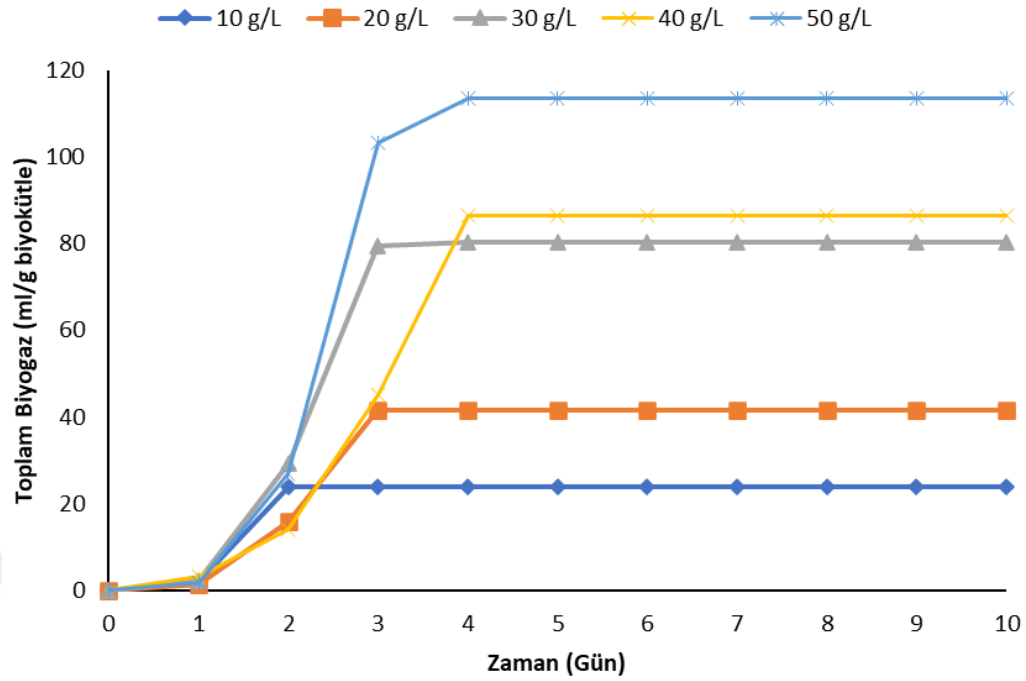
4.4.3.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



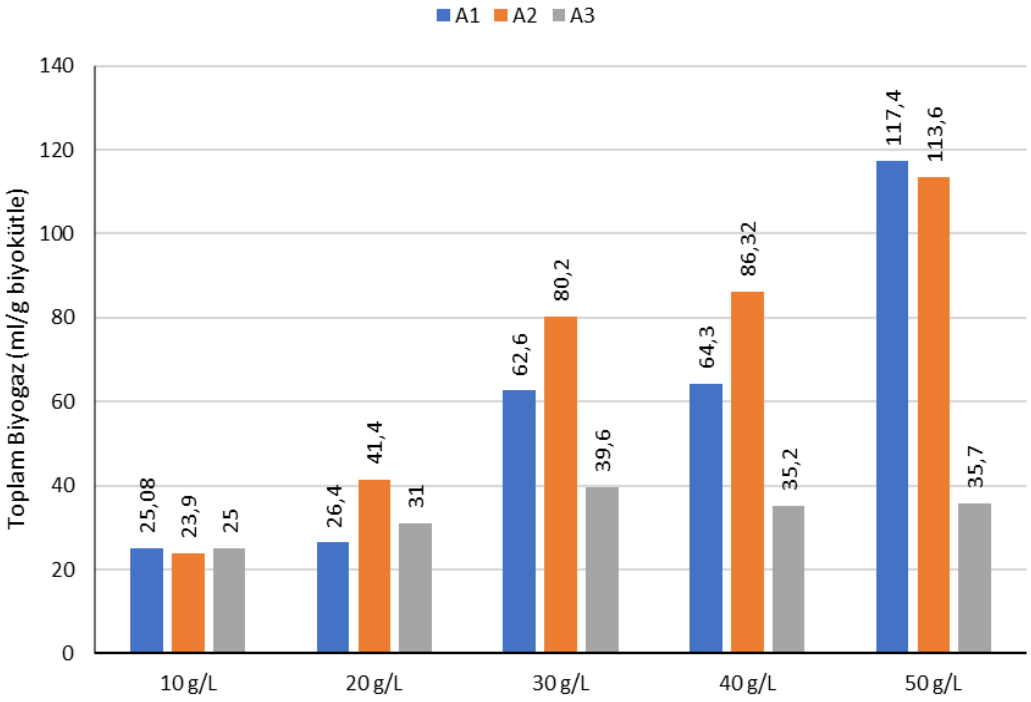
Şekil 4.77. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.78. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



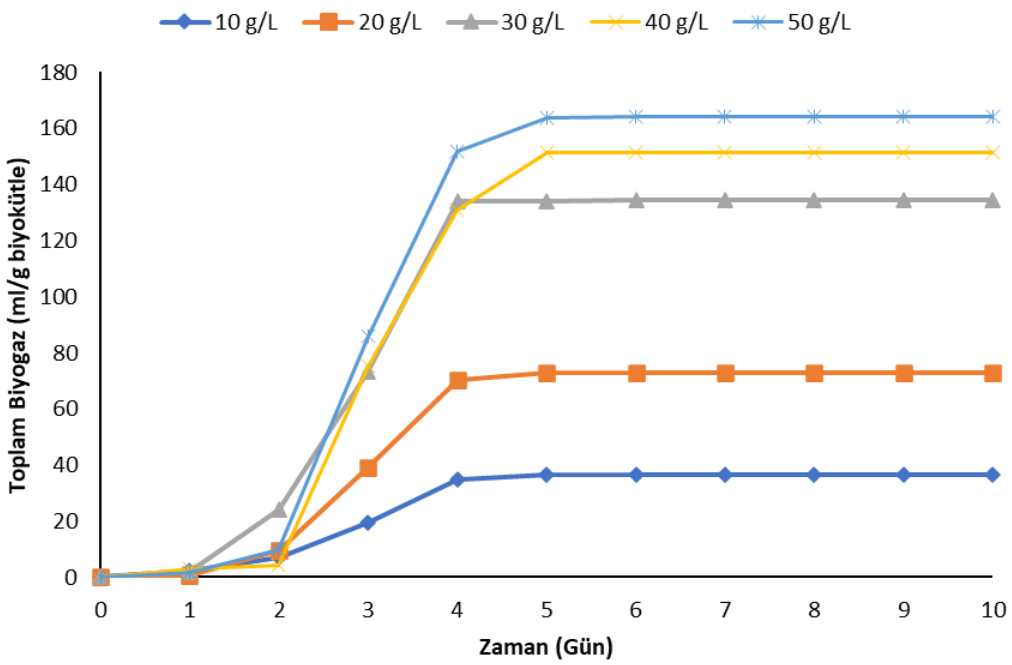
Şekil 4.79. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



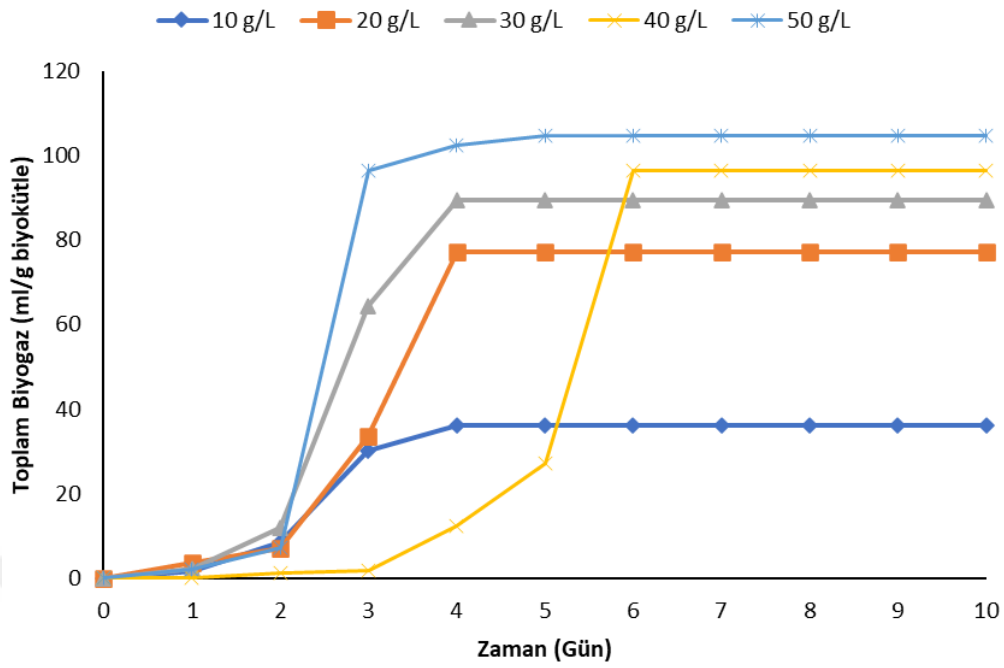
Şekil 4.80. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.77, 4.78 ve 4.79'a bakıldığında A1 ve A2 aşıları kullanıldığında biyokütle konsantrasyonunun gaz verimine önemli derecede etki ettiği saptanmıştır. A3 aşısı kullanıldığında ise biyokütle konsantrasyonunun gaz verimini çok etkilemediği görülmüştür. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk atıkları için biyogaz üretiminde deney koşullarında biyokütle konsantrasyonunun 50 g substrat/L değerinde ve A1 aşısı kullanıldığında 117.4 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A2 aşısı kullanıldığında ise bu değere çok yakın bir değer olan 113.6 ml olarak ölçülmüştür (Şekil 4.80). Elde edilen veriler pamuk atıkları açısından artan biyokütle konsantrasyonlarında aşıların etkisinin arttığı, aşı seçimi ve biyokütle konsantrasyonunun gaz verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

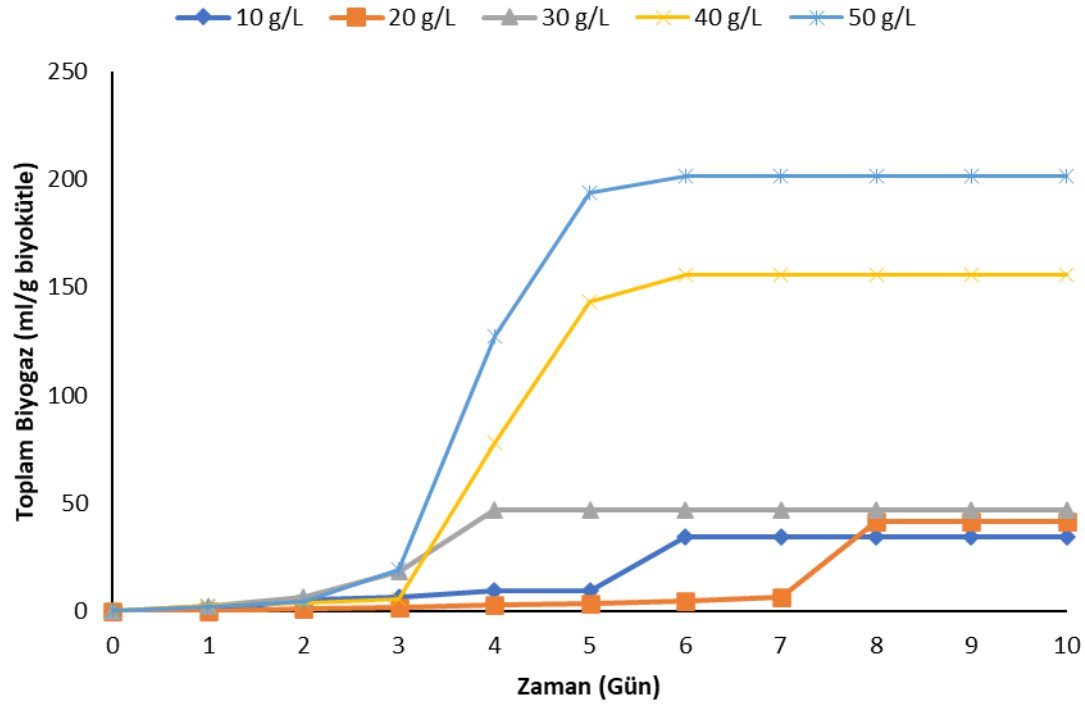
4.4.3.4. Nar kabuğu atıklarından biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



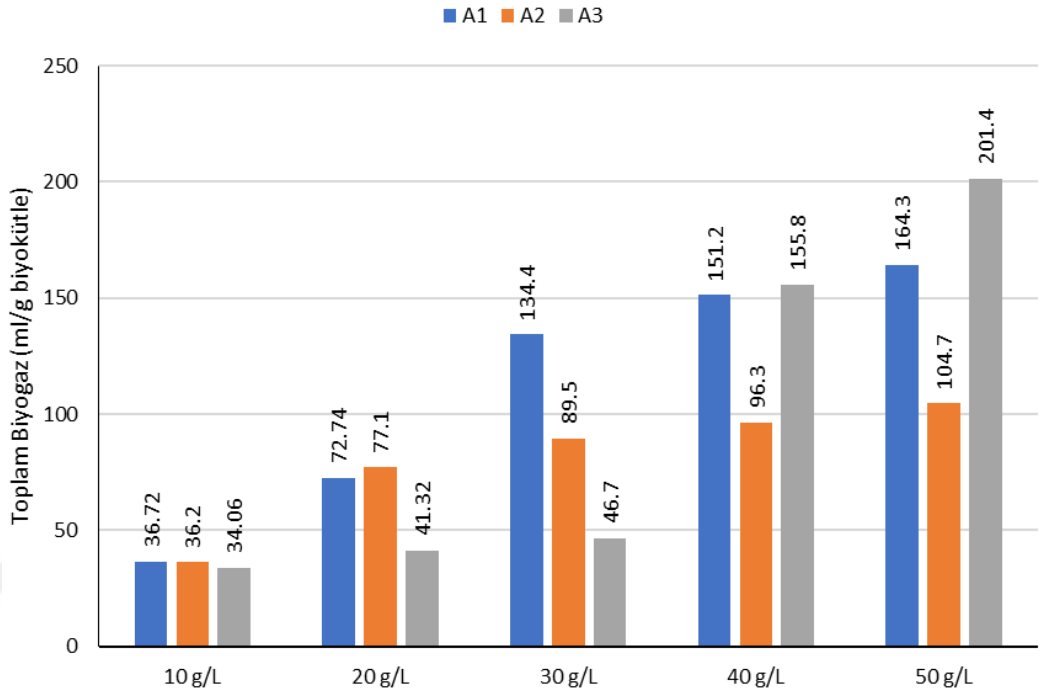
Şekil 4.81. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.82. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



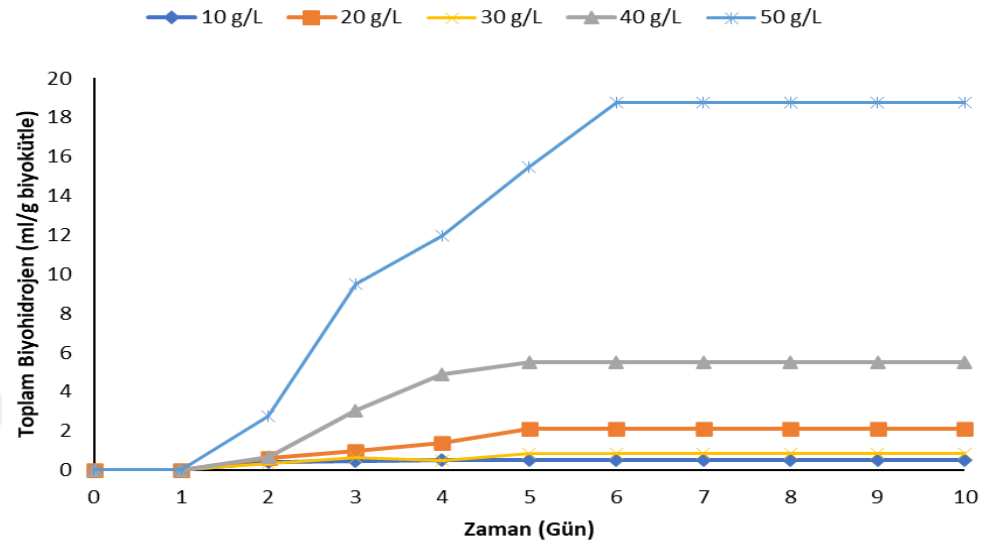
Şekil 4.83. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



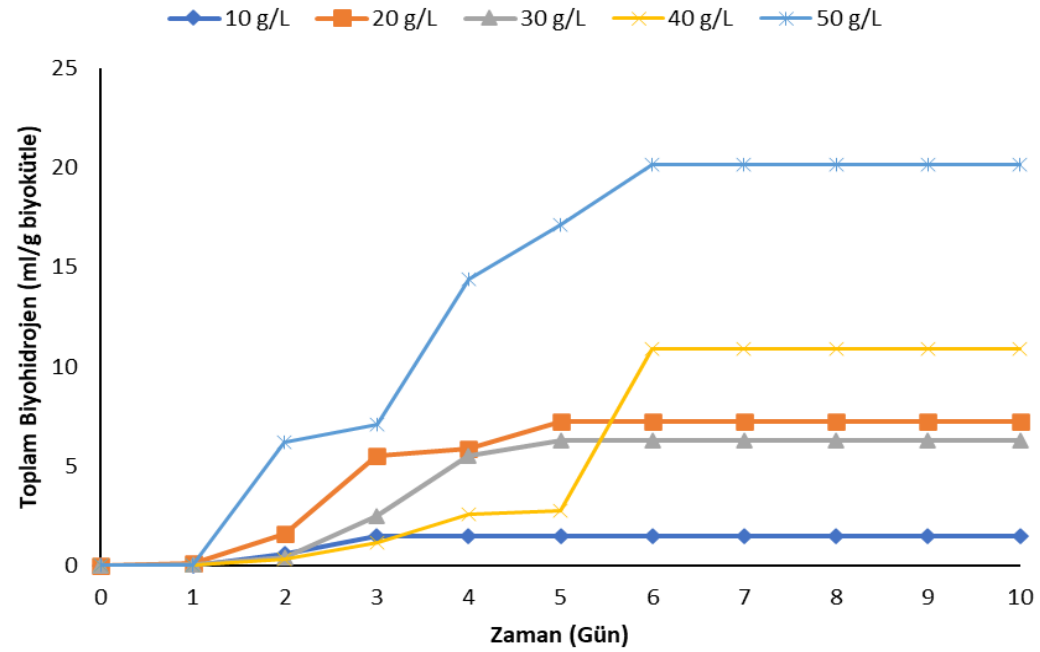
Şekil 4.84. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.81, 4.82 ve 4.83'e bakıldığında her üç aşı için 50 g substrat/L biyokütle konsantrasyonunda en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında nar kabukları için biyogaz üretiminde deney koşullarında biyokütle konsantrasyonu 50 g substrat/L iken ve A3 aşısı kullanıldığında 201.4 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu; A1 aşısı kullanıldığında gaz verimi 164.3 ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.84). Genel olarak her üç aşı için biyokütle konsantrasyonu artışının gaz verimlerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler nar kabukları açısından biyokütle konsantrasyonunun ve aşı seçiminin gaz verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

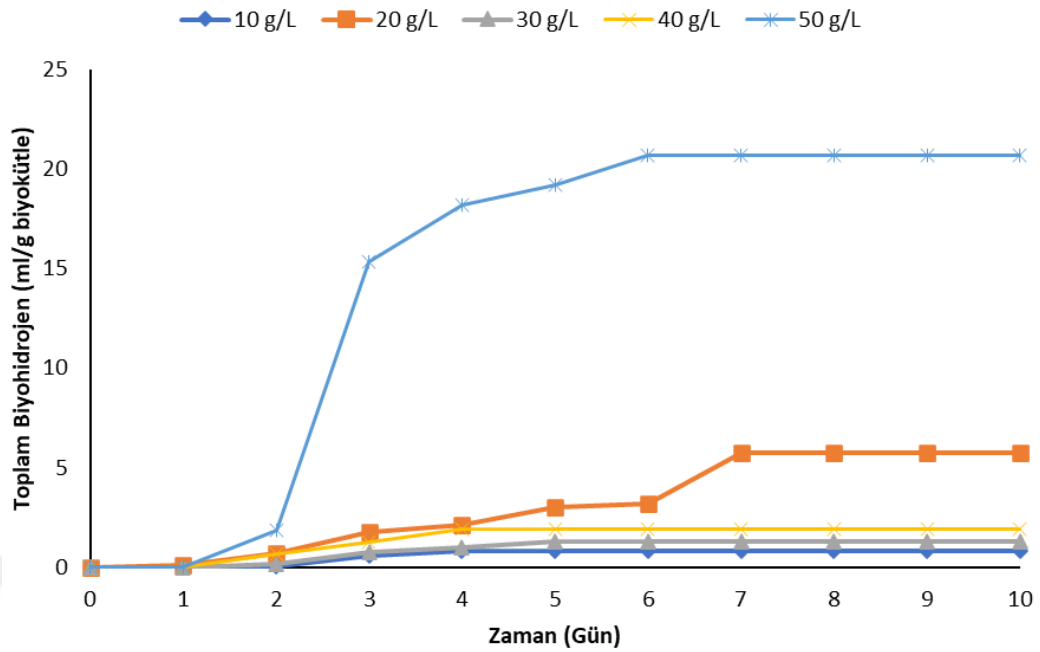
4.4.3.5. Pamuk küspesinden hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



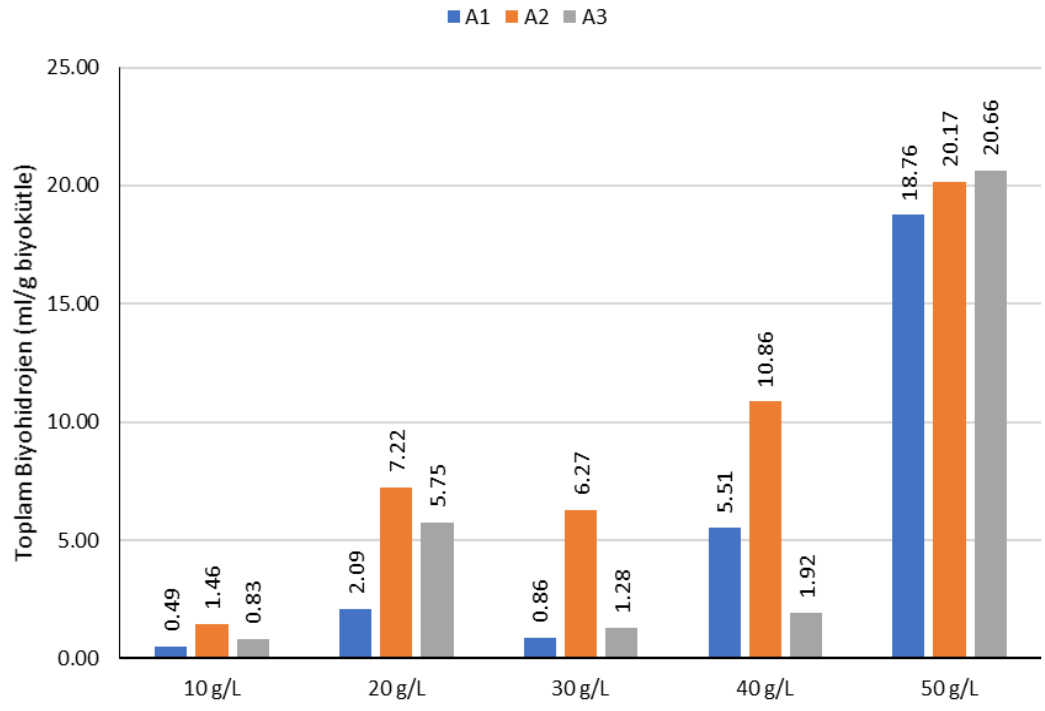
Şekil 4.85. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.86. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



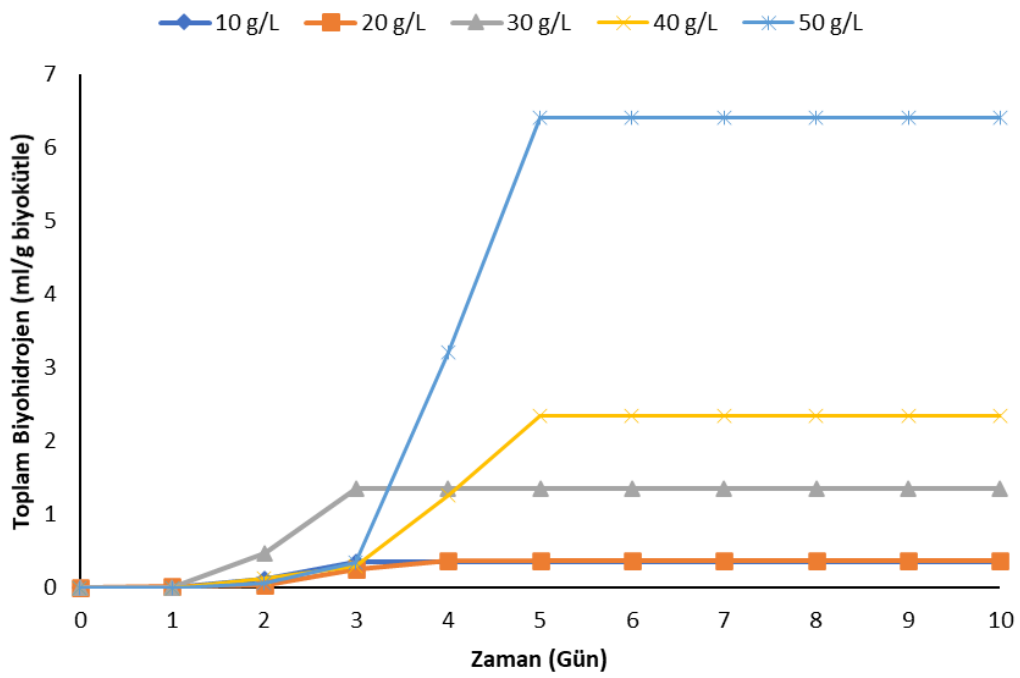
Şekil 4.87. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



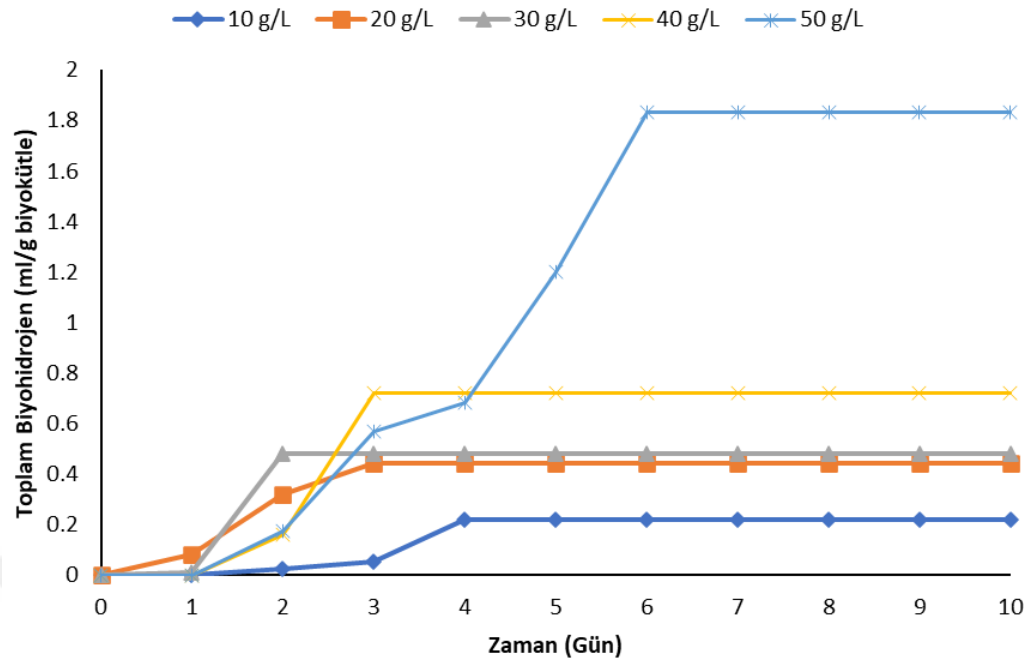
Şekil 4.88. Pamuk küspesinden hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.85, 4.86 ve 4.87'ye bakıldığında her üç aşı için 50 g substrat/L biyokütle konsantrasyonunda en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk küspesi için hidrojen üretiminde biyokütle konsantrasyonu 50 g substrat/L iken ve A3 aşısı kullanıldığında 20.66 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu; A1 ve A2 aşısı kullanıldığında ise bu değerin bir miktar azaldığı görülmektedir (Şekil 4.88). Genel olarak her üç aşı için biyokütle konsantrasyonu artışının gaz verimlerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler pamuk küspesi açısından biyokütle konsantrasyonu ve aşı seçiminin gaz verimini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymaktadır.

