

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATIKSU ARITMA ÇAMURLARINDAN BİYOHİDROJEN ELDE EDİLME
POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

İlknur ŞENTÜRK

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

**EYLÜL 2014
SAMSUN**



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ATIKSU ARITMA ÇAMURLARINDAN BİYOHİDROJEN ELDE EDİLME
POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

**İlknur ŞENTÜRK
08210537**

Tezin Savunma Tarihi : 10/09/2014

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hanife BÜYÜKGÜNGÖR

Bu Doktora Tez Çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi
PYO.MUH.1904.12.006 nolu Proje ile Desteklenmiştir.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında

İlknur ŞENTÜRK Tarafından Hazırlanan

**ATIKSU ARITMA ÇAMURLARINDAN BİYOHİDROJEN ELDE
EDİLME POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 10/09/2014 tarihinde yapılan sınav ile
DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.**

Başkan : Prof. Dr. Hanife BÜYÜKGÜNGÖR
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Feryal AKBAL
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Doç. Dr. Feza GEYİKÇİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Levent GÜREL
Pamukkale Üniversitesi

....../....../2014

Prof. Dr. Hüseyin DEMİR

Enstitü Müdürü

Aileme,

ÖNSÖZ

Doktora çalışmam sırasında bilgisine ve tecrübesine her zaman güvendiğim ve inandığım, her konuda desteğini esirgemeyen tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Hanife BÜYÜKGÜNGÖR’e teşekkür ederim.

Değerli katılımlarını esirgemeyen, tez izleme komitesi üyeleri hocalarım, Sayın Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK ve Doç. Dr. Feza GEYİKÇİ’ye katılım, destek ve değerli yönlendirmelerinden dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını PYO.MUH.1904.12.006 nolu proje kapsamında finansal olarak destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi’ne teşekkür ederim.

Hayatımın her evresinde olduğu gibi Doktora çalışmam boyunca da bana her türlü desteklerini, hoşgörülerini ve sonsuz sevgilerini veren aileme teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her türlü özveriye ve desteği gösteren sevgili eşim Celaleddin ŞENTÜRK ve canım kızım Elif Naz’a çok teşekkür ederim.

Eylül 2014

İlknur ŞENTÜRK
Çevre Yüksek Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR	xv
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Hedefi ve Çıktıları.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Hidrojen Üretim Teknolojileri	8
2.2 Biyolojik Yolla Hidrojen Üretimi	11
2.2.1 Termokimyasal prosesler	15
2.2.1.1 Biyokütlenin pirolizinden hidrojen eldesi.....	15
2.2.1.2 Biyokütle gazifikasyonu ile hidrojen eldesi	15
2.2.1.3 Süperkritik su gazifikasyonu	16
2.2.2 Biyolojik prosesler	16
2.2.2.1 Direk biyofotoliz	17
2.2.2.2 Dolaylı biyofotoliz	18
2.2.2.3 Karanlık fermantasyon	19
2.2.2.4 Fotofermantasyon.....	21
2.2.2.5 Biyolojik yoldan suyun gaza dönüşümü (WGS).....	23
2.3 Anaerobik Fermantasyonla H ₂ Üretimi.....	29
2.3.1 Fermantatif H ₂ üretimini etkileyecek faktörler.....	32
2.3.1.1 Aşı mikroorganizma türü ve aşıya uygulanan ön işlemlerin etkisi.....	33
2.3.1.2 pH'ın etkisi.....	36
2.3.1.3 Sıcaklığın etkisi.....	40
2.3.1.4 Kullanılan substrat ve konsantrasyonunun etkisi.....	41
2.3.1.5 H ₂ kısmi basıncının etkisi.....	44
2.3.1.6 Fermantasyon son ürünlerinin etkisi	45
2.3.1.7 Azot ve fosfor konsantrasyonunun etkisi.....	47
2.3.1.8 Metal iyonunun etkisi.....	48
2.3.1.9 Hidrolik alıkonma süresi (HRT)	50
2.3.1.10 Metabolik kayma (Metabolic Shift)	50
2.3.1.11 Enzim	51
2.4 Biyohidrojen Eldesinde Kullanılan Atık Materyaller	52
2.4.1 Karanlık fermantasyonla hidrojen gazı üretiminde seçilen biyokütlenin proses üzerindeki etkisi	55
2.4.1.1 Basit şekerlerin kullanımı	55
2.4.1.2 Nişasta içeren atıkların kullanımı	57
2.4.1.3 Selüloz içeren atıkların kullanımı	58
2.4.1.4 Gıda endüstrisi atıkları ve atıksularının kullanımı	58
2.4.1.5 Arıtma çamuru kullanımı	59
2.4.1.6 Süt endüstrisi atıkları.....	62

2.5	Atıksu Arıtma Çamurları.....	62
2.5.1	Atıksu arıtma çamurundan biyohidrojen üretiminin uygulanabilirliği ve arıtma çamurlarına uygulanabilecek farklı ön işlemler	63
2.5.1.1	Hidrojen üretimi üzerine ultrasonik ön işlemin etkisi.....	67
2.5.1.2	Hidrojen üretimi üzerine termal ön işlemin etkisi.....	69
2.5.1.3	Hidrojen üretimi üzerine asidik ya da bazik ön işlemin etkisi	72
2.5.1.4	Hidrojen üretimi üzerine mikrodalga ön işlemin etkisi.....	73
2.5.1.5	Diğer metotlar	73
3.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	75
3.1	Substrat.....	75
3.2	Atık Çamurdan Biyohidrojen Üretimi Üzerine pH ve Sıcaklığın Etkisi.....	76
3.3	Aşı Mikroorganizma	76
3.3.1	Biyohidrojen üretimi üzerine kültür tipinin etkisi	77
3.4	Kesikli Reaktörün Çalışması.....	77
3.5	Biyohidrojen Üretim Verimi ve Atık Çamurun Çözünürlüğü Üzerine Uygulanan Ön işlemlerin Etkisi	80
3.6	Analitik Metotlar	82
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	85
4.1	Atık Çamurdan Biyohidrojen Üretimi Üzerine pH ve Sıcaklığın Etkisi.....	85
4.1.1	35±1°C sıcaklıkta başlangıç pH'sının biyohidrojen üretimine etkisi....	85
4.1.2	45±1°C sıcaklıkta başlangıç pH'sının biyohidrojen üretimine etkisi....	94
4.2	Aşı Mikroorganizma İlavesinin Biyohidrojen Üretimine Etkisi	112
4.3	Biyohidrojen Üretim Verimleri ve Atık Aktif Çamurun Çözünürlüğü Üzerine Uygulanan Ön işlemlerin Etkisi.....	121
4.3.1	Biyohidrojen üretim verimi üzerine ön işlemlerin etkisi.....	121
4.3.2	Çamurun çözünürlüğü üzerine uygulanan ön işlemlerin etkisi.....	127
4.3.2.1	Çözünürlük oranları.....	131
4.3.2.2	Uçucu yağ asidi üretimleri	140
5.	SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME.....	143
	KAYNAKLAR.....	147
	EKLER.....	157
	ÖZGEÇMİŞ.....	169

ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Hidrojenin diğer yakıtlarla karşılaştırılması	6
Çizelge 2.2. Farklı teknolojiler sonucunda elde edilen hidrojen verimlerinin karşılaştırılması	11
Çizelge 2.3. Biyohidrojen üretiminde bilimsel ve teknik engeller	14
Çizelge 2.4. Nitrogenaz ve hidrogenazın özelliklerinin karşılaştırılması	17
Çizelge 2.5. Biyohidrojen üretimi için kolaylıkla kullanılabilen biyokütle atıkları ..	21
Çizelge 2.6. Fotofermantasyonla hidrojen üretimi üzerine örnek çalışmalar	23
Çizelge 2.7. Biyohidrojen üretim teknolojilerinin üç ana tipinin karşılaştırılması....	25
Çizelge 2.8. Hidrojen üretim teknolojilerinin karşılaştırılması	26
Çizelge 2.9. Önemli biyolojik hidrojen üretim proseslerinin karşılaştırılması.....	27
Çizelge 2.10. Hidrojen oluşumuna yardım eden bakterilerin sınıflandırılması	33
Çizelge 2.11. Anaerobik bakteri sınıfındaki çeşitli mikroorganizmalarla hidrojen üretimi	34
Çizelge 2.12. Fermantatif biyohidrojen üretimi üzerine farklı pH'ların etkisi	39
Çizelge 2.13. Fermantatif biyohidrojen üretimi üzerine farklı sıcaklıkların etkisi....	41
Çizelge 2.14. Atık aktif çamura uygulanabilecek ön işlemler	44
Çizelge 2.15. Fermantatif biyohidrojen üretimi üzerine farklı metal iyonlarının etkisi	49
Çizelge 2.16. Kesikli karanlık fermentasyon ile saf karbonhidratlardan biyohidrojen üretim hızı ve veriminin karşılaştırılması	57
Çizelge 2.17. Karanlık fermentasyonla farklı atık materyallerden biyohidrojen üretim verimlerinin karşılaştırılması	60
Çizelge 2.18. Gıda atığı ve nişasta içerikli atıklardan biyohidrojen üretim verimlerinin karşılaştırılması	61
Çizelge 2.19. Atık çamur kullanılarak biyohidrojen üretimi konusunda literatürden elde edilen verilerin karşılaştırılması.....	68
Çizelge 2.20. Aşı çamur kaynağı ve aşıya uygulanan ön işlem metotları	74
Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan arıtma çamurunun genel karakteristiği	75
Çizelge 3.2. İz element karışımının içeriği	82
Çizelge 4.1. pH 4'de fermentasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler	85
Çizelge 4.2. pH 5'de fermentasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler	86
Çizelge 4.3. pH 6'da fermentasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler	86
Çizelge 4.4. pH 7'de fermentasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler	86
Çizelge 4.5. pH 8'de fermentasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler	87
Çizelge 4.6. Farklı başlangıç pH değerlerinde fermentasyondan önce (I) ve fermentasyondan sonra (II) karışım sıvısındaki ÇKOİ/TKOİ ve Çkar./Tkar.(%)'leri	93
Çizelge 4.7. 45±1°C sıcaklıkta pH 4'de fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	95

Çizelge 4.8. 45±1°C sıcaklıkta pH 5’de fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	97
Çizelge 4.9. 45±1°C sıcaklıkta pH 6’da fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	99
Çizelge 4.10. 45±1°C sıcaklıkta pH 7’de fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	101
Çizelge 4.11. 45±1°C sıcaklıkta pH 8’de fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	103
Çizelge 4.12. 45±1°C sıcaklıkta pH 9’da fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	104
Çizelge 4.13. Farklı başlangıç pH değerlerinde fermentasyondan önce ve fermentasyondan sonra karışım sıvısındaki [ÇKOİ/TKOİ] (%)’si	110
Çizelge 4.14. Aşı mikroorganizma temini için kullanılan anaerobik çamurların özellikleri	112
Çizelge 4.15. Otat süt ürünleri üretim tesisinden temin edilen anaerobik atıksu ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	113
Çizelge 4.16. Süttaş-SKTR reaktörden temin edilen anaerobik çamur ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon başlangıcında ve sonunda reaktörde okunan değerler	116
Çizelge 4.17. Süttaş fermante gübre karışımından temin edilen anaerobik kültür ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon başlangıcında ve sonunda reaktörde okunan değerler	116
Çizelge 4.18. 100 °C'deki su banyosunda 2 saat ısıtılma tabi tutulan fermante gübre ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler	118
Çizelge 4.19. 100 °C'deki su banyosunda 2 saat ısıtılma tabi tutulan fermante gübre ve atık aktif çamur karışımı ile yapılan fermentasyonda çalışma süresince reaktörde okunan değerler	118
Çizelge 4.20. Çalışmalarda kullanılan ham (herhangi bir ön işleme maruz kalmayan) ve ön işlemden geçmiş atık aktif çamurun özellikleri	129
Çizelge 4.21. Atık çamura asit ön işlem uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler	134
Çizelge 4.22. Atık çamura alkali ön işlem uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler	135
Çizelge 4.23. Atık çamura ısıtılma işlem uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler	136
Çizelge 4.24. Atık çamura dondurma-çözme işlemi uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler	137
Çizelge 4.25. Atık çamura metanojenik inhibitör ilavesinden sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler	138
Çizelge 4.26. Atık çamura sterilizasyon işlemi uygulandıktan sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler	139

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Hidrojen enerji sisteminin şematik gösterimi.	7
Şekil 2.2. Dünya hidrojen üretiminde kullanılan değişik yöntemlerin payları.	9
Şekil 2.3. Hidrojen üretim kaynakları ve prosesler.	10
Şekil 2.4. Yan ürün stratejisi ile piroliz temel alınarak biyokütlenin hidrojene dönüşümü.	15
Şekil 2.5. Direk biyofotoliz.	18
Şekil 2.6. Hidrojen üretimi için dolaylı biyofotoliz.	19
Şekil 2.7. Fermantasyon aracılığı ile yenilenebilir kaynakların hidrojene dönüşümü.	20
Şekil 2.8. Fotofermantasyon.	23
Şekil 2.9. Mikrobiyal topluluk tarafından organik maddenin anaerobik parçalanması sırasında oluşan aşamalar.	32
Şekil 2.10. Nişasta veya selüloz içeren zirai atıklar ve atıksulardan biyohidrojen üretim şeması.	43
Şekil 2.11. Bazı diğer yan ürünler ve fermantatif hidrojen oluşumu için örnek yol izi.	51
Şekil 2.12. Hammadeye ait teknik uygunluk haritası.	53
Şekil 2.13. Anaerobik metabolizma.	64
Şekil 3.1. Fermantasyon deneylerinde kullanılan reaktör.	78
Şekil 3.2. Anaerobik fermantasyon ile biyohidrojen üretimi deney düzeneği.	79
Şekil 4.1. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 4’de zamanla H ₂ ve CH ₄ konsantrasyonundaki değişim.	87
Şekil 4.2. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 5’de zamanla H ₂ ve CH ₄ konsantrasyonundaki değişim.	88
Şekil 4.3. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 6’da zamanla H ₂ ve CH ₄ konsantrasyonundaki değişim.	88
Şekil 4.4. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 7’de zamanla H ₂ ve CH ₄ konsantrasyonundaki değişim.	89
Şekil 4.5. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 8’de zamanla H ₂ ve CH ₄ konsantrasyonundaki değişim.	89
Şekil 4.6. 35±1°C sıcaklıkta farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen H ₂ konsantrasyonları.	91
Şekil 4.7. 35±1°C sıcaklıkta farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen CH ₄ konsantrasyonları.	91
Şekil 4.8. Fermantasyon sonunda Tprotein, Tkarbonhidrat ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim %’si.	92
Şekil 4.9. Fermantasyon sonunda Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim %’si.	93
Şekil 4.10. 45±1°C’de pH 4’de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.	95
Şekil 4.11. 45±1°C’de pH 4’de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.	96
Şekil 4.12. 45±1°C’de pH 5’de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.	98
Şekil 4.13. 45±1°C’de pH 5’de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.	98

Şekil 4.14.	45±1°C'de pH 6'da zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.	100
Şekil 4.15.	45±1°C'de pH 6'da zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.	100
Şekil 4.16.	45±1°C'de pH 7'de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.	102
Şekil 4.17.	45±1°C'de pH 7'de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.	102
Şekil 4.18.	45±1°C'de pH 8'de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.	103
Şekil 4.19.	45±1°C'de pH 8'de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.	104
Şekil 4.20.	45±1°C'de pH 9'da zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.	105
Şekil 4.21.	45±1°C'de pH 9'da zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.	105
Şekil 4.22.	45±1°C'de farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan anaerobik fermentasyon çalışmaları sonucunda elde edilen hidrojen konsantrasyonları.....	108
Şekil 4.23.	45±1°C'de farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan anaerobik fermentasyon çalışmaları sonucunda elde edilen metan konsantrasyonları.	109
Şekil 4.24.	a) Atık aktif çamur (b) Atık aktif çamur + anaerobik atıksu ile anaerobik fermentasyon süresince reaktördeki hidrojen ve metan konsantrasyonları.	114
Şekil 4.25.	Set 1'de fermentasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.....	116
Şekil 4.26.	Set 2'de fermentasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.....	117
Şekil 4.27.	Set 3'de fermentasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.....	119
Şekil 4.28.	Set 4'de fermentasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.....	120
Şekil 4.29.	Atık çamura uygulanan farklı ön işlemler sonrasında fermentasyon süresince ölçülen H ₂ konsantrasyonları.....	123
Şekil 4.30.	Atık çamura uygulanan farklı ön işlemler sonrasında fermentasyon süresince ölçülen CH ₄ konsantrasyonları.....	126
Şekil 4.31.	Atık çamura uygulanan ön işlemler sonrasında zamanla çözünmüş karbonhidrat konsantrasyonundaki değişim.....	130
Şekil 4.32.	Atık çamura uygulanan ön işlemler sonrasında zamanla çözünmüş protein konsantrasyonundaki değişim.....	130
Şekil 4.33.	Çamur çözünabilirliği üzerine farklı ön işlemlerin etkisi.....	131
Şekil 4.34.	Rektörde açığa çıkan TUYA konsantrasyonunun zamana göre değişimi	141

KISALTMALAR

HRT	: Hidrolik alıkonma süresi (Hydraulic retention time)
HHÜH	: Hacimsel hidrojen üretim hızı
SKTR	: Sürekli karıştırmalı tank reaktör
TKM	: Toplam katı madde
TUKM	: Toplam uçucu katı madde
TUYA	: Toplam uçucu yağ asidi
UYA	: Uçucu yağ asidi
UAKM	: Uçucu askıda katı madde
UKM	: Uçucu katı madde
UOB	: Uçucu organik bileşik
TKOİ	: Toplam kimyasal oksijen ihtiyacı
ÇKOİ	: Çözünebilir kimyasal oksijen ihtiyacı
Tpro.	: Toplam protein
Çpro.	: Çözünebilir protein
Tkar.	: Toplam karbonhidrat
Çkar.	: Çözünebilir karbonhidrat

ATIKSU ARITMA ÇAMURLARINDAN BİYOHİDROJEN ELDE EDİLME POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Kentsel atıksu arıtma tesislerinde üretilen arıtma çamurunun, arıtımı ve bertarafı önemli bir çevresel problemdir. Kullanılmadan deşarj edilen bu biyokütle kalıntıları potansiyel bir enerji kaynağıdır. Ancak iyi bir yönetim olmadığı için önemli çevresel problemler yaratır. Son zamanlarda, anaerobik fermantasyonla hidrojen üretmek için çamur kullanımına odaklı bazı çalışmalar yapılmıştır.

Bu çalışmada atıksu arıtma tesislerinden çıkan önemli bir atık türü olan atık aktif çamurdan, karanlık fermantasyonla hidrojen gazı üretimi araştırılmıştır. Kesikli sistem anaerobik fermantasyonda, pH ve sıcaklık parametreleri için optimum işletme koşulları belirlenmiştir. $45\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de ve pH 5'de en iyi verimin alındığı görülmüştür.

Atık çamur yapısında bulunan doğal mikroorganizmalarla optimum koşulların belirlenmesinin ardından, atık çamura yapılacak anaerobik aşılamanın etkisi araştırılmıştır. Ancak anaerobik kültür içinde bulunan mikroorganizmalar, yüksek miktarda metan üretimine neden olmuş ve hidrojen üretiminin inhibe olmasına yol açmıştır. 24 saat sonunda atık aktif çamurdan elde edilen verim 92894 mL/m^3 iken, aşılama sonrası verim Set 2'de 1803 mL/m^3 'e düşmüştür. Metanojenlerin etkisini ortadan kaldırmak için anaerobik kültüre ısıl ön işlem uygulandığında (Set 3), 24 saat sonunda elde edilen H_2 verimi ise 61533 mL/m^3 'dür. Bu nedenle karanlık fermantasyon deneylerine aşılama yapılmadan devam edilmiştir.

En son aşamada atık aktif çamurdan elde edilecek biyohidrojen üretimini geliştirmek ve atık çamurun çözünabilirliğini artırmak için atık çamura altı farklı (asidik, bazik, ısıl işlem, sterilizasyon, dondurma-çözme ve metanojenik inhibitör ilavesi) ön işlem metodu uygulanmıştır. Uygulanan tüm ön işlemler, çamurun yapısında bulunan protein, karbonhidrat ve KOI 'nin çözünürlüğünü artırmıştır. En iyi çözünürlük (%) değerleri, bazik ön işlem, ısıl ön işlem ve sterilizasyon uygulanan atık aktif çamur örneklerinde görülmüştür. Sadece asidik ve bazik ön işlem uygulanan reaktörlerde, kontrol reaktörüne kıyasla daha yüksek konsantrasyonda hidrojen gazı çıkışı olduğu gözlemlenmiştir. Bir günün sonunda işlem görmemiş atık çamurda okunan H_2 değeri 53256 mL/m^3 iken, asidik ön işlem uygulamasından sonra 64806 mL/m^3 , bazik ön işlemde ise 77495 mL/m^3 olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Arıtma Çamuru; Biyohidrojen Üretimi; Karanlık Fermantasyon; Ön işlem.

EVALUATION OF BIOHYDROGEN PRODUCTION POTENTIAL FROM SEWAGE SLUDGE

ABSTRACT

The treatment and disposal of sewage sludge generated in urban wastewater treatment plants are important environmental problems. Unused, discarded biomass residues are a potential energy resource, which at present are not well managed and thus pose significant environmental problems. Recently, some studies are focusing on using the sludge to produce hydrogen by anaerobic fermentation.

In this study, hydrogen gas production by dark fermentation from waste activated sludge, a major waste type resulting from wastewater treatment plants, was investigated. In batch system anaerobic fermentation experiments, optimum operating conditions were determined for pH and temperature parameters. The optimum conditions were determined to be $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ and pH 5.

After determining optimum conditions with natural microorganism found in the structures of waste sewage sludge, the impact of anaerobic seeding that will be applied to the waste sewage sludge was investigated. However, the microorganisms present in the anaerobic culture caused the production of large amounts of methane and hydrogen production has led to inhibition. While the yield obtained from waste activated sludge was 92894 mL/m^3 at the end of 24 hours, yield after seeding in the Set 2 fell to 1803 mL/m^3 . When heat pretreatment was applied to the anaerobic culture (Set 3) to eliminate the effect of methanogens; H_2 yield obtained after 24 hours became 61533 mL/m^3 . Therefore, dark fermentation experiments were continued without addition of seed culture.