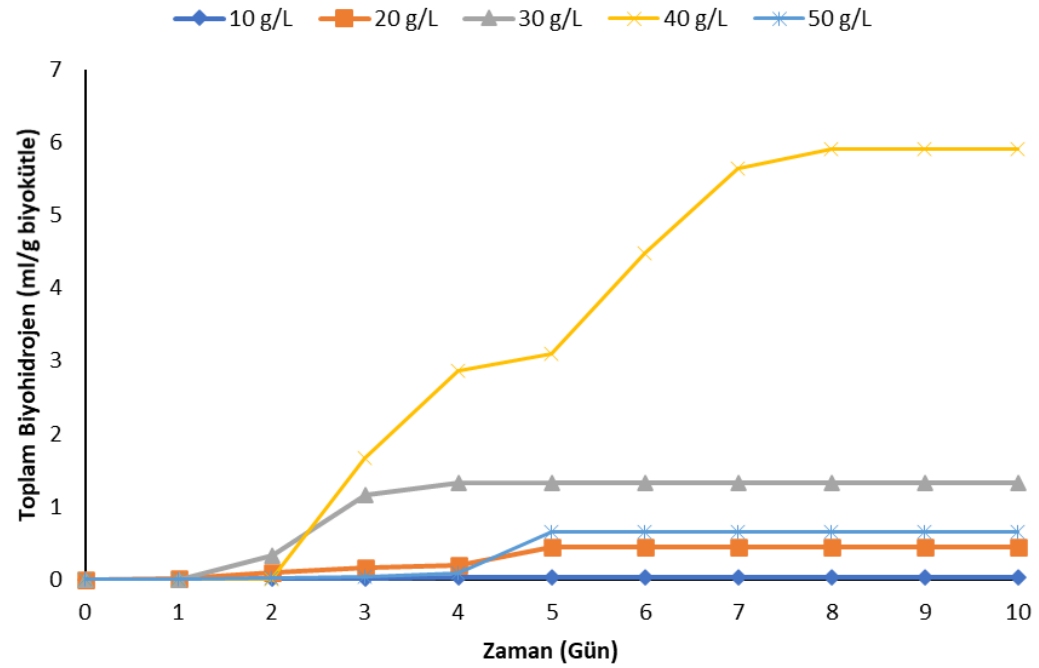
4.4.3.6. Fıstık küspesinden hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



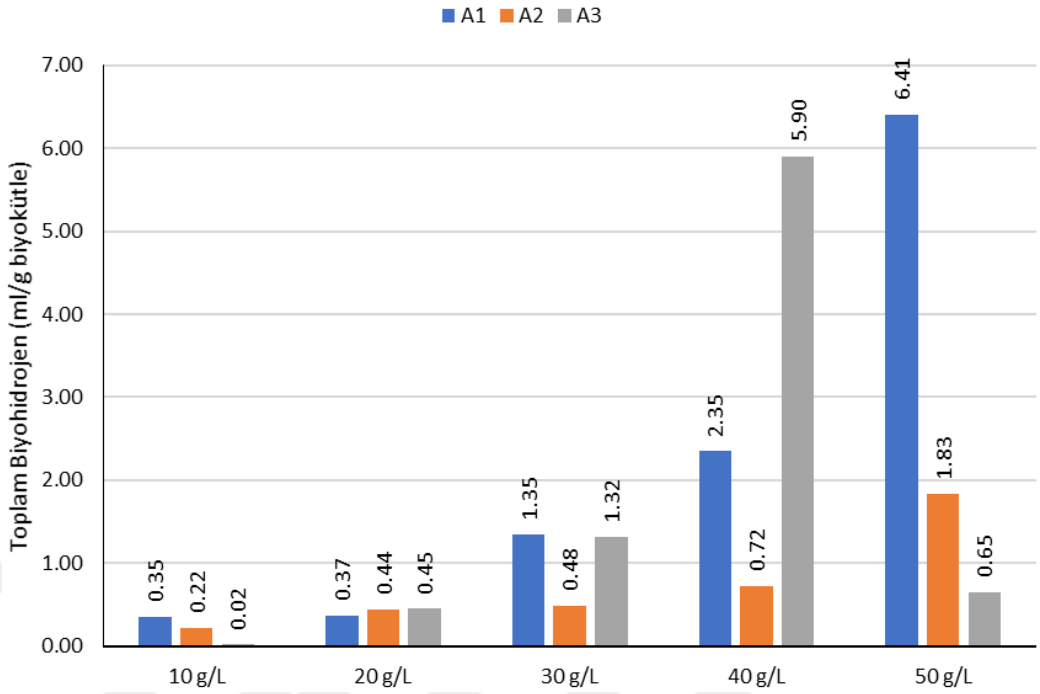
Şekil 4.89. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.90. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



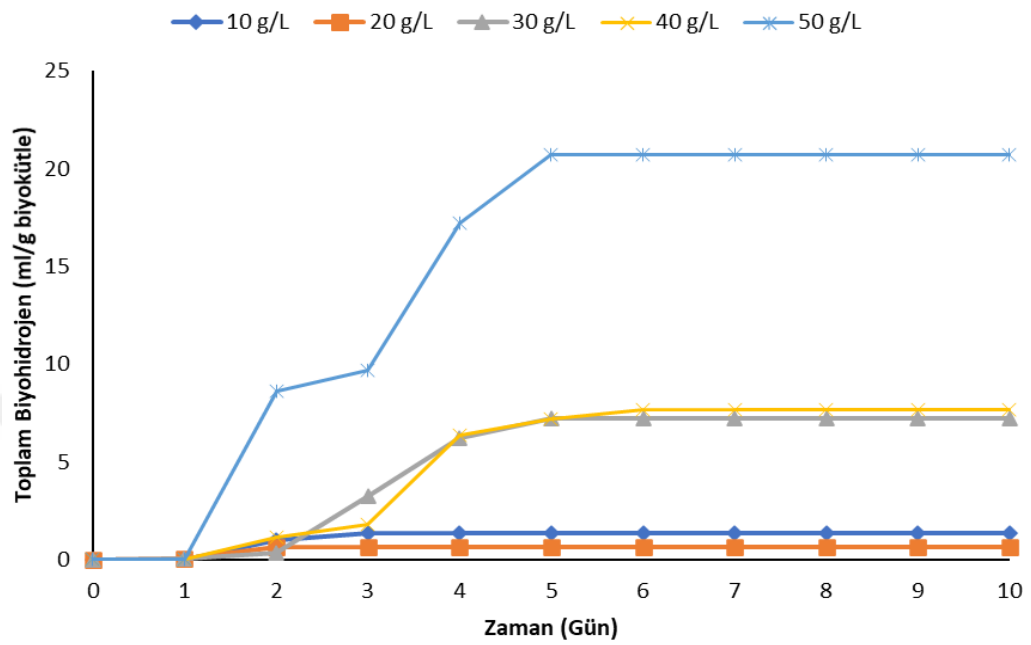
Şekil 4.91. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



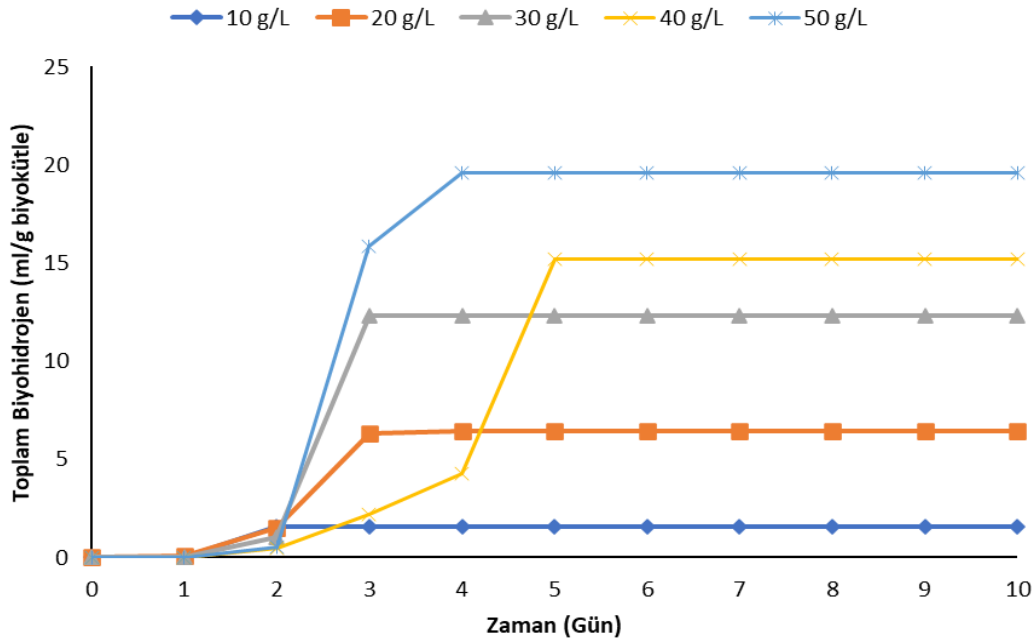
Şekil 4.92. Fıstık küspesinden hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.89, 4.90 ve 4.91'e bakıldığında A1 ve A2 aşıları kullanıldığında artan biyokütle konsantrasyonu ile orantılı olarak gaz verimleri de artarken A3 aşısı için maksimum gaz verimi 40 g substrat /L biyokütle konsantrasyonunda elde edilmiştir. Her üç aşı açısından kıyaslandığında en yüksek gaz verimi 50 g substrat/L biyokütle konsantrasyonunda 6.41 ml hidrojen gazı olarak ölçülmüştür (Şekil 4.92). Elde edilen veriler fıstık küspesi açısından değişen biyokütle konsantrasyonlarında aşıların etkisinin değiştiği, aşı seçiminin ve biyokütle konsantrasyonunun hidrojen verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

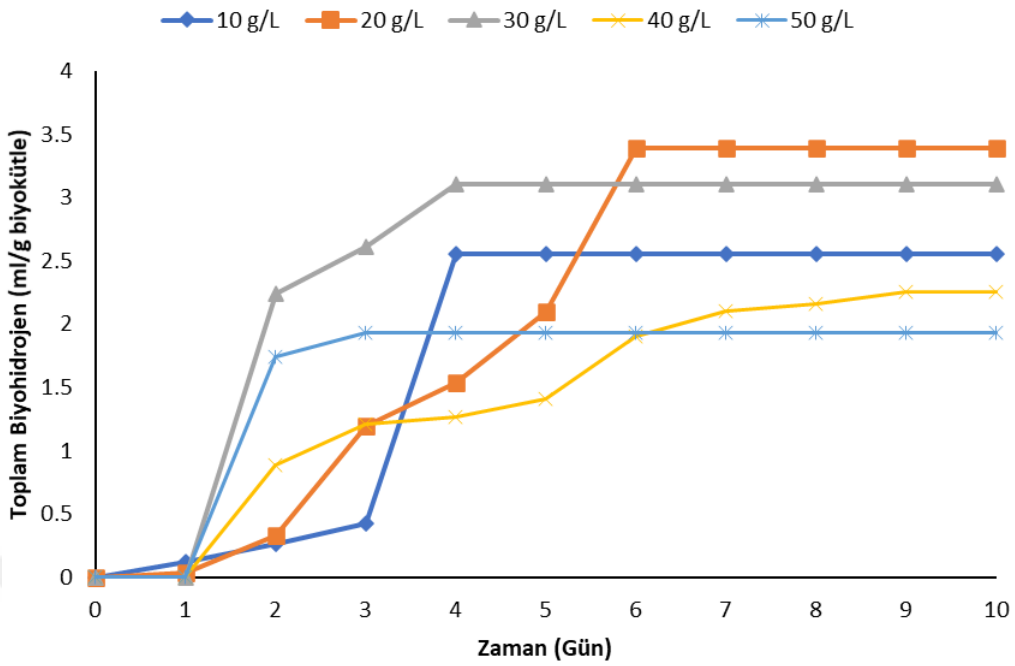
4.4.3.7. Pamuk atıklarından hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



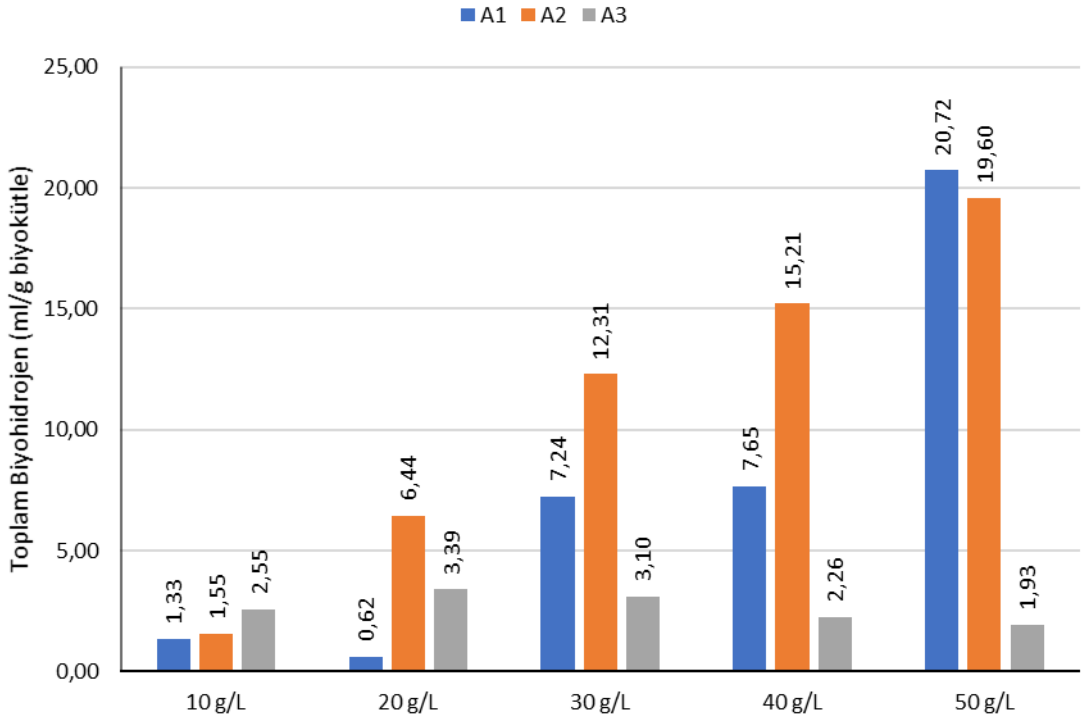
Şekil 4.93. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.94. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



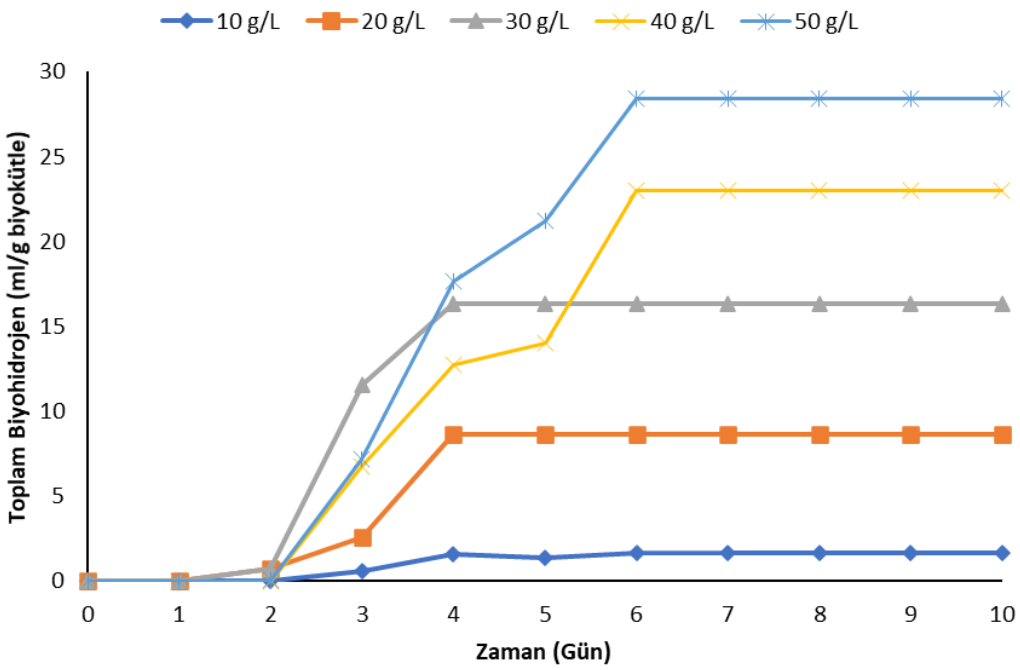
Şekil 4.95. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



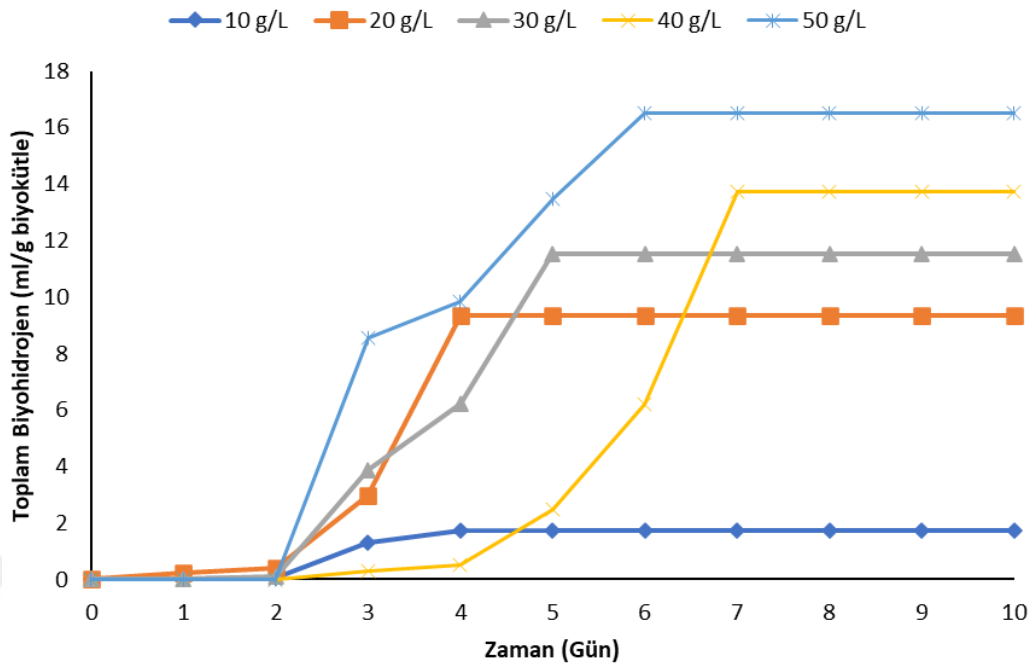
Şekil 4.96. Pamuk atıklarından hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.93, 4.94 ve 4.95'e bakıldığında A1 ve A2 aşılarının artan biyokütle konsantrasyonlarına karşı gaz verimlerine etkileri artış gösterirken A3 aşısının gaz verimini çok etkilemediği görülmüştür. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında pamuk atıkları için hidrojen üretiminde 50 g substrat/L değerinde, A1 aşısı kullanıldığında gaz verimi 20.72 ml iken; A2 aşısı kullanıldığında elde edilen hidrojen gazı miktarı 19.6 ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.96). Elde edilen veriler pamuk atıkları açısından kullanılan aşıların etkisinin değişen biyokütle konsantrasyonları ile ilişkili olduğunu; aşı seçimi ve biyokütle konsantrasyonunun hidrojen verimi açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

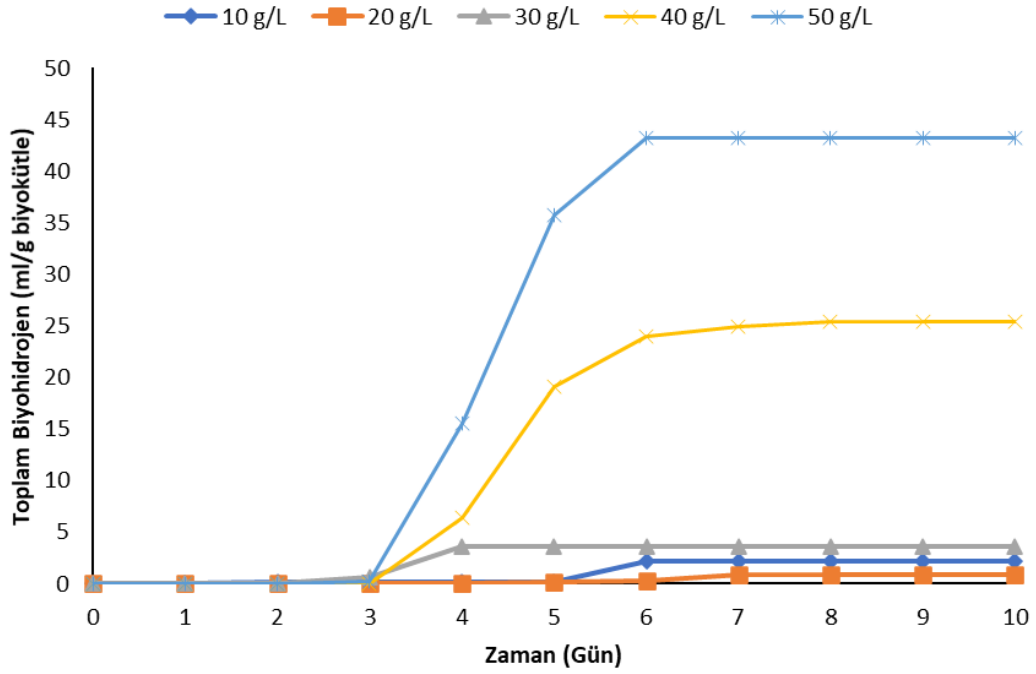
4.4.3.8. Nar kabuğu atıklarından hidrojen üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



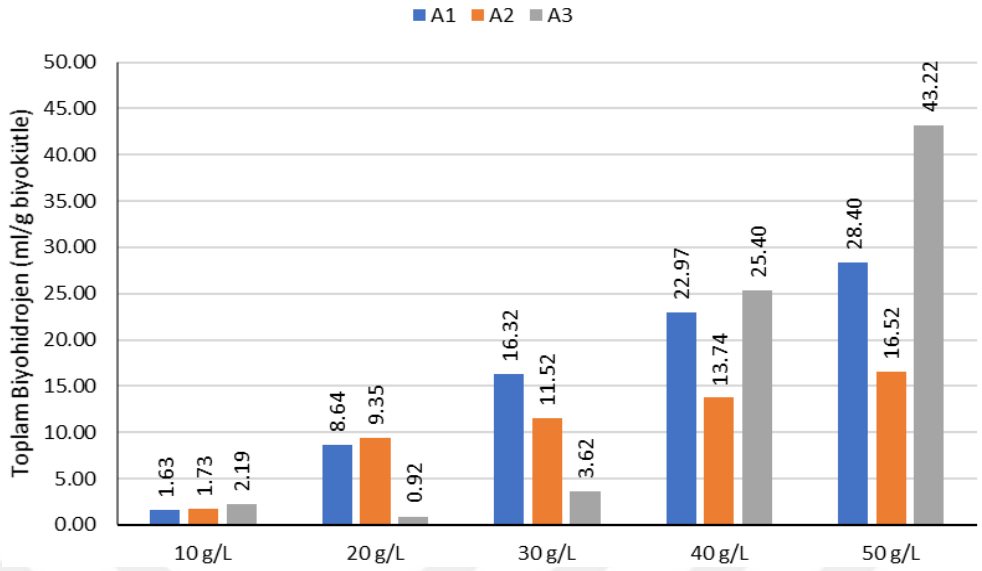
Şekil 4.97. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.98. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.99. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.100. Nar kabuklarından hidrojen eldesinde biyokütle konsantrasyonlarında farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.97, 4.98 ve 4.99'a bakıldığında her üç aşı için de 50 g substrat/L değerinde en yüksek gaz verimine ulaşılmıştır. Elde edilen gaz verimleri kıyaslandığında nar kabukları için hidrojen üretiminde 50 g substrat/L biyokütle konsantrasyonunda ve A3 aşısı kullanıldığında 43.22 ml verimle gaz veriminin en yüksek olduğu, A1 aşısı kullanıldığında elde edilen hidrojen miktarı 28.40 ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.100). Genel olarak artan biyokütle konsantrasyonu ile gaz verimlerinin de arttığı Şekil 4.100'de görülmektedir. Elde edilen veriler nar kabuklarından hidrojen üretiminde aşı seçimi ve biyokütle konsantrasyonunun önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

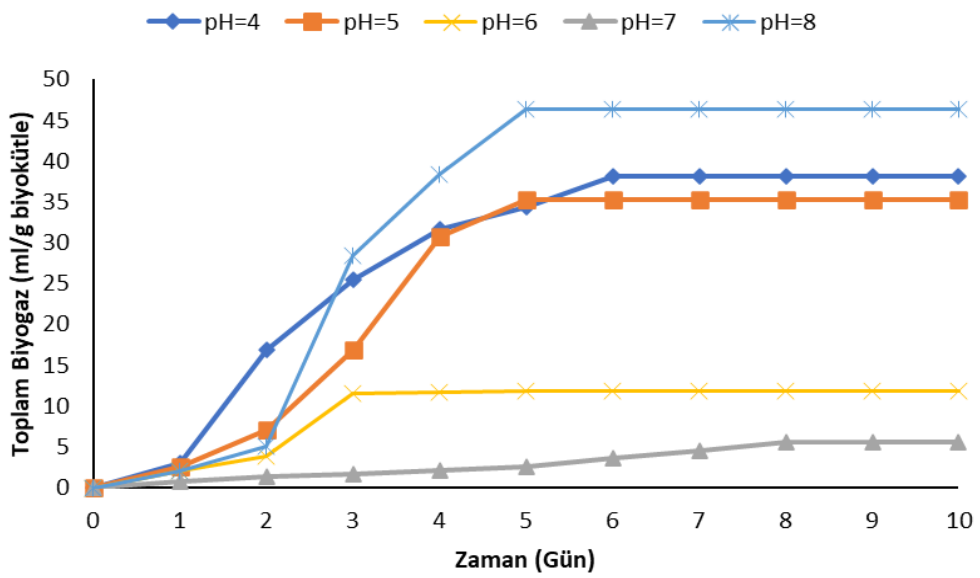
Park ve ark. (2018) hidrojen fermantasyonu sırasında hidrojen üreten bakteriler ile laktik asit bakterileri arasındaki rekabet üzerine substrat konsantrasyonunun etkisini değerlendirmek için, bir karbon kaynağı olarak galaktoz veya glikoz kullanılarak çalıştılar. Aşı için sırasıyla *Clostridium butyricum, Lactobacillus casei* ve iki türün karışımı kullandılar. Tek türlere dayalı deneylerin tür karışımından daha verimli olduğunu ortaya koydu. Substrat konsantrasyonundan (0.2-5.7 g/L) bağımsız olarak *C. butyricum*'un galaktozu *L. casei*'den daha hızlı kullandığını, *L. casei*'nin ise düşük glikoz seviyelerinde *C. butyricum*'dan daha hızlı glikoz kullandığını ortaya çıkardı (Park ve ark., 2018). Giang ve ark. (2019), *Chlorella sp.* biyokütlesinden elde

edilen hidrojen veriminin, biyokütle konsantrasyonu 30 g/L'nin üzerine çıktığında büyük ölçüde azaldığını göstermiştir. Bunun nedeni, fermentasyon ortamının görünür viskozitesindeki artışa, daha düşük karıştırma verimliliğine ve ısı transferine, su miktarındaki azalmaya ve enzimin substrata geri dönüşümsüz bağlanmasına yol açan yüksek katı etkisidir (Giang ve ark., 2019).

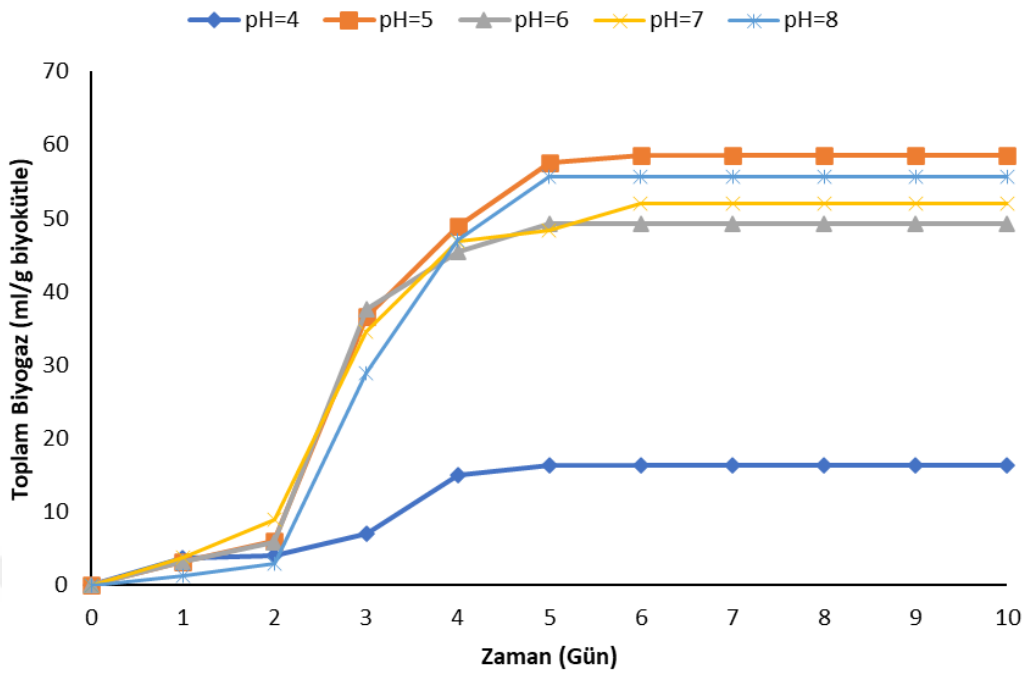
4.4.4. pH'nın etkisi

Biyokütle kaynaklarının fermantasyonu 4, 5, 6, 7 ve 8 olmak üzere beş farklı pH değerinde gerçekleştirilmiştir. Deneylerde Adana Efes bira fabrikası anaerobik arıtma tankından (A1), Şanlıurfa atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından (A2) ve Pakmaya Düzce tesisleri anaerobik arıtma tankından (A3) temin edilen karışık kültür aşılar kullanılmıştır. Deneylerde pamuk küspesi, fıstık küspesi, pamuk atıkları ve nar kabuklarından elde edilen toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarları aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.

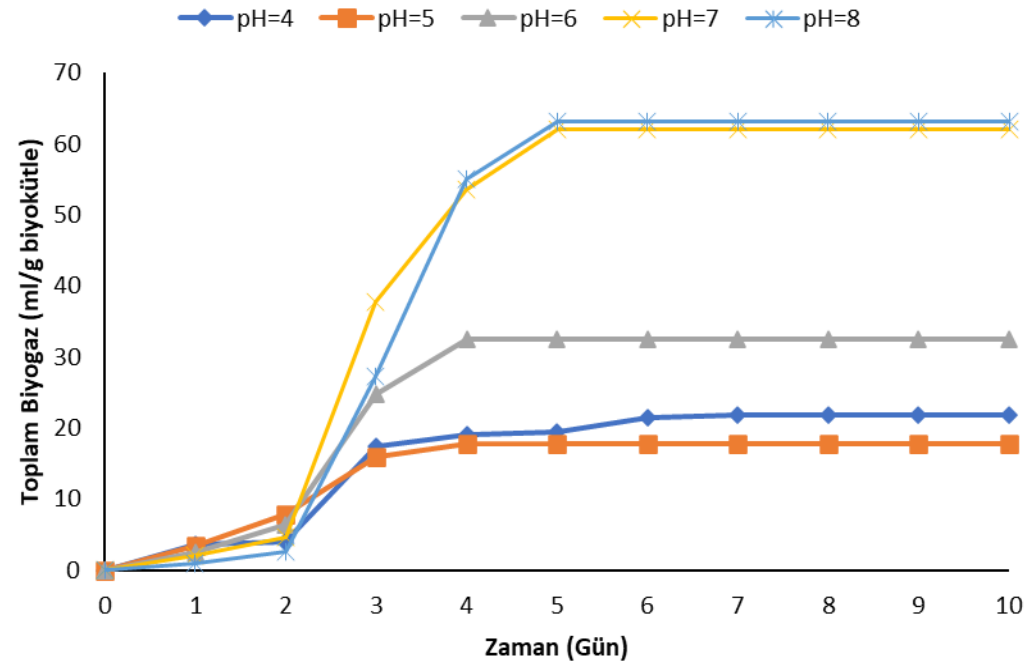
4.4.4.1. Pamuk küspesinden biyogaz üretimine biyokütle konsantrasyonunun etkisi



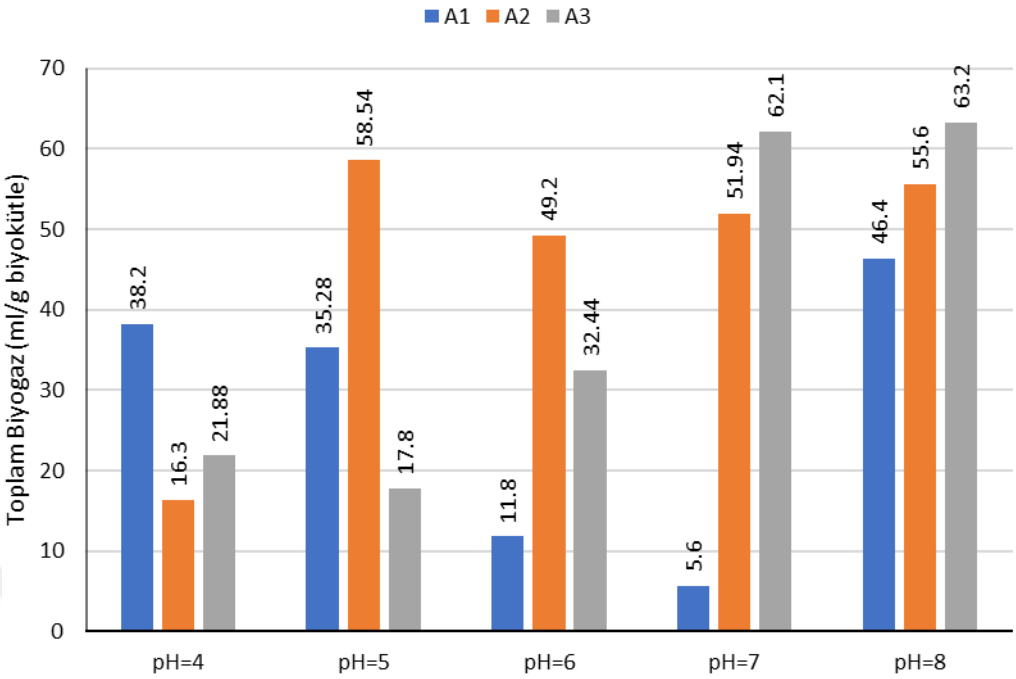
Şekil 4.101. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.102. Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



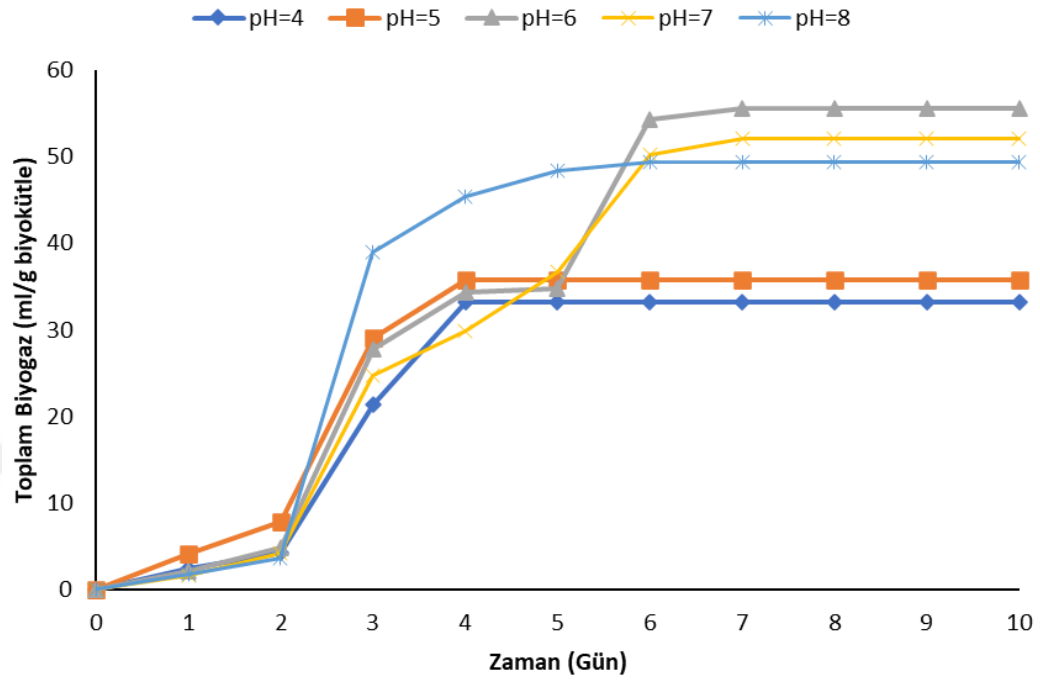
Şekil 4.103. Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



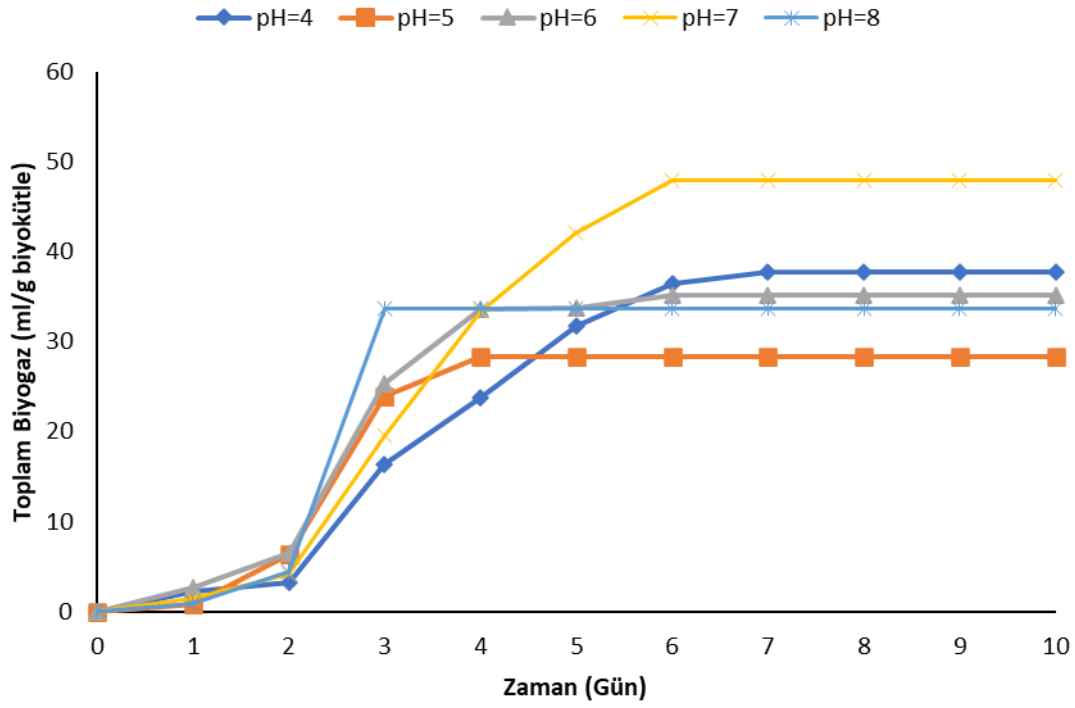
Şekil 4.104. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.101, 4.102 ve 4.103'e bakıldığında her üç aşı için de pH'ın 8 olduğu noktada maksimum biyogaz miktarı elde edilmiştir. Gaz verimleri değişken pH değerlerinde farklı veriler ortaya koymuştur. Pamuk küspesinden biyogaz eldesinde A1 aşısı kullanıldığında pH=8 iken elde ölçülen gaz miktarı 46.4 ml; A2 aşısı kullanıldığında 55.6 ml ve A3 aşısı kullanıldığında 63.2 ml olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.104). Deneyden elde edilen verilere bakıldığında biyokütle kaynaklarından biyogaz eldesinde kullanılan aşının etkinliğinin farklı pH değerlerinde farklı rol oynadığı görülmektedir. Bu durum pamuk küspesi açısından aşı seçiminin ve pH'ın biyogaz verimini etkileyen önemli faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

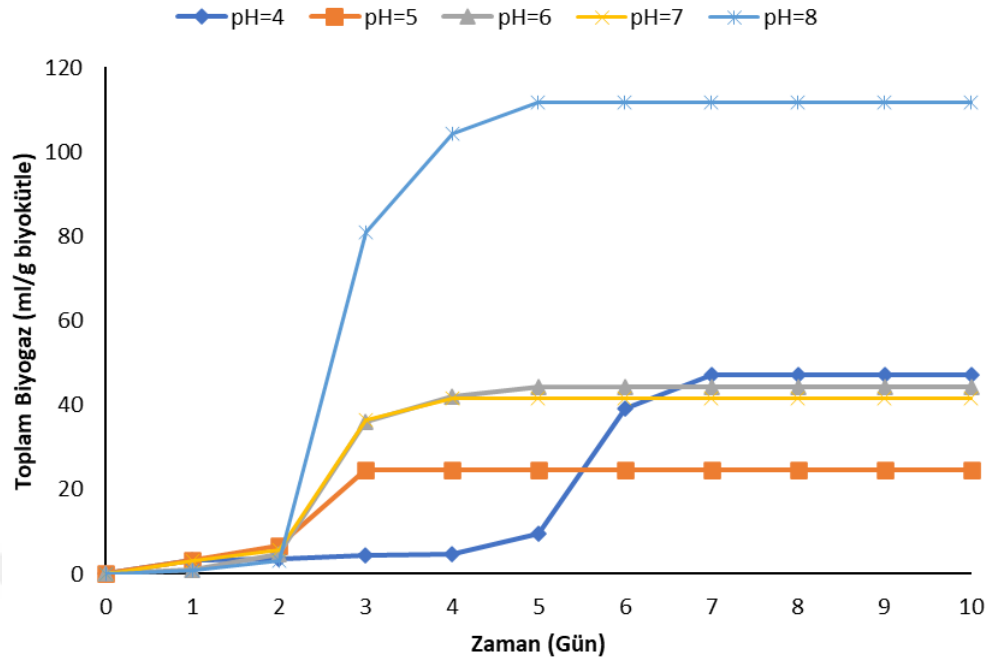
4.4.4.2. Fıstık küspesinden biyogaz üretimine pH'ın etkisi



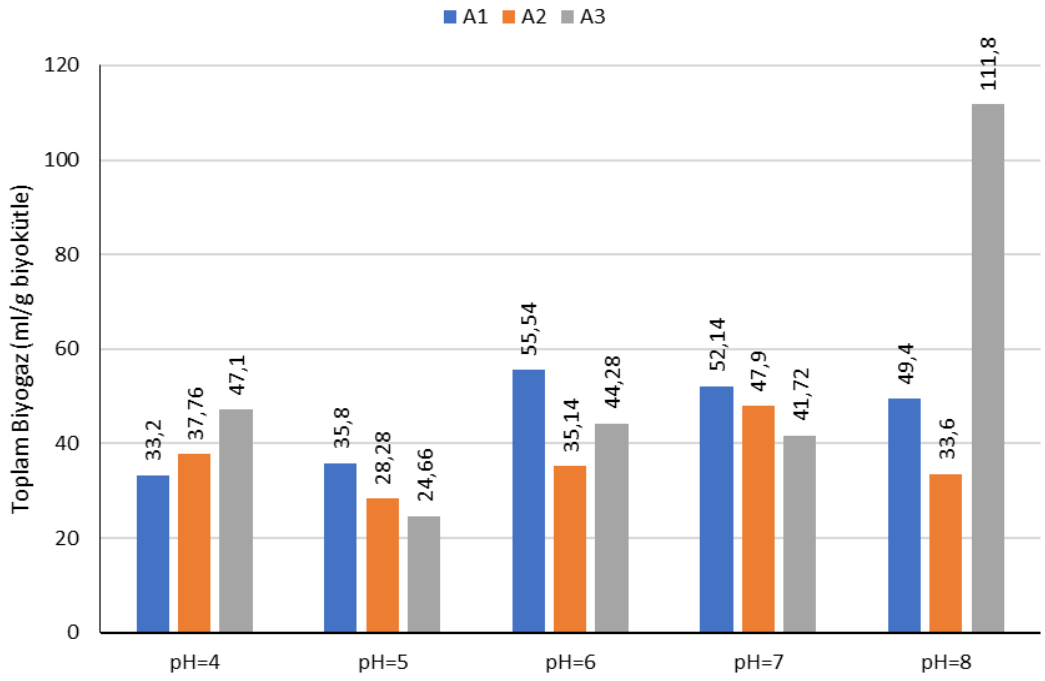
Şekil 4.105. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.106. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



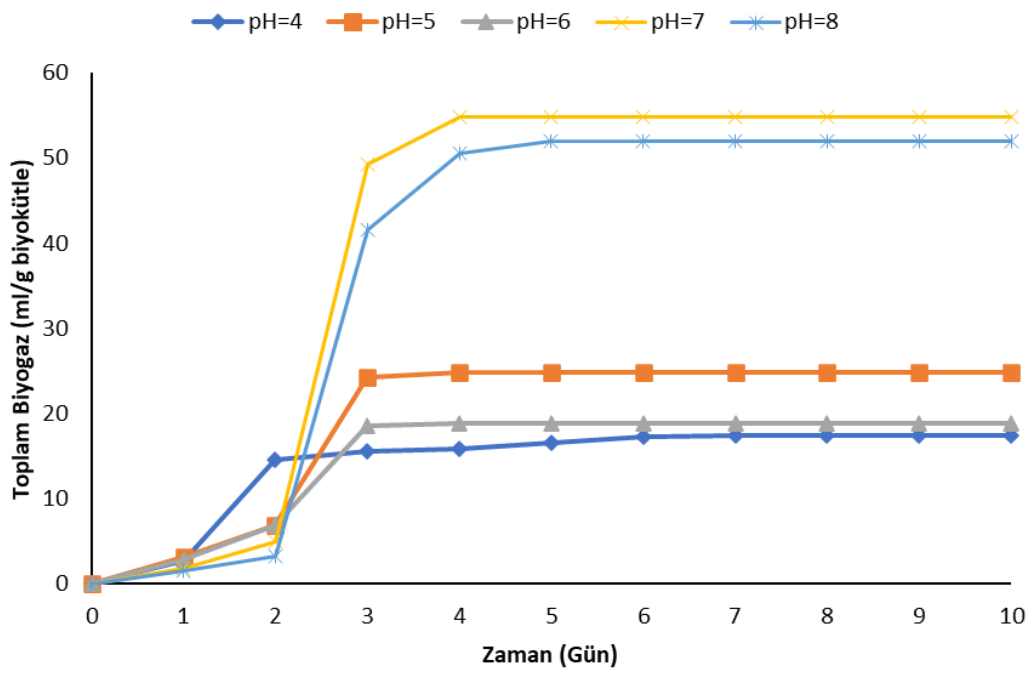
Şekil 4.107. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'nın etkisi



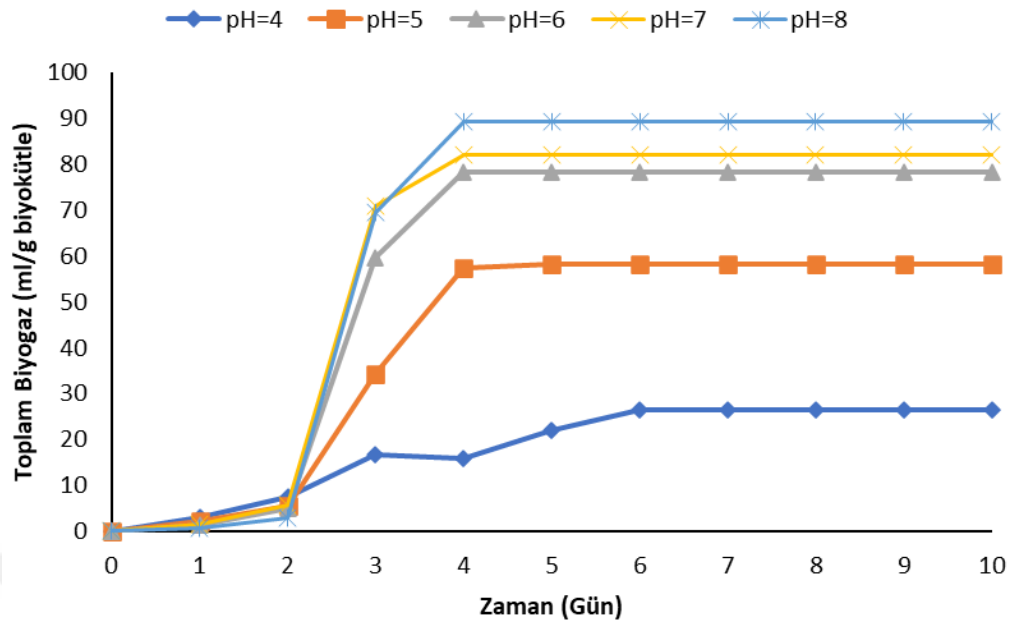
Şekil 4.108. Fıstık küspesinden biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.105, 4.106 ve 4.107'ye bakıldığında fıstık küspesinden biyogaz eldesinde değişken pH değerlerinde farklı gaz verimlerinin elde edildiği anlaşılmaktadır. A1 aşısı ile yapılan deneylerde farklı pH'larda 6 gaz veriminin değişkenlik gösterdiği; maksimum gaz veriminin pH=6 iken 55,54 ml olarak ölçüldüğü görülmektedir. A2 aşısının kullanıldığı deneylerde gaz verimleri değişkenlik göstermekte ve maksimum gaz verimi pH=7 değerinde 47.9 ml ölçülmüştür. A3 aşısı kullanıldığında pH 4-7 aralığında büyük farklılık gösteremezken pH=8 olduğunda verim yaklaşık 2 katına çıkmıştır. Bu pH değerinde elde edilen biyogaz miktarı 111.8 ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.108). Elde edilen veriler fıstık küspesinden biyogaz eldesinde aşı seçiminin ve pH'ın önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

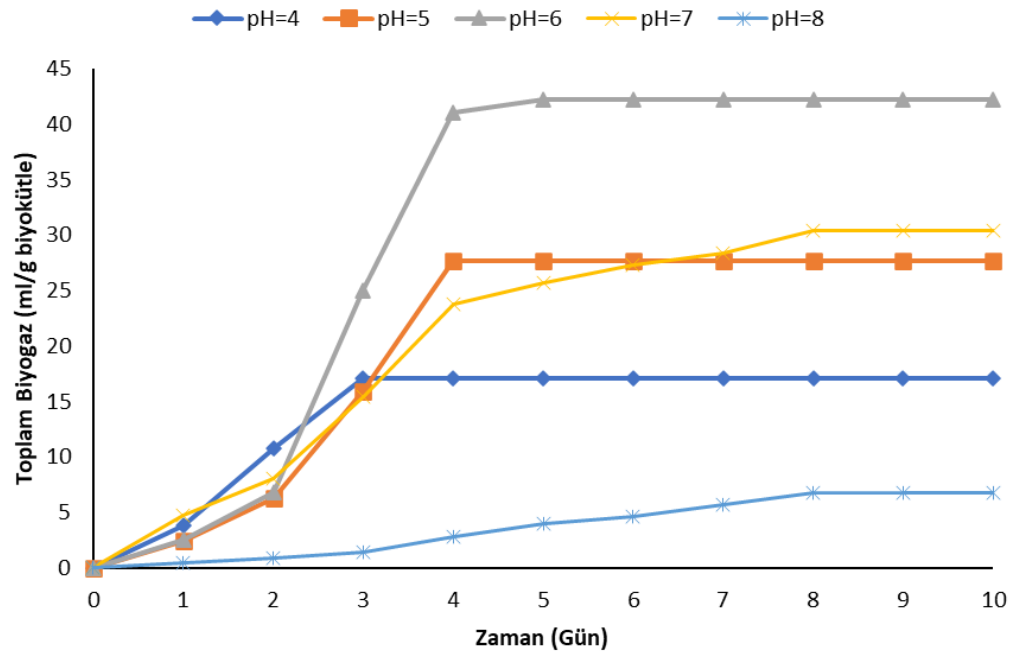
4.4.4.3. Pamuk atıklarından biyogaz üretimine pH'ın etkisi