In the final stage, six different pretreatments methods (acidic, basic, heat treatment, sterilization, freeze-thaw and, methanogenic inhibitor addition) were applied to improve biohydrogen production to be obtained from waste activated sludge and to increase solubilization of waste sludge. All pretreatment methods increased solubilization of proteins, carbohydrates and COD in the structure of sludge. The best solubilization (%) values were observed in the waste activated sludge samples which underwent basic pretreatment, heat pretreatment and sterilization. Only in the reactors, which underwent acidic and basic pretreatment methods, the concentration of hydrogen gas was higher than control reactor. While the H_2 value read in waste sludge was 53256 mL/m^3 at the end of the day, it was 64806 mL/m^3 after acidic pretreatment application and 77495 mL/m^3 H_2 after basic pretreatment application.

Key Words: Biohydrogen Production; Dark Fermentation; Pretreatment; Sewage Sludge.

1. GİRİŞ

Endüstri devriminin ardından, teknik yeniliklere paralel olarak dünya genelinde ekonominin gelişmesi peş peşe beş ayrı dalgalanmayı beraberinde getirmiştir. 1750-1825 yılları arasındaki birinci dalgalanmanın, başlıca enerji kaynağı kömürdür. 1825-1860 arasındaki ikinci dalgalanmada, ekonomiye ivme kazandıran elektrik olmuştur. 1860-1910 yılları arasındaki üçüncü dalgalanmada, elektrik etkisini sürdürmüş ancak yeni enerji kaynağı petrol olmuştur. 1910-1970 arasındaki dördüncü dalgalanmada, ekonomiyi büyüten yeni enerji kaynağı nükleer enerjidir. İnsanoğlu, şimdi 1970’lerde başlayan 21. yüzyılın neresinde biteceği henüz bilinmeyen yeni bir dalgalanma içine girmiştir. Bu yeni dalgalanmayı etkileyen enerji türü ise hidrojenidir.

Hidrojen gazı, geleceğin temiz enerji taşıyıcısı olma yolunda önemli bir adaydır. Hidrojen, kullanım verimi yüksek bir yakıttır, çevre dostudur. Oksijen ile birleştiğinde, yüksek enerji değeri ile yanıp suya dönüşür. Çok hafiftir ve kolaylıkla hava ile karışabilir. Yalnızca bu özellikleri bile hidrojeni, geleceğin yakıtı olarak aday göstermeye yeterlidir.

Fosil yakıtların yanması sonucunda küresel ısınma ve asit yağmurlarına sebep olan CO₂, SO₂, NO_x ve diğer kirleticiler gibi önemli sera gazları ve toksik gazlar açığa çıktığı için, fosil yakıtları tek enerji kaynağı olarak görmek ciddi çevresel problemlere ve enerji krizlerine yol açacaktır. H₂, düşük emisyonu sahip olduğundan stratejik açıdan önemli, çevresel açıdan yararlı, daha temiz ve daha sürdürülebilir bir enerji kaynağıdır.

Bütün birincil enerji kaynakları, hidrojen üretim proseslerinde kullanılabilir. Henüz diğer enerji kaynaklarına göre üretimi bir miktar pahalı olmakla birlikte, çevreye sağladığı katkılar da göz önüne alındığında, yakın bir gelecekte insanlığa olan toplam maliyetinin daha da düşeceği öngörülmektedir. Değişik senaryolara göre, 2025 yılında dünya genel enerji tüketiminin %10’u hidrojenden karşılanacaktır. Hidrojen, dünya için olduğu kadar Türkiye için de oldukça önemli bir konudur. Çünkü Türkiye bugün, enerjisinin %75’ini ithal etmektedir. Her yıl petrol, doğalgaz

ve kömür ithali için, 40-50 milyar dolar harcanmakta ve bu harcamalar giderek daha da artmaktadır. Bu nedenle Türkiye, alternatif enerji kaynaklarına yönelerek kullanım oranlarını artırırken, hidrojen üretimi konusunda yapılan çalışmaları ve destekleri geliştirmelidir.

Ancak hidrojen için temel problem, fosil yakıtlar gibi kolaylıkla elde edilememesidir. Günümüzde hidrojen üretimi çoğunlukla, kompleks çalışma ve yoğun enerji gerektiren kimyasal teknolojilere dayanır. Bu yüzden, yeni maliyetçe etkili ve çevreye dost teknolojiler geliştirilmelidir. Hidrojen üretim yöntemleri arasında yer alan biyolojik hidrojen üretimi, fazla enerji gerektirmeyen daha uygun şartlar altında çalışma imkanı sunduğu için alternatif ve yenilenebilir enerji kaynağı olarak oldukça büyük önem taşır. Atık minimizasyon sorunları ve sürdürülebilir gelişime uygun olarak yenilenebilir kaynaklardan biyohidrojen üretimi, son yıllarda oldukça ilgi görmektedir ve yeşil teknoloji olarak bilinir. Biyolojik hidrojen üretimi amacıyla çeşitli biyokütle kaynakları, enerji elde etmek için kullanılabilmektedir. Ancak bu tür atıklardan biyolojik hidrojen üretimi sırasında büyük reaktör hacimlerine ihtiyaç duyulduğu için, hidrojen üretimi kimyasal teknolojilere kıyasla daha düşüktür.

Biyokütle, en bol bulunan yenilenebilir kaynaklardan birisidir ve yüzyıllardır kullanılmaktadır. Halen daha biyokütle, gelişmekte olan birçok ülkede enerji kaynağının %40-50'sine katkıda bulunurken dünya enerji kaynağının yaklaşık %12'si biyokütleden sağlanmaktadır. Biyokütle konusunda yapılan araştırmalar, olası atık enerji uygulamalarından dolayı son zamanlarda oldukça ilgi görmektedir. Bu yüzden yenilenebilir biyokütleden, özellikle de yüksek miktarda karbonhidrat içeren organik atık ve atıksulardan, biyohidrojen üretimi biyoenerji oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır.

Tüm bunlar değerlendirildiğinde enerji verimliliği, kaynak çeşitliliği ve çevreye etkisi açısından hidrojen enerjisinin fosil enerji kaynaklarına kıyasla üstünlüğü açıkça ortadadır. Bu durumda üretim maliyetinin düşürülerek hidrojen enerjisinin kullanımının artırılması ve yaygınlaştırılmasının, dünyamızın geleceği açısından birincil derecede önemli bir konu olduğu gözden kaçırılmamalıdır.

1.1 Tezin Hedefi ve Çıktıları

Bu çalışmada amaç, geleceğin en önemli enerji taşıyıcısı olarak kabul edilen hidrojenin karanlık fermantasyonla biyolojik yoldan elde edilmesinde atıksu arıtma tesislerinden çıkan bir atık olan arıtma çamurunun kullanılabilirliğini ve arıtma çamurlarından daha yüksek verimde hidrojen üretimi sağlanması için gerekli en uygun çalışma koşullarını araştırmaktır. Bu çalışmada ham madde kaynağı olarak seçilen atıksu arıtma çamuru, önemli bir yenilenebilir enerji kaynağıdır. Diğer yenilenebilir atıkların aksine, uygun bir şekilde bertaraf edilmezse ya da yararlanılmazsa çevreye çok fazla zararlı olabilir. Yüksek besli maddesi içeriği, özellikle fermantatif hidrojen üretimi için atık çamuru ideal bir substrat haline getirir ve kurutulmamış atıksu çamuru, tüm dünyada hidrojen gazı üretmek için en yaygın ham maddelerden biri olarak değerlendirilebilir. Çalışmanın diğer hedefleri aşağıda verilmiştir:

- Kesikli karanlık fermantasyonla biyohidrojen gazı üretim verimi üzerine, pH ve sıcaklık gibi çalışma parametrelerinin etkisini araştırmak, en iyi verimin alındığı koşulları belirlemek,
- Atıksu arıtma çamurunun, anaerobik çamur ile aşılması sonucunda elde edilecek hidrojen gazı üretimini araştırmak,
- Atıksu arıtma çamurundan, biyohidrojen üretim verimi ve atık çamurun çözünürlüğü üzerine yapılacak ön işlemlerin etkisini araştırmak,
- Çevre için önemli bir problem teşkil eden arıtma çamurlarını, H₂ üretimi için kullanıp hem kirlilik bertarafı hem de temiz ve verimli enerji üretimi sağlamak,
- Bu çalışmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda, bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutacak değerlendirmeler yapmak ve önerilerde bulunmaktır.

Ayrıca çalışmanın tasarım, işletim ve değerlendirme açısından konu ile ilgilenen (akademisyenler, belediyeler, atıksu arıtma tesisi işletmecileri ve enerji konusunda çalışan kuruluşlar ve özel şahıslar) kişiler için de yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Hidrojen, 1500'lü yıllarda keşfedilmiş, 1700'lü yıllarda yanabilme özelliğinin farkına varılmış, evrenin en basit ve en çok bulunan elementi olup, renksiz, kokusuz, havadan 14,4 kez daha hafif ve tamamen zehirsiz bir gazdır. Güneş ve diğer yıldızların termonükleer tepkimeyle vermiş olduğu ısıнын yakıtı hidrojen olup, evrenin temel enerji kaynağıdır. -253°C' de sıvı hale getirilebilir. Sıvı hidrojenin hacmi, gaz halindeki hacminin sadece 1/700'ü kadardır. Hidrojen doğada serbest halde bulunmaz, bileşikler halinde bulunur. En çok bilinen bileşiği ise sudur (URL-1). Hidrojen, hemen hemen tüm maddelerin $\frac{3}{4}$ 'ünü oluşturan evrendeki en bol elementlerden biridir. Atmosferde % 0,07, dünya yüzeyinde ise % 0,14 oranında H_2 bulunur. Bilinen en hafif elementtir. 1 L hidrojen 0,09 g, 1 L hava ise 1,2 g'dır. Suyun son ürün olarak çıktığı yanma reaksiyonunda, hidrojenin en yüksek ısı değeri 3042 kalori/m³'dür (Das ve Veziroğlu, 2001).

Sıvı hidrojenin, birim kütesinin üst ısı değeri 141,9 MJ/kg, alt ısı değeri ise 120,7 MJ/kg olup, ısı değeri petrolden 3,2 kat daha fazladır. Sıvı hidrojenin, birim hacminin ısı değeri ise 10,2 MJ/m³'tür ve petrolün % 28'i kadardır. Gaz hidrojenin, birim kütesinin ısı değeri sıvı hidrojenle aynı olup, doğal gazın 2,8 katı kadarken, birim hacminin ısı değeri 0,013 MJ/m³ ile doğal gazın % 32,5'i olmaktadır. Metal hidridlerin kütesel enerji içeriği, 2-10 MJ/kg ile sıvı hidrojene göre çok küçükken, hidridlerin hacimsel enerji içeriği, 12,6-14,3 MJ/m³ ile gaz ve sıvı hidrojenden büyüktür. Bir yakıtın motor yakıtı olma özelliği, yalnızca ısı değerine bağlı değildir. Ayrıca devindirme-tahrik etme (motivity) faktörü önemli olup, bu faktör, yakıtın kütlesi ve buna karşılık olan hacmine bağlı biçimde, en yüksek ısı değerli yakıtla analitik karşılaştırma sonucu hesaplanır. Hidrojenle birlikte çeşitli motor yakıtlarının özellikleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

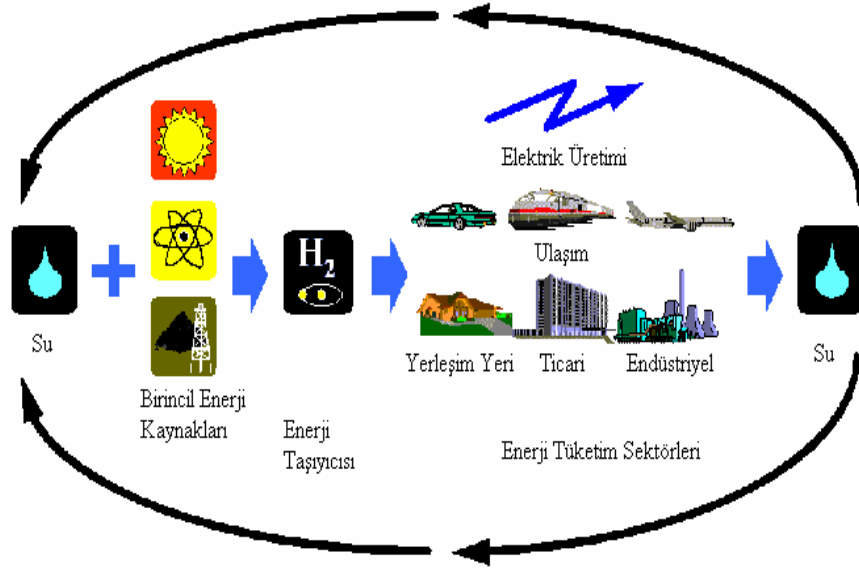
Bugünün enerji kaynakları, çevre üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Hidrojen enerjisi gelecek vaad eden alternatif bir çözümdür. Çünkü temizdir ve çevresel açıdan güvenlidir. Nükleer enerji ve yenilenebilir enerji gibi, bitmez tükenmez bir

enerji kaynağıdır. Hidrojen, kolaylıkla kullanılabilir formda enerjiyi taşımak, depolamak ve dağıtmak için kullanılan ikincil bir enerji kaynağı, yani bir enerji taşıyıcısıdır. Şekil 2.1’de görüldüğü gibi diğer kaynaklardan üretilen enerjiyi taşıyarak, enerji tüketim sektörlerinin ihtiyacını karşılar. Yüksek yanma ısısına sahiptir ve yakıt hücrelerinde direk yakıt olarak kullanılabilir. Metan, metanol ve etanol de aynı amaçla kullanılabilmesine rağmen yüksek reaktivite ve yüksek enerji yoğunluğundan dolayı hidrojen, şu anda çok sık kullanılan bir yakıttır (Bartacek ve diğ., 2007).

Çizelge 2.1. Hidrojenin diğer yakıtlarla karşılaştırılması (Şenaktaş, 2005).

Yakıt	Birim kütle enerjisi (MJ/kg)	Birim hacim enerjisi (MJ/m³)	Motivite faktörü
Sıvı yakıtlar			
Sıvı hidrojen	141,9	10,20	1,00
Fuel-oil	45,5	38,65	0,78
Benzin	47,4	34,85	0,76
Jet yakıtı	46,5	35,30	0,75
Sıvılaştırılmış petrol gazı (LPG)	48,8	24,40	0,62
Sıvı doğal gaz (LNG)	50,0	23,00	0,61
Metanol	22,3	18,10	0,23
Etanol	29,9	23,60	0,37
Gaz yakıtlar			
Gaz hidrojen	141,9	0,013	1,00
Doğal gaz	50,0	0,04	0,75

Hidrojen, karbon içermediği için yandığı zaman açığa çıkan tek ürün sudur. CO₂, CO, H₂SO₄, duman-is, yanmamış hidrokarbonlar açığa çıkmaz. H₂, oksijen ile yandığı zaman küçük miktarda NO_x üretilir. Fakat yakıt pilleri içinde kullanıldığı zaman hiçbir zararlı emisyon oluşmaz. Bu yüzden hidrojen, sadece son kullanım uygulamalarını geniş bir çeşitlilikte sağlayabilme potansiyeline sahip değildir. Yanma sonucunda sera gazı emisyonları, asit yağmuru ve ozon tabakasının delinmesine yol açan gazlar açığa çıkmadığı için aynı zamanda temiz bir yakıttır.



Şekil 2.1. Hidrojen enerji sisteminin şematik gösterimi (Bartacek ve diğ., 2007).

Hidrojenin ekonomik olarak üretilmesindeki teknik engellerin aşılması için hidrojen üretim, dağıtım, depolama, dönüşüm ve son kullanım uygulamalarının maliyetinin düşürülmesi gerekir. Hidrojen, evrendeki en bol element olmasına rağmen çoğunlukla fosil yakıtlar, biyokütle, hidrokarbon polimerler ya da su gibi hidrojen içeren diğer bileşiklerden üretilebilir (Kotay ve Das, 2008). Hidrojen, gaz ya da sıvı formda depolanabilir. Fakat hidrojeni, sıvılaştırmak için çok düşük sıcaklıklar gerektiğinden sıvı formda hidrojenin depolanması daha zordur.

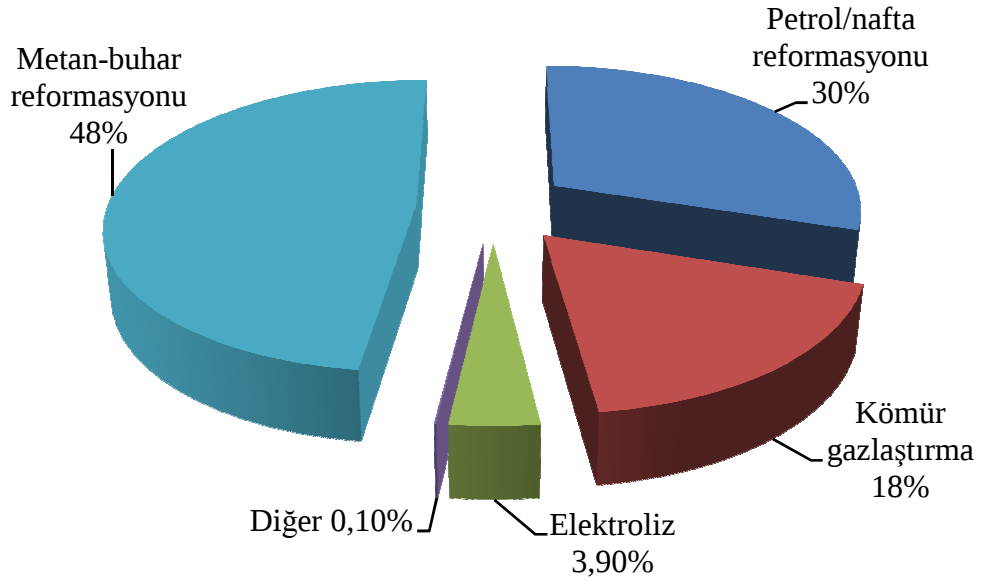
Hidrojenin sahip olduğu özellikler, içten yanmalı motorlar için ideal bir yakıt olmasını sağlar. Hidrojen, ısı kaynağı ve taşıma amacı için temiz enerji taşıyıcısı olarak avantajlı bir şekilde kullanılabilir. Fakat hidrojen yakıtı ve hidrojenli araçların çok yüksek maliyeti, çevresel avantajlarına göre ağır basmakta ve kullanımını sınırlandırmaktadır. Hidrojen, yakıt hücreleriyle direk olarak elektriğe de dönüştürülebildiğinden gelecekte merkezi kullanım için en umut verici yakıtlardan biri olarak düşünülmektedir.

Dünyada üretilen hidrojenin, çoğu doğal gazdan, sonrasında ise metanol, dimetil eter, etanol, dizel, propan ve petrolden üretilmektedir. Ancak hidrojen, biyokütle, hidroelektrik enerji, solar termal enerji, direk dönüşüm için fotovoltaiik yöntemin kullanıldığı güneş enerjisi ve rüzgar enerjisi gibi, yenilenebilir enerji kaynaklarından da üretilebilir. Hidrojen, su ve yenilenebilir enerji kaynaklarından kolaylıkla üretilebildiği için enerji kaynağı olarak büyük bir potansiyele sahiptir (Demirbaş, 2009).

2.1 Hidrojen Üretim Teknolojileri

Bugün dünyada var olan belirsizlik, özellikle de Orta Doğu'da ve gelişmekte olan ülkelerdeki talep artışı, petrol fiyatlarının son birkaç yılda sürekli olarak artmasına sebep olmuştur. Ekonomik açıdan doğurduğu sıkıntılara ek olarak petrol kullanımı, beraberinde çevresel sorunları da getirmiştir. Son analizler Amerikalıların % 50'sinin yaşadığı alanlarda kirleticilerin, çevreyi ya da halk sağlığını etkileyecek kadar yüksek olduğunu göstermektedir. Amerika'da üretilen karbon monoksit ve azot oksit (NO_x) emisyonlarının büyük çoğunluğundan ve uçucu organik bileşik (UOB) emisyonları ile CO_2 'in önemli miktarından, ulaşım araçları sorumludur. Bu sorunla başa çıkabilmek için, daha temiz yakıtlar bulmak ve özellikle taşıma sektörü için enerji kaynaklarını çeşitlendirmek gerekmektedir. Fakat alternatif yakıtlar konusundaki tercih, her yerde aynı değildir. Bir bölge etanolu tercih ederken, diğeri biodizel, benzin ya da metanı tercih eder. Bu yakıtların çoğu, farklı teknolojiler gerektirir. Fakat hidrojen bu ham maddelerin hepsinden üretilebildiği için, bu özelliği evrensel bir kaynak olmasını sağlar. Son zamanlarda hem enerji ve ekonomik güvenliği artırmak hem de şu anki korkulara potansiyel bir çözüm sunmak amacıyla, yeni hidrojen üretim teknolojilerinin gelişimi konusuna olan ilgi artmaktadır.

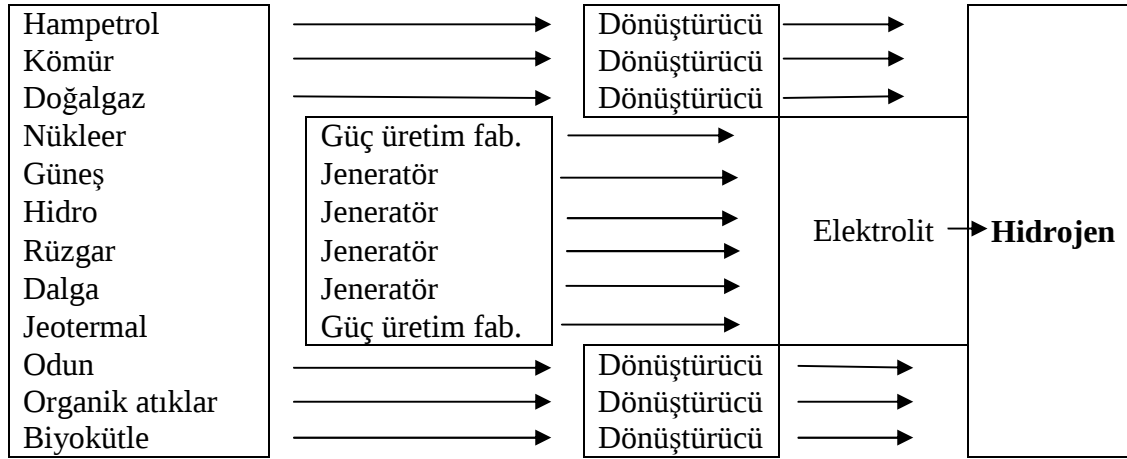
Hidrojene duyulan ihtiyaç, enerji kaynağı olarak kullanım ile sınırlı değildir. Hidrojen gazı, kimyasalların üretimi için ham madde olarak, gıda endüstrisinde katı ve sıvı yağların hidrojenasyonu, elektronik aygıtların üretimi, çelik imalatında, rafinerilerde petrolün yeniden formülasyonu ve desülfürizasyon için kullanılır. Yaklaşık % 10 büyüme hızı ile yılda 50 milyon ton hidrojenin, dünya çapında satıldığı bilinmektedir. Amerika (US)'nın ulusal hidrojen üretim programına göre, toplam enerji piyasasına hidrojenin katkısı 2025'e kadar % 8-10 olacaktır. US enerji departmanı (US-DOE) tarafından rapor edilen verilere göre, H_2 gücü ve taşıma sistemleri 2040 yılına kadar Amerika'nın bütün bölgelerinde olacaktır. Hidrojen enerjisi ihtiyacının artmasından dolayı maliyet verimliliğinin gelişimi ve verimli hidrojen üretim teknolojileri, son yıllarda oldukça ilgi görmektedir (Kapdan ve Kargı, 2006). Şekil 2.2'de 2005 yılı itibarı ile 45 milyon ton olan yıllık dünya hidrojen üretiminin, hangi yöntemlerle gerçekleştirildiği grafiksel olarak sunulmuştur. Hidrojen ekonomisine geçilmesi halinde, son derece düşük olan bugünkü hidrojen üretim miktarları mertebeler seviyesinde artacak ve muhtemelen hidrojen üretim yöntemlerinde de önemli değişimler olacaktır (Özgener, 2009).