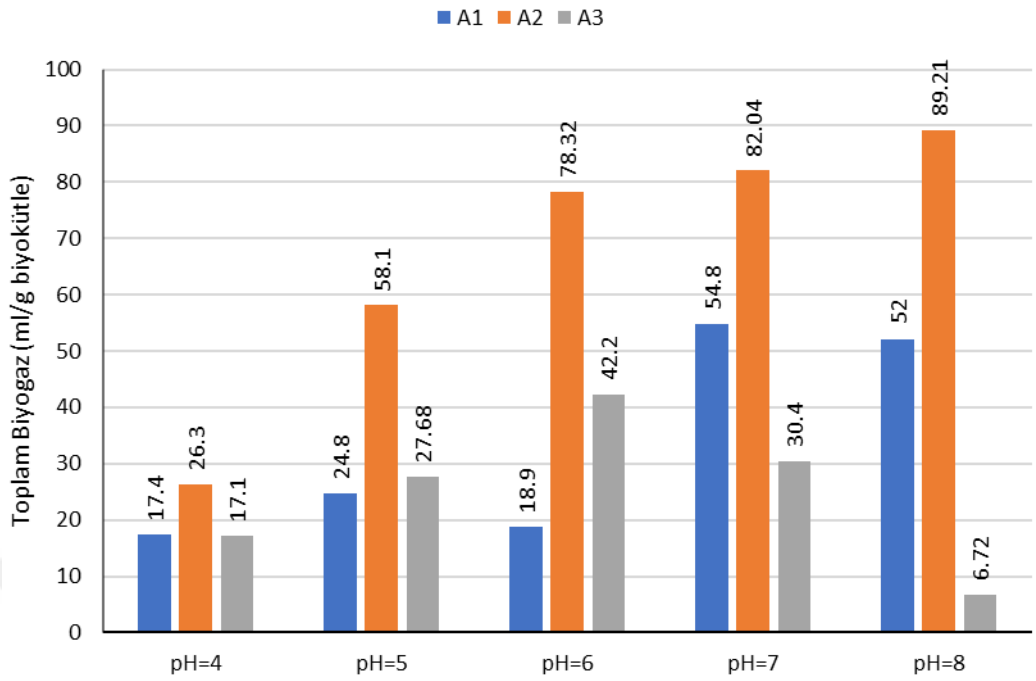
Şekil 4.109. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.110. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



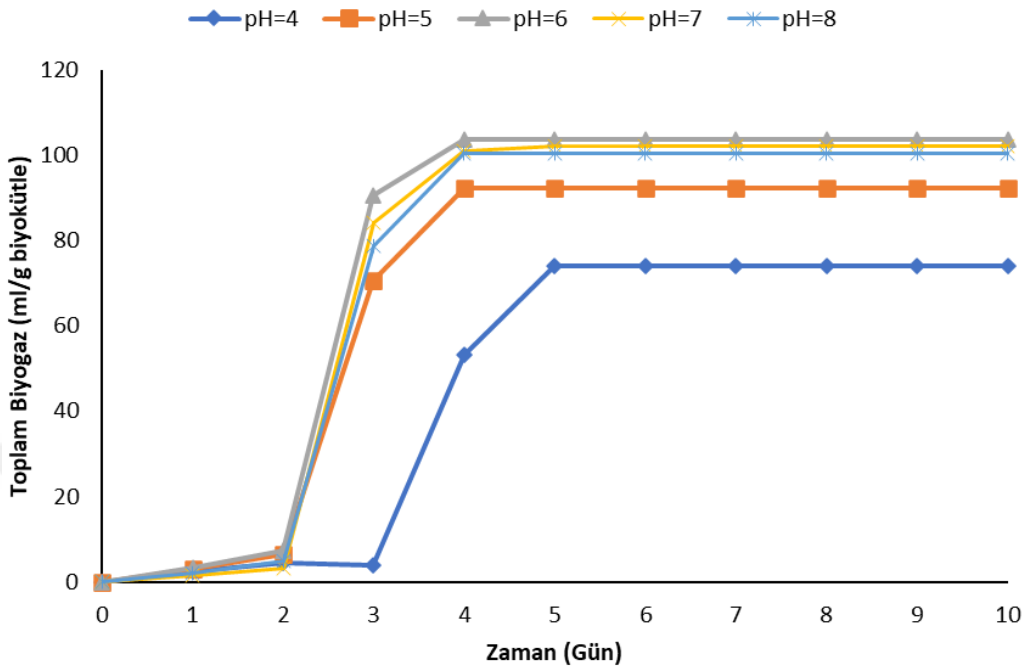
Şekil 4.111. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



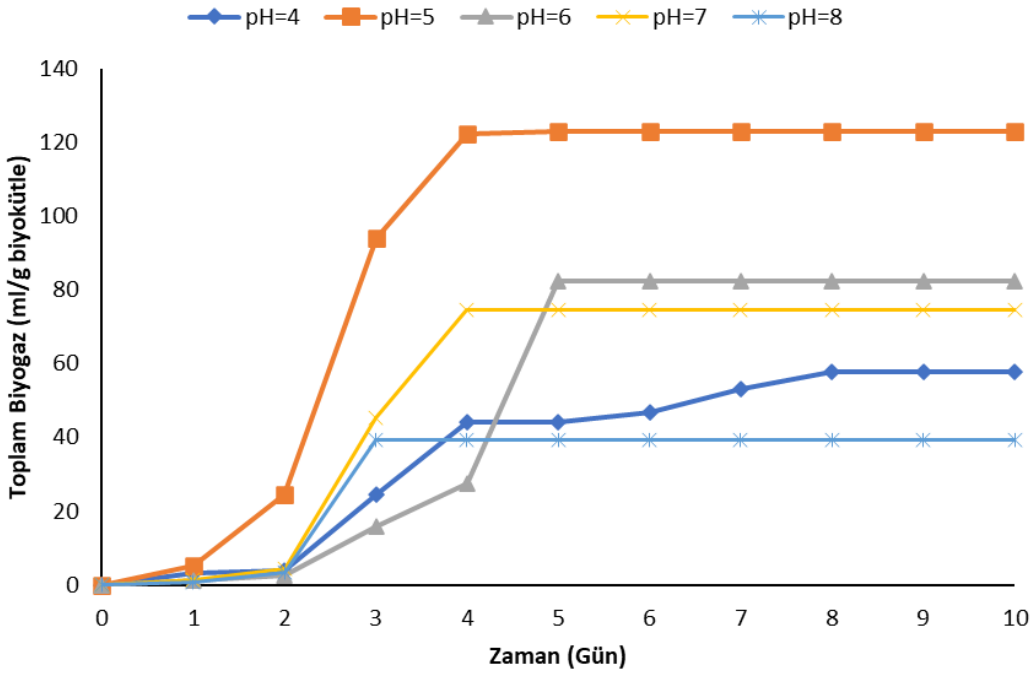
Şekil 4.112. Pamuk atıklarından biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.109, 4.110 ve 4.111'e bakıldığında A1 aşısı için düşük pH değerlerinde gaz verimi düşük iken artan pH değerlerinde gaz veriminin de arttığı görülmektedir. Pamuk atıklarından elde edilen biyogaz verimleri kıyaslandığında A1 aşısı için çalışılan pH değerleri aralığında en ideal pH'ın 7 olduğu ve bu pH değerinde elde edilen biyogaz veriminin 54.8 ml olduğu şekil 68'den anlaşılmaktadır. A2 aşısı kullanıldığında ise artan pH değerleriyle doğru orantılı olarak gaz veriminin de arttığı; pamuk atıklarından maksimum gaz veriminin pH=8 değerinde 89.21 ml olduğu hesaplanmıştır. Elde edilen veriler pamuk atıklarından biyogaz eldesinde aşı seçimi ve pH'ın önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

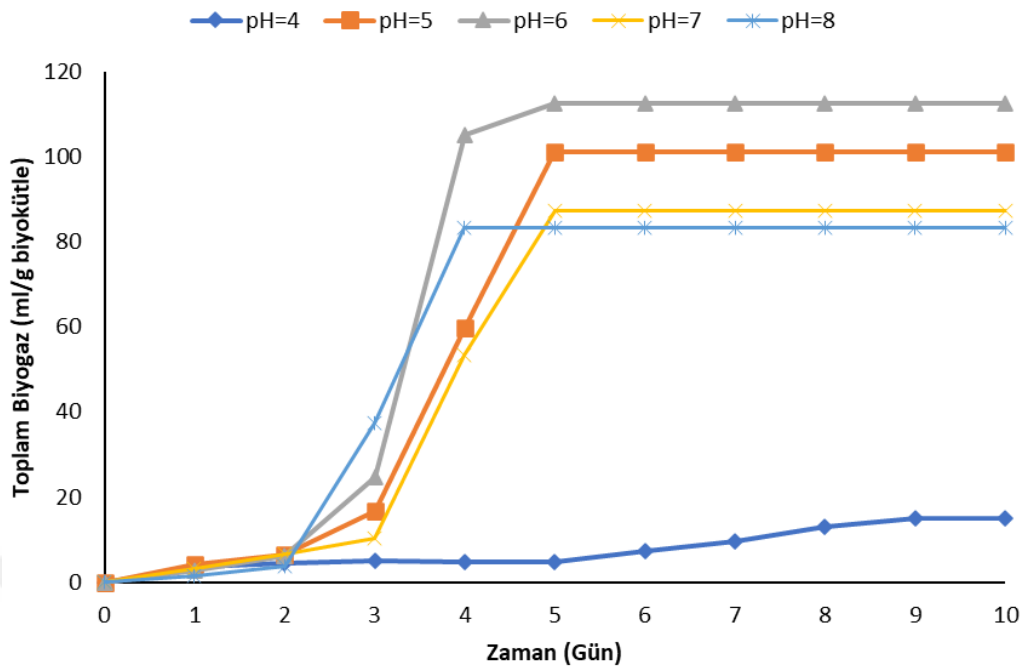
4.4.4.4. Nar kabuğu atıklarından biyogaz üretimine pH'ın etkisi



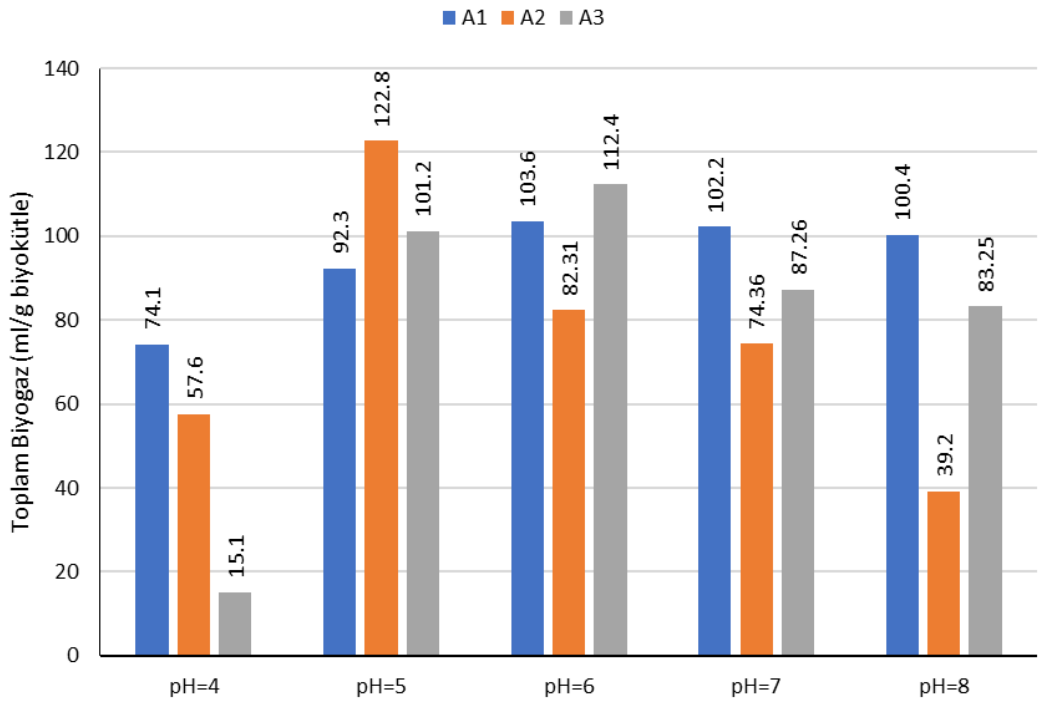
Şekil 4.113. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.114. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



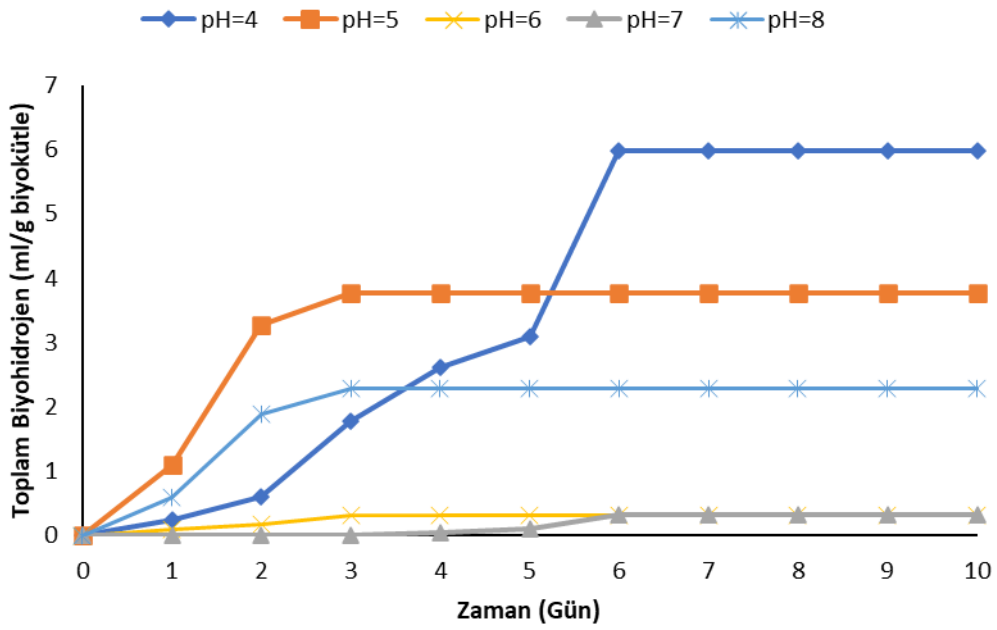
Şekil 4.115. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam biyogaz verimine pH'ın etkisi



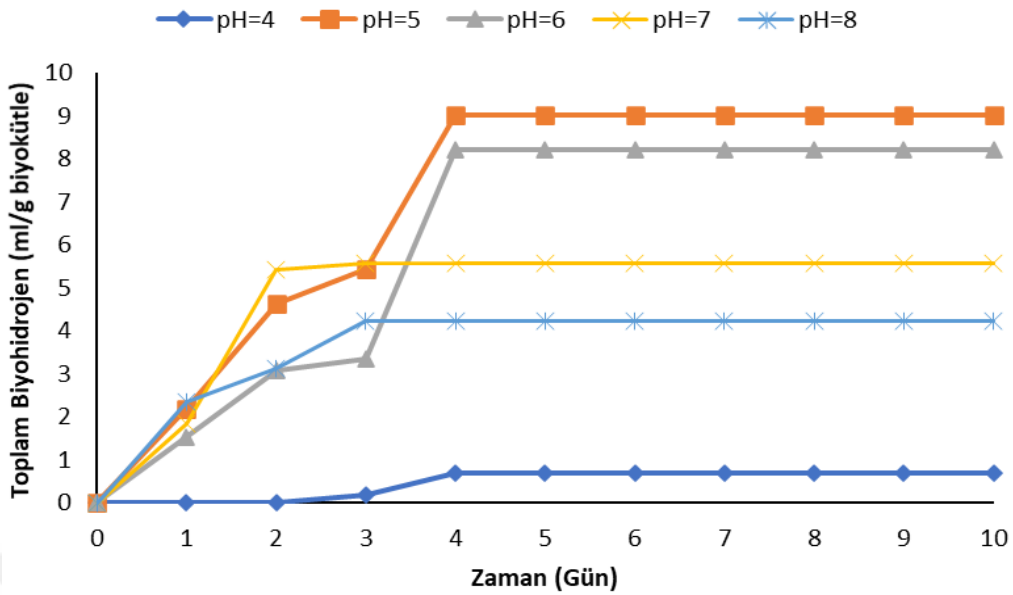
Şekil 4.116. Nar kabuklarından biyogaz eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.113, 4.114 ve 4.115'e bakıldığında A1 aşısı için düşük pH değerlerinde gaz verimi düşük iken artan pH değerlerinde gaz veriminin de arttığı görülmektedir. Nar kabuklarından elde edilen biyogaz verimleri kıyaslandığında A1 aşısı için pH 6-8 aralığında elde edilen gaz miktarları birbirine oldukça yakındır. Bu aşı için en yüksek gaz verimi pH=6 değerinde 103.6 ml olarak hesaplanmıştır. A2 aşısı kullanıldığında ise nar kabuklarından elde edilen maksimum gaz veriminin pH=8 değerinde 122,8 ml olduğu hesaplanmıştır (Şekil 4.116). Elde edilen veriler nar kabuklarından biyogaz eldesinde aşı seçimi ve pH'ın önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

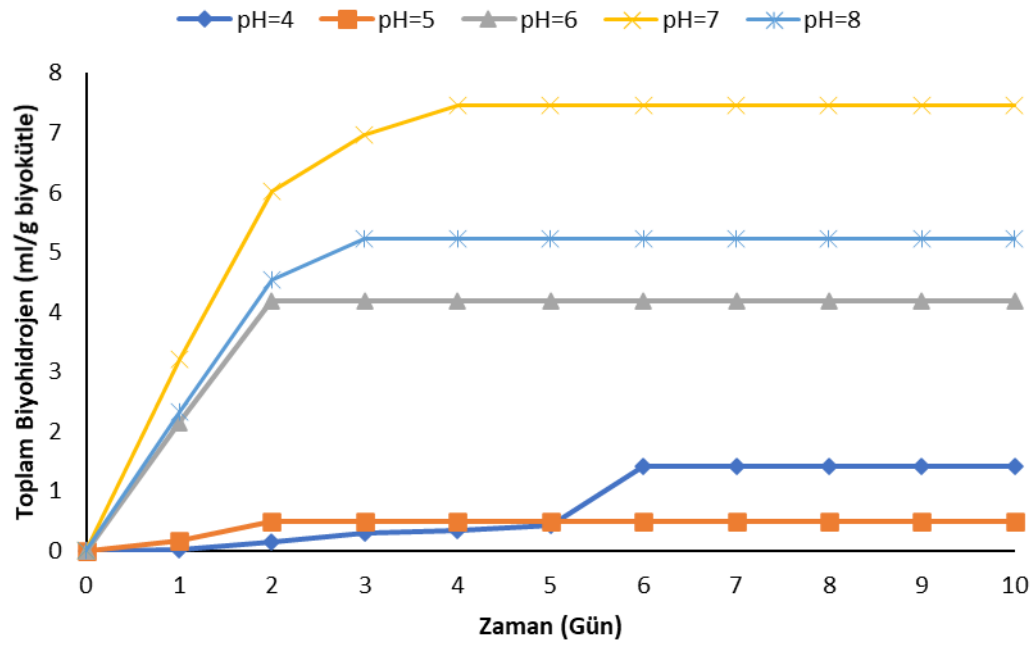
4.4.4.5. Pamuk küspesinden hidrojen üretimine pH'ın etkisi



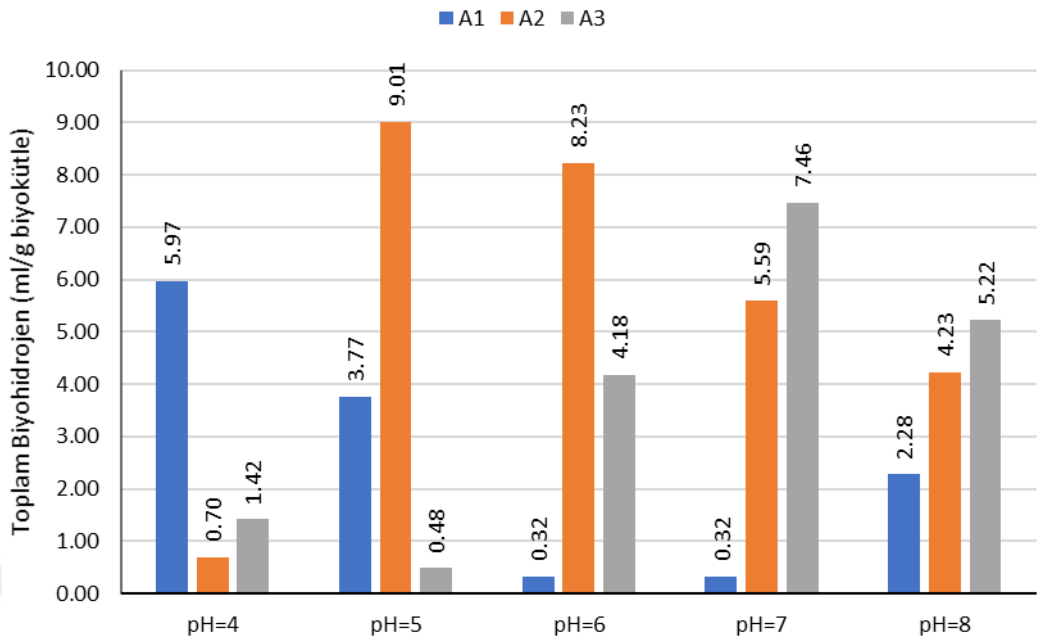
Şekil 4.117. Pamuk küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.118.Pamuk küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



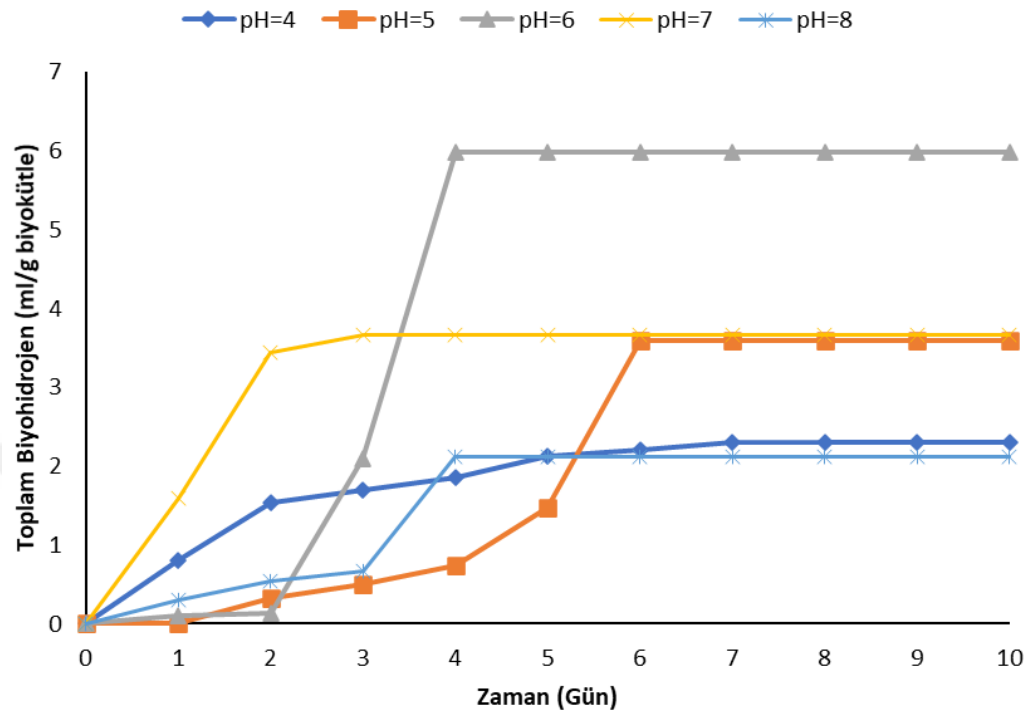
Şekil 4.119.Pamuk küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



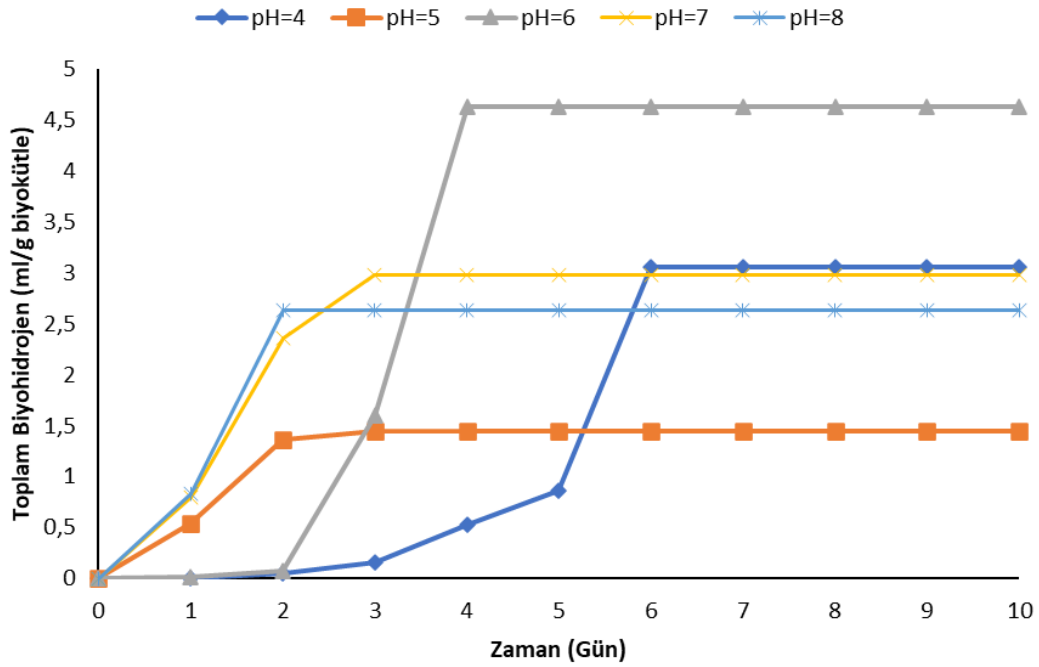
Şekil 4.120.Pamuk küspesinden hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.117, 4.118 ve 4.119'a bakıldığında gaz verimleri değişken pH değerlerinde farklı veriler ortaya koymuştur. Pamuk küspesinden hidrojen eldesinde A1 aşısı kullanıldığında maksimum verim pH=4 iken elde edilmiş ve ölçülen gaz miktarı 5.97 ml olarak hesaplanmıştır. A2 aşısı kullanıldığında pH=5 değerinde maksimum verim 9.01 ml: A3 aşısı kullanıldığında pH=7 iken elde edilen hidrojen miktarı 7,46 ml olarak hesaplanmıştır. Deneyden elde edilen verilere bakıldığında biyokütle kaynaklarından biyogaz eldesinde kullanılan aşının etkinliğinin farklı pH değerlerinde farklı rol oynadığı görülmektedir (Şekil 4.120). Bu durum pamuk küspesi açısından aşı seçiminin ve pH'ın hidrojen verimini etkileyen önemli faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