Şekil 2.2. Dünya hidrojen üretiminde kullanılan değişik yöntemlerin payları (Ewan ve Allen, 2005).

Hidrojen üretiminde, çeşitli kaynak ve teknolojiler kullanılmaktadır; doğal gaz, kömür, benzin, metanol veya biyokütleden ısıyla; bakteriler ve alglerden fotosentezle; elektrik veya güneş ışığı etkisiyle suyun hidroliziyle hidrojen üretilir. Bugün hidrojen üretiminin çoğu, fosil ham maddelerden yapılmaktadır. Dünya hidrojen üretiminin %48'i doğal gazdan (%90 dan fazlası metandır), %30'u rafineri ürünlerinden, %18'i kömürden ve kalan %4'ü de suyun elektroliziyle elde edilmektedir. Bunların dışında geliştirilmiş ve geliştirilmekte olan yeni hidrojen üretim prosesleri de vardır. Hidrojen üretim metotları ham maddeye, elde edilmek istenen hidrojen miktarına ve saflık derecesine göre değişir. Yeni geliştirilmekte olan yöntemler de dikkate alındığında hidrojen üretim teknolojileri, üç grup altında toplanabilir (Şekil 2.3);

- Fosil ham maddelerden: Kömürün gazlaştırılması, buhar reformasyonu, ototermal reformasyon, termal ayrışma.
- Yenilenebilir enerji kaynaklarından: Suyun elektrolizi, fotoelektroliz, suyun termal parçalanması, biyokütle gazlaşması.
- Atık gaz akımlarından hidrojen kazanma: Rafineriler (buhar veya metanol reformasyon fabrikaları proses gazları) ve kimyasal madde fabrikalarında (amonyak veya metanol sentezi) hidrojen zengin atık gazlardaki hidrojenin ayrılması (URL-2).



Şekil 2.3. Hidrojen üretim kaynakları ve prosesler (URL-2).

Fakat şu anda, en çok geliştirilen ve en çok kullanılan teknoloji, hidrokarbon yakıtların reformasyonudur. Fosil yakıtlara olan bağımlılığı azaltmak için biyokütle ve su gibi yenilenebilir kaynaklardan, hidrojen üretim teknolojilerinde de önemli artışlar olmuştur. Çizelge 2.2’de, kullanılan ham madde ve teknolojiye bağlı olarak elde edilen hidrojen verimleri karşılaştırılmıştır. Yenilenebilir enerji ile birleşen elektroliz, yakın dönemdeki düşük emisyonlu bir teknolojidir. Uzun dönemli teknolojiler biyohidrojen, termokimyasal su ayrıştırma ve fotoelektrolizdir. Bu alternatif hidrojen üretim proseslerinin gelişiminde önemli ilerlemeler olmasına rağmen, şu anki geleneksel büyük ölçekli teknolojiler ile rekabet edebilmeleri için daha fazla teknik ilerleme ve maliyette azalma gerekir. Fakat daha küçük ölçekte hidrojen üretimine imkan veren teknolojiler, özellikle de elektroliz, maliyet olarak diğerleri ile rekabet edebilecek durumdadır. Hidrojen, hemen hemen her yerde bulunabilen çok farklı besin atıklarından da üretilir. Çevresel etkileri minimum hale getirmek için gelişmekte olan birçok proses vardır. Bu teknolojilerin gelişimi, fosil yakıtlara dünyanın bağımlılığını azaltabilir. Aynı zamanda hidrojen kullanmak ve üretmek ile, para ve iş gücü ülkemizde tutulmuş olur. Kurum içi hidrojen üretimi, ulusal enerji ve ekonomik güvenliği artırabilir (Holladay ve diğ., 2009).

Çizelge 2.2. Farklı teknolojiler sonucunda elde edilen hidrojen verimlerinin karşılaştırılması (Holladay ve diğ., 2009).

Teknoloji	Ham madde	Verimlilik	Teknolojinin gelişimi
Buhar reformasyonu	Hidrokarbonlar	70-85% ^a	Ticari amaçlı
Kısmi oksidasyon	Hidrokarbonlar	60-75% ^a	Ticari amaçlı
Ototermal reformasyon	Hidrokarbonlar	60-75% ^a	Yakın dönem
Plazma reformasyonu	Hidrokarbonlar	9-85% ^b	Uzun vadede
Sucul safha reformasyonu	Karbonhidratlar	35-55% ^a	Orta dönem
Amonyak reformasyonu	Amonyak	NA	Yakın dönem
Biyokütle gazifikasyonu	Biyokütle	35-50% ^a	Ticari amaçlı
Fotoliz	Güneş ışığı+su	0,5% ^c	Uzun vadede
Karanlık fermentasyon	Biyokütle	60-80% ^d	Uzun vadede
Foto fermentasyon	Biyokütle + güneş ışığı	0,1% ^e	Uzun vadede
Mikrobiyal elektroliz hücreler	Biyokütle + elektrik	78% ^f	Uzun vadede
Alkali elektroliz	H ₂ O + elektrik	50-60% ^g	Ticari amaçlı
PEM elektroliz	H ₂ O + elektrik	55-70% ^g	Yakın dönem
Katı oksit elektroliz hücreler	H ₂ O + elektrik + ısı	40-60% ^h	Orta dönem
Termokimyasal su ayrışması	H ₂ O + ısı	NA	Uzun vadede
Fotoelektrokimyasal su ayrışması	H ₂ O + güneş ışığı	12,4% ⁱ	Uzun vadede
NA	Bilgi elde edilemiyor.		
a	Yüksek ısı değerlere bağlı termal verimlilik		
b	Hidrojen saflaştırma dahil edilmemiştir.		
c	Su ayrışması aracılığıyla dönüşüm ve hidrojen saflaştırma dahil edilmemiştir.		
d	Teorik olarak maksimum 4 mol H ₂ /mol glikoz verim elde edilir.		
e	Organik materyaller üzerinden güneş ışığının hidrojene dönüşümü ve hidrojen saflaştırma dahil edilmemiştir.		
f	Substrat içindeki enerji ve uygulanan voltajı içeren tüm enerji verimliliği. Hidrojen saflaştırma dahil edilmemiştir.		
g	Üretilen hidrojenin düşük ısı değeri, elektrik enerjisiyle elektroliz hücresine ayrılır.		
h	Yüksek sıcaklıkta elektroliz verimliliği, termal enerji kaynağının verimliliği ve elektroliz çalışma sıcaklığına bağlıdır.		
i	Su ayrışması ile güneş ışığı hidrojene dönüşür ve hidrojen saflaştırma dahil edilmemiştir.		

2.2 Biyolojik Yolla Hidrojen Üretimi

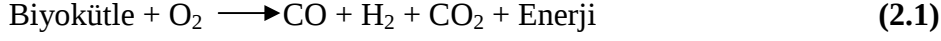
Biyolojik olarak yenilenebilir kaynaklardan mikroalg ve bakteriler tarafından üretilen biyohidrojen, sürdürülebilir enerji kaynağı için ümit verici bir alternatiftir. Yenilenebilir kaynaklar konusu özellikle de biyohidrojen, enerji güvenliği, çevresel ilgiler, döviz tasarrufu ve dünyadaki bütün ülkelerin bölgesel sektörleriyle ilgili sosyoekonomik sorunları içerir.

Biyokütle, geleceğin en önemli yakıtı olarak hidrojenin farkındalığını hızlandırma potansiyeline sahiptir. Fakat biyokütleden hidrojen elde etmede, birçok zorluk vardır. Biyokütleden hidrojen elde etme verimi düşüktür ve günümüzde teknolojik olarak kendini kanıtlamış kullanışlı bir biyohidrojen üretim prosesi yoktur.

Ancak biyohidrojen üretim prosesleri, termokimyasal ve elektrokimyasal prosesler ile kıyaslandığında, enerji yoğunluğu daha az olmasına rağmen çevresel açıdan daha dost bir teknolojidir.

Biyokimyasal ve biyolojik prosesler birçok avantaja da sahiptir:

1) İstenmeyen ve tehlikeli yan ürünler oluşmaz.



2) Ortam sıcaklığı ve basıncında meydana gelir.

3) Özel ekipman gerektirmez.

4) Hepsi yenilenebilir enerji kaynaklarıdır (Sinha ve Pandey, 2011).

Biyokütlenin mikrobiyal fermentasyonunda, farklı atık materyaller substrat olarak kullanılabilir. Karbonhidrat gibi substratlar bakteri konsorsiyumu tarafından fermante edildiği zaman, yeni ve özgün bir proses geliştirilmektedir (Demirbaş, 2009). Kimyasal ya da elektro kimyasal benzerlerinin aksine biyolojik prosesler, ortam sıcaklığı ve basıncında, sucul ortamda, mikroorganizmalar tarafından katalizlenirler. Dahası bu teknikler, taşıma maliyeti ve enerji harcamalarından kaçınmak için biyokütle ya da atığın elde edilebildiği bölgelerdeki küçük ölçekli tesislerde, merkezi enerji üretimi için de uygundur.

Yenilenebilir enerji üretimi amacıyla kullanılan en önemli biyokütle kaynakları, tarımsal ürünler ve onların atık yan ürünlerini, odun ve odun atığı gibi lignoselülozik ürünleri, gıda üretiminden çıkan atıkları, alg ve sucul bitkiler ve insanların yaşam alanlarında ürettiği atıkları içerir. Tarımsal atıklar, çiftlik hayvanlarından temin edilen hayvan gübresi ve arıtma çamuru gibi su içeren biyokütleden, çoğunlukla mikrobiyal fermentasyonla enerji geri kazanılır. Enerji kaynağı olarak kullanılan biyokütle, akışkan ya da ham madde formunda karakterize edilir. Bu kaynaklar, uygun koşullar altında kullanılırsa, gelecekte enerjinin başlıca kaynağı olacaktır.

Biyokütle, yenilenebilir hidrojen üretimi için önemli bir kaynak potansiyeline sahiptir. Ayrıca, biyokütleden hidrojen üreten proseslerin çoğu, biyolojik materyal üreten proseslerle birbirini tamamlayıcı özellik gösterir. Bu yüzden büyük tarımsal ekonomisi olan ülkeler, biyoendüstri ile biyoenerjinin birleştirilmesi neticesinde, önemli seviyede ekonomik gelişim potansiyeline sahip olacaklardır. Yiyecek atığı gibi düşük değerli atık biyokütle kullanan yenilenebilir hidrojen teknolojileri, diğer hidrojen üretim teknolojileri ile maliyetçe rekabet edebilir olmak için büyük

potansiyeye sahip iken, biyokütleden hidrojen üretmek şu anda doğal gazdan hidrojen üretmekten daha pahalıdır. Hidrojenin ekonomik olarak elde edilmesi için, aşılması gereken birçok lojistik ve pazar sorunu vardır (Kotay ve Das, 2008).

Hidrojen üretimi için kullanılan her metot, farklı bir enerji kaynağı (termal (ısı), elektroliz (elektrik) ya da fotolitik (ışık enerjisi) vs.) gerektirir. Diğer bir deyişle yüksek enerji ihtiyacı vardır ve çevresel açıdan her zaman yararlı değildir. Dahası, 21. yüzyılın ortalarına doğru, fosil yakıt açığının artması beklenmektedir. Bu açıdan bakıldığında hidrojen üretimi, özellikle de biyolojik hidrojen üretimi, alternatif ve yenilenebilir enerji kaynağı olarak oldukça önemli gözükmektedir. Böylesine önemli bir kaynaktan verimli bir şekilde faydalanmak için, biyolojik yolla hidrojen üretimindeki bilimsel ve teknik engellerin ortadan kaldırılması gerekir (Çizelge 2.3) (Kotay ve Das, 2008).

Temel enerji kaynağı olarak fosil yakıtlara bağıllık, ciddi enerji krizlerine ve çevresel problemlere (fosil yakıtların azalması ve kirlilik emisyonları) yol açmaktadır. Dahası fosil yakıtın yanması sonucu, küresel ısınma ve asit yağmuruna sebep olan sera gazı ve toksik gazlar, CO₂, SO₂, NO_x ve diğer kirleticiler, önemli miktarda üretilmektedir (Ni ve diğ., 2006). Bu problemlere karşılık olarak, sürdürülebilir gelişim için yenilenebilir alternatifler üzerinde çalışılmaktadır. Biyokütle, yakın bir zamanda petrolün yerini alması çok muhtemel yenilenebilir bir organik türdür. Biyokütle, hayvan atıkları, kentsel katı atıklar, ekin kalıntıları, küçük ağaç kalıntıları, tarımsal atıklar, talaş tozları, sucul bitkiler, kısa dönemli otsu türler, atık kağıt, tahıllar ve daha birçok maddeden elde edilebilir (Holladay ve diğ., 2009).

Biyokütleden mevcut enerji üretim prosesleri, termokimyasal ve biyolojik prosesler olmak üzere iki genel kategoriye ayrılabilir (Levin ve Chahine, 2010). Piroлиз, geleneksel gazifikasyon ve süperkritik su gazifikasyonu, üç temel termokimyasal prosestir (Kalıncı ve diğ., 2009). Direk biyofotoliz, dolaylı biyofotoliz, biyolojik yoldan suyun gaza dönüşümü, foto fermentasyon ve karanlık fermentasyon ise, temel biyolojik proseslerdir.

Çizelge 2.3. Biyohidrojen üretiminde bilimsel ve teknik engeller (Kotay ve Das, 2008).

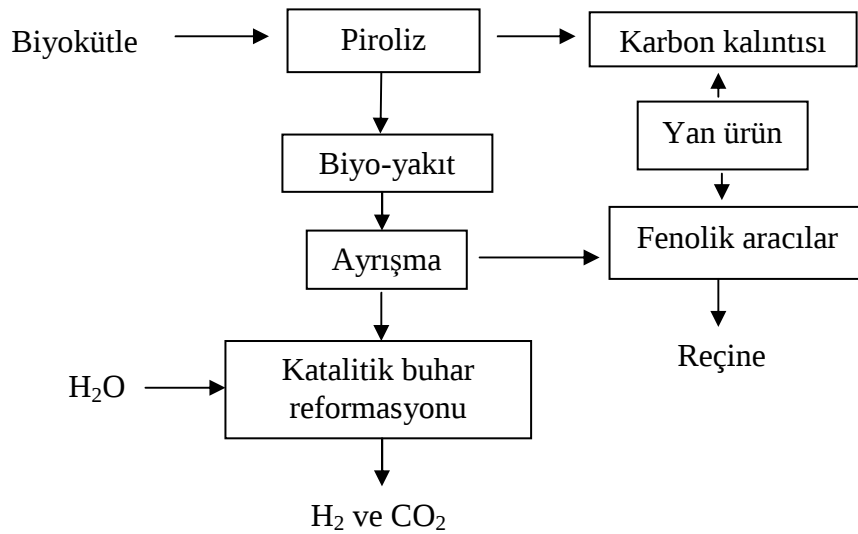
Kısıtlama türü	Kısıtlamalar	Kabul edilen çözüm
Temel Bilim		
Organizma	- Bakteri doğal olarak 4 mol H ₂ /mol glikozdan daha fazla üretmez.	- H ₂ üretim oranları, verimi ve devamlılığı için kombine bir izleme ve daha fazla yeni mikroorganizmanın izole edilmesi - Belirlenen bakterinin genetiğini değiştirme
Enzim (hidrogenaz)	- Hidrogenazın aşırı salınımı dengede değildir. - O ₂ duyarlılığı - Geri inhibisyonda H ₂ beslemesi	- Enzim işleyiş ve düzeninin daha iyi anlaşılması - Mutajenik çalışmalar - Düşük H ₂ kısmi basınçlı fermentasyon
Fermantatif		
Ham madde	- Uygun ham maddenin yüksek maliyeti (glikoz) - Yenilenebilir biyokütle kullanarak düşük verim	- Ham madde olarak yenilenebilir biyokütle - Verimi artırabilen mikrobiyal türlerin kullanımı ve parçalanması
Tür	- Uygun endüstriyel türün eksikliği	- Endüstriyel olarak geçerli türlerin gelişimi
Proses	- Ticari olarak uygulanabilir ürün verimi - Tamamlanmamış substrat kullanımı - Uygun proses - Sterilizasyon	- Hibrit sistem (Foto+Karanlık fermentasyon) - Fermantör ekonomik açıdan uygun ikinci bir prosesle birleştirilebilir. - Sürekli kültür gibi fermentasyon araçlarının kullanımı ve uygulanması - Düşük maliyetli sterilizasyon teknolojisi geliştirmek
Mühendislikte		
Reaktör	- H ₂ üretimi için kinetik olarak uygun reaktör tasarımının eksikliği - Fotobiyoreaktör olması durumunda ışık yoğunluğu	- Tanımlanan proses/tür için uygun bir reaktör geliştirmek amacıyla proses mühendisliği kavramının dahil edilmesi - Düz panel ya da içi boş tüp reaktör kullanılabilir.
Termodinamik	- Termodinamik engel NAD(P)H → H ₂ (+4,62 kJ/mol)	- Zıt elektron nakli yapılabilir.
Hidrojen	- H ₂ saflaştırma/ayırma - Depolama	- CO ₂ /H ₂ S'in seçici absorpsiyonu - H ₂ depolama konusunda temel çalışmalar

2.2.1 Termokimyasal prosesler

2.2.1.1 Biyokütlenin pirolizinden hidrojen eldesi

Piroliz, oksijen yokluğunda 0,1-0,5 MPa'da 650-800 K sıcaklıkta biyokütlenin ısıtılarak sıvı yağ, katı organik kömür ve gazlı bileşiklere dönüştürülmesidir. Piroliz, düşük piroliz ve hızlı piroliz olarak sınıflandırılabilir. Ürünler çoğunlukla organik kömür olduğu için, düşük piroliz normalde hidrojen üretimi için düşünülmemektedir. Hızlı piroliz, yüksek sıcaklıktaki bir prosestir. Biyokütle ham maddesi buharlaşma için proses içindeki havanın yokluğunda hızlı bir şekilde ısıtılır ve daha sonra gaz koyu renkli hareketli biyolojik sıvıya dönüşür (Jalan ve Srivastava, 1999).

Gaz halindeki ürünler dışında, yağ halinde bulunan ürünler, hidrojen üretimi için işlenebilir. Piroliz yağı suda çözünabilirliğine bağlı olarak iki fraksiyona ayrılabilir. Yapışkan madde için suda çözünemeyen fraksiyon formüle edilirken, suda çözünabilir fraksiyon hidrojen üretimi için kullanılabilir. Sistemin izlediği yol, Şekil 2.4'de özetlenmiştir (Ni ve diğ., 2006).



Şekil 2.4. Yan ürün stratejisi ile piroliz temel alınarak biyokütlenin hidrojene dönüşümü (URL-3).

2.2.1.2 Biyokütle gazifikasyonu ile hidrojen eldesi

Biyokütle ve kömür ile yaygın bir şekilde kullanılan gazifikasyon teknolojisi, birçok proseste ticari boyutta kullanılır. Pirolizin farklı bir uygulamasıdır ve bu yüzden üretici gaz olarak bilinen hidrojen, metan, karbon monoksit, karbon dioksit ve azot karışımı içinde bu maddelerin kısmi oksidasyonuna dayanır. Biyokütle içinde

bulunan nemin buharlaştırılması gerektiği için, gazifikasyon prosesinin termal verimliliği düşüktür. Sabit yataklı ya da akışkan yataklı reaktör içinde, katalizör olmaksızın ya da katalizörlü yapılabilir. Akışkan yataklı reaktörde, genel olarak daha iyi performans elde edilir.

Gazifikasyon, 800-1000°C'lik yüksek sıcaklıklarda bile gaz ürün içinde önemli miktarda katran üretir. Bu yüzden nikel katalizör ya da toz haline getirilmiş dolomit kullanan ikincil bir reaktör, gaz ürünü iyileştirmek ve katalitik olarak temizlemek için kullanılır. İdeal olarak, oksijen bu ünitelerde kullanılabilir. Fakat oksijen ayırma biriminin işleyişi, küçük ölçekli ünitelerde maliyet açısından engel oluşturur (Holladay ve diğ., 2009).

2.2.1.3 Süperkritik su gazifikasyonu

Kritik nokta üzerinde suyun açığa çıkan özellikleri kimyasal reaksiyonlar için, özellikle de gazifikasyon prosesinde, önemli rol oynar. Kritik nokta altında, sıvı ve gaz safhaların her ikisi de farklı özellik gösterirken en son aşamada kritik noktaya ulaşıldığı anda (sıcaklık>374°C, basınç>22 MPa) her iki safhanın da özellikleri özdeşir. Kritik noktanın üzerinde, süperkritik su gazifikasyonunun özellikleri sıvı ya da gaz gibi koşullar arasında değişir. Biyokütle gazifikasyonunda, süperkritik su gazifikasyonunun kullanımı yüksek nem içerikli biyokütle ile direk olarak başa çıkabildiği (>%50) için biyokütlenin kurutulması gerekmemektedir (Kalıncı ve diğ., 2009).

2.2.2 Biyolojik prosesler

Biyolojik hidrojen üretimi olgusu, 100 yıl öncesinde fark edilmiştir. 1970'lerde enerji krizi patlak verdiği zaman, hidrojen üretim teknolojisi, özellikle de fotosentetik prosesler ile hidrojen üretimi, ilgi görmeye başlamıştır. Fakat bu çalışmalar laboratuvar ölçeklidir ve uygulamaya geçirilmelidir. Biyolojik hidrojen üretimi, beş farklı grup içinde sınıflandırılabilir: 1) Direkt biyofotoliz 2) Dolaylı biyofotoliz 3) Biyolojik yoldan suyun gaza dönüşüm reaksiyonu 4) Foto fermentasyon ve 5) Karanlık fermentasyon (Levin ve diğ., 2004). Bütün prosesler, hidrogenaz ve nitrogenaz gibi hidrojen üreten enzimler ile kontrol edilir. Bu enzimlerin özellikleri, Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çizelge 2.4. Nitrogenaz ve hidrogenazın özelliklerinin karşılaştırılması (Ni ve diğ., 2006).

Özellik	Nitrogenaz	Hidrogenaz
Substratlar	ATP, H ⁺ ya da N ₂ , elektronlar	H ⁺ , H ₂
Ürünler	H ₂ ya da NH ₄ ⁺	ATP, H ⁺ , H ₂ , elektronlar
Proteinlerin sayısı	İki (Mo-Fe ve Fe)	Bir
Metal bileşenler	Mo, Fe	Ni, Fe, S
Optimum sıcaklık	30°C (<i>A. vinelandii</i>)	55°C'de (<i>R. rubrum</i>), 70°C (<i>R. Capsulatus</i>)
Optimum pH	7,1-7,3 (<i>A. vinelandii</i>)	6,5-7,5 (<i>R. sulfidophilus</i>)
İnhibitörler	N ₂ (H ₂ üretimi), NH ₄ ⁺ , O ₂ , yüksek C/N oranı	CO, EDTA, O ₂ , organik bileşiklerin varlığı
Simülatörler	Işık	H ₂ (<i>R. sphaeroides</i>), organik bileşiklerin yokluğu (<i>R. rubrum</i> , <i>R. capsulatus</i>)

2.2.2.1 Direk biyofotoliz

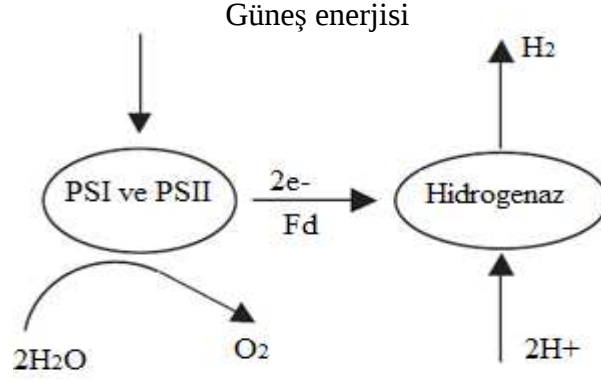
Direk biyofotoliz ile hidrojen üretimi, hidrojen oluşturmak amacıyla güneş enerjisini kimyasal enerji biçimine dönüştürmek için mikroalg fotosentetik sistemlerin kullanıldığı biyolojik bir prosestir.

Güneş enerjisi



İki fotosentetik sistem, fotosentez prosesinden sorumludur: 1) CO₂ azalması için indirgeyici üretecek fotosistem I (PSI) 2) Oksijen açığa çıkaran ve suyu ayrıştıran fotosistem II (PSII). Biyofotoliz prosesinde, sudan gelen iki proton hidrogenazın varlığında hidrojen oluşumu ya da PSI ile CO₂ azalmasını sağlayabilir.

Yeşil bitkilerde hidrogenaz eksikliğinden dolayı, sadece karbon azalımı olur. Diğer tarafta yeşil alg ve *Cyanobacteria* (mavi-yeşil alg) gibi mikroalgler, hidrogenaz içerir ve bu yüzden hidrojen üretme yeteneğine sahiptir. Bu proseste, PSII ışık enerjisini absorbladığı zaman elektronlar üretilir. Daha sonra elektronlar, PSI tarafından absorbe edilen güneş enerjisini kullanarak ferrodoksine (Fd) transfer edilir. Hidrogenaz enzimi, Şekil 2.5'de gösterildiği gibi hidrojen üretmek için Fd'den elektronları kabul eder.



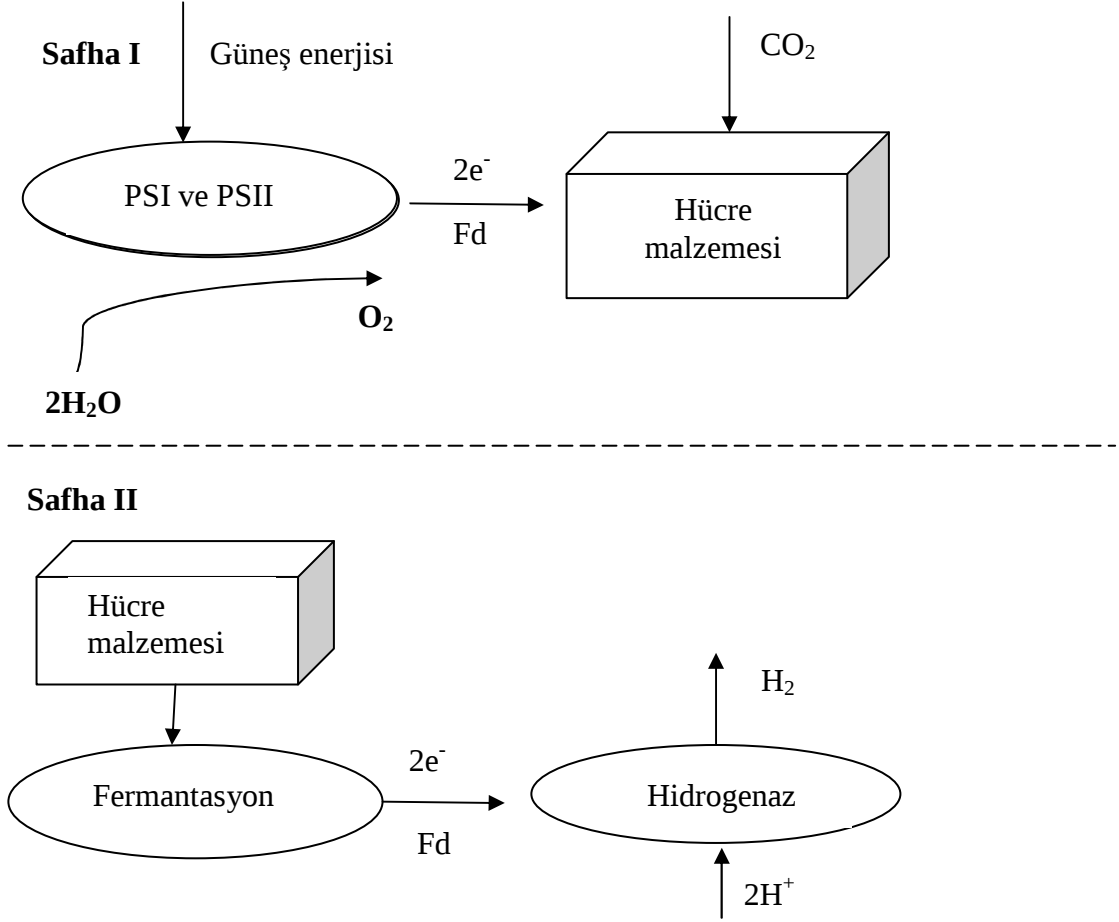
Şekil 2.5. Direk biyofotoliz (Ni ve diğ., 2006).

Hidrojenaz oksijene duyarlı olduğu için, hidrojen üretiminin sürdürülebilir olması amacıyla oksijen içeriğini % 0,1'in altındaki düşük seviyelerde tutmak gereklidir. Bu koşul, oksidatif solunum süresince oksijeni tüketen yeşil alg *Chlamydomonas reinhardtii*' nin kullanımı ile elde edilebilir. Fakat substratın önemli miktarı, bu proses süresince harcandığı ve solunum olduğu için verimlilik düşüktür. Son zamanlarda mikro alglerden kaynaklanan mutasyonların, iyi bir O₂ toleransına ve bu yüzden de daha yüksek hidrojen üretimine sahip olduğu görülmüştür (Ni ve diğ., 2006).

2.2.2.2 Dolaylı biyofotoliz

Dolaylı biyofotoliz kavramı, Şekil 2.6'da gösterildiği gibi 4 aşamada yapılır: 1) Fotosentezle biyokütle üretimi 2) Biyokütle zenginleşmesi 3) 2 mol asetat ile birlikte alg hücresi içindeki 4 mol H₂/mol glikoz verim getiren aerobik karanlık fermantasyon 4) Asetatın 2 molünün hidrojene dönüşümü. Tipik bir dolaylı biyofotolizde, *Cyanobacteria* (mavi-yeşil alg) aşağıdaki reaksiyonla hidrojen üretmek için kullanılır (Ni ve diğ., 2006);





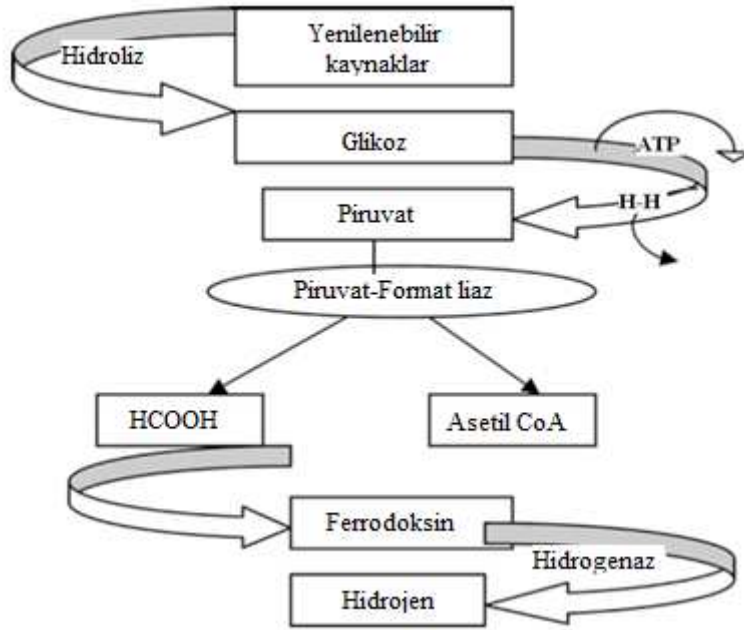
Şekil 2.6. Hidrojen üretimi için dolaylı biyofotoliz (Ni ve diğ., 2006).

Troshina ve diğ. (2002), *Cyanobacterium gloeocapsa alpicola* ile yapılan dolaylı biyofotoliz çalışmasında, pH değeri 6,8 ila 8,3 arasında tutularak optimum hidrojen üretiminin elde edildiğini rapor etmiştir. Yine aynı çalışmada sıcaklık $30^{\circ}C$ 'den $40^{\circ}C$ 'ye çıkarılarak, hidrojen üretimi iki kata kadar artırılabilmiştir.

2.2.2.3 Karanlık fermantasyon

Karanlık fermantasyon ile H_2 üretimi, karbonhidratlarca zengin substratlar üzerinde karanlıkta büyüyen anaerobik bakteri ile gerçekleştirilir. Fermantasyon reaksiyonları $25-40^{\circ}C$ (mezofilik), $40-65^{\circ}C$ (termofilik), $65-80^{\circ}C$ (aşırı termofilik) ve $>80^{\circ}C$ (hiper termofilik) üzerindeki sıcaklıklarda gerçekleşebilir (Levin ve Chahine, 2010). Hidrojen üretimi için karanlık fermantasyonun kullanıldığı bir proses örneği, Şekil 2.7'de verilmiştir. Karanlık fermantasyon ile hidrojen üretim teknolojisi, çok fazla alan gerektirmediği ve hava koşullarından etkilenmediği için ticari değer kazanmaktadır (Ni ve diğ., 2006).

Direk ve dolaylı fotoliz sistemleri, saf H_2 üretirken karanlık fermantasyon prosesleri, öncelikli olarak H_2 ve CO_2 içeren fakat daha az miktarda CH_4 , CO ve H_2S 'den oluşan bir gaz karışımı üretir. Karanlık fermantasyon sistemleri, hidrojen eldesi ve elde edilen enerjinin yakıt hücrelerinde kullanımı için mükemmel bir potansiyel sunar. Ancak yüksek saflıkta hidrojen elde etmek için, ayırma aşaması gereklidir (Levin ve Chahine, 2010).



Şekil 2.7. Fermantasyon aracılığı ile yenilenebilir kaynakların hidrojene dönüşümü (Nath ve Das, 2004).

Karbonhidratça zengin substratlar üzerinde büyüyen bazı alg türleri de kullanılıyor olmasına rağmen, karanlık fermantasyon da öncelikli olarak anaerobik bakteri kullanılır. Fakültatif anaerobik bakteriler, oksijene daha az hassastır ve bazı durumlarda, fermantasyon ortamında bulunan oksijenin hızla tükenmesiyle oluşacak geçici oksijen zararlarını, kendi kendilerine önleyerek hidrojen üretme yeteneğini tekrar kazanabilirler. Bu sebeple fakültatif anaerobiklerin, fermantatif hidrojen üretiminde zorunlu anaerobikler yerine kullanılmasının daha etkili olacağı rapor edilmiştir (Oh ve diğ., 2002).

Fermantasyonda kullanılan bakterinin türü kadar, kullanılan substrat da oldukça önemlidir. Fermantatif prosesler için kullanılan biyokütlenin, biyolojik yolla parçalanabilir olması, yüksek miktarlarda elde edilebilir olması, pahalı olmaması ve yüksek karbonhidrat içeriğine sahip olması gerekir. Glikoz ve laktoz gibi kolaylıkla

biyolojik parçalanmaya uğrayan saf, basit şekerler tercih edilir. Fakat bunlar yüksek miktarlarda kolaylıkla elde edilemezler ve nispeten pahalıdırlar. Biyohidrojen üretimi için kolayca kullanılabilen başlıca biyokütle atıkları, Çizelge 2.5’de listelenmiştir.

Çizelge 2.5. Biyohidrojen üretimi için kolaylıkla kullanılabilen biyokütle atıkları (Holladay ve diğ., 2009).

Biyokütle Materyali	Açıklamalar
Niştalı tarımsal ve gıda endüstrisi atığı	Glikoz ve maltoza hidrolize olduktan sonra organik asitlere ve son olarak da hidrojene dönüşür.
Selülozlu tarımsal ve gıda endüstrisi atığı	Direk delignifikasyona gitmiş ve ince ince öğütülmüş olmalıdır. Daha sonra nişasta gibi işleme tabi tutulur.
Karbonhidratça zengin endüstriyel atık	Besin dengesi ve istenilmeyenlerin giderimi için ön arıtım gerekebilir. Daha sonra nişasta olarak işlenir.
Atıksu arıtım ünitelerinden elde edilen atık çamur	Ön arıtım gerekebilir, organik asitlere dönüşür ve son olarak da hidrojene dönüşür.

Anaerobik karanlık fermentasyon ile glikozun, CO₂ ve H₂’ye tamamen parçalanmasını sağlamak biraz güçtür. H₂ fermentasyonunda, substratların enerji potansiyellerinin yalnızca %10-20’si H₂ olarak geri kazanılabilir. Bu verim, mevcut kimyasal veya elektrokimyasal hidrojen üretim prosesleri ile karşılaştırıldığında ekonomik bakımdan çok düşük olduğu görülür. Bu prosesin geliştirilmesi üzerine, yoğun araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalarda, genetik olarak değişikliğe uğramış mikroorganizmaların gelişimi, reaktör tasarımının geliştirilmesi, hücrelerin tutuklanmasında farklı katı yapıların kullanımı, iki safhalı proseslerin geliştirilmesi ve H₂ üretim hızının yükseltilmesi üzerinde durulmuştur. Endüstriyel ölçekte uygulanabilmesi için, atık materyali etkili olarak işleyebilecek mikrobiyal kültürler gereklidir (Genç, 2010).

2.2.2.4 Fotofermantasyon

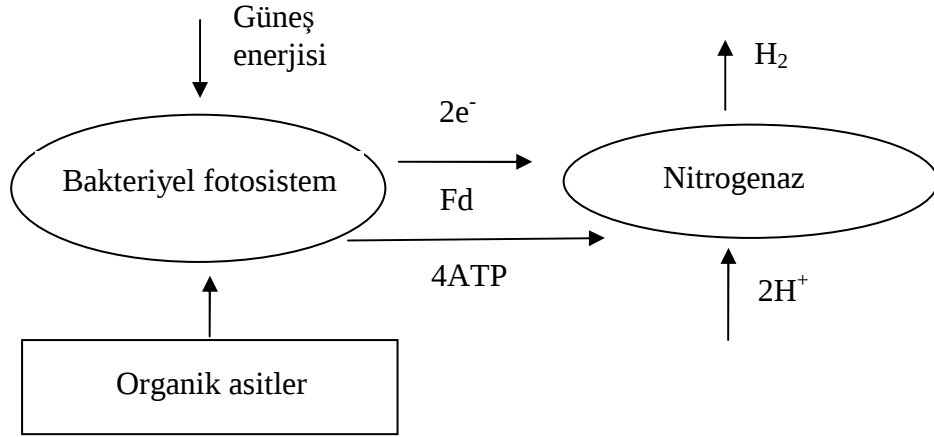
Fotosentetik bakteriyel hidrojen üretimi olarak da isimlendirilen fotofermantatif prosesler, hidrojen geliştirmek için mor non-sülfür bakterisinin nitrogenaz enzim aktivitesine katkıda bulunur. Bu proseste, klorofil, carotenoids ve phycobilin’ler gibi ışığı toplayan pigmentler ışık enerjisini ayırır ve ayrılan enerjiyi, fotolitik organizmalar (alg) içindekilere benzer membran reaksiyon merkezlerine transfer eder. Güneş ışığı, suyu proton, elektron ve oksijene dönüştürür. Nitrogenaz katalizör,

amonyak, hidrojen ve ADP oluşturmak için ATP ve azot ile proton ve elektronları tepkimeye sokmak amacıyla kullanılır (Sørensen, 2005). Oksijen nitrojenazı engellediği için *Cyanobacteria*, mekana ya da zamana bağlı olarak azot sabitleşmesi ve oksijen üretimini ayırır. Gerçekte bakteri, hidrojenaz enzimini yapısına aldığında diğer enerji gerektirecek proseslere yakıt sağlamak için, yan ürün olarak hidrojeni kullanır. Bu yüzden araştırmacılar, bu enzimi ortadan kaldırmak için bakteriyi genetik olarak modifiye etmeye çalışmaktadır. Proses, ilk olarak infrared ışık enerjisi kullanarak yetersiz azot koşullarında yapılır ve tercihen, diğer indirgenen bileşikler kullanılabilmesine rağmen organik asitler azalır.

Bu prosesin avantajları şunlardır; oksijen prosesi inhibe etmez ve bu bakteri çok farklı koşullarda (kesikli prosesler, sürekli kültürler ve karragenan¹, agar jel, gözenekli cam, aktive edilmiş cam ya da poliüretan köpük içinde immobilizasyon) kullanılabilir (Levin ve diğ., 2004; Kovács ve diğ., 2006; Kapdan ve Kargı, 2006). Dezavantajları, organik asitlerin sınırlı kullanılabilirliği, nitrojenaz enziminin yavaşlatıcı olması, prosesin nispeten yüksek miktarda enerji gerektirmesi ve hidrojenin tekrar oksidasyonunun gerekiyor olmasıdır. Nitrojenaz aktivitesini artırmak ve enerji ihtiyacını azaltmak için, C/N oranı korunmalıdır.

Fotosentetik bakteriler, güneş enerjisi ve organik asit ya da biyokütle kullanarak nitrojenaz aktivitesi ile hidrojen üretme kapasitesine sahiptir. Bu proses, Şekil 2.8’de gösterildiği gibi fotofermantasyon olarak bilinir. Son yıllarda endüstriyel ve tarımsal atıkların etkili yönetimi için, bu atıklardan hidrojen üretimi amacıyla yararlanılması yönünde bazı teşebbüsler yapılmıştır. Bu tür biyokütle atıklarından fotofermantasyonla hidrojen üretimi konusunda yapılan farklı çalışmalara birkaç örnek, Çizelge 2.6’da verilmiştir.

¹Deniz yosunlarından üretilen, kıvam arttırıcı ve emülgatör bir özelliğe sahip, önemli miktarda selüloz içeren kimyasal katkı maddesi (E-407)



Şekil 2.8. Fotofermantasyon (Ni ve diğ., 2006).

Çizelge 2.6. Fotofermantasyonla hidrojen üretimi üzerine örnek çalışmalar (Ni ve diğ., 2006).

Biyokütle tipi	Bakteri sistemi	Hidrojen dönüşüm verimliliği
Laktik asit	İmmobilize edilmiş <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	%86
Laktat ham madde	<i>Rhodobacter capsulatus</i>	%30
Atıksu	İmmobilize edilmiş <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	%53
Şeker rafineri atıksuyu	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> O.U.001	0,005 L H ₂ /saat/L kültür

Fakat fotofermantasyon, üç temel dezavantaja sahiptir: 1) Yüksek enerjili nitrogenaz enziminin kullanımını gerektirir. 2) Güneş enerjisi dönüşüm verimliliği düşüktür. 3) Geniş alanları kaplayacak anaerobik foto biyoreaktörlerin hazırlanması gerekir. Bu yüzden şu anda fotofermantasyon prosesi, hidrojen üretimi için diğer proseslerle rekabet edecek durumda değildir (Ni ve diğ., 2006).

2.2.2.5 Biyolojik yoldan suyun gaza dönüşümü (WGS)

Rhodospirillum rubrum gibi bazı fotoheterotrofik bakteriler, H⁺'nın H₂'ye indirgenmesi ve CO oksitlenmesi reaksiyonlarını birleştirerek, ATP üretmek için tek karbon kaynağı olarak CO kullanarak karanlıkta hayatta kalabilir.



Reaksiyon sonucunda, CO₂ ve H₂ açığa çıktığı için bu proses hidrojen üretiminde tercih edilir. Bu proses için yetiştirilen organizmalar, *R. rubrum* ve *Rubrivax gelatinosus* gibi gram negatif bakteri ve *Carboxydotherrnus hydrogenoformans* gibi gram pozitif bakteridir (Soboh ve diğ., 2002). Anaerobik koşullar altında, karbon monoksit (CO), CO dehidrogenaz, Fe-S protein ve CO'e-toleranslı hidrojenaz gibi bazı proteinlerin sentezini başlatır. CO oksidasyonundan üretilen elektronlar, hidrojen üretimi için Fe-S protein aracılığı ile hidrojenaza iletilir (Ensign ve Ludden, 1991).