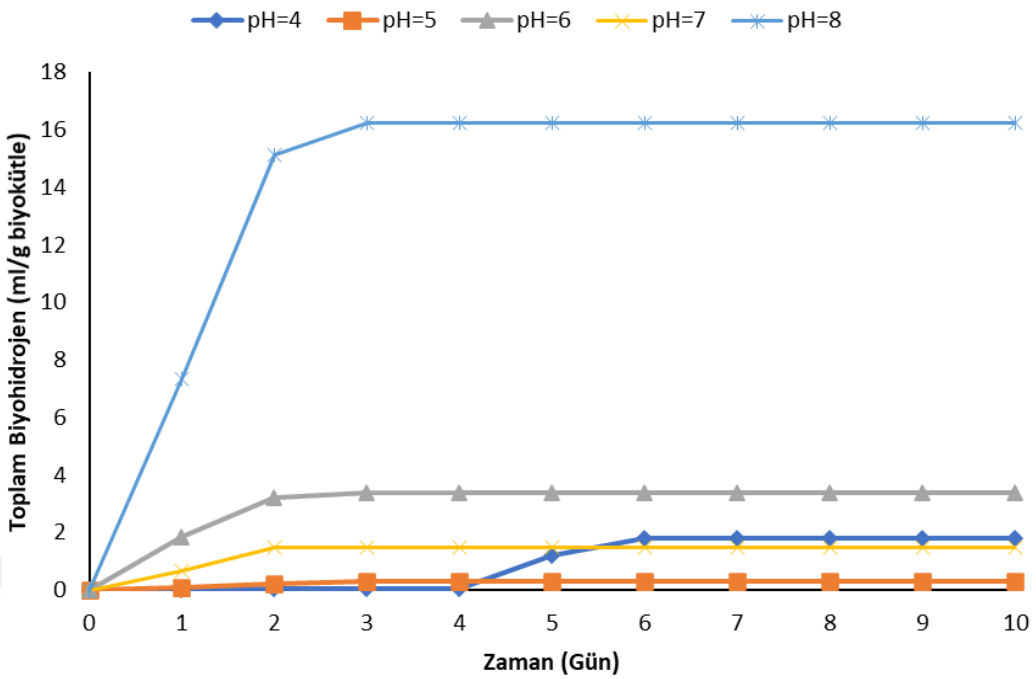
4.4.4.6. Fıstık küspesinden hidrojen üretimine pH'ın etkisi



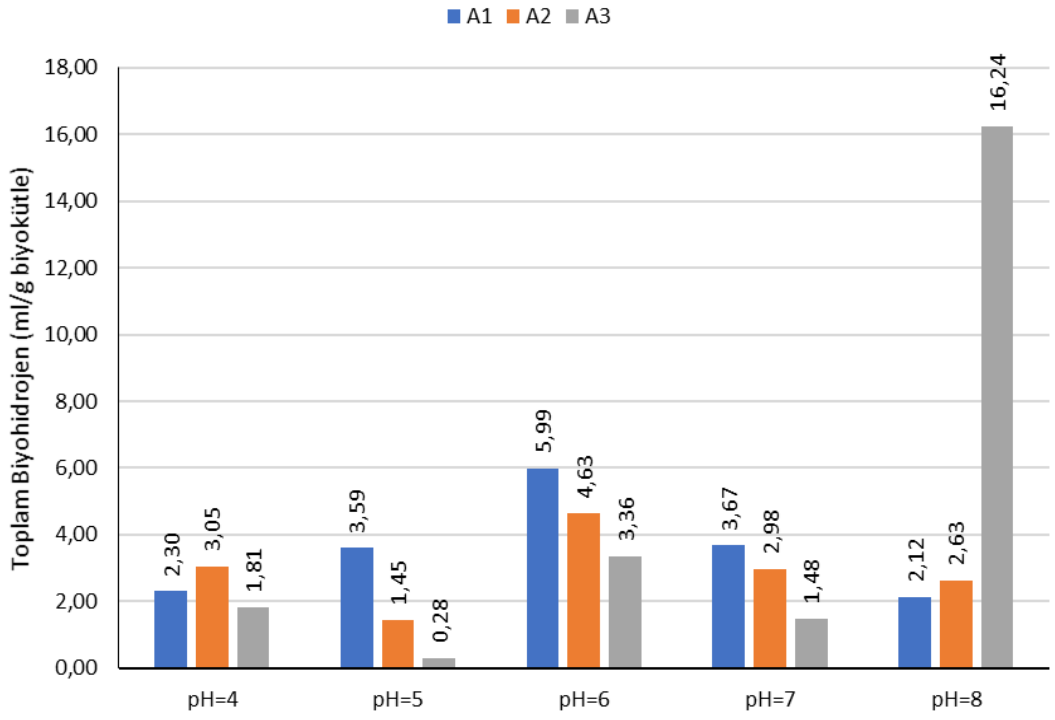
Şekil 4.121. Fıstık küspesinden A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.122. Fıstık küspesinden A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.123. Fıstık küspesinden A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi

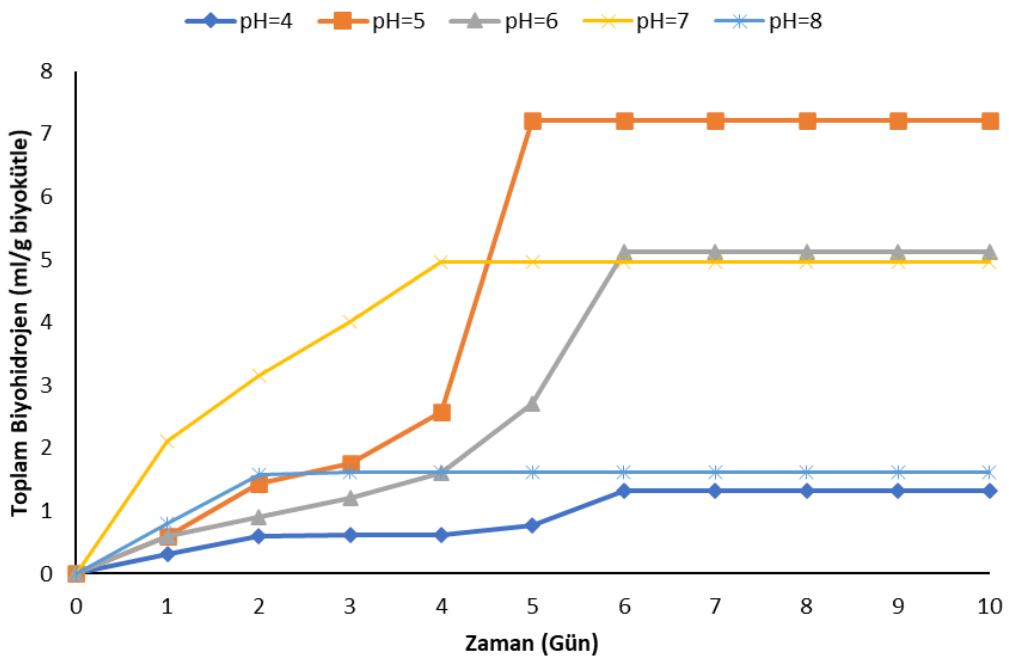


Şekil 4.124.Fıstık küspesinden hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

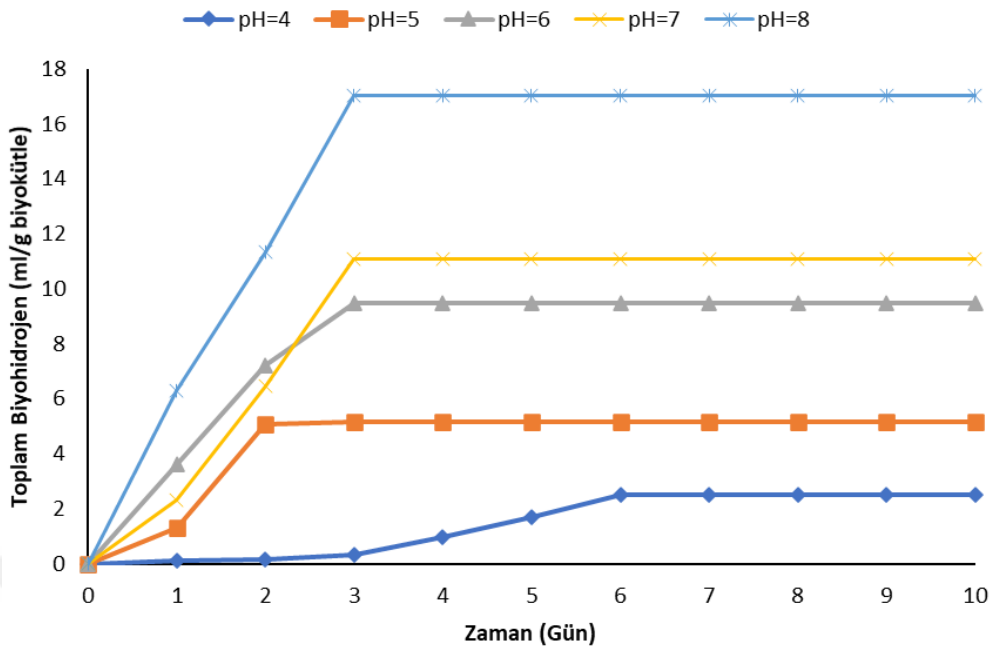
Şekil 4.121, 4.122 ve 4.123'e bakıldığında fıstık küspesinden hidrojen eldesinde değişken pH değerlerinde farklı gaz verimlerinin elde edildiği anlaşılmaktadır. A1

aşısı ile yapılan deneylerde artan pH değerlerinde gaz veriminin değişkenlik gösterdiği; maksimum gaz veriminin pH=6 iken 5,99 ml olarak ölçüldüğü görülmektedir. A2 aşısının kullanıldığı deneylerde ise maksimum gaz verimi pH=6 değerinde 4,63 ml ölçülmüştür. A3 aşısı kullanıldığında pH 4-7 aralığında büyük farklılık gösteremezken pH=8 olduğunda hidrojen gazı verimi bariz bir artış gösterimiştir. Bu pH değerinde elde edilen biyogaz miktarı 16,24 ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.124). Elde edilen veriler fıstık küspesinden hidrojen gazı eldesinde aşı seçiminin ve pH'ın önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

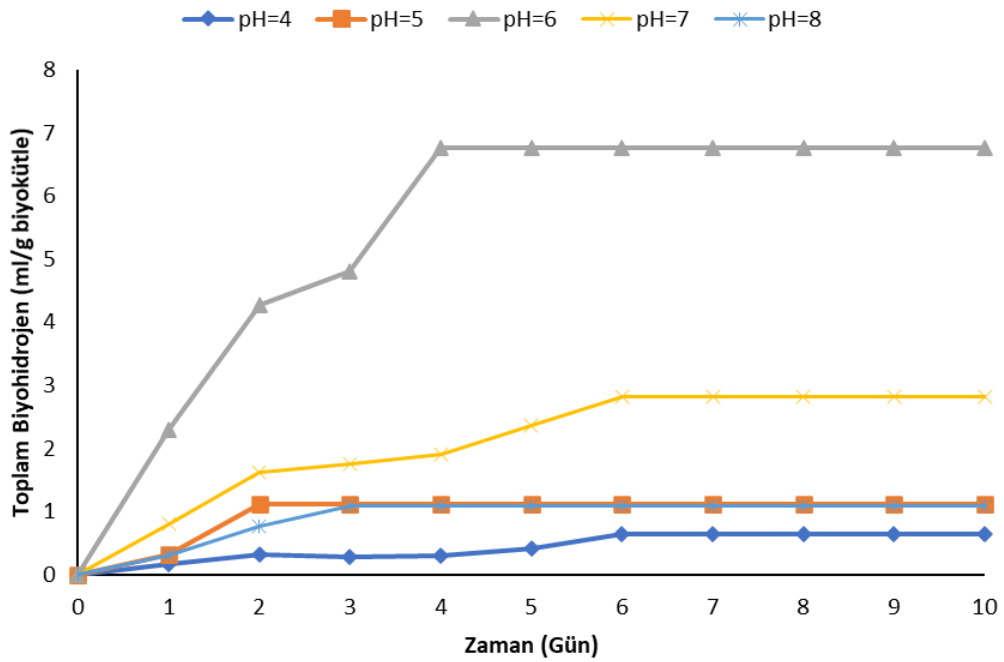
4.4.4.7. Pamuk atıklarından hidrojen üretimine pH'ın etkisi



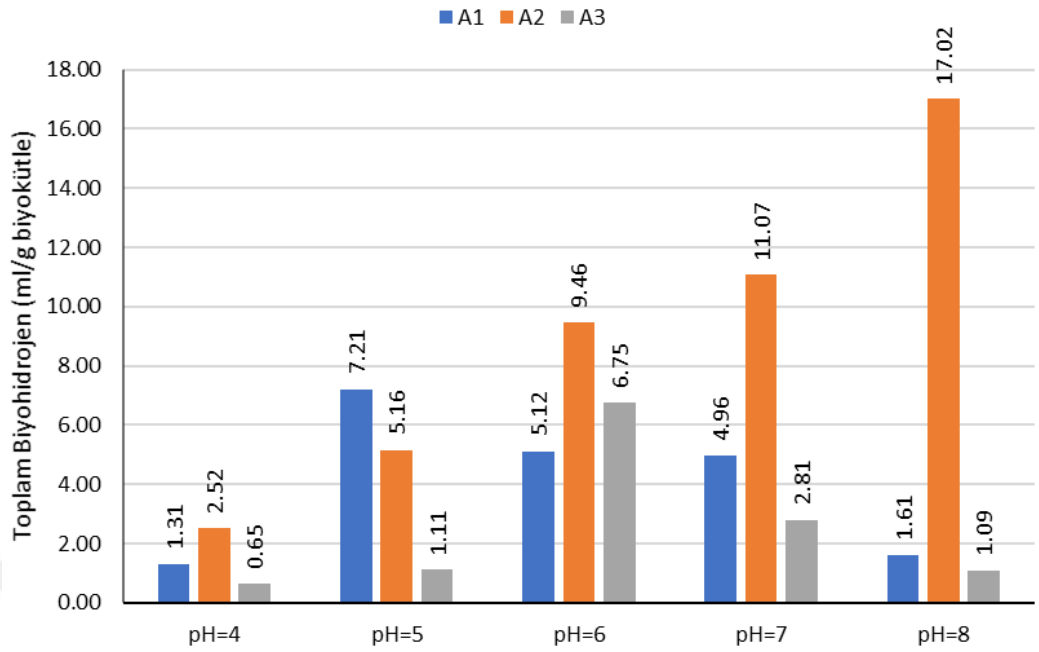
Şekil 4.125. Pamuk atıklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.126. Pamuk atıklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



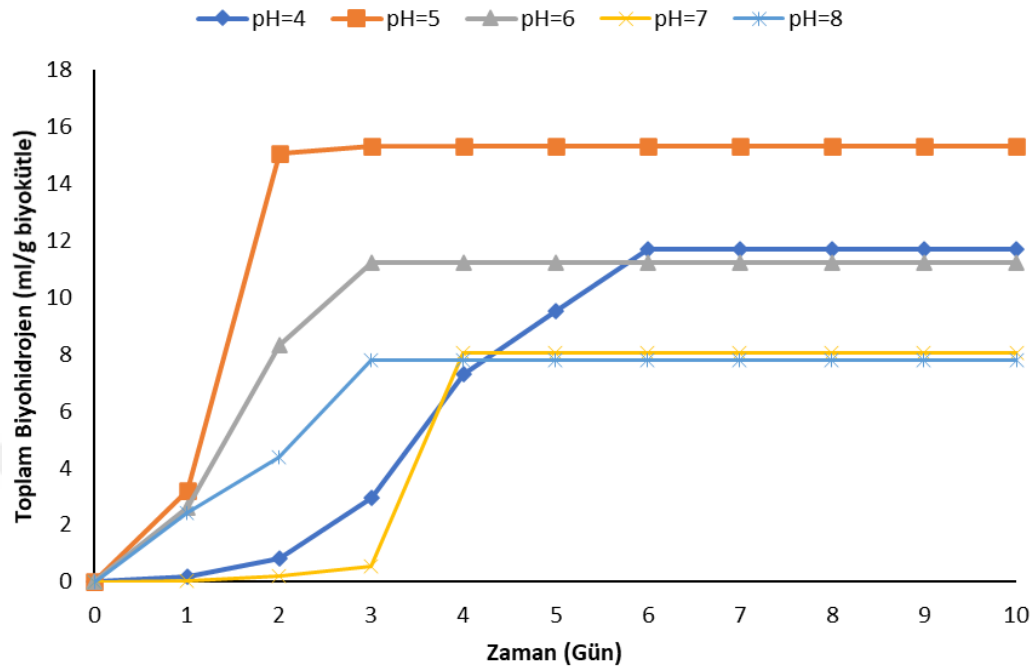
Şekil 4.127. Pamuk atıklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



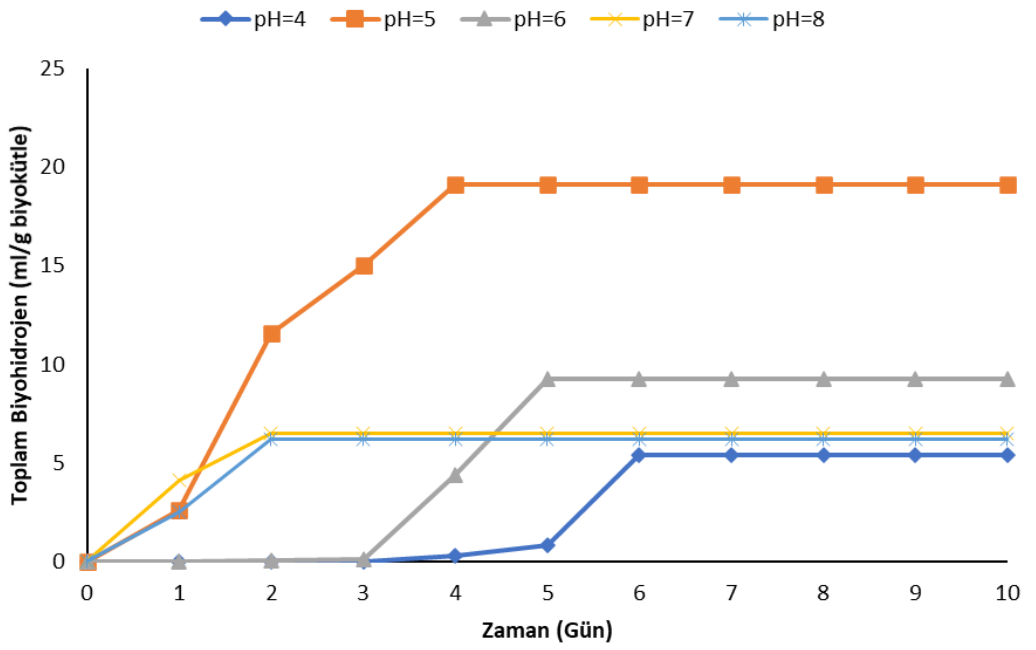
Şekil 4.128. Pamuk atıklarından hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.125, 4.126 ve 4.127'ye bakıldığında A2 aşısı için düşük pH değerlerinde gaz verimi düşük iken artan pH değerlerinde gaz veriminin de arttığı görülmektedir. Pamuk atıklarından elde edilen biyogaz verimleri kıyaslandığında A2 aşısı için çalışılan pH değerleri aralığında en ideal pH'ın 8 olduğu ve bu pH değerinde elde edilen hidrojen miktarının 17.02 ml olduğu şekil 76'dan anlaşılmaktadır. A1 aşısı kullanıldığında ise pamuk atıklarından maksimum gaz veriminin pH=5 değerinde 7.21 ml olduğu hesaplanmıştır. A3 aşısı kullanıldığında açığa çıkan hidrojen gazı miktarının maksimum değeri pH=6 değerinde 6.75 ml olarak hesaplanmıştır. Elde edilen veriler pamuk atıklarından hidrojen eldesinde aşı seçimi ve pH'ın önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

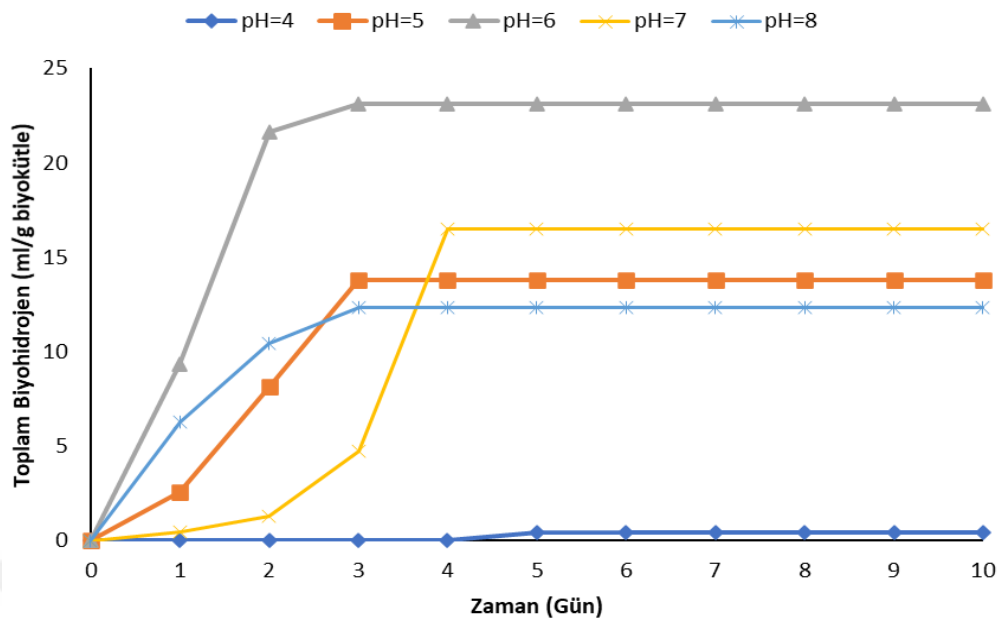
4.4.4.8. Nar kabuğu atıklarından hidrojen üretimine pH'ın etkisi



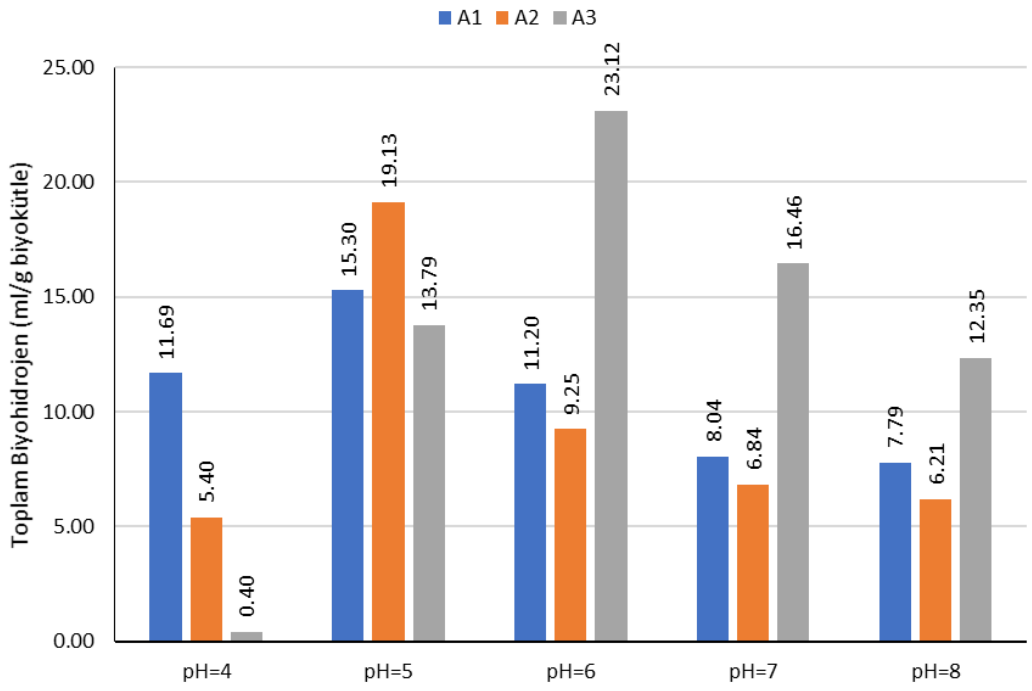
Şekil 4.129. Nar kabuklarından A1 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.130. Nar kabuklarından A2 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.131. Nar kabuklarından A3 aşısı kullanılarak elde edilen toplam hidrojen verimine pH'ın etkisi



Şekil 4.132. Nar kabuklarından hidrojen eldesinde farklı pH'larda farklı aşılar kullanımı sonucu elde edilen gaz verimleri (ml/g biyokütle)

Şekil 4.129, 4.130 ve 4.131'e bakıldığında nar kabukları için farklı pH değerlerinde elde edilen hidrojen gazı miktarları da değişkenlik göstermektedir. Elde edilen verilere göre en yüksek hidrojen gazı verimi A3 aşısı ve pH=6 değerinde 23.12

ml olarak hesaplanmıştır. A2 aşısı kullanıldığında ve pH=5 iken 19.13 ml ile maksimum hidrojen gazı elde edilmiştir. A1 aşısı için ise ideal pH değeri 5 olarak belirlenmiş ve bu pH değerinde elde edilen hidrojen miktarı 15.30 ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.132). Elde edilen veriler nar kabuklarından hidrojen gazı eldesinde aşı seçimi ve pH'ın önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

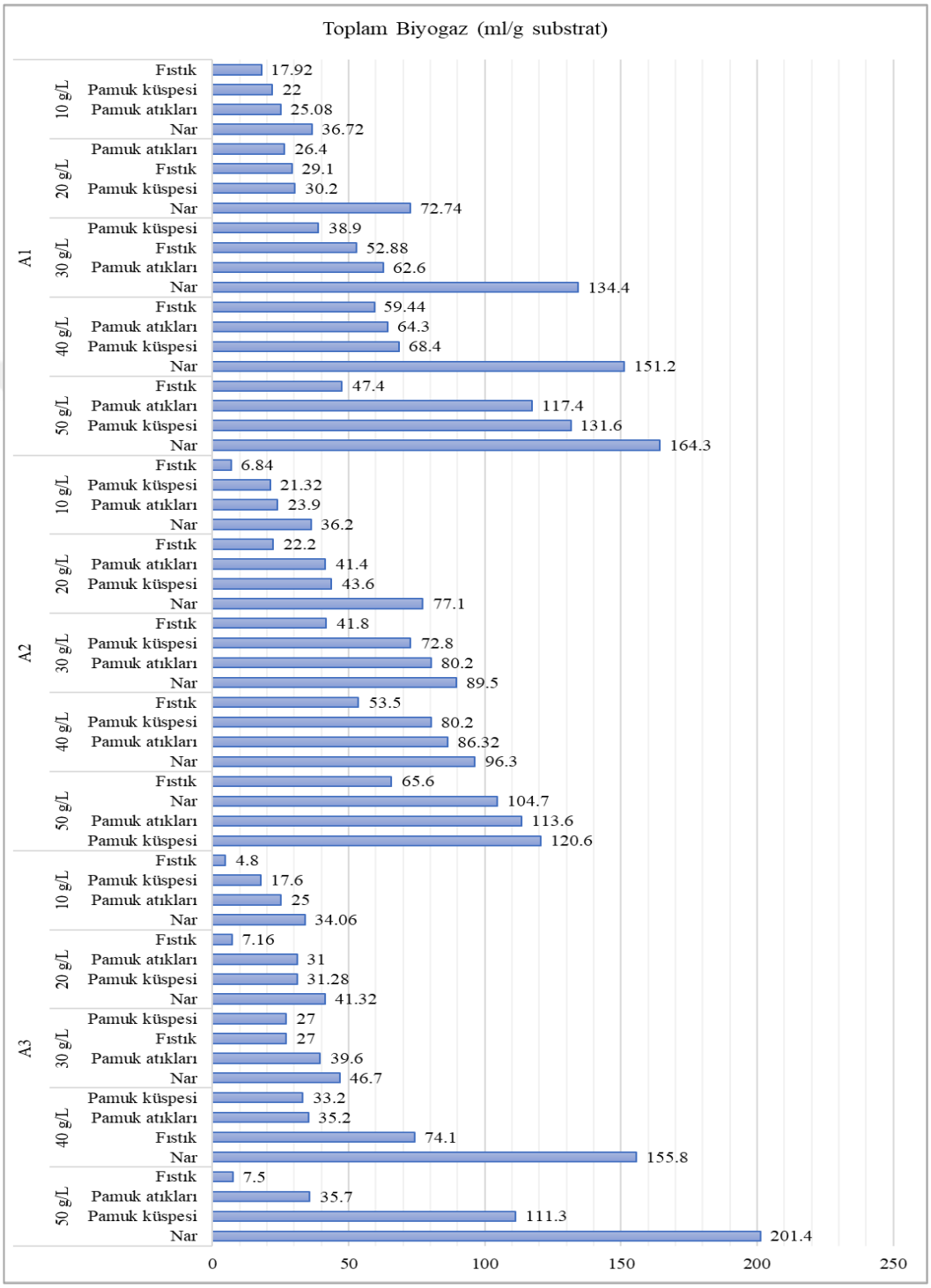
Aşı kaynağına, aşının zenginleştirme yöntemine, substrat tiplerine, ön işleme ve kullanılan işleme bağlı olarak, biyohidrojen üretimi için optimum pH 4,5 ila 9,0 gibi geniş bir aralıkta değişebilir (Salakkam ve ark., 2021). Karanlık fermantasyon prosesleri sırasında biyohidrojen üretimi, 4'ten düşük pH'larda engellenir. Düşük pH, hidrojenaz enzimlerinin aktivitesini etkiler ve hidrojen üreticilerinin etkisini engeller. pH 5'te biyokütle daha az büyümesi nedeniyle hidrojen verimi düşer, etkin hidrojen üretimi, 5.5 pH'ın üzerinde gerçekleşir (Preethi ve ark., 2019). Öte yandan, yüksek pH seviyelerinde hidrojen verimi giderek azalsa da hidrojenin oluşum süresi daha kısa olmaktadır (Luo ve ark., 2010). Aşırı pH koşullarında, sporla çoğalan, hidrojen üreten mikroorganizmalar hayatta kalabilirken metanojenler elimine edilecektir. Kümülatif hidrojen üretim hızı ve hidrojen verimi genel olarak pH ile ters orantılı olarak değişir (Silva ve ark., 2019). Literatürden, pH'ın 5.5-6.5'te tutulduğu ve bunun da biyohidrojen üretimini %60-70 oranında arttırdığı kaydedilmiştir (Salakkam ve ark., 2021). pH, bakterilerin büyümesini sınırlamada önemli bir rol oynar ve ayrıca toplam solvent konsantrasyonunu gösterir. Yüksek hidrojen üretimi ve daha düşük solvent üretimi için de optimum pH 5.5 ile 6.5 arasındadır (Preethi ve ark., 2019).

4.5. Elde Edilen Gaz Verimlerinin Biyokütle Kaynağı Türlerine Göre Verimleri

4.5.1. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması

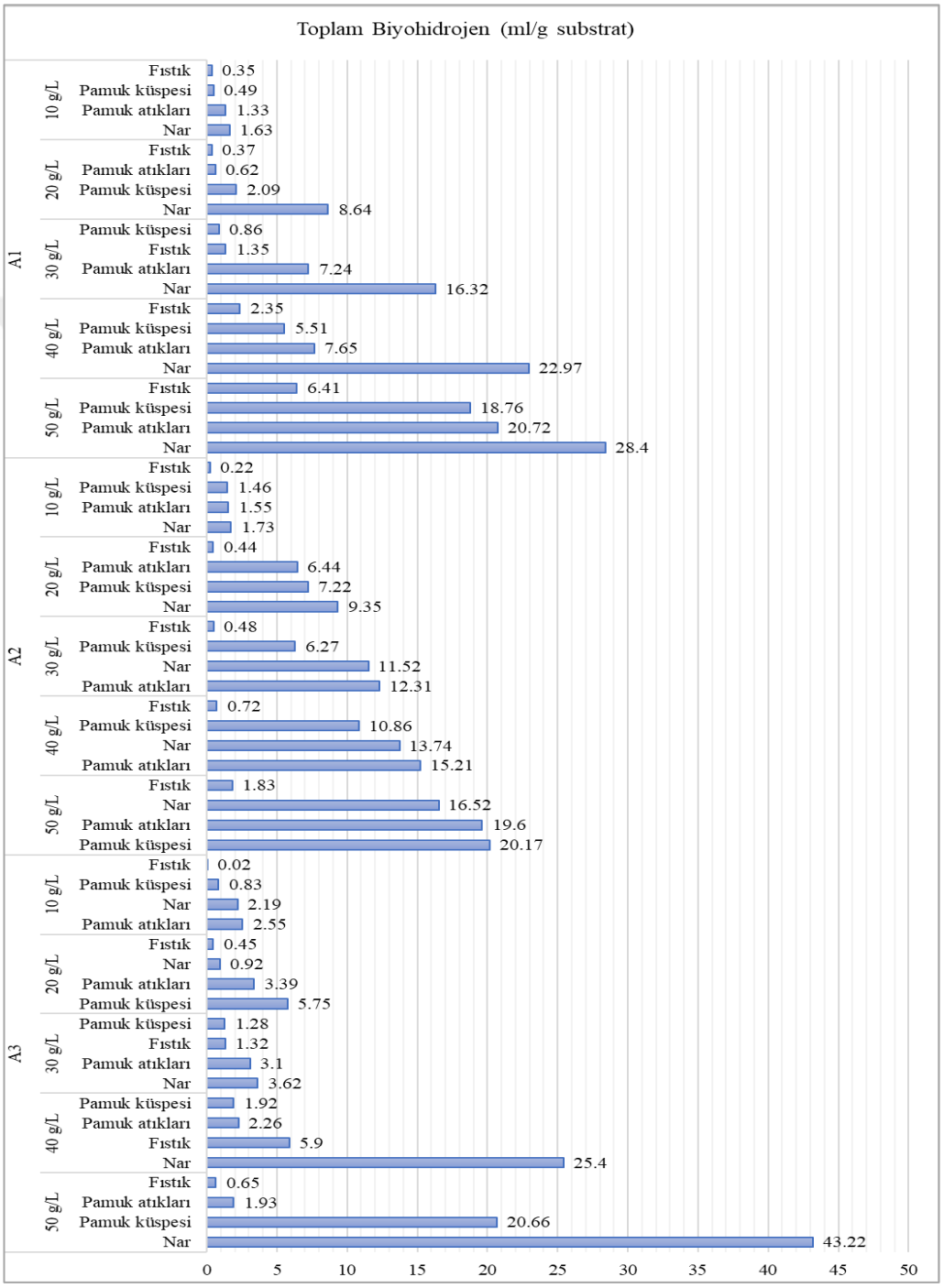
Çalışmada kullanılan 4 biyokütle kaynağının farklı biyokütle konsantrasyonlarında elde edilen biyogaz miktarları Şekil 4.133.'te verilmiştir. Toplam biyogaz miktarları genel olarak nar kabuğunda ve 50 g/L biyokütle konsantrasyonununda açığa çıkmıştır. En yüksek biyogaz miktarı 201.4 ml/g substrat

değerinde A3 aşısı ile, 50 g/L biyokütle konsantrasyonunda nar kabuklarından elde edilmiştir.



Şekil 4.133. Toplam biyogaz miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması

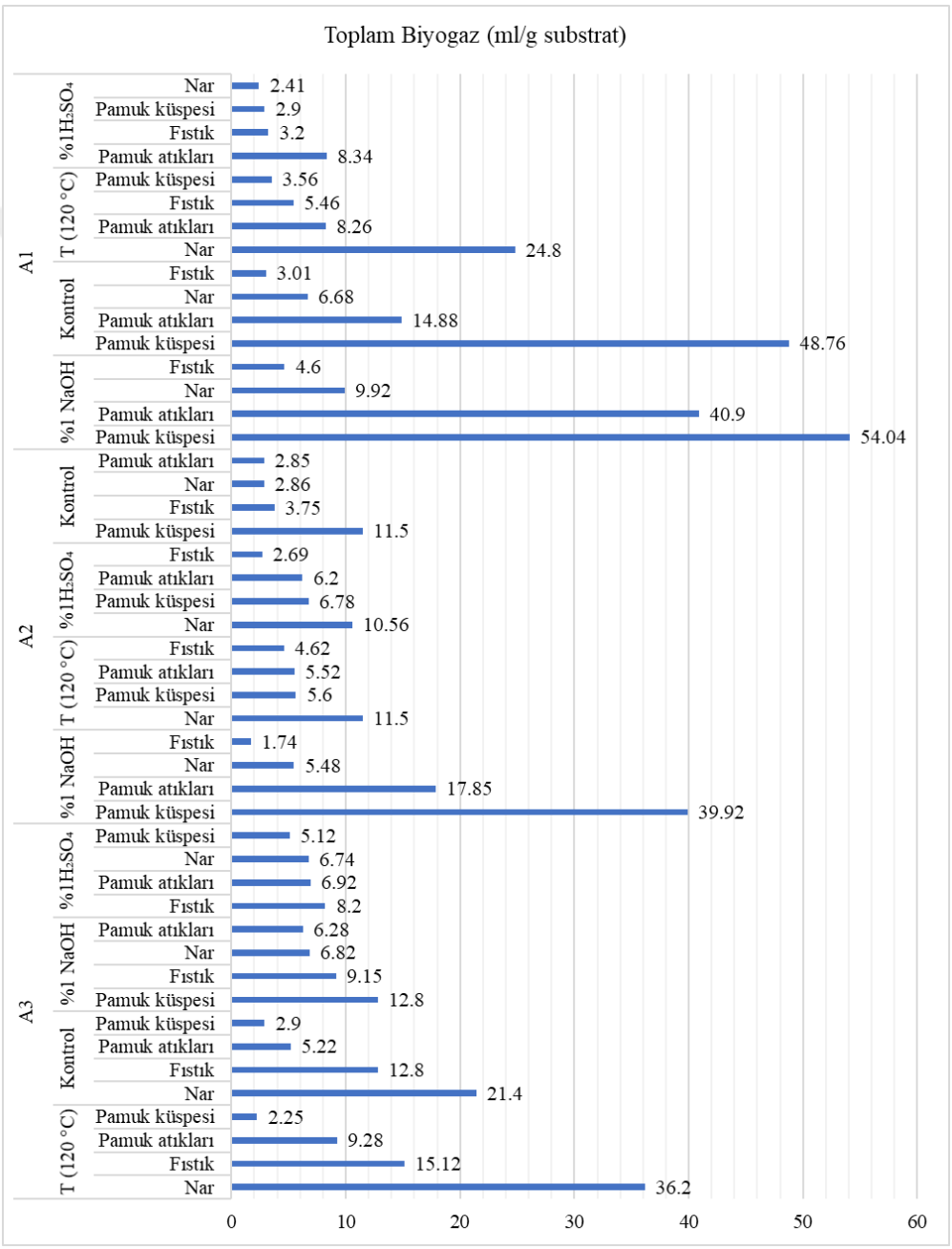
Şekil 4.134'e bakıldığında da biyohidrojen miktarları genel olarak nar kabuğunda ve 50 g/L biyokütle konsantrasyonununda açığa çıkmıştır. En yüksek biyohidrojen miktarı 43.22 ml/g substrat değerinde A3 aşısı ile, 50 g/L biyokütle konsantrasyonunda nar kabuklarından elde edilmiştir.



Şekil 4.134. Toplam biyohidrojen miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması

4.5.2. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı ön işlemler etkisi ile biyokütle türlerine göre kıyaslanması

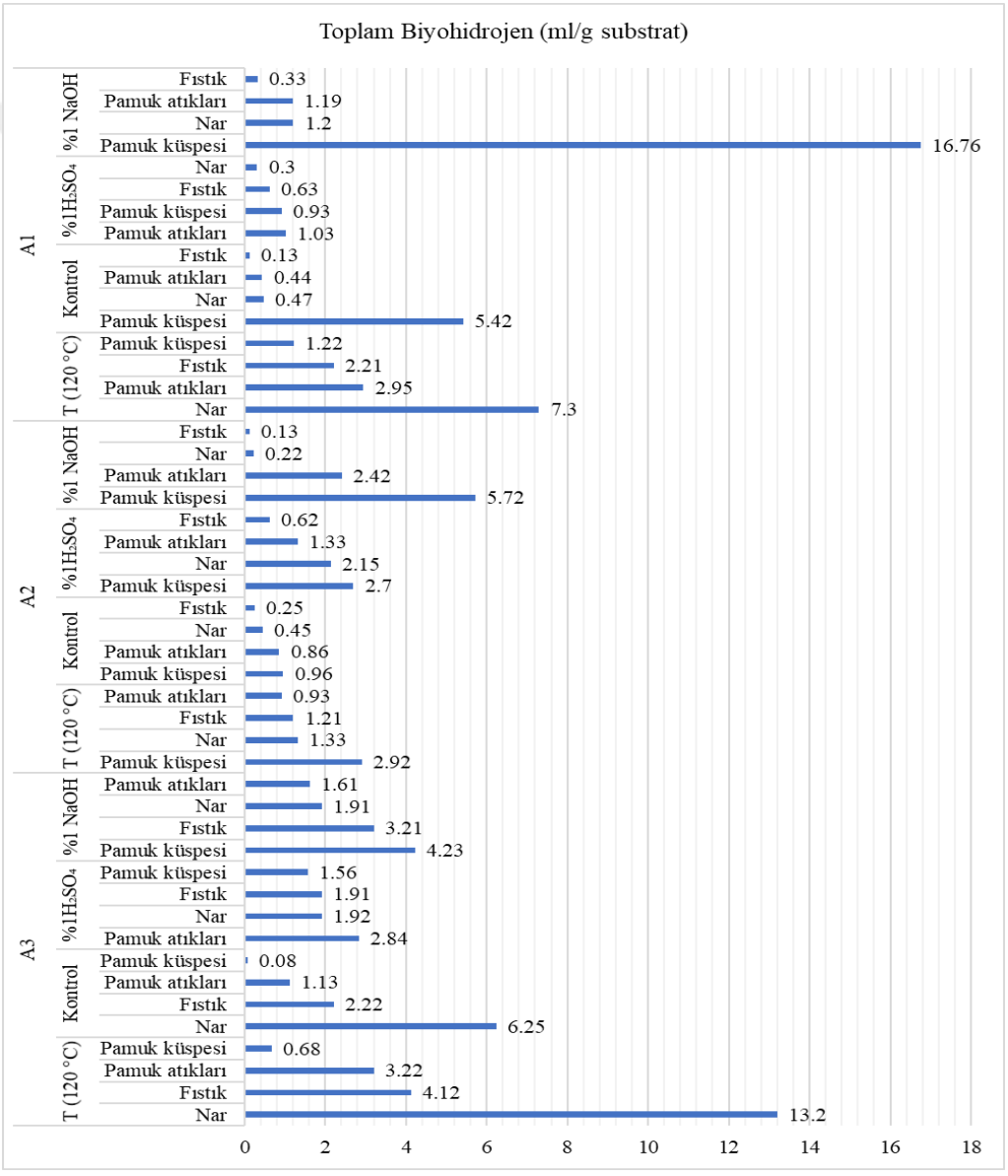
Farklı ön işlem uygulanmış 4 biyokütle kaynağından elde edilen biyogaz miktarları Şekil 4.135'te verilmiştir. Biyogaz miktarı uygulanan ön işleme ve kullanılan aşıya göre değişkenlik göstermiştir.



Şekil 4.135. Toplam biyogaz miktarlarının farklı biyokütle konsantrasyonlarında biyokütle türlerine göre kıyaslanması

Ön işlem biyokütlenin organik bileşenlere dönüşmünü etkilemekte ve kullanılan mikrobiyal topluluk da farklı reaksiyon gösterebilmektedir. Şekil 4.134'e bakıldığında en yüksek biyogaz miktarı A1 aşısı, alkali ön işlem (%1'lik NaOH) uygulanarak pamuk küspesinden 54.04 ml/g substrat olarak ölçülmüştür.

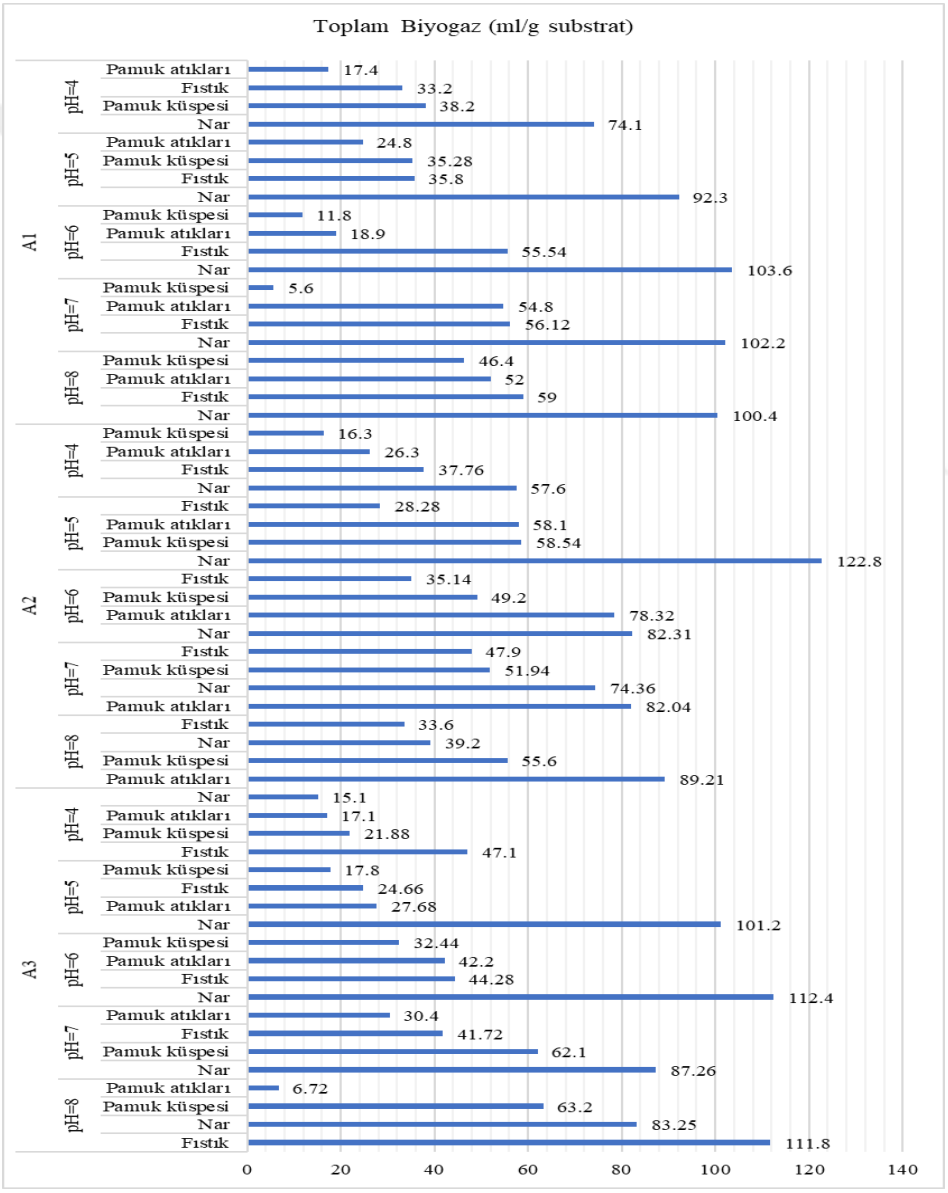
Şekil 4.136'a bakıldığında da en yüksek biyohidrojen miktarı 16.76 ml/g substrat değerinde A1 aşısı ile, alkali (%1 NaOH) ön işlem ile pamuk küspesinden elde edilmiştir.



Şekil 4.136. Toplam biyogaz miktarlarının farklı ön işlemlerde biyokütle türlerine göre kıyaslanması

4.5.3. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı pH'larda biyokütle türlerine göre kıyaslanması

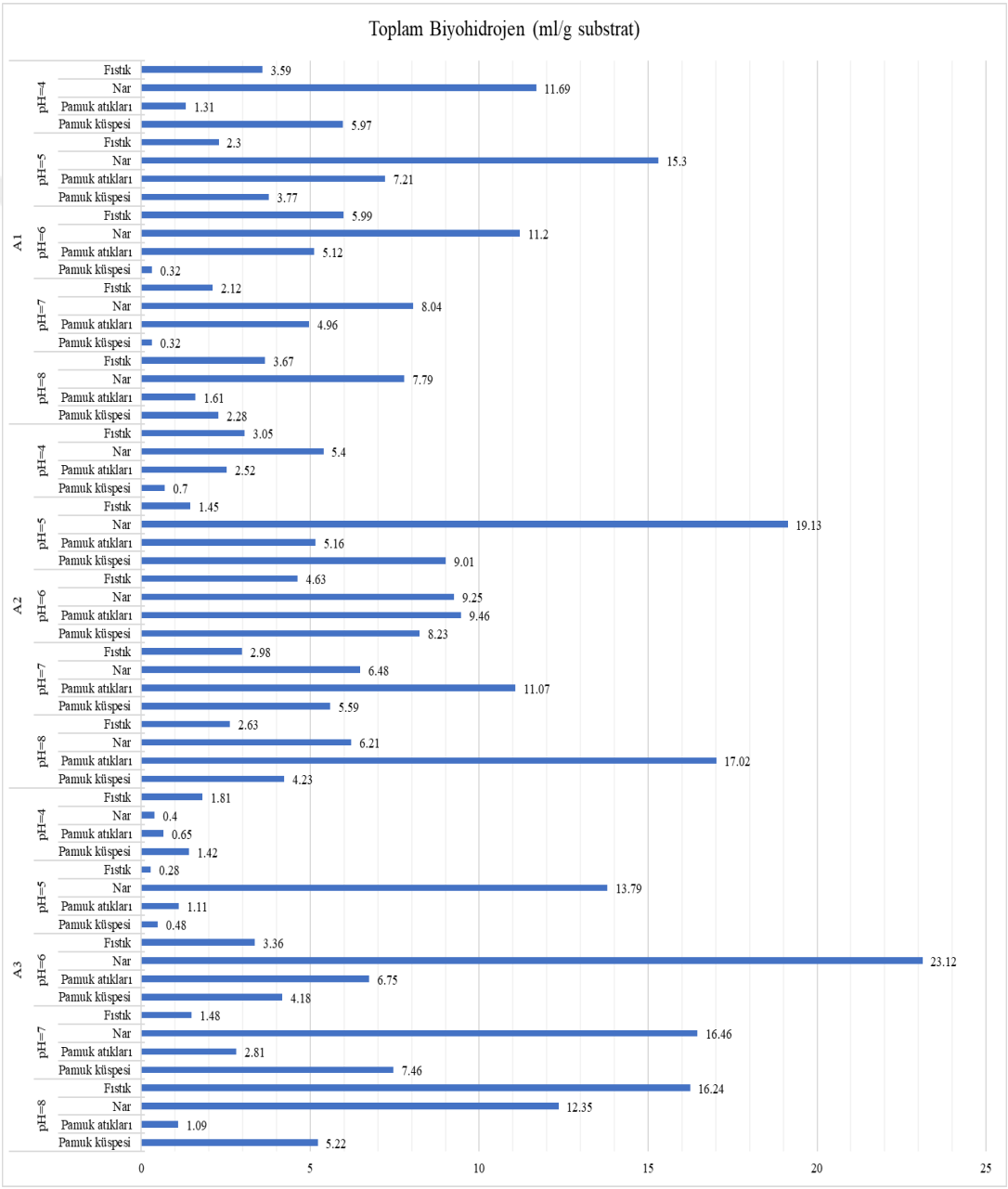
pH karanlık fermantasyonu etkileyen önemli parametrelerden biridir. Farklı pH'larda 4 biyokütle kaynağından elde edilen biyogaz miktarları Şekil 4.137'de verilmiştir. Elde edilen verilere göre biyogaz miktarı pH'ya ve kullanılan aşıya göre değişkenlik göstermiştir.



Şekil 4.137. Toplam biyogaz miktarlarının farklı pH'larda biyokütle türlerine göre kıyaslanması

pH ortamdaki mikrobiyal kültürün etkisini değiştiren önemli faktörlerden biridir. Şekil 4.137'ye bakıldığında en yüksek biyogaz miktarı pH 5'te, A2 aşısı ilavesinde nar kabuklarından 122.8 ml/g substrat olarak ölçülmüştür.