Hidrojen üretimi için biyolojik yolla suyun gaza dönüşüm reaksiyonu, hala laboratuvar ölçeklidir ve bu konuda sadece birkaç çalışma rapor edilmiştir. Bu çalışmaların ortak hedefi, hidrojen üretim oranını değerlendirmek ve yüksek CO alımına sahip olan, uygun mikroorganizmaları tanımlamaktır (Ni ve diğ., 2006).

Rhodospirillaceae ailesinden bazı fotoheterotrofik bakterilerin, sadece CO üzerinden beslenerek karanlıkta büyüebildiği bulunmuştur. CO'in CO₂'e oksidasyonunun, WGS reaksiyonu (Denklem 2.5) sonucunda gerçekleştiği belirlenmiştir. Fakat prosesi katalize etmek için, metalden daha çok enzimler kullanılır. Düşük sıcaklık ve basınçta meydana geldiği için, termodinamik olarak CO'in CO₂ ve H₂'ye yüksek oranda dönüşümü tercih edilir. Bu yöntemle hidrojene dönüşüm oranı, diğer biyolojik prosesler ile karşılaştırıldığında gerçekten yüksektir.

H₂ üretim teknolojilerinin üç ana tipinin karşılaştırılması, Çizelge 2.7'de verilmiştir. Her yaklaşım, pozitif ve negatif yönleri ve pratikte uygulamadan önce aşılması gereken ciddi teknik engellere sahiptir. Çizelge 2.8'de, bazı önemli hidrojen üretim teknolojileri açığa çıkan yan ürün ve dönüşüm verimliliği açısından karşılaştırılmıştır. Çizelge, proseslerde kullanılan ham maddeler ve hidrojenin yanı sıra, ortaya çıkan yan ürünler hakkında fikir vermektedir. Çizelge 2.9'da ise, biyohidrojen üretiminde kullanılan prosesler için bir karşılaştırma yapılmıştır.

Çizelge 2.7. Biyohidrojen üretim teknolojilerinin üç ana tipinin karşılaştırılması (Sinha ve Pandey, 2011).

Direk biyofotoliz	Fotofermantasyon	Karanlık fermentasyon
Avantajları: Substrat boldur (su), basit ürünler	Organik asit atıkların H ₂ ve CO ₂ 'e komple dönüşümü	Direk olarak güneş ışığı girdisi gerekmez, basit reaktör tekniği, atık yönetimi
Dezavantajları: Düşük ışık dönüşüm verimlilikleri, oksijene duyarlı hidrogenaz, pahalı	Düşük ışık dönüşüm verimlilikleri, N ₂ ase tarafından yüksek enerji ihtiyacı	Düşük H ₂ verimi, büyük miktarda yan ürün
Örnekler: Yeşil alg, mavi yeşil alg	Mor non sülfür bakterisi; <i>R. sphaeroides</i>	Enterobacteriaceae'nin üyeleri; <i>Citrobacter</i> Y-19

Çizelge 2.8. Hidrojen üretim teknolojilerinin karşılaştırılması (Levin ve Chahine, 2010).

Proses	Ham madde	Dönüşüm verimliliği	Yan ürün
Buhar reformasyonu	Metan, gliserol, alkol, polihidrik alkol, şeker, organik asitler	%70-85 ^d	CO, CO ₂ , C ₁₀ -C ₂₂ karbon bağı
Sucul reformasyon	Gliserol, alkol, polihidrik alkol, şeker, organik asitler	%35-100 ^d	CO, CO ₂ , alkanlar, alkoller, polihidrik alkol, organik asitler
Elektroliz	H ₂ O + elektrik	%50-60 ^e	Sadece H ₂ üretilir.
Kısmi oksidasyon	Hidrokarbonlar ^a	%60-75 ^d	Veri elde edilememiştir.
Biyokütle gazifikasyonu	Biyokütle ^b	%35-50 ^d	CO, CO ₂ , CH ₄
BioH ₂ : Fotoliz	H ₂ O + güneş ışığı	%0,5 ^f	Sadece H ₂ üretilir.
BioH ₂ : Foto fermantasyon	Organik asitler + güneş ışığı	%0,1 ^g	CO ₂
BioH ₂ : Karanlık fermantasyon	Biyokütle ^c	%60-80 ^h	CO ₂

a Gliserol, alkoller, polihidrik alkol, şekerler, organik asitler

b Lignoselülozik biyokütle

c Lignoselülozik biyokütle ve/ya da lignoselüloz hidroliz ürünleri (beş ve/ya da altı karbonlu şeker)

d Termal verimlilik: Yüksel ısı değere dayandırıldı.

e Elektrik enerjisiyle ayrıştırılarak üretilen hidrojenin daha düşük ısı değeri hidrojen üretmek için kullanılır. Saflaştırma yapılmamıştır.

f Işık enerjisi kullanarak su ayrışmasıyla hidrojene solar dönüşüm. Saflaştırma yapılmamıştır.

g Işık enerjisi kullanarak organik asitlerin katabolizmasıyla hidrojene solar dönüşüm. Saflaştırma yapılmamıştır.

h 4 mol H₂/mol glikoz maksimum teorik verim.

Çizelge 2.9. Önemli biyolojik hidrojen üretim proseslerinin karşılaştırılması (Nath ve Das, 2004).

Proses	Mikroorganizma tipi	Avantaj	Dezavantaj
Direk biyofotoliz	Yeşil alg	• Su ve güneş ışığından direk olarak H₂ üretebilir. • Solar dönüşüm enerjisi ağaçlar ve küçük bitkilere nazaran 10 kata kadar artar.	• Yüksek ışık yoğunluğu gerekir. • O₂ sistem için tehlikeli olabilir.
Dolaylı biyofotoliz	<i>Cyanobacteria</i>	• Sudan H₂ üretebilir. • Atmosferden gelen N₂'yi sabitleme yeteneğine sahiptir.	• Daha düşük fotokimyasal verimlilik • Hidrogenaz enziminin alımı H₂'nin degradasyonunu durdurmak için kaldırılmalıdır. • Gaz karışımı içinde yaklaşık %30 O₂ bulunur. • O₂ nitrogenaz üzerinde sınırlayıcı bir etkiye sahiptir.

Çizelge 2.9 (devam). Önemli biyolojik hidrojen üretim proseslerinin karşılaştırılması.

Proses	Mikroorganizma tipi	Avantaj	Dezavantaj
Foto fermantasyon	Fotosentetik bakteri	- Geniş spektrumlu ışık enerjisi bu bakteri tarafından kullanılabilir. - Damıtılmış atıksu, atık vb. gibi farklı atık materyaller kullanılabilir.	- Işık dönüşüm verimliliği çok düşüktür, sadece %1-5 - O₂ hidrogenazın kuvvetli bir sınırlayıcısıdır.
Karanlık fermantasyon	Fermantatif bakteri	- Işık olmaksızın bütün gün boyunca H₂ üretebilir. - Çeşitli karbon kaynakları substrat olarak kullanılabilir. - Yan ürün olarak bütirik, laktik ve asetik asit gibi değerli metabolitler üretir. - Anaerobik prosestir, bu yüzden O₂ kısıtlayıcı değildir.	- Elde edilebilir H₂ verimi nispeten düşüktür. - Verim arttığı için H₂ fermantasyonu termodinamik olarak tercih edilmez olur. - Gaz karışım ürünü ayrılmak zorunda olan CO₂ içerir.

2.3 Anaerobik Fermantasyonla H₂ Üretimi

Havasız arıtma, farklı mikroorganizma gruplarının birlikte yardımlaşarak rol aldığı oldukça kompleks bir biyokimyasal süreçtir. Bununla birlikte genelde başlıca 2 ana grup mikroorganizmanın, asit bakterileri ve metan bakterileri, esas görevi üstlendiği bilinmektedir. Bu iki grup da kendi arasında her biri ikişer alt gruba ayrılmaktadır. Başlıca anaerobik mikroorganizma grupları aşağıda verilmiştir:

Asit bakterileri	Bütirik ve propiyonik asit üretenler
	Asetik asit üretenler
Metan bakterileri	Asetik asit kullananlar
	Hidrojen kullananlar

Biyolojik olarak bozunabilir kompleks organik maddelerin anaerobik şartlarda ayrışması, genel olarak şu safhalardan meydana gelmektedir (Öztürk, 2007):

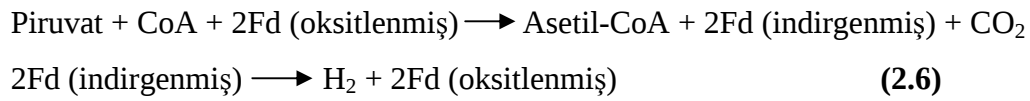
1. Yüksek molekül ağırlıklı katı ve çözünmüş organik maddelerin hidrolizi,
2. Düşük molekül ağırlıklı organik maddelerin, asit bakterilerince uçucu yağ asitlerine ve ardından asetik aside dönüştürülmesi,
3. Asetik asit, H₂ ve CO₂'den metan üretimi.

Karanlık fermantasyon, oksijensiz (anoksik) ya da anaerobik koşullar (oksijenin elektron alıcısı olarak kullanılmadığı durumlar) altında gerçekleşir. Geniş bir bakteri grubu, birincil metabolizmalarının muadillerini bertaraf etmek için, protonları hidrojene indirger. Diğer bir ifadeyle, bir bakteri organik bir besinin üzerinde büyüdüğünde (heterotrofik büyüme) bu besinler oksidasyon ile parçalanarak, büyüme için metabolik enerjinin eldesinde ve hücresel yapı taşlarının sentezinde kullanılır. Oksidasyon prosesi, elektriksel nötrlüğün bertaraf edilmesi için elektronların üretilmesinde kullanılmaktadır.

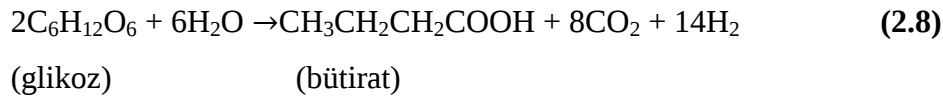
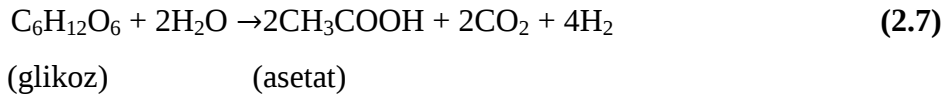
Aerobik (oksijenli) ortamlarda, oksijen indirgenerek suya dönüşür. Anaerobik ya da oksijensiz ortamlarda ise, diğer bileşiklere elektron alıcısı (proton) olarak ihtiyaç vardır ve bu bileşikler moleküler hidrojene (H₂) indirgenir. Anaerobik ortamlardaki alternatif elektron alıcılarına başka bir örnek vermek gerekirse, nitrat azot gazına (N₂) ya da sülfat H₂S'e indirgenir. Eğer bir organik bileşik elektron alıcı olarak iş görürse, başka bir organik bileşiğe dönüşür. Örneğin mikrobiyal bütanol üretimi, bütirik asidin indirgenmesi ile oluşur. Mikroorganizmalarda, elektron alıcı

enzimlerin indirgenmesini katalizleyen spesifik enzimler bulunur. Örneğin hidrojen üreten mikroorganizmalarda bulunan hidrogenaz enzimleri, H₂ üretiminde rol oynar (Aksöyek, 2011).

Hidrojen fermantasyon prosesinde glikoz, glikolitik yol izi ile ilk olarak piruvat'a dönüştürülür. Piruvat, asetil-CoA'ya okside olur. Asetil-CoA, metabolik yol izinde asetil-fosfata dönüştürülür. Bu dönüşme işleminde ATP elde edilirken, yan ürün olarak asetat oluşur. Piruvatın, asetil-CoA'ya oksidasyonu için ferrodoksinin (Fd) indirgenmesi gereklidir. İndirgenmiş ferrodoksin, hidrogenaz enzimi tarafından oksidasyona uğratılır ve bu işlem sırasında, moleküler H₂ üretilir (Nath ve Das, 2004). Reaksiyon aşağıdaki denklemde olduğu gibi özetlenebilir;



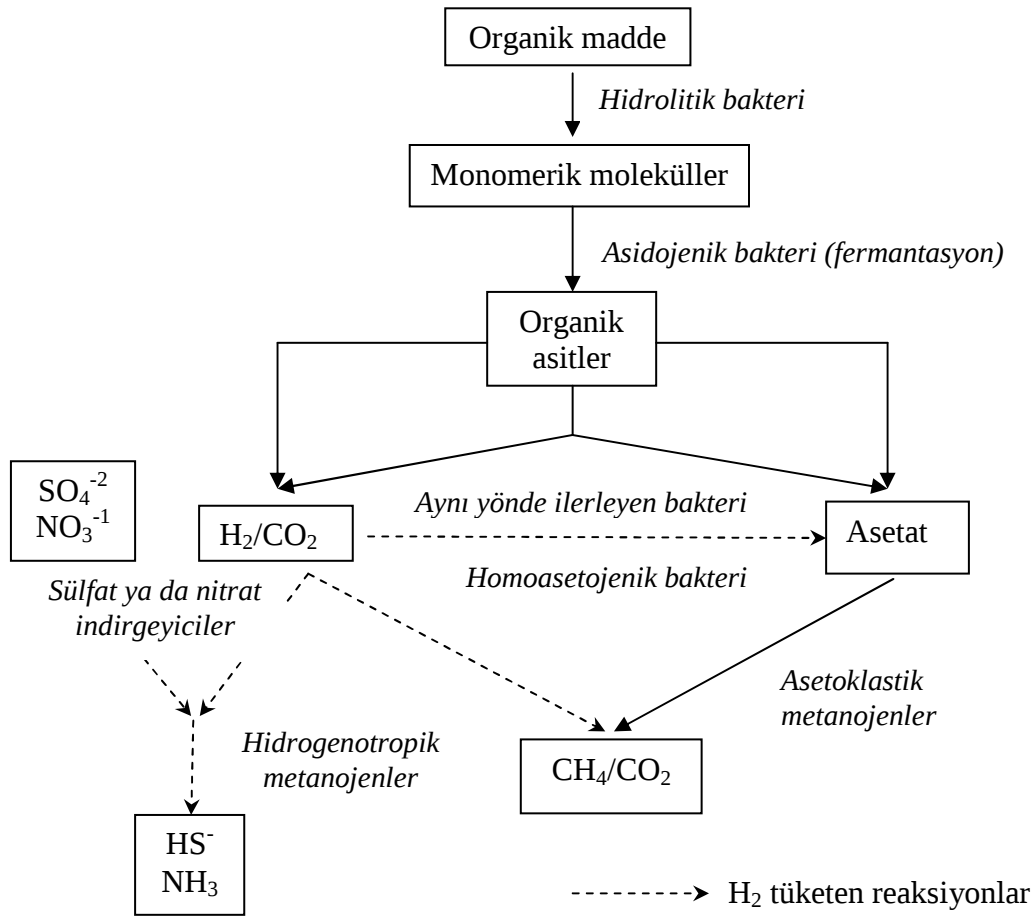
Anaerobik fermantasyon, oldukça basit bir proses yardımı ile geniş spektrumda kullanılabilir substratlardan (organik madde içeriği yüksek organik atıklar dahil) hidrojen üretimini mümkün kılar. Üstelik fermantatif H₂ üretimi, dışarıdan ışık kaynağına gereksinim duymaz ve genellikle yüksek miktardadır. Fermantasyon prosesi için, karbonhidratlar (başlıca glikoz) karbon kaynağı olarak tercih edilir ve hidrojen üretimi, organik asit (asetat, bütirat vs.) ve/veya alkol üretimi ile birlikte gerçekleşir. Bu proses, aşağıdaki denklemler ile gösterilmiştir;



Anaerobik proste, birden fazla organik asit üretimi olmaktadır. Bu durum da, H₂ üretim verimini düşürmektedir. Genellikle, üretim için izlenen ana yol asetat ve bütirat üzerindendir. Bu sebeple H₂ üretim verimi, asetat/bütirat oranı üzerinden hesaplanır (Nath ve Das, 2004). 1 mol glikozdan 4 mol H₂ elde edilmesi, nispeten düşük enerji kullanımı ile sonuçlanır. Teorik olarak kimyasal oksijen ihtiyacının sadece %33'ü, glikozdan H₂'ye dönüştürülebilir. Enerjinin geriye kalan kısmı ise çoğunlukla uçucu yağ asitlerine (UYA) (asetat, bütirat) dönüşür. Bu nedenle, hidrojen üretimi her zaman, ikinci aşama olan metan üretim prosesi ya da diğer UYA/solvent kullanım prosesleri ile birleştirilmelidir (Bartacek ve diğ., 2007).

Anaerobik fermantasyon, organik maddeden hidrojen üretmek için mikroorganizmaların kullanıldığı fotosentetik proseslere benzer. Fakat fotosentetik sistemlere kıyasla daha avantajlıdır. Daha basittir, daha az pahalıdır ve hidrojen üretiminde çok daha hızlıdır. Ayrıca fermantatif yolla organik atıklardan H_2 üretmek, büyük öneme sahiptir. Çünkü bu şekilde hidrojen üretimi sonucunda, sadece organik atıklar artılmaz aynı zamanda temiz enerji de üretilir. Fakat anaeroblar, ışık enerjisini kullanma yeteneğine sahip değildir ve bu yüzden substratı tamamen parçalamak için kalıtsal termodinamik enerji bariyerini aşma yeteneğinden yoksundur. Birçok diğer hidrojen üreten organizmada olduğu gibi hidrogenaz enzimi, anaerobik bakteri içindeki hidrojen üreten reaksiyonların katalizlenmesinden sorumludur. Hidrojen verimini maksimize edebilmek için, substrat metabolizması alkol ya da indirgenmiş asit üretiminden daha çok uçucu yağ asidi üretimi yönünde yürütülmelidir. Şu anda anaerobik bakteriden elde edilen maksimum hidrojen verimleri, geleneksel reformasyon teknikleri ile karşılaştırıldığı zaman fermantatif prosesi ekonomik açıdan çekici kılmamaktadır. Ancak geliştirilecek olan yeni teknolojiler ve metabolizma mühendisliğindeki ilerlemeler ile, fermantasyon yolunun ideal olan asetat fermantasyonu yönünde kaydırılmasıyla verimin daha da artacağı düşünülmektedir (Hafez, 2010).

Şekil 2.9'dan da görüldüğü üzere anaerobik fermantasyonda üretilen gaz H_2 , CO_2 , CH_4 , CO ve bazı hidrojen sülfidlerin karışımından oluşur (Ni ve diğ., 2006). Bu yüzden yüksek saflıkta hidrojen elde etmek için, bu gaz karışımı içerisinde hidrojeni ayırmak gerekir. Ayırma işlemi sonrasında hidrojenin hangi kalitede olması gerektiği, kullanım tipine bağlıdır ve bu kaliteyi yakalamak için gerekli gaz arıtımı birkaç aşama gerektirebilir. Hidrojence zengin fermantasyon gazı içinde bulunabilen H_2S , siloksanlar, su, amonyak ve CO_2 gibi bileşikler (özellikle de H_2S ve siloksanlar), pahalı fiziksel-kimyasal metotlar kullanılarak giderilmektedir. Bu nedenle daha az maliyetle biyolojik arıtım proseslerini gerçekleştirmek için, çalışmalar yapılmalıdır (Bartacek ve diğ., 2007).



Şekil 2.9. Mikrobiyal topluluk tarafından organik maddenin anaerobik parçalanması sırasında oluşan aşamalar (Valdez-Vazquez ve Poggi-Varaldo, 2009).

2.3.1 Fermantatif H₂ üretimini etkileyecek faktörler

Hidrojen fermentasyonunun kritik zorlukları, düşük hidrojen dönüşüm verimliliği ve stabil olmayan hidrojen üretimidir. Prosesin verimi kullanılan aşı, substrat türü ve miktarı, reaktör tipi, ortamdaki metal iyonları, sıcaklık, pH, inorganik besinler, çalışma koşulu vs. gibi birçok faktörden etkilenir (Sinha ve Pandey, 2011). pH, hidrolik alıkonma süresi, sıcaklık vs. gibi çalışma parametrelerini optimize etmek ve reaktör tasarımı geliştirmek, hidrojen dönüşüm verimliliğini artırabilir. Stabil olmayan hidrojen üretiminin, hidrojen üreten bakterinin metabolik değişime uğramasından dolayı kaynaklandığı düşünülür ve bu durum mikrobiyal üreme çalışması ile minimize edilebilir (Kotay ve Das, 2008). Aşağıdaki bölümde bu faktörlerin etkisi ayrıntılı bir şekilde açıklanmıştır.

2.3.1.1 Aşı mikroorganizma türü ve aşıya uygulanan ön işlemlerin etkisi

Hidrojen üretme yeteneği olan mikroorganizmalar, Çizelge 2.10'da görüldüğü üzere anaerobik bakteri, fermantasyon bakterisi, aerobik bakteri, fotosentetik bakteri ve alg olarak sınıflandırılmıştır (Miyake ve diğ., 2001). Çizelge 2.11'de ise, anaerobik bakteri sınıfındaki çeşitli mikroorganizmalarla hidrojen üretimi karşılaştırılmıştır.

Çizelge 2.10. Hidrojen oluşumuna yardım eden bakterilerin sınıflandırılması (Miyake ve diğ., 2001).

Mevcut enerji biçimi	H ₂ gelişim enzimi	Bakteri sınıfı		Bakteri türü	Elektron verici
Fotosentez yapan	Hidrojenaz	Yeşil alg		<i>Chlamydomonas</i>	Su
		Mavi yeşil alg	Heterocyst	<i>Chlorella</i>	↑
				<i>Anabaena</i>	↑
			Non-Heterocyst	<i>Oscillatoria</i>	↑
	Nitrogenaz	Fotosentetik bakteri	Sülfür bakterisi değil	<i>Rhodopseudomonas</i>	Organik Madde (Organik asitler)
				<i>Rhodobacter</i>	↑
			Sülfür bakterisi	<i>Rhodospirillum</i>	↑
				<i>Chromatium</i>	Sülfatlar
Fotosentez yapmayan	Hidrojenaz	Zorunlu anaerob		<i>Thiocapsa</i>	↑
				<i>Clostridium</i>	Organik madde (Şekerler)
		Fakültatif anaerob		<i>Methanobacterium</i>	↑
				<i>Escherichia</i>	↑
	Nitrogenaz	Azot sabitleyici bakteri	Fakültatif aerob	<i>Azotobacter</i>	↑
				<i>Clostridium</i>	↑
			Fakültatif anaerob	<i>Klebsiella</i>	↑

Çizelge 2.11. Anaerobik bakteri sınıfındaki çeşitli mikroorganizmalarla hidrojen üretimi (Chong ve diğ., 2009).