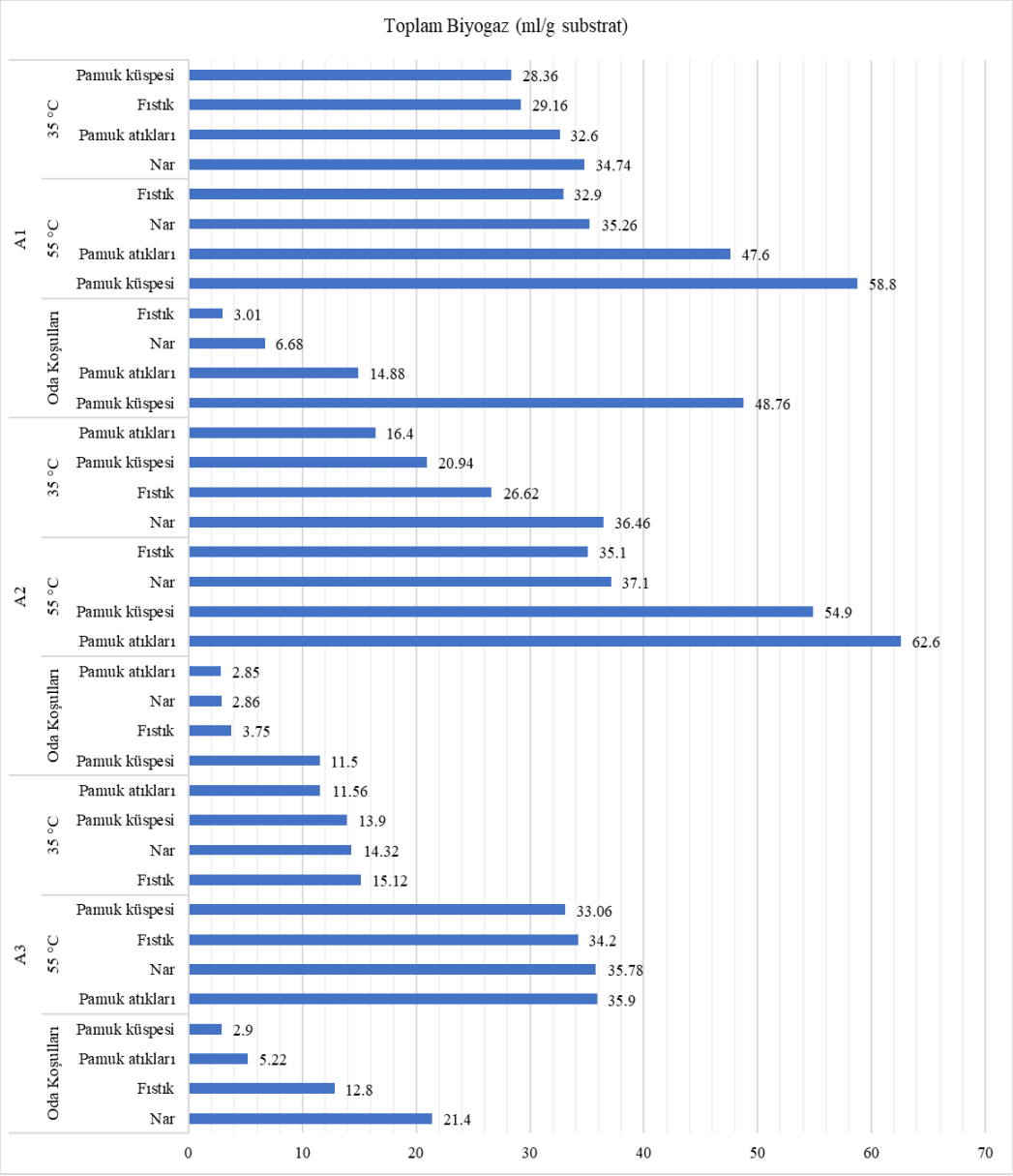
Şekil 4.138'e bakıldığında da en yüksek biyohidrojen miktarı 23.12 ml/g substrat değerinde A3 aşısı ile, pH 6'da nar kabuklarından elde edilmiştir.



Şekil 4.138. Toplam biyohidrojen miktarlarının farklı pH'larda biyokütle türlerine göre kıyaslanması

4.5.4. Toplam biyogaz ve biyohidrojen miktarlarının farklı sıcaklıklarda biyokütle türlerine göre kıyaslanması

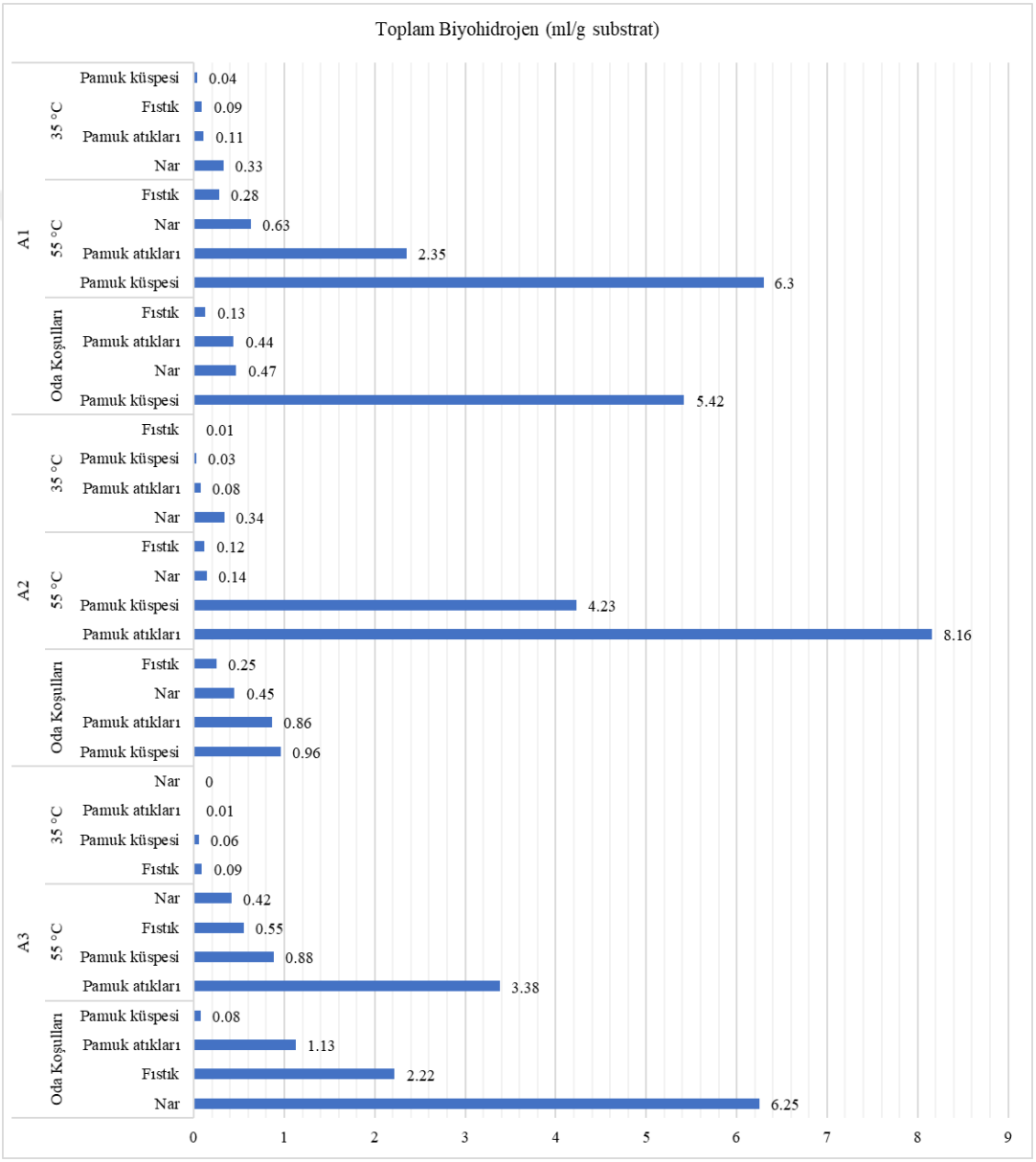
Biyokütleden biyogaz eldesinde fermantasyon sürecini, mikrobiyal kültürü etkileyen önemli işletme parametrelerden biri de sıcaklıktır. Farklı farkıl sıcaklıklarda 4 biyokütle kaynağından elde edilen biyogaz miktarları Şekil 4.139'da verilmiştir. Elde edilen verilere göre biyogaz miktarı farklı sıcaklıklarda değişkenlik göstermiştir.



Şekil 4.139. Toplam biyogaz miktarlarının farklı sıcaklıklarda biyokütle türlerine göre kıyaslanması

Sıcaklık ortamdaki mikrobiyal kültürün etkisini değiştiren önemli faktörlerden biridir. Şekil 4.139'a bakıldığında en yüksek biyogaz miktarı 55 °C sıcaklıkta, A2 aşısı ilavesinde pamuk atıklarından 62.6 ml/g substrat olarak ölçülmüştür.

Şekil 4.140'a bakıldığında da en yüksek biyohidrojen miktarı miktarı 55 °C sıcaklıkta, A2 aşısı ilavesinde pamuk atıklarından 8.16 ml/g substrat elde edilmiştir.



Şekil 4.140. Toplam biyohidrojen miktarlarının farklı sıcaklıklarda biyokütle türlerine göre kıyaslanması

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Günümüzde fosil yakıtların hızla tükenmesi ve çevreye verdikleri zararlar dikkate alındığında bilimsel çalışmaları alternatif enerji kaynaklarına yöneltmiştir. Bu çalışmaların çoğunluğu yenilenebilir enerji kaynakları alanında yoğunlaşmaktadır. Yenilenebilir enerji kaynaklarının önemli bir alanı da hidrojen enerjisidir. Hidrojen düşük molekül ağırlığı, yüksek enerji verimliliği nedeniyle enerji çalışmalarında öne çıkmaktadır. Hidrojen üretimi fiziksel, kimyasal ve biyolojik yollarla gerçekleştirilebilmektedir.

Biyolojik yöntemlerle hidrojen eldesi fermantasyon temelli olup bu yöntemde farklı mikrobiyal kültürler kullanılmaktadır. Fermantasyonla üretilen hidrojenin en önemli iki yönü ekonomik ve çevre dostu olmasıdır. Bu sebeple yenilenebilir enerji kaynakları arasında öne çıkan alternatif bir enerj kaynağıdır.

Literatürde fermantasyonla hidrojen üretiminde substrat olarak çok çeşitli biyokütle kaynakları kullanılmıştır. Fermantasyonla hidrojen üretiminde düşük gaz verimleri nedeniyle son yıllarda verimi arttırmaya ilişkin çalışmalara literatürde çokça rastlanmaktadır. Ancak bu alanda yapılan çalışmaların çoğu laboratuvar ölçekli olup uygulamaya dönüştürülmesi için bilimsel çalışmalar devam etmektedir. Fermantasyonla hidrojen üretimini daha büyük ölçeklerde uygulamaya koyabilmek için verim arttırmaya ilişkin farklı mikroorganizmaların kullanılması; sıcaklık, pH, organik yükleme gibi birçok işletme parametresi üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Biyolojik yolla hidrojen üretimininde düşük maliyet ve düşük enerji gereksinimi, işletme parametrelerinin uygulanabilirliği bu yöntemi önemli kılmaktadır.

GAP bölgesindeki yaygın tarımsal endüstriyel atıkların biyohidrojen potansiyellerinin belirlenmesi ve biyohidrojen üretimi için optimum koşulların belirlenmesi amacıyla bölgede üretimi yapılan pamuk, fıstık ve nar üretim miktarları araştırılmış, ortaya çıkan atık miktarları değerlendirilmiş ve bu atıkların temini sağlanmıştır. Bu biyokütle kaynaklarına ısıl ve kimyasal olmak üzere ön işlemler

uygulanmıştır. Çalışmada ön işlem, sıcaklık, pH ve biyokütle yükleme etkileri baz alınarak optimal koşullar belirlenmiş ve atık olarak nitelendirilen biyokütle kaynaklarından en yüksek verimin hangi koşullarda sağlandığı ortaya konmuştur. Böylelikle atıklardan biyohidrojen üretmek, bu üretimi etkileyen koşulları ile üretim verimini arttıracak alternatifleri belirlemek ve literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Biyokütle kaynaklarından hidrojen eldesinde fermantasyonu sağlayan mikrobiyal kültürler görev alır. Bu mikrobiyal kültür ortamdaki biyokütlenin düşük molekül kütleli organik bileşenlere ve biyogaza dönüşümünü sağlar. Literatürde biyohidrojen dönüşümü için saf veya karışık kültürler kullanılabilmektedir. Karışık kültür aşılar maliyet ve uygulama açısından en çok tercih edilen kaynaklardır. Bu çalışmada fermantasyon için 3 farklı karışık kültür aşı kullanılmıştır. Bunlar; Adana Anadolu Efes fabrikası anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru (A1), Şanlıurfa evsel atıksu arıtma tesisi anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru (A2), Düzce Pakmaya maya endüstrisi anaerobik arıtma tankından alınan aşı çamuru (A3**)** temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan aşıların DNA analizleri yapılmış ve hidrojen üretiminde kullanılabilecek *Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes* ve *Proteobacteria* türlerinin baskın olduğu ve hidrojen üretimi için uygulanabilirliği görülmüştür. Türlerin gaz verimine etkileri kıyaslandığında ortamın pH'sının, sıcaklığın ve kullanılan biyokütle kaynaklarının değişmesiyle mikrobiyal türlerin de farklı davranışlar gösterdiğini ortaya koymuştur.

Çalışmada ele alınan 4 biyokütle kaynağı için sıcaklık, pH, organik yükleme ve ön işlem olmak üzere 4 farklı işletme parametresi araştırılmıştır. Ön işlemin etkisi incelendiğinde kontrol, alkali, asit ve termal olmak üzere 4 farklı ön işlem uygulanmıştır. Tüm reaktörlerde pH 5.5 olarak ayarlanmış, reaktörlere 1'er gram biyokütle konulmuştur. Pamuk küspesi için en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimleri alkali ön işlemin etkisiyle ve A1 aşısı kullanılarak elde edilmiştir. Bu gazların verimleri sırası ile 54.04 ml/g substrat, 16.76 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. Fıstık küspesi için en yüksek gaz verimleri termal ön işlem ve A3 aşısı kullanılarak gerçekleşmiş ve biyogaz verimi 15.12 ml/g substart; biyohidrojen verimi 4.12 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. Pamuk atıklarından elde edilen en yüksek biyogaz verimi

alkali ön işlem ve A1 aşısının etkisi ile gerçekleşmiş ve 40.9 ml/g substrat olarak bulunmuştur. Pamuk atıklarından biyohidrojen eldesinde ise en yüksek verim termal ön işlem ve A3 aşısı kullanıldığında 3.18 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Nar kabuklarından biyogaz ve biyohdirojen üretiminde elde edilen en yüksek biyogaz ve biyohidrojen miktarları termal ön işlem ve A3 aşısı ortamında gerçekleşmiş ve sırası ile 36.2 ml/g substrat, 13.2 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. 4 biyokütle kaynağı için en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimi pamuk küspesinden (sırası ile 54.04 ml/g substrat, 16.76 ml/g substrat) A1 aşısı ile, alkali ön işlem uygulanarak elde edilmiştir.

Çalışmada ikinci olarak incelenen parametre sıcaklık etkisi olmuştur. Çalışmada oda sıcaklığı (25 °C), mezofilik (35 °C) ve termofilik (55 °C) olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Tüm reaktörlerde pH 5.5 olarak ayarlanmış, reaktörlere 1'er gram biyokütle konulmuştur. Pamuk küspesi için en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimleri 55 °C'de ve A1 aşısı kullanılarak elde edilmiştir. Bu gazların verimleri sırası ile 58.8 ml/g substrat, 6.30 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. Fıstık küspesi için en yüksek biyogaz verimi 55 °C'de ve A2 aşısı kullanılarak 35.1 ml/g substrat olarak bulunmuştur. En yüksek biyohidrojen verimi ise oda koşullarında A3 aşısı kullanıldığında 2.22 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Pamuk atıklarından elde edilen en yüksek gaz verimleri 55 °C'de ve A2 aşısı kullanılarak gerçekleşmiş ve biyogaz verimi 62.16 ml/g substart; biyohidrojen verimi 8.16 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. Nar kabukları için en yüksek biyogaz verimi 55 °C'de ve A2 aşısı kullanılarak 37.1 ml/g substrat olarak bulunmuştur. En yüksek biyohidrojen verimi ise oda koşullarında A3 aşısı kullanıldığında 6.25 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. 4 biyokütle kaynağı için en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimi pamuk atıklarından (sırası ile 62.6 ml/g substrat, 8.16 ml/g substrat) A2 aşısı ile, 55 °C sıcaklık uygulanarak elde edilmiştir.

Çalışmada üçüncü olarak incelenen parametre biyokütle konsantrasyonunun etkisi olmuştur. Biyokütle kaynaklarının fermantasyonu 10 g substrat/L, 20 g substrat/L, 30 g substrat/L, 40 g substrat/L ve 50 g substrat/L olmak üzere beş farklı biyokütle konsantrasyonunda ve oda koşullarında gerçekleştirilmiştir. Tüm

reaktörlerde pH'5.5 olarak ayarlanmıştır. Pamuk küspesi için en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimleri 50 g/L konsantrasyonda açığa çıkmıştır. Bu konsantratsyonda en yüksek biyogaz verimi A1 aşısı kullanıldığında 131.6 ml/g substrat olarak; en yüksek biyohidrojen verimi ise A3 aşısı kullanıldığında 20.66 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Fıstık küspesi için en yüksek biyogaz verimi 40 g substrat/L konsantrasyonunda ve A3 aşısı kullanılarak 74.1 ml/g substrat olarak bulunmuştur. En yüksek biyohidrojen verimi ise 50 g substrat/L konsantrasyonunda A1 aşısı kullanıldığında 6.41 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Pamuk atıklarından elde edilen en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimleri 50 g/L konsantrasyonda ve A1 aşısı kullanıldığında açığa çıkmıştır. Bu konsantratsyonda en yüksek biyogaz verimi 117.4 ml/g substrat olarak; en yüksek biyohidrojen verimi ise 20.72 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Nar kabukları için elde edilen en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimleri 50 g/L konsantrasyonda ve A3 aşısı kullanıldığında açığa çıkmıştır. Bu konsantratsyonda en yüksek biyogaz verimi 201.4 ml/g substrat olarak; en yüksek biyohidrojen verimi ise 43.22 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. 4 biyokütle kaynağı için en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimi nar kabuklarından (sırası ile 201.4 ml/g substrat; 43.22 ml/g substrat) A3 aşısı ile, 50 g substrat/L konsantrasyonda elde edilmiştir.

Biyolojik yolla biyohidrojen üretiminde en önemli parametrelerden biri de pH'dır. pH ortamdaki mikroorganizmaların biyolojik aktivitelerini önemli oranda etkilemekte olup, farklı aşılarda pH farklı etkilemektedir. Çalışma oda koşullarında, 10 g substrat/L çözelti konsantrasyonunda, 4 ile 8 aralığında 5 farklı pH değerinde çalışılmıştır. Pamuk küspesi için en yüksek biyogaz verimi pH 8 değerinde A3 aşısı kullanıldığında 63.2 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. Pamuk küspesinden biyohidrojen verimi ise pH 2'de A2 aşısı kullanıldığında 9.01 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Fıstık küspesi için en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimleri pH 8 değerinde ve A3 aşısı kullanılarak elde edilmiştir. Bu gazların verimleri sırası ile 111.8 ml/g substrat, 16.24 ml/g substrat olarak ölçülmüştür. Pamuk atıklarından elde edilen en yüksek biyogaz ve biyohidrojen verimleri pH 8'de ve A2 aşısı kullanıldığında açığa çıkmıştır. Bu konsantratsyonda en yüksek biyogaz verimi 89.21 ml/g substrat olarak; en yüksek biyohidrojen verimi ise 17.02 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Nar

kabukları için elde edilen en yüksek biyogaz verimi pH 5'te A2 aşısı kullanıldığın 89.21 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. Nar kabuklarından en yüksek biyohidrojen verimi ise pH 6'da ve A3 aşısı kullanıldığında 23.12 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır. 4 biyokütle kaynağı için en yüksek biyogaz verimi nar kabuklarından pH 5'te A2 aşısı ile 122.8 ml/g substrat olarak hesaplanmış; en yüksek biyohidrojen verimi ise nar kabuklarından, A3 aşısı ile pH 6'da 23.12 ml/g substrat olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen bu veriler ışığında şu önerilerde bulunulabilir:

-Temel geçim kaynağı tarım ve hayvancılık olan GAP bölesinde atık olarak değerlendirilen birçok biyokütle kaynağı uygun proseslerle ve uygun işletme parametreleriyle daha verimli kullanılabilir. Bu biyokütle kaynaklarının araştırılması ve uygun koşullarda biyoenerji alternatifleri belirlenmelidir.

-Biyoenerji alanında kullanılacak biyokütle kaynakaları ihtiva ettikleri organik bileşenler bakımından çok çeşitlilik gösterdiğinden her bir biyokütle için en uygun ön işlemin seçilmesi gerekmektedir. Kullanılan biyokütle kaynakları için en uygun ön işlemi belirlemek adına biyokütle kaynaklarının muhtevası belirlenmelidir.

-Biyokütle kaynaklarına uygulanan ön işlemin gaz verimini etkilediği görülmüştür. Alkali, asit ve sıcaklık gibi ön işlemlerle birlikte değişen konsantrasyonlarda ve farklı kimyasal bileşenler ile gaz verimleri araştırılabilir.

-Değişen biyokütle konsantrasyonlarının elde edilen gaz verimlerini de etkilediği göz önüne alındığında bundan sonraki çalışmalar için de farklı biyokütle konsantrasyonlarına ilişkin çalışmalar yapılmalıdır.

-Biyogaz ve biyohidrojen üretiminde kullanılan biyokütle kaynağı ve aşı kaynağına göre pH'nın önemli bir parametre olduğu görülmüştür. Biyohidrojen üretiminde kullanılacak biyokütle kaynaklarına en uygun pH'nın belirlenmesi gerekmektedir.

- Kullanılan aşı kültürü gaz verimini etkileyen bir başka faktördür. Her kaynak farklı koşullarda, farklı aşı kaynakları ile farklı oranlarda gaz açığa çıkarmaktadır. Bu sebeple kullanılacak karışık kültür aşılar seçilirken genomik DNA analizleri yapılarak verim arttırılabilir.

-Bu çalışmada ön işlem, pH, biyokütle konsantrasyonu ve sıcaklık etkileri araştırılmıştır. GAP bölgesinde üzüm, buğday, mısır, nohut, mercimek, badem gibi birçok bitki yetişmekte olup, bunların atıklarının da biyoenerji verimleri araştırılabilir.

KAYNAKLAR

AL-MOHAMMEDAWI, H. H., ZNAD, H. and EROGLU, E., 2018. Synergistic effects and optimization of photo-fermentative hydrogen production of Rhodobacter sphaeroides DSM 158. International Journal of Hydrogen Energy, 43: 15823–15834.

ALAVI-BORAZJANI, S. A., DA CURUZE TARELHO, L. A. and CAPELA, M. I., 2021. Parametric optimization of the dark fermentation process for enhanced biohydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste using Taguchi method. International Journal of Hydrogen Energy, 46: 21372–21382.

ALKAYA, E., 2010. Lif Pamuk üretimi yan ürünlerinin artıklarının katma değerli ürünlere dönüştürülmesi: mevcut uygulamalar ve teknolojik gelişmeler. 2. Ulusal Katı Atık Yönetimi Kongresi, 3–8.

ARGUN, H. and DAO, S., 2017. Biohydrogen production from waste peach pulp by dark fermentation: Effect of inoculum addition. International Journal of Hydrogen Energy, 42: 2569–2574.

ASLAM, M., AHMAD, R., YASIN, M., KHAN, A. L., SHAHID, M. K., HOSSAIN, S., KHAN, Z., JAMIL, F., RAFIQ, S., BILAD, M. R., KIM, J. and KUMAR, G., 2018. Anaerobic membrane bioreactors for biohydrogen production: Recent developments, challenges and perspectives. Bioresource Technology, 269: 452–464.

ASLAN, M., GÜMÜŞ, M. and TÜRKMENLER, H., 2020. The effect of organic loading, protein and carbohydrate on biohydrogen production from soft shell of red pistachio, sugar beet pulp, and olive pulp cake. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects, 00: 1–13.

ASSAWAMONGKHOLSIRI, T., REUNGSANG, A., PLANGKANG, P. and SITTIJUNDA, S., 2018. Repeated batch fermentation for photo-hydrogen and lipid production from wastewater of a sugar manufacturing plant. International Journal of Hydrogen Energy, 43: 3605–3617.

AZWAR, M. Y., HUSSAIN, M. A. and ABDUL-WAHAB, A. K., 2014. Development of biohydrogen production by photobiological, fermentation and electrochemical processes: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 31: 158–173.

BAEYENS, J., ZHANG, H., NIE, J., APPELS, L., DEWIL, R., ANSART, R. and DENG, Y., 2020. Reviewing the potential of bio-hydrogen production by fermentation. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 131: 110023.

BAGHCHEHSARAEE, B., NAKHLA, G., KARAMANEV, D., MARGARITIS, A. and REID, G., 2008. The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures. International Journal of Hydrogen Energy, 33: 4064–4073.

BAO, M., SU, H. and TAN, T., 2012. Biohydrogen production by dark fermentation of starch using mixed bacterial cultures of Bacillus sp and Brevumdimonas sp. Energy and Fuels, 26: 5872–5878.

EL BARNOSSI, A., MOUSSAID, F. and IRAQI HOUSSEINI, A., 2021. Tangerine, banana and pomegranate peels valorisation for sustainable environment: A review. Biotechnology Reports, 29: e00574.