Organizma	Substrat	Çalışma şekli	pH/Sıcaklık	Maksimum H ₂ üretimi (L H ₂ /L kültür ortamı)	Verim (mol H ₂ /mol substrat)
Anaerobik bakteri					
<i>C. butyricum</i> EB6	POME*	Kesikli	5,5/37°C	3,2	-
<i>C. butyricum</i> ATCC19398	Glikoz (3 g/L)	Kesikli	7,2/35°C	0,94	1,8
<i>C. acetobutyricum</i> M121	Glikoz (3 g/L)	Kesikli	7,2/35°C	0,88	2,29
<i>C. tyrobutyricum</i> FYa102	Glikoz (3 g/L)	Kesikli	7,2/35°C	0,63	1,47
<i>C. beijerinckii</i> L9	Glikoz (3 g/L)	Kesikli	7,2/35°C	1,19	2,81
<i>C. thermolacticum</i>	Laktoz (10 g/L)	Sürekli	7,0/58°C	-	3,0
<i>C. thermocellum</i> 27405	Delignifiye edilmiş ağaç lifi	Kesikli	6,3/60°C	-	1,6
<i>C. tyrobutyricum</i>	Glikoz (5 g/L)	Sabit	HRT 2 saat	7,2 L H ₂ /L gün	223 mL/g heksoz
Fakültatif anaerobik bakteri					
<i>E. aerogenes</i> ATCC29007	Glikoz (118,06 mM)	Kesikli	6,13/38°C		425,8 mL H ₂ (g kuru hücre saat) ⁻¹
<i>Klebsiella oxytoca</i> HP1	Glikoz (10 g/L)	Kesikli	7,0/65°C	87,5 mL H ₂ /L saat	1,0
<i>Citrobacter</i> sp. Y19	Glikoz (10 g/L)	Kesikli	7,0/36°C	32,2 mmol H ₂ /g hücre saat	2,49
<i>E. asburiae</i> SNU-1	Glikoz (25 g/L)	Kesikli	7,0/30°C	398 mL H ₂ /L saat	-
Termofilik bakteri					
<i>T. thermosaccharolyticum</i> PSU-2	Sakkaroz (10 g/L)	Kesikli	6,25/60°C	12,12 mmol H ₂ /L gün	2,53
<i>T. saccharolyticum</i> JW/SL-YS485	Ksiloz (4 g/L)	Kesikli	6,2/55°C	-	0,88
<i>T. maritima</i> DSM3109	Glikoz (7,5 g/L)	Kesikli	6,5/65°C	0,275	1,67
<i>T. neapolitana</i> DSM4359	Glikoz (10 g/L)	Kesikli	7,0/65°C	0,29	1,84
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i> DSM8903	Sakkaroz (10 g/L)	Kesikli	7,0/70°C	8,4 mmol H ₂ /L	5,9

* Hurma yağı fabrikası çıkış suyu

Sayırsız saf kültür bakterisi, çeşitli substratlardan hidrojen üretmek için kullanılmaktadır. *Clostridium* (oksijene duyarlı), *Enterobacter* (fakültatif anaerob) ve *Bacillus* (aerob) türleri fermantatif H₂ retimi için aşı olarak çok yaygın biçimde kullanılan saf kültürlerdir. *C. Butyricum*, *C. Beijerinckii*, *C. Acetobutyricum* ve *C. Bifermentatnts* gibi *Clostridium* türleri gram pozitif, çubuksu, kuvvetli anaerobtur ve endospor oluşturur. Halbuki *Enterobacter* gram negatif, çubuksu ve fakültatif anaerobtur. Anaerobik H₂ üretimini içeren çalışmaların çoğunda, *Clostridium* bakterisi kullanılmıştır.

Fermantatif H₂ retimi için saf kültür bakterinin kullanıldığı çoğu çalışma, substrat olarak glikoz kullanılarak kesikli sistemde gerçekleştirilmiştir. Fakat organik atıktan sürekli H₂ retimi, prosesin ticarileştirilmesi, enerji üretimi ve atık azaltım hedeflerine ulaşmak için daha uygundur (Li ve Fang, 2007).

Toprak, sediman, kompost, aerobik ve anaerobik çamur ve benzeri doğal ortamlarda hidrojen üretme yeteneğine sahip bakteri geniş olde bulunmaktadır. Günümüzde bu materyallerden elde edilen karışık bakteri kültürü, fermantatif H₂ retimi için aşı kaynağı olarak kullanılmaktadır. Karışık kültür kullanılan fermantatif H₂ retim prosesi, saf kültür kullanılarak yapılan çalışmaya göre daha uygulanabilirdir ve hidrojen üretimi proses süresince daha stabildir. Çünkü çalıştırmak daha basittir ve kontrol etmek daha kolaydır ve daha kapsamlı bir ham madde kaynağına sahiptir (Wang ve Wan, 2009). Ancak aşı olarak karışık kültür kullanıldığında, biyoreaktör içindeki öncelikli baskın türler sıcaklık, pH, substrat, aşı tipi, aşı ön arıtımı, hidrojen kısmi basıncı vb. gibi çalışma koşullarına bağlı olarak değişir. Aşıya n işlem uygulaması, karışık kültür içinde bulunan mikrobiyal toplulukların değişmesi ile hidrojen üretimini artırmak için kullanılmaktadır. Uygulanan n işlemin amacı, H₂ tüketen bakteri aktivitesini kesmektir. Örneğin *Clostridium* ve *Bacillus* türleri endospor oluşumundan dolayı, H₂ tüketen metanojenlere kıyasla daha yüksek sıcaklıkları tolere edebilirler. Diğer taraftan H₂ üreten bakteri, H₂ tüketen metanojenlere kıyasla daha düşük pH'larda büyüyebilir (Davila-Vazquez ve diğ., 2008). Son yıllardaki çalışmalar, mikroflora dağılımının fermantasyon koşulları ile ilgili olduğunu göstermiştir. Eğer evresel bir koşul değişirse, anaerobik karışık kültürde mikroorganizmaların çeşitliliği değişebilir. Iyer ve diğ. (2004), bir H₂ retim reaktöründe farklı koşullar altında bakteriyel popülasyondaki değişimleri izlemek için pH 5,5'de glikoz kullanılan bir sürekli karışırtmalı tank reaktörde (SKTR) alışmıştır. 30 saatlik hidrolik alıkönma

zamanında popülasyon daha farklılık gösteriyorken (*Bacillaceae* ve *Enterobacteriaceae* içeriyor), 10 saatlik hidrolik alıkonma zamanında yalnızca *Clostridiaceae* belirlenmiştir. 10 saatlik hidrolik alıkonma zamanında sıcaklık 30 °C'den 37°C'ye değiştiği zaman, *Clostridium acidisoli*'a ait popülasyondan *Clostridium acetobutylicum*'a ait popülasyona bir popülasyon değişimi olmuştur (Kahveci, 2007).

Saf kültür kullanımı ile daha yüksek H₂ verimine ulaşılmasına rağmen, saf kültür endüstriyel uygulamalar için uygun değildir. Çünkü saf kültür, metanojenler ya da sülfat indirgeyen bakteri gibi çeşitli hidrojen kullanıcıları tarafından kolaylıkla kontamine olabilmektedir (Bartacek ve diğ., 2007). Bunların yanı sıra doğal atık materyalleri parçalamak için saf kültür uygulaması, atık içerisindeki çeşitli organik bileşikler parçalamak için farklı bakteri türlerine ihtiyaç duyulmasından dolayı uygun değildir ve bu tür gerçek atıksu akımlarını sterilize etmek için gerekli maliyet de çok yüksektir. Teknik açıdan uygulanabilir prosesler için, doğal kaynaklardan elde edilen karışık kültürler ve steril olmayan substrat kaynakları ile çalışılmalıdır. Fakat karışık kültürden H₂ üretimi sırasında, bazı engellerle karşılaşmaktadır. Bu engellerden birisi, karışık kültür içinde hidrojen üreten bakteri ve moleküler H₂ kullanımıyla enerji elde edebilen H₂ tüketen anaerobların çeşitli tiplerinin (metanojen, asetojen ve sülfat indirgeyen bakteriler) bir arada bulunmasıdır (Baghchehsaraee, 2009). Karışık kültür kullanımıyla H₂ üretmek için metanojenler, asetojenler ve sülfat indirgeyen bakterinin aktivitesi önlenmeli ve aşı hidrojen üreten bakteri ile zenginleştirilmelidir. Karışık kültür içindeki hidrojen üreten bakteri aktivitesini zenginleştirmek için uygulanan ön işlemler çoğunlukla şunlardır: ısı şok, asidik ve/ya da bazik ön işlem, havalandırma, dondurma ve çözme, kloroform, sodyum 2-bromoethanesulfonate ya da 2-bromoethanesulfonic asit ve iodo propane gibi çeşitli kimyasal maddelerle temas (Sinha ve Pandey, 2011). Ancak aşılama koşulları, çalışılan ön arıtım metodu, her ön arıtım metodunun spesifik koşulu ve substrat türü arasındaki farklılıklar en iyi verimin alındığı ön arıtım metodunun seçimi konusunda bazı uyumsuzluklara sebep olmaktadır (Wang ve Wan, 2009).

2.3.1.2 pH'ın etkisi

pH, hidrojen üreten bakterinin aktivitesini ve fermantatif H₂ üretimini etkileyen önemli bir faktördür. Çünkü hem hidrogenaz aktivitesini hem de metabolik yol izini etkiler. Ayrıca pH, hidrojen tüketen metanojenik aktivitenin önlenmesi için de

önemlidir. Hidrojen üretim verimliliği ve çözünebilir metabolitlerin bileşimi, pH'daki değişime duyarlıdır. Başlangıç pH'sının, yüksek hidrojen üretim hızı ve elde edilecek optimum dönüşüm verimliliği arasında hassas bir denge kurduğu söylenebilir. Kabul edilebilir aralık dışında kalan pH değeri, bakteri metabolizmasını değiştirerek hidrojen üretimini sınırlayabilir ve sistem başarısızlığına yol açarak mikrobiyal popülasyon kaymasına (özellikle karışık kültürde) sebep olabilir.

Çoğu çalışmada H_2 üretimi için optimum pH değeri, 6 ve 8 arasındadır. Karışık mikrofloranın kullanıldığı bazı çalışmalar da ise, 4,2 ve 5 gibi düşük pH' larda ve kuvvetli asidik koşullarda maksimum verimin alındığı görülmüştür. Karbonhidratlardan hidrojen üretimi için optimum pH, 5,2-7,0 arasında değişmekle birlikte ortalama pH değeri, 6'dır. Literatüre göre, pH 6'da en yüksek hidrojen üretim performansı sağlanmıştır (Özkan, 2009). Farklı çalışmaların sonuçları fermentatif yol üzerinden H_2 üretiminin zayıf asidik koşullarda daha iyi desteklendiğini göstermiştir. Başlangıç pH'ı, kesikli sistem H_2 üretiminde mikroorganizmanın aktif hale geçmesi için gerekli süreyi etkilemektedir. 4-4,5 aralığındaki düşük başlangıç pH'ında, 9 civarındaki yüksek başlangıç pH'ı seviyesine kıyasla, mikroorganizmanın aktif hale geçmesi için gerekli sürenin daha uzun olduğu görülmüştür. Başlangıç pH'ı yükseltildiğinde ise, H_2 üretim verimi azalmıştır. Yüksek başlangıç pH'ının tamponlama kapasitesini eş zamanlı olarak azaltan kısıtlayıcı seviyede yağ asidi üretimine sebep olması, H_2 üretimindeki azalmanın nedeni olarak rapor edilmiştir. Sonuç olarak bakteri ortamdaki hızlı değişime adapte olamamış ve tükenmeye başlamıştır. Fakat diğer tarafta, daha düşük başlangıç pH'ındaki fermentasyon ortamı bakteri için tercih edilmemesine rağmen, bakterilerin bu koşullara adaptasyonu ile daha uzun süre orta hızda kademeli olarak H_2 üretilenmiştir. Çünkü düşük başlangıç pH'sında üretilen asidin seviyesi, pH'da etkili bir düşüş yaratacak seviyede değildir. Sonuç olarak; potansiyel H_2 üreticiler, uygun pH koşullarında ulaşılan nispeten tutarlı bir ortamda daha uzun süre hayatta kalabilirler (Sinha ve Pandey, 2011).

Karanlık fermentasyon sırasında organik asitlerin sentezi, pH'ın düşmesine neden olur. Eğer pH'ın düşüşü kontrol altında tutulmazsa, solvent üretimi (etanol, bütanol, aseton) gerçekleşebilir. Asit birikiminden dolayı, pH'ın 4,5'e düşmesi tipik olarak solvent üretimini tetikleyecek ve hidrojen üretimini düşürecektir (Vijayaraghavan ve diğ., 2006). Fermentasyon ortamına pepton ilavesinin ani pH düşüşünü engellediği, organik asitlerin ve pH etkisinin hidrojen üretimi üzerine etkisinin araştırılmasına izin verdiği rapor edilmiştir (Cheng ve diğ., 2002). Protein

içeren maddelerin substrat olarak kullanımının, pH'ın sürdürülmesi için faydalı olduğu bilinmektedir. Fermantasyon ortamına protein içeren maddelerin eklenmesi ile, pH 6-8 arasında sürdürülebilir ve sistemin inhibisyonu minimize edilir. Bu strateji, pH'ı 5,5 ve 6,5 arasında (optimum hidrojen üretimi için) tutmaya yardımcı olduğu için solvent üretim fazı oluşmaz (Valdez-Vazquez ve Poggi-Varaldo, 2009).

Valdez-Vazquez ve Poggi-Varaldo (2009), düşük pH'da metan üretiminin durduğunu ve esas gaz olan H_2/CO_2 'nin oluştuğunu bildirmiştir. pH 5 civarındaki düşük pH'nın, metanojen aktivitesini sınırlandırmak ve H_2 üreticilerce zengin bir aşı elde etmek için gerekli olduğu rapor edilmiştir. Genelde H_2 üretimi için optimum pH, 5 ve 6,5 arasında değişir. Fakat hidrojen üretimi için rapor edilen optimum pH değerleri, çelişkili ve tutarsızdır. Arıtma çamurunun kesikli fermantasyonu için optimum başlangıç pH'ı, 11 iken, melas ve glikozun sürekli fermantasyonu için optimum pH, sırasıyla 7 ve 5,5'tir.

Karışık kültür ile fermantatif H_2 üretiminde, 6'dan daha yüksek pH değerlerinde metanojenlerin oluşma riski artabilir. pH 6'ya ayarlandığı zaman 6 saatten daha kısa hidrolik alıkonma süresinde (HRT), SKTR içerisinde metanojenlerin gelişimi rapor edilmiştir. Fakat bazı araştırmacılar, prosesin sürekliliğine katkıda bulunabilen 6,5-6,6 pH değerlerinde, sürekli H_2 üretim sisteminde, metanojenik popülasyon oluşumu gözlenmediğini bildirmiştir.

Baskın çözünebilir metabolit olarak bütirik ve asetik asit oluşumu ile birlikte, 5,0-6,8 pH aralığında genellikle en yüksek H_2 üretimi rapor edilmesine rağmen, etanol ve asetik asit öncelikle baskın çözünebilir metabolit olduğu zaman, 4,5-5,0 pH aralığında yüksek H_2 üretimi alınan çalışmalar da sunulmuştur. Düşük pH değerlerinde çalışmak, metanojen ve homoasetojenleri baskılar ve pH kontrolü için baz tüketimini de azaltır (Baghchehsaraee, 2009). Karışım sıvısındaki gerçek pH, yağ asitlerinin üretiminden dolayı dereceli olarak azalmakla birlikte pH azalımının derecesi, substrat ve çamur konsantrasyonları, sıcaklık, süreklilik ve bunun gibi birçok faktöre bağlıdır.

Genelde, kesikli ve sürekli çalışmaların her ikisinde de başlangıç pH'ı, hidrojen üretim oranı ve verimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Fakat gözlenen artış sürekli değildir. Yukarıda tartışıldığı ve Çizelge 2.12'de verildiği üzere, fermantatif H_2 üretimi için gerekli olan optimum başlangıç pH'ı konusunda bir fikir birliğine varılamamıştır. Bu durum kullanılan aşı türü, substrat konsantrasyonu ve tipi, diğer

çalışma koşulları ve çalışılan aralıktaki başlangıç pH'larındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır (Hafez, 2010).

Çizelge 2.12. Fermantatif biyohidrojen üretimi üzerine farklı pH'ların etkisi (Sinha ve Pandey, 2011).

Aşı	Substrat	Başlangıç pH'ı		Verim
		Çalışılan aralık	Optimum pH	
Kompost	Sukroz	4,5-6,5	4,5	214 mL/g KOİ
Anaerobik çamur	Nişasta	5,0-7,0	5,0	1,1 mol/mol heksoz
<i>Clostridium butyricum</i> CGS5	Sukroz	5,0-6,5	5,5	2,78 mol/mol sukroz
Atık aktif çamur	Gıda atık suyu	4,0-8,0	6,0	4,71 mmol/g KOİ
<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i> PSU-2	Sukroz	4,0-8,5	6,2	2,53 mol/mol heksoz
<i>Citrobacter</i> Y-19	Glikoz	4,0-9,0	7,0	11,7 mmol/g hücre saat
<i>Citrobacter</i> CDN-1	Glikoz	4,5-6,5	5,0	2,1 mol/mol glikoz
<i>Enterobacter cloacae</i> IIT-BT-08	Sukroz	4,5-7,5	6,0	6,0 mol/mol sukroz
Karışık kültür	Sukroz	3,4-6,3	4,2	1,61 mol/mol glikoz
Anaerobik çürütülmüş çamur	Rice slurry (Pirinç bulamacı)	4,0-7,0	4,5	346 mL/g nişasta

Reaktörde düşük derişimdeki biyokütle, VFA üretiminin azalmasına ve yüksek pH'a, yüksek substrat derişimi ise, reaktörde VFA'nın birikimine ve düşük pH'a sebep olur. VFA birikimi hidrojen üreten bakteriyi, hidrojen üretimini azaltan solvent üretimine sevk ederek hücrenin ölümüne yol açar. Reaktörde düşük pH, eğer mikroorganizmalar asidik olmayan ortamdan geliyorsa mikroorganizma aktivitesini engeller. Ayrıca pH azalırken, ayrışmayan asitlerin (asetik, bütirik) oranları artar, ayrışmayan formlar hücre membranından geçebilir, membran pH farkı zayıflar, hücre spor halini alır veya ölür. Ayrıca kesikli sistemlerde substrat derişimi arttığında, hidrojenin kısmi basıncı artar ve mikroorganizmalar alkol üretimine başlar. Böylece hidrojen üretimi engellenir (Davila-Vazquez ve diğ., 2008). Yüksek derişimde ayrılmış asitler, çözeltinin iyonik gücünü artırır ve sistemin, hidrojen üretiminden solvent üretimine dönmesine sebep olur. Düşük pH'da polar olmayan ayrılmamış asitler hücre duvarından geçebildiği için, engelleyici etki meydana gelir. Hücre içinde pH çok yüksekse proton salınır. Bu durum enerji ihtiyacı artışına sebep olur. Bir etki olarak, glikolizden dolayı glikoz akışı azalır. Hücre içi asit derişimini

koruyacak ana parametre, hücre dış ortamının pH'ıdır. Asetik ve bütirik asitin ayrışmamış formlarının etkisi düşük pH ($\text{pH} < 4,5$)'da büyüktür ve hücre büyümesini engelleyici özelliktedir. Ancak bu bölümde sunulan bilgiler ve literatür çalışmaları göz önünde tutulduğunda, karışık kültürler için uygun pH konusunda öngöründe bulunmanın doğru olmayacağı açıkça ortadadır (Chong ve diğ., 2009).

2.3.1.3 Sıcaklığın etkisi

Sıcaklık da, fermantatif H_2 üretimi üzerinde etkili olan en önemli çalışma parametrelerinden biridir. pH gibi, hem metabolik yol izini (pathway) hem de hidrogenaz aktivitesini etkilediği için, H_2 üretimi ve hidrojen üreten bakterinin aktivitesi sıcaklıktaki değişimden etkilenmektedir (Wang ve Wan, 2009; Sinha ve Pandey, 2011). Uygun bir aralıkta artan sıcaklık, fermantatif H_2 üretimi süresince hidrojen üreten bakterinin H_2 üretme yeteneğini artıracaktır. Fakat sıcaklığı çok yüksek seviyede artırmak, artan verimin azalmasına sebep olacaktır. Ayrıca sıcaklıktaki değişim etanol, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit konsantrasyonunu etkilediği için, buna bağlı olarak H_2 verimi de etkilenmektedir (Wang ve Wan, 2009).

Karanlık fermentatif H_2 üretim reaksiyonları, farklı sıcaklık aralıklarında gerçekleştirilmektedir. Reaksiyonlar, 25-40°C (mezofilik), 40-65°C (termofilik), 65-80°C (aşırı termofilik) ve >80°C (hipertermofilik) sıcaklıkta yürütülebilir. Reaktördeki çalışma koşullarındaki farklılıklardan dolayı (substrat, aşı ve diğer proses koşulları), farklı sıcaklık aralıklarında elde edilen hidrojen verimlerini karşılaştırmak zordur. Çizelge 2.13'de fermantatif H_2 üretimi üzerine farklı sıcaklıkların etkisi karşılaştırılmıştır. Ancak tam bir kıyaslama yapabilmek için hidrojen verimlerinde birimsel eşitlik sağlanamamıştır. Hidrojen üreten *Clostridium* sp.'nin çoğu mezofilik koşulları tercih ettiği için, fermantatif H_2 üretimi alanındaki çalışmaların çoğu mezofilik sıcaklıklarda yapılmıştır (yaklaşık 37°C). Literatüre göre karanlık fermantatif H_2 üretimi, mezofilik sıcaklıklarda çok yaygın olarak uygulanır. Termofilik koşullar ise, çok daha az tercih edilir (Sinha ve Pandey, 2011). Termofilik H_2 prosesleri, H_2 üretimi için yüksek verim vermesine rağmen bu tür prosesler genellikle düşük hacimsel üretim hızları ile karakterize edilir. Çünkü birçok termofilik mikroorganizma, sıvı kültür içinde yüksek hücre yoğunluğuna ulaşamaz. Düşük hacimsel üretim hızları ise bu organizmaların faydalı kullanımını sınırlar

(Hallenbeck, 2005). Yüksek sıcaklıklar, mikroorganizma aktivitesini etkileyen proteinlerin doğal özelliklerini kaybetmesine neden olabilir. Ayrıca termofilik proseslerin diğer potansiyel dezavantajı, artan enerji maliyetidir. Bu reaktörleri ısıtmak için gereken enerji, üretilen hidrojen ile karşılanacağı için fayda-maliyet analizi yapılarak sistemin ekonomik açıdan uygun olup olmadığı belirlenmelidir.