BHARATHIRAJA, B., SUDHARSANAA, T., BHARGHAVI, A.,

JAYAMUTHUNAGAI, J. and PRAVEENKUMAR, R., 2016. Biohydrogen and Biogas – An overview on feedstocks and enhancement process. Fuel, 185: 810–828.
BHATIA, S. K., JAGTAP, S. S., BEDEKAR, A. A., BHATIA, R. K., RAJENDRAN, K., PUGAZHENDHI, A., RAO, C. V., ATABANI, A. E., KUMAR, G. and YANG, Y. H., 2021. Renewable biohydrogen production from lignocellulosic biomass using fermentation and integration of systems with other energy generation technologies. Science of the Total Environment, 765: 144429.
BONGIORNO, M. and THIRINGER, T., 2013. A generic DFIG model for voltage dip ride-through analysis. IEEE Transactions on Energy Conversion, 28: 76–85.
BOODHUN, B. S. F., MUDHOO, A., KUMAR, G., KIM, S. H. and LIN, C. Y., 2017. Research perspectives on constraints, prospects and opportunities in biohydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 42: 27471–27481.
BRADFORD, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72(1-2): 248-254.
BREUNIG, H. M., JIN, L., ROBINSON, A. and SCOWN, C. D., 2017. Bioenergy Potential from Food Waste in California. Environmental Science and Technology, 51: 1120–1128.
BRUNE, A., 2014. Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. Nature Reviews Microbiology, 12: 168–180.
CAO, G. L., GUO, W. Q., WANG, A. J., ZHAO, L., XU, C. J., ZHAO, Q. L. and REN, N. Q., 2012. Enhanced cellulosic hydrogen production from lime-treated cornstalk wastes using thermophilic anaerobic microflora. International Journal of Hydrogen Energy, 37: 13161–13166.
CEMEROĞLU, B., ARTIK, N., and ERBAŞ, S., 1992. Gewinnung von Granatapfelsaft und seine Ausammensetzung. Fluess. Obst., 59: 335–340.
CHANDEL, A. K. and SUKUMARAN, R. K., 2017. Sustainable biofuels development in India. In SuChandel, A.K., and Sukumaran, R.K. Sustainable Biofuels Development in India.Stainable Biofuels Development in India, 1–557 pp.
CHANDRASEKHAR, K., LEE, Y. J. and LEE, D. W., 2015. Biohydrogen production: Strategies to improve process efficiency through microbial routes. International Journal of Molecular Sciences, 16: 8266–8293.
CHEN, C. C., CHUANG, Y. S., LIN, C. Y., LAY, C. H. and SEN, B. 2012. Thermophilic dark fermentation of untreated rice straw using mixed cultures for hydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 37: 15540–15546.
CHEN, H., WU, J., HUANG, R., ZHANG, W., HE, W., DENG, Z., HAN, Y., XIAO, B., LUO, H. and QU, W., 2022. Effects of temperature and total solid content on biohydrogen production from dark fermentation of rice straw: Performance and microbial community characteristics. Chemosphere, 286: 131655.
CHENG, H. N., HE, Z., FORD, C., WYCKOFF, W. and WU, Q., 2020. A Review of Cottonseed Protein Chemistry and Non-Food Applications. Sustainable Chemistry, 1, 256–274.
CHOZHAVENDHAN, S., RAJAMEHALA, M., KARTHIGADEVI, G., PRAVEENKUMAR, R. and BHARATHIRAJA, B., 2020. A review on feedstock, pretreatment methods, influencing factors, production and purification

processes of bio-hydrogen production. Case Studies in Chemical and Environmental Engineering, 2: 197–268.
DAS, D. and VEZIROĞLU, T. N., 2001. Hydrogen production by biological processes: A survey of literature. International Journal of Hydrogen Energy, 26: 13–28.
DEMİRAL, I., ATILGAN, N. G. and ŞENSÖZ, S., 2009. Production of biofuel from soft shell of pistachio (Pistacia vera L.). Chemical Engineering Communications, 196: 104–115.
EBADI, A. G., HISORIEV, H., ZARNEGAR, M. and AHMADI, H., 2019. Hydrogen and syngas production by catalytic gasification of algal biomass (Cladophora glomerata L.) using alkali and alkaline-earth metals compounds. Environmental Technology (United Kingdom), 40: 1178–1184.
EWAN, B. C. R. and ALLEN, R. W. K., 2005. A figure of merit assessment of the routes to hydrogen. International Journal of Hydrogen Energy, 30: 809–819.
GÁSPÁR, M., KÁLMÁN, G. and RÉCZEY, K., 2007. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production. Process Biochemistry, 42: 1135–1139.
GIANG, T. T., LUNPROM, S., LIAO, Q., REUNGSANG, A. and SALAKKAM, A., 2019. Enhancing hydrogen production from Chlorella sp. Biomass by pre-hydrolysis with simultaneous saccharification and fermentation (PSSF). Energies, 12.
DE GIOANNIS, G., MUNTONI, A., POLETTINI, A. and POMI, R., 2013. A review of dark fermentative hydrogen production from biodegradable municipal waste fractions. Waste Management, 33: 1345–1361.
GAFFRON, H., 1939. Reduction of carbon dioxide with molecular hydrogen in green algae. Nature, 143(3614): 204-205.
GAFFRON, H. and RUBİN, J., 1942. Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. The Journal of General Physiology, 26(2), 219-240.
GONZALES, R. R., SIVAGURUNATHAN, P. and KIM, S. H., 2016. Effect of severity on dilute acid pretreatment of lignocellulosic biomass and the following hydrogen fermentation. International Journal of Hydrogen Energy, 41: 21678–21684.
GOSWAMI, R. K., MEHARIYA, S., OBULISAMY, P. K. and VERMA, P., 2021. Advanced microalgae-based renewable biohydrogen production systems: A review. Bioresource Technology, 320: 124301.
HAMAWAND, I., SANDELL, G., PITTAWAY, P., CHAKRABARTY, S., YUSAF, T., CHEN, G., SENEWEERA, S., AL-LWAYZY, S., BENNETT, J. and HOPF, J. 2016. Bioenergy from Cotton Industry Wastes: A review and potential. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 66: 435–448.
HAWKES, F. R., HUSSY, I., KYAZZE, G., DINSDALE, R. and HAWKES, D. L., 2007. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress. International Journal of Hydrogen Energy, 32: 172–184.
HERNÁNDEZ-MENDOZA, C. E., MORENO-ANDRADE, I. and BUITRÓN, G., 2014. Comparison of hydrogen-producing bacterial communities adapted in continuous and discontinuous reactors. International Journal of Hydrogen Energy, 39: 14234–14239.
HOÀNG, T. Y., KHOO, K. S., NGỌC, H. L. T., THU, Q. T. T., THỊ, T., THU, H. Đ. T., HOÀNG, H. C., CHINTHALAPATI, S., LAY, C. H. and SHOW, P. L., 2021.

Sustainable cultivation via waste soybean extract for higher vaccenic acid production by purple non-sulfur bacteria. Clean Technologies and Environmental Policy, 23: 103–112.

HOSHINO, T., JOHNSON, D. J., SCHOLZ, M. and CUELLO, J. L., 2013. Effects of implementing PSI-light on hydrogen production via biophotolysis in Chlamydomonas reinhardtii mutant strains. Biomass and bioenergy, 59, 243-252.

JANG, S., KIM, D. H., YUN, Y. M., LEE, M. K., MOON, C., KANG, W. S., KWAK, S. S. and KIM, M. S., 2015. Hydrogen fermentation of food waste by alkali-shock pretreatment: Microbial community analysis and limitation of continuous operation. Bioresource Technology, 186: 215–222.

JIMÉNEZ-LLANOS, J., RAMÍREZ-CARMONA, M., RENDÓN-CASTRILLÓN, L. and OCAMPO-LÓPEZ, C., 2020. Sustainable biohydrogen production by Chlorella sp. microalgae: A review. International Journal of Hydrogen Energy, 45: 8310–8328.

KANNIAH GOUD, R., ARUNASRI, K., YERUVA, D. K., KRISHNA, K. V., DAHIYA, S. and MOHAN, S. V., 2017. Impact of selectively enriched microbial communities on long-term fermentative biohydrogen production. Bioresource Technology, 242: 253–264.

KARIM, A., ISLAM, M. A., MISHRA, P., YOUSUF, A., FAIZAL, C. K. M. and KHAN, M. M. R., 2021. Technical difficulties of mixed culture driven waste biomass-based biohydrogen production: Sustainability of current pretreatment techniques and future prospective. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 151: 111519.

KESKIN, T., ABO-HASHESH, M. and HALLENBECK, P. C., 2011. Photofermentative hydrogen production from wastes. Bioresource Technology, 102: 8557–8568.

KIM, M. S., CHA, J. and KIM, D. H. 2013. Fermentative Biohydrogen Production from Solid Wastes. In Biohydrogen (pp. 259-283). Elsevier B.V.

KOSSALBAYEV, B. D., TOMO, T., ZAYADAN, B. K., SADVAKASOVA, A. K., BOLATKHAN, K., ALWASEL, S. and ALLAKHVERDİEV, S. I., 2020. Determination of the potential of cyanobacterial strains for hydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 45(4): 2627-2639.

KOTHARI, R., KUMAR, V., PATHAK, V. V., AHMAD, S., AOYI, O. and TYAGI, V. V. 2017. A critical review on factors influencing fermentative hydrogen production. Frontiers in Bioscience - Landmark, 22: 1195–1220.

KUMAR, G., SIVAGURUNATHAN, P., PARK, J. H., PARK, J. H., PARK, H. D., YOON, J. J. and KIM, S. H. 2016. HRT dependent performance and bacterial community population of granular hydrogen-producing mixed cultures fed with galactose. Bioresource Technology, 206: 188–194.

KUMAR, G., SİVAGURUNATHAN, P., PUGAZHENDHI, A., THI, N. B. D., ZHEN, G., CHANDRASEKHAR, K. and KADIER, A., 2017. A comprehensive overview on light independent fermentative hydrogen production from wastewater feedstock and possible integrative options. Energy Conversion and Management, 141: 390–402.

KUMAR, M. 2020. Social, Economic, and Environmental Impacts of Renewable Energy Resources. In Wind Solar Hybrid Renewable Energy System [Working Title], 1–11 pp.

LI, H., YELLE, D. J., LI, C., YANG, M., KE, J., ZHANG, R., LIU, Y., ZHU, N.,

LIANG, S., MO, X., RALPH, J., CURRIE, C. R. and MO, J., 2017. Lignocellulose pretreatment in a fungus-cultivating termite. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 114: 4709–4714.

LIN, Y. H., ZHENG, H. X. and JUAN, M. L., 2012. Biohydrogen production using waste activated sludge as a substrate from fructose-processing wastewater treatment. Process Safety and Environmental Protection, 90: 221–230.

LIU, B. F., JIN, Y. R., CUI, Q. F., XIE, G. J., WU, Y. N. and REN, N. Q., 2015. Photo-fermentation hydrogen production by Rhodopseudomonas sp. nov. strain A7 isolated from the sludge in a bioreactor. International Journal of Hydrogen Energy, 40: 8661–8668.

LIU, C. H., CHANG, C. Y., CHENG, C. L., LEE, D. J. and CHANG, J. S., 2012. Fermentative hydrogen production by Clostridium butyricum CGS5 using carbohydrate-rich microalgal biomass as feedstock. International Journal of Hydrogen Energy, 37: 15458–15464.

LUO, G., XIE, L., ZOU, Z., ZHOU, Q. and WANG, J. Y., 2010. Fermentative hydrogen production from cassava stillage by mixed anaerobic microflora: Effects of temperature and pH. Applied Energy, 87, 3710–3717.

MANKAR, A. R., PANDEY, A., MODAK, A. and PANT, K. K., 2021. Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. Bioresource Technology, 334: 125235.

MEHARIYA, S., PATEL, A. K., OBULISAMY, P. K., PUNNIYAKOTTI, E. and WONG, J. W. C., 2018. Co-digestion of food waste and sewage sludge for methane production: Current status and perspective. Bioresource Technology, 265: 519–531.

MIANDAD, R., REHAN, M., OUDA, O. K. M., KHAN, M. Z., SHAHZAD, K., ISMAIL, I. M. I. and NIZAMI, A. S. 2017. Waste-to-Hydrogen Energy in Saudi Arabia: Challenges and Perspectives. In SINGH, A. and RATHORE, D. (eds.) Biohydrogen Production: Sustainability of Current Technology and Future Perspective, Vol. 2025. Springer India, New Delhi, 237–252 pp.

MISHRA, P., THAKUR, S., SINGH, L., KRISHNAN, S., SAKINAH, M. and WAHID, Z. A., 2017. Fermentative hydrogen production from indigenous mesophilic strain Bacillus anthracis Punajan 1 newly isolated from palm oil mill effluent. International Journal of Hydrogen Energy, 42: 16054–16063.

MONA, S., KUMAR, S. S., KUMAR, V., PARVEEN, K., SAINI, N., DEEPAK, B. and PUGAZHENDHI, A., 2020. Green technology for sustainable biohydrogen production (waste to energy): A review. Science of the Total Environment, 728: 138481.

MOSTAFA, A., EL-DISSOUKY, A., FAWZY, A., FARGHALY, A., PEU, P., DABERT, P., LE ROUX, S. and TAWFIK, A., 2016. Magnetite/graphene oxide nano-composite for enhancement of hydrogen production from gelatinaceous wastewater. Bioresource Technology, 216: 520–528.

MOTA, V. T., FERRAZ JÚNIOR, A. D. N., TRABLY, E. and ZAIAT, M. 2018., Biohydrogen production at pH below 3.0: Is it possible? Water Research, 128: 350–361.

MUYZER, G., DE WAAL, E. C. and UITTERLINDEN, A. G., 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology, 59: 695–700.

MUYZER, G., 1995. Denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rDNA, a new molecular approach to analyse genetic diversity of mixed microbial communities. Molecular microbial ecology manual. 3 (4.4): 1-22

NAGARAJAN, D., CHANG, J. S. and LEE, D. J., 2020. Pretreatment of microalgal biomass for efficient biohydrogen production – Recent insights and future perspectives. Bioresource Technology, 302: 122871.

NTAIKOU, I., ANTONOPOULOU, G. and LYBERATOS, G., 2010. Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: A review. Waste and Biomass Valorization, 1: 21–39.

ONG, E. S., RABBANI, A. H., HABASHY, M. M., ABDELDAYEM, O. M., AL-SAKKARI, E. G. and RENE, E. R., 2021. Palm oil industrial wastes as a promising feedstock for biohydrogen production: A comprehensive review. Environmental Pollution, 291: 118160.

OSMAN, A. I., DEKA, T. J., BARUAH, D. C. and ROONEY, D. W., 2020. Critical challenges in biohydrogen production processes from the organic feedstocks. Biomass Conversion and Biorefinery.

PANAGIOTOPOULOS, J. A., BAKKER, R. R., DE VRIJE, T., URBANIEC, K., KOUKIOS, E. G. and CLAASSEN, P. A. M., 2010. Prospects of utilization of sugar beet carbohydrates for biological hydrogen production in the EU. Journal of Cleaner Production, 18: S9–S14.

PANDEY, A., SINHA, P. and PANDEY, A., 2021. Hydrogen production by sequential dark and photofermentation using wet biomass hydrolysate of Spirulina platensis: Response surface methodological approach. International Journal of Hydrogen Energy, 46: 7137–7146.

PARK, J. H., CHEON, H. C., YOON, J. J., PARK, H. D. and KIM, S. H., 2013. Optimization of batch dilute-acid hydrolysis for biohydrogen production from red algal biomass. International Journal of Hydrogen Energy, 38: 6130–6136.

PARK, J. H., KIM, D. H., KIM, S. H., YOON, J. J. and PARK, H. D., 2018. Effect of substrate concentration on the competition between Clostridium and Lactobacillus during biohydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 43: 11460–11469.

PARK, J. H., CHANDRASEKHAR, K., JEON, B. H., JANG, M., LIU, Y. and KIM, S. H., 2021. State-of-the-art technologies for continuous high-rate biohydrogen production. Bioresource Technology, 320: 124304.

PAUDEL, S. R., BANJARA, S. P., CHOI, O. K., PARK, K. Y., KIM, Y. M. and LEE, J. W., 2017. Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. Bioresource Technology, 245: 1194–1205.

PHANDUANG, O., LUNPROM, S., SALAKKAM, A. and REUNGSANG, A., 2017. Anaerobic solid-state fermentation of bio-hydrogen from microalgal Chlorella sp. biomass. International Journal of Hydrogen Energy, 42: 9650–9659.

POLADYAN, A., TRCHOUNIAN, K., VASSILIAN, A. and TRCHOUNIAN, A., 2018. Hydrogen production by Escherichia coli using brewery waste: Optimal pretreatment of waste and role of different hydrogenases. Renewable Energy, 115: 931–936.

PRABAKAR, D., MANIMUDI, V. T., SUVETHA K, S., SAMPATH, S., MAHAPATRA, D. M., RAJENDRAN, K. and PUGAZHENDHI, A., 2018. Advanced biohydrogen production using pretreated industrial waste: Outlook and prospects. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 96: 306–324.

PREETHI, USMAN, T. M. M., RAJESH BANU, J., GUNASEKARAN, M. and KUMAR, G., 2019. Biohydrogen production from industrial wastewater: An overview. Bioresource Technology Reports, 7: 100287.
REN, N. Q., GUO, W. Q., WANG, X. J., XIANG, W. S., LIU, B. F., WANG, X. Z., DING, J. and CHEN, Z. B., 2008. Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 33: 4318–4324.
REUNGSANG, A., ZHONG, N., YANG, Y., SITTIJUNDA, S., XIA, A. and LIAO, Q., 2018. Hydrogen from photo fermentation. 9789811076763. In Green Energy and Technology, Vol. 0. Springer Singapore, 221–317 pp.
RUGHOONUNDUN, H., MOHEE, R. and HOLTZAPPLE, M. T., 2012. Influence of carbon-to-nitrogen ratio on the mixed-acid fermentation of wastewater sludge and pretreated bagasse. Bioresource Technology, 112: 91–97.
SALAKKAM, A., SITTIJUNDA, S., MAMIMIN, C., PHANDUANG, O. and REUNGSANG, A., 2021. Valorization of microalgal biomass for biohydrogen generation: A review. Bioresource Technology, 322: 124533.
SAMPATH, P., BRIJESH, REDDY, K. R., REDDY, C. V., SHETTI, N. P., KULKARNI, R. V. and RAGHU, A. V., 2020. Biohydrogen Production from Organic Waste – A Review. Chemical Engineering and Technology, 43: 1240–1248.
SARAVANAN, A., SENTHIL KUMAR, P., KHOO, K. S., SHOW, P. L., FEMINA CAROLIN, C., FETCIA JACKULIN, C., JEEVANANTHAM, S., KARISHMA, S., SHOW, K. Y., LEE, D. J. and CHANG, J. S., 2021. Biohydrogen from organic wastes as a clean and environment-friendly energy source: Production pathways, feedstock types, and future prospects. Bioresource Technology, 342: 126021.
SARKAR, O. and MOHAN, S. V., 2016. Deciphering acidogenic process towards biohydrogen, biohythane, and short chain fatty acids production: Multi-output optimization strategy. Biofuel Research Journal, 3: 458–469.
SEIFERT, K., WALIGORSKA, M. and LANIECKI, M., 2010. Hydrogen generation in photobiological process from dairy wastewater. International Journal of Hydrogen Energy, 35: 9624–9629.
SEN, U., SHAKDWIPEE, M. and BANERJEE, R., 2008. Status of biological hydrogen production. Journal of Scientific and Industrial Research, 67: 980–993.
SHAO, W., WANG, Q., RUPANI, P. F., KRISHNAN, S., AHMAD, F., REZANIA, S., RASHID, M. A., SHA, C. and MD DIN, M. F., 2020. Biohydrogen production via thermophilic fermentation: A prospective application of Thermotoga species. Energy, 197: 117199.
SHOW, K. Y., YAN, Y., LING, M., YE, G., LI, T. and LEE, D. J., 2018. Hydrogen production from algal biomass – Advances, challenges and prospects. Bioresource Technology, 257: 290–300.
SILVA, A. N. da, MACÊDO, W. V., SAKAMOTO, I. K., PEREYRA, D. de L. A. D., MENDES, C. O., MAINTINGUER, S. I., CAFFARO FILHO, R. A., DAMIANOVIC, M. H. Z., VARESCHE, M. B. A. and AMORIM, E. L. C. de., 2019. Biohydrogen production from dairy industry wastewater in an anaerobic fluidized-bed reactor. Biomass and Bioenergy, 120: 257–264.
SINGH, T., ALHAZMI, A., MOHAMMAD, A., SRIVASTAVA, N., HAQUE, S., SHARMA, S., SINGH, R., YOON, T. and GUPTA, V. K., 2021. Integrated biohydrogen production via lignocellulosic waste: Opportunity, challenges &

future prospects. Bioresource Technology, 338: 125511.
SINGLA, S., SHETTI, N. P., BASU, S., MONDAL, K. and AMINABHAVI, T. M., 2022. Hydrogen production technologies - Membrane based separation, storage and challenges. Journal of Environmental Management, 302: 113963.
SINHA, P. and PANDEY, A., 2011. An evaluative report and challenges for fermentative biohydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 36: 7460–7478.
SOARES, J. F., CONFORTIN, T. C., TODERO, I., MAYER, F. D. and MAZUTTI, M. A., 2020. Dark fermentative biohydrogen production from lignocellulosic biomass: Technological challenges and future prospects. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 117.
SOŁOWSKI, G., KONKOL, I. and CENIAN, A., 2020. Methane and hydrogen production from cotton waste by dark fermentation under anaerobic and micro-aerobic conditions. Biomass and Bioenergy, 138.
SORRENTI, V., RANDAZZO, C. L., CAGGIA, C., BALLISTRERI, G., ROMEO, F. V., FABRONI, S., TIMPANARO, N., RAFFAELE, M. and VANELLA, L., 2019. Beneficial Effects of Pomegranate Peel Extract and Probiotics on Pre-adipocyte Differentiation. Frontiers in Microbiology, 10: 1–11.
SRIVASTAVA, N., SRIVASTAVA, M., ABD_ALLAH, E. F., SINGH, R., HASHEM, A. and GUPTA, V. K., 2021. Biohydrogen production using kitchen waste as the potential substrate: A sustainable approach. Chemosphere, 271, 129537.
SRIVASTAVA, N., SRIVASTAVA, M., MISHRA, P. K., KAUSAR, M. A., SAEED, M., GUPTA, V. K., SINGH, R. and RAMTEKE, P. W., 2020. Advances in nanomaterials induced biohydrogen production using waste biomass. Bioresource Technology, 307: 123094.
STAVROPOULOS, K. P., KOPSAHELIS, A., ZAFIRI, C. and KORNAROS, M., 2016. Effect of pH on Continuous Biohydrogen Production from End-of-Life Dairy Products (EoL-DPs) via Dark Fermentation. Waste and Biomass Valorization, 7: 753–764.
TAGHIZADEH-ALISARAEI, A., ASSAR, H. A., GHOBADIAN, B. and MOTEVALI, A., 2017. Potential of biofuel production from pistachio waste in Iran. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 72: 510–522.
TANG, T., CHEN, Y., LIU, M., ZHANG, Y. and YU, Z., 2021. Biohydrogen production, sludge granulation, and microbial community in an anaerobic inner cycle biohydrogen production (AICHP) reactor at different hydraulic retention times. International Journal of Hydrogen Energy, 46, 30300–30309.
TORQUATO, L. D. M., PACHIEGA, R., CRESPI, M. S., NESPECA, M. G., DE OLIVEIRA, J. E. and MAINTINGUER, S. I., 2017. Potential of biohydrogen production from effluents of citrus processing industry using anaerobic bacteria from sewage sludge. Waste Management, 59: 181–193.
TÜİK., 2021. Bitkisel Ürün Denge Tabloları. Türkiye İstatistik Kurumu. https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr. Erişim Tarihi: 4 Kasım 2021
VELUCHAMY, C., KALAMDHAD, A. S. and GILROYED, B. H., 2019. Advanced Pretreatment Strategies for Bioenergy Production from Biomass and Biowaste. Handbook of Environmental Materials Management, 1507–1524.
VENKATA MOHAN, S., LALIT BABU, V. and SARMA, P. N., 2008. Effect of various pretreatment methods on anaerobic mixed microflora to enhance

biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate. Bioresource Technology, 99: 59–67.
ŞAHİN, A., 2020. Nar Yetiştiriciliği. BATEM yayınları, Antalya, 55s.
WAINAINA, S., AWASTHI, M. K., HORVÁTH, I. S. and TAHERZADEH, M. J., 2020. Anaerobic digestion of food waste to volatile fatty acids and hydrogen at high organic loading rates in immersed membrane bioreactors. Renewable Energy, 152: 1140–1148.
WAN, J., JING, Y., ZHANG, S., ANGELIDAKI, I. and LUO, G., 2016. Mesophilic and thermophilic alkaline fermentation of waste activated sludge for hydrogen production: Focusing on homoacetogenesis. Water Research, 102: 524–532.
WANG, J. and WAN, W., 2008. Effect of temperature on fermentative hydrogen production by mixed cultures. International Journal of Hydrogen Energy, 33: 5392–5397.
WANG, J. and YIN, Y., 2017a. Biohydrogen Production from Organic Wastes. In ACS National Meeting Book of Abstracts, Vol. 232. Springer Singapore, Singapore.
WANG, J. and YIN, Y., 2017b. Kinetic models for hydrogen production. 9789811046742. In Green Energy and Technology, Vol. 0: 269–290 pp.
WANG, J. and YIN, Y., 2017c. Sewage sludge for hydrogen production. 9789811046742. In Green Energy and Technology, Vol. 0: 339–433 pp.
WANG, K., KHOO, K. S., CHEW, K. W., SELVARAJOO, A., CHEN, W. H., CHANG, J. S. and SHOW, P. L., 2021. Microalgae: The Future Supply House of Biohydrogen and Biogas. Frontiers in Energy Research, 9: 1–9.
XIA, A., JACOB, A., HERRMANN, C. and MURPHY, J. D., 2016. Fermentative bio-hydrogen production from galactose. Energy, 96: 346–354.
XING, B. S., HAN, Y., WANG, X. C., WEN, J., CAO, S., ZHANG, K., LI, Q. and YUAN, H., 2020. Persistent action of cow rumen microorganisms in enhancing biodegradation of wheat straw by rumen fermentation. Science of the Total Environment, 715: 136529.
XU, J. and DESHUSSES, M. A., 2015. ScienceDirect Fermentation of swine wastewater-derived duckweed for biohydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 40: 7028–7036.
YASIN, N. H. M., MUMTAZ, T., HASSAN, M. A. and ABD RAHMAN, N., 2013. Food waste and food processing waste for biohydrogen production: A review. Journal of Environmental Management, 130: 375–385.
ZHANG, K., PEI, Z. and WANG, D., 2016. Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and biochemicals: A review. Bioresource Technology, 199: 21–33.
ZHANG, Q., ZHU, S., ZHANG, Z., ZHANG, H. and XIA, C., 2021. Enhancement strategies for photo-fermentative biohydrogen production: A review. Bioresource Technology, 340: 125601.
ZHANG, T., JIANG, D., ZHANG, H., JING, Y., TAHIR, N., ZHANG, Y. and ZHANG, Q., 2020. Comparative study on bio-hydrogen production from corn stover: Photo-fermentation, dark-fermentation and dark-photo co-fermentation. International Journal of Hydrogen Energy, 45: 3807–3814.
ZHANG, Z., 2021. Waste pretreatment technologies for hydrogen production. In Waste to Renewable Biohydrogen, 109–122 pp.
ZHAO, L., SUN, Z. F., ZHANG, C. C., NAN, J., REN, N. Q., LEE, D. J. and CHEN,

C., 2022. Advances in pretreatment of lignocellulosic biomass for bioenergy production: Challenges and perspectives. Bioresource Technology, 343: 126123.
ZHAO, X., CHENG, K. and LIU, D., 2009. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. Applied Microbiology and Biotechnology, 82: 815–827.
ZHOU, P., ELBESHBISHY, E. and NAKHLA, G., 2013. Optimization of biological hydrogen production for anaerobic co-digestion of food waste and wastewater biosolids. Bioresource Technology, 130: 710–718