Çizelge 2.13. Fermantatif biyohidrojen üretimi üzerine farklı sıcaklıkların etkisi (Sinha ve Pandey, 2011).

Aşı	Substrat	Sıcaklık		Hidrojen Verimi
		Çalışılan aralık	Optimum değer	
<i>Citrobacter</i> CDN-1	Glikoz	27-40	30	2,1 mol/mol glikoz
<i>Ethanoligenes harbinense</i> YUAN-3	Glikoz	20-44	37	1,34 mol/mol glikoz
Anaerobik çamur	Glikoz	25-55	40	275,1 mL/g glikoz
<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i> PSU-2	Sukroz	40-80	60	2,53 mol/mol heksoz
Kentsel arıtma çamuru	Sukroz	30-55	40	3,88 mol/mol sukroz
Kentsel arıtma çamuru	Nişasta	37-55	55	1,44 mmol/g nişasta
İnek gübresi	İnek gübresi	37-75	60	743 mL/kg inek gübresi
Anaerobik çürütülmüş çamur	Organik atık	37-55	55	360 mL/g uçucu katı made (UKM)

2.3.1.4 Kullanılan substrat ve konsantrasyonunun etkisi

Fermantatif H₂ üretiminin sürdürülebilirliği, kullanılan substrata bağlıdır ve substratın fiziksel kimyasal özellikleri prosesin tüm verimliliğini kuvvetle belirler. Laboratuvar çalışmaları çoğunlukla saf substratlar (glikoz, sakkaroz, nişasta ve selüloz gibi) üzerine odaklanmasına rağmen, pilot ölçekli uygulamalar daha kompleks substratların kullanımını gerektirir.

Sürdürülebilir biyohidrojen üretimi için kullanılacak ham maddenin bazı kriterleri karşılaması gerekir. Bu kriterler şu şekilde verilebilir:

➤ Ham madde, özellikle sürdürülebilir kaynaklardan üretilen karbonhidrat olmalıdır (Bartacek ve diğ., 2007).

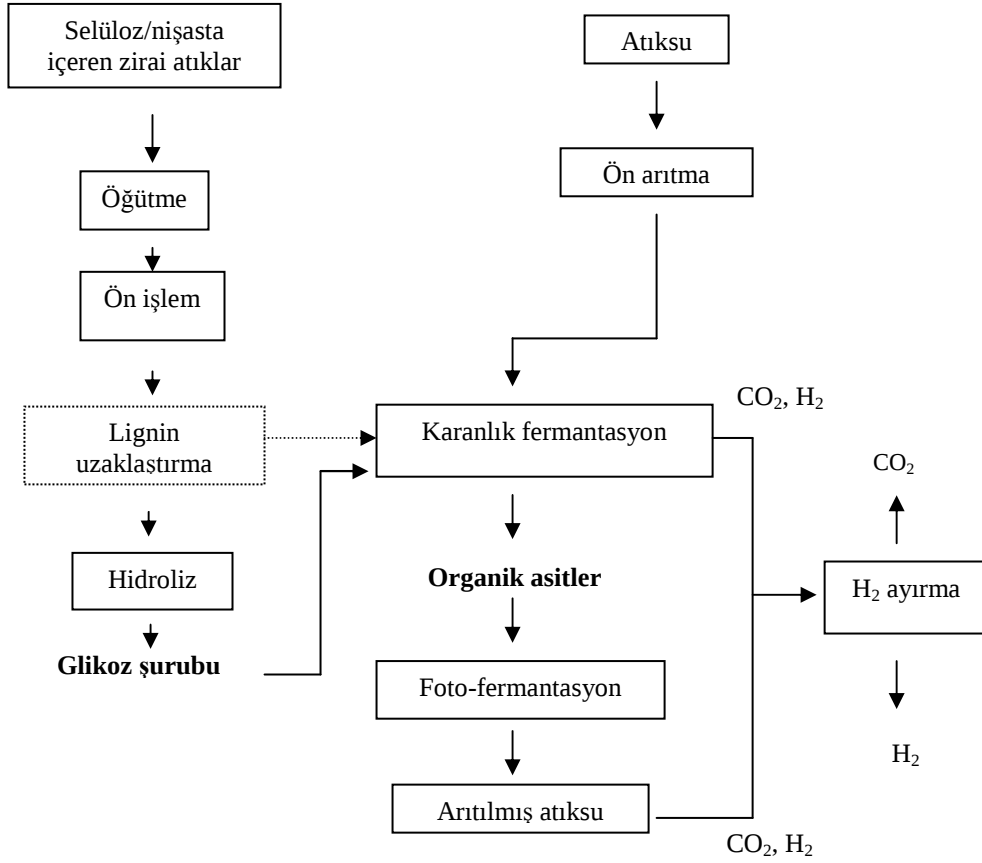
- Fermantatif dönüşüm, enerji kazanımını tercih edilebilir yapacak yeterli konsantrasyona sahip olmalıdır.
- Açığa çıkan enerji, kullanım açısından tercih edilebilir olmalıdır.
- Ham madde, düşük maliyetli olmalı ve minimum ön arıtım gerektirmelidir.
- Bulunabilirlik ve parçalanabilirliği yüksek sürdürülebilir kaynaklar olmalıdır (Hawkes ve diğ., 2002; Kapdan ve Kargı, 2006).

Hidrojen, sadece karbonhidratlardan elde edilebildiği için birçok substrat H_2 üretimi için kullanılamaz. Yağlar ve proteinler gibi, kullanılabilir substratların sayısı genişletilebilirse prosesin uygulanabilirliği artacaktır. Nişasta ve selüloz gibi kompleks karbonhidratlar ise, heksoz moleküllerine (glukoz) ayrıldıktan sonra hücrenin ihtiyaç duyduğu enerjiyi üretmek için daha ileri bir aşamaya ayrışır. Ancak bu şekilde, H_2 üretimi için uygun hale gelmiş olur. Şekil 2.10'da, selüloz ve nişasta içeren tarımsal atık ve gıda sanayi atıksuyundan hidrojen üretimi özetlenmiştir.

Tercih edilen karbon kaynakları arasında glukoz ve süktroz, fermantatif hidrojen üretimi çalışmalarında sıklıkla kullanılan substratlardır. Nişasta ya da selüloz gibi daha kompleks karbonhidratlar ve melas gibi karbonhidratça zengin atıklar da, hidrojen üretim çalışmalarında daha dar kapsamlı olsa substrat kaynağı olarak kullanılabilmektedir (Baghchehsaraee, 2009). Çünkü karbonhidratça zengin atıksu ve katı atıkların bir çoğunda bu maddeler bulunur.

Biyohidrojen üretiminde kullanılan diğer substrat kaynakları, protein ve yağca zengin atıklardır. Bu tip atıklar, karbonhidratça zengin atıklar ile karşılaştırıldığında bulunabilirlikleri az olmasına rağmen, organik atıkların biyolojik dönüşümü ile hidrojen eldesi için, potansiyel besinlerdir. Çalışmalarda kullanılan substratların çoğu şu şekilde tanımlanmaktadır; polisakkaritler: selüloz; heksozlar: glukoz; pentozlar: ksiloz, arabinoz ya da disakkaritler: süktroz ve maltoz. Substrat olarak kullanılacak olan ham maddenin maliyeti, hidrojen üretim prosesinin ekonomik olması yönünden önem arz eder. Bu nedenle toksik olmayan endüstriyel atıksular ve bazı biyolojik parçalanabilir karbonhidratları içeren atıksular (örneğin; peyniraltı atıksuyu, kentsel katı atık sızıntı suyu, şeker ve melas üretim fabrikalarından çıkan atıksu, yemekhanelerden çıkan gıda atığı ya da gıda işleme fabrikası atıksuyu, alkol üretim prosesinden çıkan atıksu, nişasta üreticileri atığı, pirinç şarabı, makarna fabrikası, yağ fabrikası, ekmek mayası ve bira fabrikası atıksuları vb.), farklı işletme

parametrelerine sahip fermantatif hidrojen üretim prosesleri için kullanılabilir (Wu, 2009; Hafez, 2010).



Şekil 2.10. Nişasta veya selüloz içeren zirai atıklar ve atıksulardan biyohidrojen üretim şeması (Kapdan ve Kargı, 2006).

Bazı kompleks substratlar (atık aktif çamur, birincil çamurlar, domuz gübresi vb.), kompleks yapılarından dolayı fermantatif H₂ üretimi için uygun değildir. Fakat ön arıtmadan sonra, hidrojen üreten bakteri tarafından kullanılabilirler. Kentsel atıksu arıtma tesisinden çıkan atık aktif çamur, yüksek seviyede organik madde içerir. Bu yüzden H₂ üretimi için potansiyel bir substrattır. Uygun ön işlem uygulandıktan sonra atık aktif çamurdan hidrojen üretmek için, hidrojen üreten bakterinin yeteneği geliştirilebilir. Çizelge 2.14’de, atık aktif çamurdan fermantatif H₂ üretimi için uygulanan farklı ön işlemler ve elde edilen sonuçlar özetlenmiştir. Optimum şartların sağlanması için atık aktif çamura uygulanacak en uygun ön işlem metodu, fermantatif H₂ üretimi için kullanılan aşı, substrat ve çalışma koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterir.

Çizelge 2.14. Atık aktif çamura uygulanabilecek ön işlemler (Hafez, 2010).

Aşı	Reaktör tipi	Substrat ön işlem metodu	Optimum ön işlem metodu	Maksimum hidrojen verimi
<i>Clostridium bifermentans</i>	Kesikli	Dondurma ve çözme, ultrasonikasyon, asidifikasyon, sterilizasyon ve metanojenik inhibisyon	Dondurma ve çözme	2,1 mmol/g KOİ
<i>Clostridium bifermentans</i>	Kesikli	Dondurma ve çözme, ultrasonikasyon, asidifikasyon, sterilizasyon	Dondurma ve çözme	4,1 g/kg kuru katı
<i>Pseudomonas sp. GZ1</i>	Kesikli	Sterilizasyon, mikrodalga ve ultrasonikasyon	Sterilizasyon	15,02 mL/gTKOİ
<i>Eubacterium multiforme/ Paenibacillus polymyxa</i>	Kesikli	pH 11'de alkali ön arıtım	pH 11'de alkali ön arıtım	16,6 mL/g kuru katı

Fang ve diğ. (2006) yaptığı çalışmada, H₂ fermantasyonu için pirinç bulamacı ve gıda proses atığı kullanmıştır. Pirinç bulamacı ile, 6 farklı konsantrasyonda (2,2; 5,5; 8,3; 11,0; 13,8 ve 22,1 g karbonhidrat/L) çalışmalar yapılmış ve 5,5 g karbonhidrat/L konsantrasyonda, 15,4 mM/g karbonhidrat H₂ ile en yüksek verim rapor edilmiştir. Maksimum verim alınan konsantrasyon değeri üzerine çıkıldığında H₂ verimi sürekli olarak azalmıştır. Verimdeki bu azalma, biyoreaktör içinde üretilen yüksek konsantrasyonda UYA ve alkol üretiminden kaynaklanabilir. Diğer tarafta Yang ve Shen (2006), substrat olarak nişasta kullanmışlar ve çözünebilir nişastanın konsantrasyonundaki artıştan (5, 10, 20, 30 ve 40 g nişasta/L) H₂ üretiminin önemli derecede etkilenmediğini ancak; 20 g/L nişasta konsantrasyonunda daha fazla H₂ üretildiğini rapor etmişlerdir. Literatürden elde edilen veriler, optimum substrat konsantrasyonunun farklı koşullar altında değiştiğini göstermektedir. Bu nedenle her çalışma için, en iyi koşulların tanımlanması oldukça önemlidir.

2.3.1.5 H₂ kısmi basıncının etkisi

Sıvı safha içindeki hidrojenin kısmi basıncı, H₂ üretimini etkileyecek önemli faktörlerden biridir. H₂'nin kısmi basıncındaki azalma, verimin artmasını sağlarken; artan H₂ kısmi basıncının etkisi, daha yüksek besleme gücünün kullanımını sınırlandırabilir. Hidrojen konsantrasyonu arttığı için, metabolik yol izi hidrojen yerine indirgenmiş ürünlerin üretimi yönünde kayar. Yüksek konsantrasyonda H₂ elde etmek için, metanojenler tarafından tüketilmeden ya da H₂ üretiminin baskılanmasına sebep olmadan önce hidrojen sistemden yapay olarak giderilmelidir (Tanisho ve diğ.,

1998). Reaktör içerisinde H_2 'nin kısmi basıncındaki azalma, hidrojen üretimini artırabilir. Sıvı içindeki H_2 konsantrasyonu arttığı zaman, hidrojen üretim reaksiyonları daha az tercih edilir (Hawkes ve diğ., 2002).

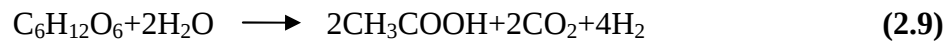
Kesikli testlerde gaz basıncının aralıklı olarak serbest bırakılması ile, hidrojen üretiminin %43'e kadar arttığı rapor edilmiştir (Logan ve diğ., 2002). Argon ya da azot gazı püskürtmek sureti ile, hidrojen kısmi basıncını azaltmak da sürekli kültür içindeki H_2 üretim verimini artırmaktadır. Doğal ekosistemlerde ise düşük H_2 kısmi basıncı, hidrojen üreten bakteriler ve metanojenler gibi hidrojen tüketen bakteriler arasındaki aynı yönlü ortaklık aracılığı ile sağlanır (Baghchehsaraee, 2009).

Diğer bir parametre olan karıştırma hızı da, H_2 verimini etkilemektedir. Artan karıştırıcı hızının, çözünmüş H_2 konsantrasyonunu daha da düşürdüğü görülmüştür (Hawkes ve diğ., 2002).

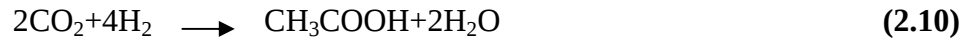
2.3.1.6 Fermantasyon son ürünlerinin etkisi

Anaerobik karışık kültür ile biyohidrojen üretimi, karışık kültür sisteminin davranışından ve hidrojenin çevresel koşullara duyarlılığından dolayı çok kompleks bir biyolojik sistemdir. Anaerobik karışık aşı çamur, farklı biyolojik özelliklere sahip çeşitli fermantatif bakteri türleri ve sporlarından oluşur. Her grup farklı bir biyokimyasal yolu tercih eder ve kendi türüne özgü bir yan ürün ya da son ürün üretir. Bir bakteri grubu biyohidrojen ürettiyorken, diğer bir bakteri grubu onu tüketebilir. Diğer tarafta bazı bakteri türleri çevresel koşullar uygunsa, hidrojeni hem üretilip hem de tüketebilir. Bu duruma en iyi örnek, biyohidrojen üretimine karşı asetat oluşumudur.

Asetik asit son ürün olduğu zaman, teorik olarak maksimum 4 mol H_2 elde edilir.

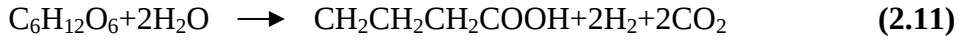


C. acetium gibi Clostridia'nın bazı türleri, H_2 ve CO_2 'i asetata dönüştürmekle aşağıdaki reaksiyonda olduğu gibi H_2 verimini düşürebilir. Bu yüzden artan asetat üretimi, H_2 veriminin arttığına dair bir kanıt değildir (Hawkes ve diğ., 2006).



Bakteriyel fermentasyon, mikroorganizmanın büyümesi ve sürekliliği için gerekli enerjiyi elde ederken bir substrat kaynağına ihtiyaç duyar ve metabolik yol izi süresince organik asit, alkol ve hidrojen gibi bazı ara ürünler üretilir. Fermentasyon yol izi süresince ara ürün olarak H₂ üretimi, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve laktik asit gibi fermentasyon son ürünlerinden etkilenir (Denklem 2.9-2.11).

En yüksek teorik H₂ verimi, fermentasyon son ürünü olarak asetat oluşumu ile ilişkili olmasına rağmen; pratikte en yüksek H₂ verimi, asetat ve bütirat fermentasyon ürünlerinin karışımı ile ilişkilidir. Karışımın asetik asit ve bütirat içeriği propiyonattan daha yüksek olduğu zaman, H₂ verimi daha da yüksektir. Bütirat son ürün olduğunda ise, 1 mol glikoz başına maksimum 2 mol H₂ elde edilir. Fakat bu bilgilere rağmen, fermentasyon yol izi ve hidrojen üretim yeteneği arasındaki ilişki tam olarak çözülememiştir (Ren ve diğ., 2006b).



Kullanılan organik besinler ve bakteri türlerine bağlı olarak açığa çıkan organik asitler (malat, laktat, propiyonat, bütirat ve/ya da asetat), anaerobik bakterinin fermentatif metabolizması ile desteklenemez ve bunların H₂'ye dönüşümü enerji açısından tercih edilebilir bir reaksiyon değildir. Bu yüzden bu organik asitler, büyüme ortamında birikir ve mikroorganizma büyüme hızlarında azalmaya sebep olduğu için H₂ üretim verimi azalır. Sonuç olarak H₂ üretim reaksiyon süresi, nispeten kısa olabilir ve verim organik asitlerin birikiminden dolayı azalabilir (Malis ve Melnicki, 2006).

Biyohidrojen üretimi, anaerobik fermentasyon prosesinde laktatın üretimi ile negatif olarak etkilenir. Büyük miktarda laktat üretilirse, *Laktobasillus* türü laktat fermentasyon bakterisi fermentasyon ortamında baskın olabilir. Laktat üreten bakteri baskınsa, piruvat reaksiyonlarında hidrojenin tüketiminden dolayı H₂ üretilmeyebilir. Laktat üreten bakteri, diğer anaerobik fermentatif bakteriler ile uyum sağlayabildiği için ayarlanmış pH ve sıcaklık altında laktat üretimi mümkün değildir. Bu durum sık sık meydana gelmesine rağmen, anaerobik fermentasyonla biyohidrojen üretimi için çok önemli bir risktir. Ek olarak laktat, anaerobik karışık kültür içindeki *Clostridia sp.* tarafından üretilir. Laktat ile H₂ üretilbilse bile, H₂ verimi düşüktür ve H₂ üretim hızı, bütirat ve asetat gibi diğer yol izlerinden daha yavaştır.

Propiyonatın oluşumu ve birikimi, hidrojen oluşumundaki verimsizlik ve toksik etkisinden dolayı sistem için diğer bir problemdir. Normal olarak propiyonik asit, diğer ürünler ile birlikte üretilir. Fakat asidik ve konvansiyonel anaerobik proseslerde, diğer ürünler artıyor iken propiyonat seviyesi azalır. Propiyonatın birikimi, sistem için büyük bir risktir. Çünkü bu koşullar altında, ne hidrojen ne de diğer ürünler üretilir. pH 5,3 ya da daha düşük pH değerlerinde, asidik fermantatif proses içinde propiyonat üretimi önlenir (Mu ve diğ., 2007).

Özellikle de aseton ve bütanol gibi bazı ara ürünlerin oluşumu ile de, hidrojen üretimi negatif olarak etkilenir. Asetat üretildiği zaman var olan $2H^+$ kullanılarak, aseton üretilir. Bütanolün, bütirat yolizinden çıkan $4H^+$ kullanılarak üretilir de bilinmektedir (Hwang ve diğ., 2004).

Hidrojen, çoğunlukla bütirat, asetat ve etanol yol izi ile üretilir. Etanol, sistem içindeki stabil fonksiyonundan dolayı, fermantatif hidrojen için önemli bir üründür. Literatür araştırması gösteriyor ki etanol, anaerobik karışık kültür içindeki bütün ürünler ile bir arada olabilir. H_2 verimini etkileyen etanol oluşumunun, optimum seviyesini bulmak önemlidir. Ren ve diğ. (2006a) yaptığı çalışmada, asetat/etanol oranı yaklaşık olarak 1 olduğunda en iyi hidrojen veriminin elde edildiğini rapor etmiştir.

H_2 , ara ürünlerin her biri ile üretilse de üretilmese de sistem onlardan sadece birini ürete bile, inhibisyon etkisinden dolayı, hidrojen üretim hızı azalabilir ya da durabilir. H_2 verimini maksimize etmek için, bakterinin metabolizması alkolden (etanol, bütanol) ve uçucu yağ asitleri yönünden indirgenmiş asitlerden (laktat) uzakta yönetilmelidir (Levin ve diğ., 2004). Çünkü ayrıştırılamayan asitler, hücre membranından geçebilir, transmembran pH değişim derecesini düşürebilir ve bu yüzden hücre ölümüne ya da spor oluşumuna sebep olabilir (Baghchehsaraee, 2009).

2.3.1.7 Azot ve fosfor konsantrasyonunun etkisi

Azot, protein nükleik asit ve enzimler için çok önemli bir bileşen olmasından dolayı hidrojen üreten bakterinin büyümesi için gerekli en önemli besin maddelerinden biridir. Bu yüzden uygun miktarda azot ilavesi, hidrojen üreten bakterinin büyümesine ve fermentatif H_2 üretimine olumlu yönde etki edecektir. Bu amaçla en çok kullanılan azot kaynağı, amonyak azotudur. Fosfor, besin değeri ve tamponlama kapasitesinden dolayı hidrojen üretimi için gereklidir. Azot ve fosfor

konsantrasyonunu artırmak, verimi artırır. Fakat fazla miktarda artış, artan verimin azalmasına sebep olacaktır. Bu nedenle uygun C/N ve C/P oranı, fermentatif H₂ üretimi için gereklidir. Kullanılan deneysel şartlardan dolayı optimum N, P, C/N, C/P oranları hususunda, ortak bir karara varılamamıştır (Wang ve Wan, 2009; Genç, 2010).

2.3.1.8 Metal iyonunun etkisi

Yüksek metal iyonu konsantrasyonu, H₂ üreten bakterinin aktivitesini sınırlandırabilmesine rağmen iz miktarda metal iyonu, fermentatif H₂ üretimi için gereklidir. Ortamda bulunması hidrogenaz enzimi açısından gerekli olduğundan Fe²⁺, fermentatif H₂ üretimi için çok geniş ölçüde araştırılan bir metal iyonudur.

Biyohidrojen üretimi, fermentasyon süresince bakteriyel metabolizma için gerekli mikronütrientleri gerektirir. Na, Mg, Zn ve Fe gibi elementlere bakteriyel enzimin kofaktörü, taşınım prosesleri ve dehidrogenaz tarafından ihtiyaç duyulduğu için, mikroorganizmalar içindeki H₂ metabolizmasını etkileyen önemli iz metallerdir (Davila-Vazquez ve diğ., 2008). Çizelge 2.15 fermentatif H₂ üretimi üzerine farklı metallerin etkisini göstermektedir.

Ağır metallerin zehirliliği de, hidrojen üretim sistemlerinde dikkate alınmalıdır. Yapılan çalışmalarda bazı metallerin zehirlilik seviyelerinin, Cu>Ni-Zn>Cr>Cd>Pb şeklinde değiştiği görülmüştür (Wang ve Wan, 2009).

Mineral tuz içeriği de, hidrojen üretimini etkiler. Uygun içerik ile elde edilen hacimsel hidrojen üretim hızı (HHÜH), geleneksel asidojenik nütrient formülasyonu ile elde edilen değerden %66 daha yüksektir. Demirin yanı sıra magnezyum, sodyum ve çinko, bakteriyel enzim kofaktörleri, taşınım prosesleri ve dehidrogenaz için gerekli olduğundan HHÜH'nı etkileyen önemli iz metallerdir.

Çizelge 2.15. Fermantatif biyohidrojen üretimi üzerine farklı metal iyonlarının etkisi (Sinha ve Pandey, 2011).

Aşı	Substrat	Reaktör tipi	Metal iyonu	Konsantrasyon (mg/L)		Hidrojen verimi
				Çalışılan aralık	Optimum kons.	
Anaerobik çamur	Nişasta	Kesikli	Fe ⁺²	0-4000	150	279,9 mL/g nişasta
Anaerobik çamur	Glikoz	Kesikli	Fe ⁺²	0-1500	350	311,2 mL/g glikoz
<i>Clostridium</i>	Glikoz	Kesikli	Fe ⁺²	1-100	25	7,73 mL/saat
<i>saccharoperbutylacetonicum</i>						
N1-4 (ATCC13564)						
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Glikoz	Kesikli	Fe ⁺²	0-1000	25	408 mL/g glikoz
Anaerobik çamur	Palm yağı işleme atıksuyu	Kesikli	Fe ⁺²	2-400	257	6,33 L/L
Çürütülmüş çamur	Glikoz	Kesikli	Ni ⁺²	0-50	0,1	296,1 mL/g glikoz
Hidrojen üreten bakteri B49	Glikoz	Kesikli	Mg ⁺²	1,2-23,6	23,6	2360,5 mL/Lsaat
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Glikoz	Kesikli	Mg ⁺²	0-1000	0,0	77,5 mL/L saat
Anaerobik çamur	Glikoz	Kesikli	Cu ⁺²	0-400	400	1,74 mol/mol glikoz
Çürütülmüş çamur	Sukroz	Sürekli	Ca ⁺²	0-300	150	3,6 mol/mol
Kentsel atık çamur	Sukroz	Sürekli	Ca ⁺²	0-27,2	27,2	2,19 mol/mol sukroz
Anaerobik çamur	Glikoz	Kesikli	Zn ⁺²	0-500	250	1,73 mol/mol glikoz

2.3.1.9 Hidrolik alıkonma süresi (HRT)

HRT, sürekli sistemde işletilen reaktörlerde hidrojen üretim hızını ve/ya da verimini potansiyel olarak etkileyen bir faktördür. Ayrıca HRT'nin, substratın fermentasyonu sırasında ürün bileşimini de etkilediği görülmüştür. En uygun HRT, çeşitli faktörlere (reaktör şekli, kullanılan substrat, belirli mikroorganizma veya mikrobiyal topluluklar) bağlı olarak değişmekle birlikte, her sistem için belirli bir özelliktir. Uygun aralıkta HRT artışı bakterilerin hidrojen üretim yeteneğini artırır. Fakat çok yüksek seviyelerdeki HRT, azaltır (Genç, 2010). Wongtanet ve diğ. (2007), 35°C'de ve pH 5,5'de SKTR'de anaerobik karışık kültür ile yaptıkları çalışmada HRT'yi 3 günden 1 güne azalttıklarında, hidrojen veriminin 0,66'dan 1,24 mol H₂/mol glikoz'a arttığını rapor etmiştir.

Çok düşük HRT'de çalışmak, biyokütle yıkanmasına yol açabilir. Ancak çok yüksek HRT'de çalışmak da, uygun değildir. Çünkü yüksek seviyede uçucu yağ asidi birikimiyle, hidrojen üretiminin inhibisyonuna yol açabilir (Baghchehsaraee, 2009). Esasen kısa HRT'de, hidrojen tüketiciler, birincil olarak da metanojenler, ortamdan uzaklaştırılabilir. Bu nedenle HRT'nin kontrolü, aşı çamurun ön arıtımı olmaksızın hidrojen tüketicileri sınırlandırmak için diğer bir strateji olabilir. Lin ve Jo (2003) metan üretimini tamamen inhibe edebilmek amacıyla, 8 saate kadar HRT'yi kademeli olarak azaltarak anaerobik ardışık kesikli reaktörde hidrojen üretim verimini artırmayı başarmışlardır.

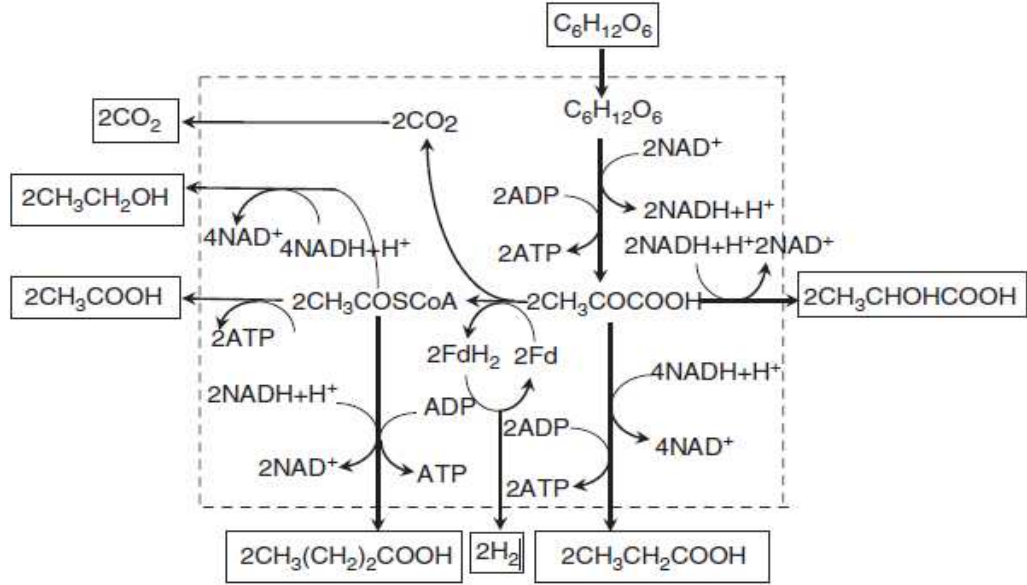
2.3.1.10 Metabolik kayma (Metabolic Shift)

Şekil 2.11'de karbonhidratların fermentasyonu ile oluşan olası fermentasyon ürünleri gösterilmektedir. Pratikte yüksek H₂ verimleri, asetat ve bütirat fermentasyon ürünlerinin karışımı ile düşük H₂ verimi ise, alkol ve laktik asit gibi indirgenmiş son ürünler ve propiyonat ile ilişkilidir (Levin ve diğ., 2004). Fakat düşük pH değerleri gibi (4,5-5,0) özel çevresel koşullar altında, etanol tip fermentasyon ile H₂ elde edilebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.



Bu yüzden etanol oluşumu, her zaman düşük hidrojen üretim veriminin işareti değildir. Hidrojen üretecek bakterinin metabolik yol izi, çeşitli çevresel faktörlerden

önemli derecede etkilendiği için bu durum iyi bir şekilde araştırılmalıdır (Ren ve diğ., 1997).



Şekil 2.11. Bazı diğer yan ürünler ve fermantatif hidrojen oluşumu için örnek yol izi (Fd, Oksitlenmiş ferrodoksin; FdH_2 , İndirgenmiş ferrodoksin) (Ren ve diğ., 2006a).

2.3.1.11 Enzim

Biyohidrojen üretimi, mikroorganizmalarda bulunan hidrojen üreten enzimlere bağlıdır. Bu enzimler, çok basit redoks reaksiyonlarında ($2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$) katalizör olarak görev yapar. Bu reaksiyonu gerçekleştiren enzimlerin birçoğu, aktif yerlerinde karmaşık metalli gruplar ve özel proteinler içerirler. Birçok hidrojen üretim sistemi tarafından kullanılan üç ana hidrojen üreten enzim (nitrogenazlar, [NiFe]-hidrogenazlar ve [FeFe]-hidrogenazlar) vardır.

Nitrogenazlar, azotu amonyağa bağlayan reaksiyonu katalizler ve aynı anda protonların (H^+) hidrojene zorunlu indirgenmesini sağlar.

[NiFe]-hidrogenazlar, hidrojen üretiminde nitrogenazlardan 15 kat daha etkilidir. [NiFe]-hidrogenazlar, sadece hidrojen üretmez ayrıca onlar uptake hidrogenazlar (hidrojen tüketen enzimler) olarak da görev alabilir. Hidrojenden gelen elektronları nikotinamid adenindinükleotid fosfatı (NAD(P)) indirgemekte kullanır.

En etkili hidrojen üretim enzimi, [FeFe]-hidrogenazlardır. Nitrogenazlardan 1000 kat, [NiFe]-hidrogenazlardan ise 10-100 kat daha iyi aktiviteye sahiptir. [FeFe]-hidrogenazlar, çevrelerine bağlı olarak ya hidrojen üretir ya da tüketirler. Bu enzimlerin üçü, genel olarak oksijene hassastırlar ve uygun hızda hidrojen üretmek

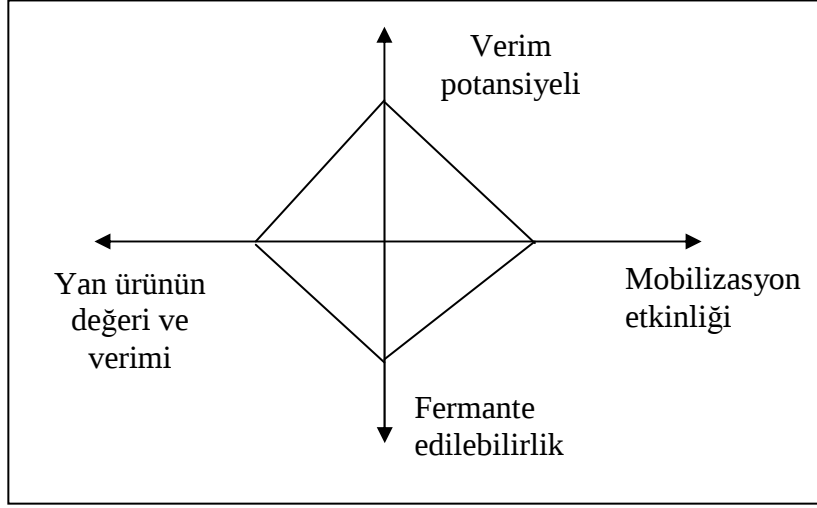
için, oksijenin ortamdan uzaklaştırılması gerekir. [NiFe]-hidrogenazlar ve [FeFe]-hidrogenazlar, anaerobik mikroorganizma karışımı veya saf kùltùrler tarafından karanlık fermantasyonlarda kullanılabilir. Bu reaksiyonlarda oksijen üretilmediği veya tüketilmediği için, her iki hidrogenaz tipinin oksijen tarafından pasif hale getirilme olasılığı çok dùřùktùr (Genç, 2010).

2.4 Biyohidrojen Eldesinde Kullanılan Atık Materyaller

Biyolojik hidrojen üretimi, hidrojen gazı üretimi için iyi bir alternatiftir. Atık minimizasyon sorunları ve sürdürülebilir gelişime uygun olarak yenilenebilir kaynaklardan biyohidrojen üretimi, son yıllarda oldukça ilgi görmektedir ve yeşil teknoloji olarak bilinir. Fosil yakıtların yerine geçecek şekilde artan enerji ihtiyacını karşılamak için yeni ve umut verici yaklaşım olarak biyolojik hidrojen üretimi ile, hem atık materyal kullanımı hem de temiz enerji kaynağının üretimi sağlanmış olur (Kapdan ve Kargı, 2006).

Saf substratların tam ölçekli tesislerde kullanımı, teknik ve ekonomik olarak uygun ve sürdürülebilir değildir. Urbaniec ve Grabarczyk (2009) tarafından hidrojen fermantasyonuna uygun ham maddeler için, dört aksisli diyagram oluşturularak şekil 2.12’de verilen teknik uygunluk haritası hazırlanmıştır. Burada dikkate alınan dört ölçüt, şu şekilde sıralanmıştır:

- Verim potansiyeli- maksimum hidrojen verimi
- Mobilizasyon etkinliği- ham maddedeki tüm karbonhidratların, fermante olabilir şekerlere dönüşebilme yüzdesi
- Fermante edilebilirlik- ön işlemden geçmiş ham maddenin, hidrojen fermantasyonunu geliştirmeye ve inhibe etmeye eğilimi
- Yan ürün verimi ve değeri- uygulanan ön işlem metodunun ardından elde edilen yan ürünün verimi ve değerinin nitelendirilmesi



Şekil 2.12. Hammadeye ait teknik uygunluk haritası (Urbaniec ve Grabarczyk, 2009).

Hidrojen fermantasyonu için ham maddenin teknik uygunluğu, ham maddeye ait dörtgenin yüzey alanı ile ifade edilir. Bu kapsamda yukarıda ifade edilen ölçütleri sağlayabilen, yenilenebilir biyokütleler önem kazanmıştır. Yenilenebilir biyokütle, atık materyal olarak çeşitli endüstrilerden meydana gelen petrol kökenli olmayan çok yönlü bir kaynaktır ve sürdürülebilir biyohidrojen üretiminde potansiyel substrat kaynağı olarak işlev görür. Kullanılabilecek atık ve biyokütle için, farklı sınıflandırmalar yapılmıştır. Bir çoğunda kullanılan sınıflandırma ölçütü ya substratın kimyasal içeriği ya da biyokütlenin orijini (Ntaikou ve diğ., 2010; Genç, 2011). Biyolojik hidrojen üretimi amacıyla, çeşitli biyokütle kaynakları enerji elde etmek için kullanılabilmektedir. Bu kaynakları, 4 genel kategoride inceleyebiliriz:

1) Enerji bitkileri: Kimyasal içeriklerine göre fermantatif hidrojen üretiminde kullanılan enerji bitkileri, şeker esaslı bitkiler (tatlı sorgum, şeker kamışı ve şeker pancarı), nişasta esaslı bitkiler (mısır ve buğday), otsu (çim ve kuru ot) ve odunsu (*Miscanthus* ve kavak) lignoselüloz esaslı bitkileri içerir. Seçilen enerji bitkisinde istenilen özellikler, birim alan başına yüksek verim, yüksek şeker içeriği, düşük lignin içeriği ve yetiştirilmesinin kolay olmasıdır (Genç, 2010).

2) Tarımsal kalıntılar ve atık: Ekin atığı (mısır ve buğday sapı), şeker kamışı, tatlı sorgum küspesi ve hayvan atığı bu gruba örnek verilebilir. Enerji bitkilerinin kullanımı ile kıyaslandığı zaman, şeker ve nişastalı bitkilerin hasat edilmesi ve işlenmesinden sonra kalan kalıntıların (gıda endüstrisi zincirinde daha ileri işlenemeyen) kullanılması, ekonomik ve çevresel sürdürülebilirlik için çok daha iyi bir çözümdür. Bol ve hemen hemen sıfır maliyetli olmasına karşın tarımsal ve

orman kalıntıları, kolaylıkla fermante olabilen serbest şeker içermezler. Kuvvetli bir şekilde lignine bağlı karmaşık karbonhidrat polimerleri (selüloz ve hemiselüloz) içerirler. Bu yüzden lignoselülozik kalıntıların hidrojene biyodönüşümü, birçok durumda kolay değildir. Selülozik mikroorganizmalar kullanılsa bile, kalıntıların delignifikasyonu için bazı ön işlem metotlarına ihtiyaç vardır. Ancak ön işlemden sonra, selüloz ve hemiselüloz yapılarının serbest kalması sağlanabilir. Böylece şekerlerin salınımı ve tüketimi, daha da kolaylaşır.

3) Orman atığı ve kalıntıları: Öğütülmüş ağaçsı atık, tomruk kalıntıları, ağaçlar ve çalı kalıntıları içerir.

4) Endüstriyel ve kentsel atıklar: Kentsel katı atık, gıda atığı, atık çamur ve endüstriyel atıkları içerir (Ni ve diğ., 2006; Genç, 2011).

Dünya üzerinde yaklaşık olarak 2 milyar ton biyokütle vardır ve bu oran her yıl 0,2 milyar ton artmaktadır. Yıllık biyokütle üretimi, dünyadaki yıllık enerji tüketiminin yaklaşık olarak 10 katına denk gelir (Miyake ve diğ., 2001).

Fermantatif H_2 üretiminin sürdürülebilirliği, kullanılan substrata çok bağlıdır. Yapılan araştırmalar sonucunda, substratın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin prosesin tüm verimini kuvvetle etkilediği belirlenmiştir. Hidrojen gazı üretiminde, glikoz, sakkaroz, laktoz gibi ayrıştırılması kolay şekerlerin kullanımı arzu edilir. Ancak saf karbonhidratların ham madde olarak kullanılması maliyeti artırır. Bu nedenle hidrojen gazı üretiminde nişasta içeriği zengin zirai atıkların kullanılması, önemli avantajlar sağlamaktadır (Argun ve diğ., 2007).

Teorik olarak karbonhidratlar, yağlar ve proteinler bakımından zengin herhangi bir organik madde, fermantatif biyohidrojen üretimi için olası bir substrat olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte yapılan çalışmalardan da görüldüğü gibi, fermantatif işlem sırasında hidrojenin ana kaynağı karbonhidratlardır. Bu yüzden şekerler ve/veya karmaşık karbonhidratlarca zengin biyokütle ve atıkların, biyohidrojen üretimi için en uygun substrat olduğu anlaşılmıştır (Li ve Fang, 2007). Farklı substratların hidrojen üretim potansiyelleri karşılaştırıldığında, karbonhidrat bakımından zengin atıkların (pirinç ve patates) hidrojen üretim potansiyellerinin, ortalama olarak yağ bakımından zengin atıklardan (yağlı et ve tavuk derisi) ve protein bakımından zengin atıklardan (yumurta ve yağsız et) elde edilen değerden 20 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur.

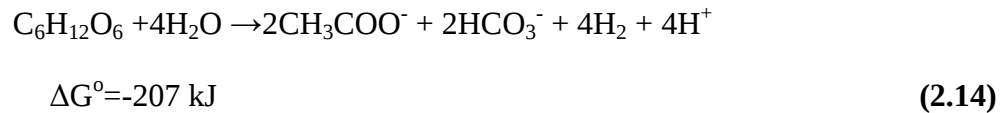
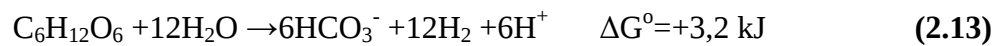
Glikoz, sukroz ve laktoz gibi saf basit şekerler, kolayca biyolojik olarak parçalanabilir ve bu yüzden hidrojen üretimi için model substrat olarak sıklıkla tercih

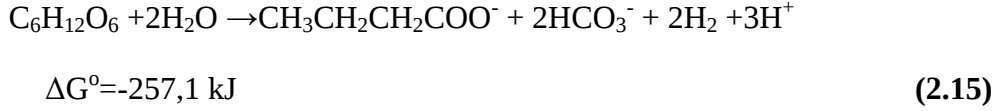
edilir. Ancak saf karbonhidrat kaynakları, gerçek ölçekteki hidrojen üretimi için pahalı ham maddelerdir (Ntaikou ve diğ., 2010; Kapdan ve Kargı, 2006). Glikozdan hidrojen üretimi, bazı substratlar (sukroz, patates nişastası, laktat ve selüloz) ile karşılaştırılmıştır. Melas hariç (1,3 g KOİ/şişe) tüm substratlar için, 1 g KOİ/şişe substrat derişimleri ile denemelerin yürütüldüğü çalışmada glikoz, sukroz ve melas için gecikme süreleri benzer bulunmuştur (19-27 saat). Patates nişastası içeren şişeler ise, çok yavaş bir biçimde gaz üretmiştir (yaklaşık olarak 40. saatte gaz üretimi başlamıştır). Laktat ve selüloz içeren şişeler, çok az hidrojen gazı üretmiştir. Bu substratların dönüşüm verimliliği, substratların hidrojen ve asetata maksimum stokiyometrik dönüşümü göz önünde bulundurularak kıyaslanmıştır. Mol substrat başına üretilen mol H₂ değeri, glikoz (C₆H₁₂O₆), sukroz (C₁₂H₂₂O₁₁), patates nişastası ((C₆H₁₀O₅)_n), laktat (C₃H₅O₃Na) ve selüloz ((C₆H₁₀O₅)_n) için sırası ile 0,92; 1,8; 0,59; 0,01; 0,003 bulunmuştur. Bu değer melas için hesaplanamamıştır. Substratın hidrojene en yüksek dönüşümü, glikoz ve sukrozdan elde edilmiştir (%23). Hidrojen dönüşüm verimliliği, melas için biraz daha düşük bulunmuştur (%15). Fakat laktat (%0,50) ve selüloz (%0,075) için değer çok daha düşüktür (Logan ve diğ., 2002; Genç, 2011).

2.4.1 Karanlık fermantasyonla hidrojen gazı üretiminde seçilen biyokütlenin proses üzerindeki etkisi

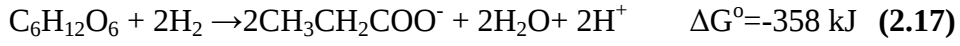
2.4.1.1 Basit şekerlerin kullanımı

Glikoz (C₆H₁₂O₆), endüstriyel atıksuların çoğunda bulunan kolaylıkla parçalanabilir karbon kaynağıdır. Tarımsal atıklardan bol miktarda elde edilebilir. Teorik olarak 1 mol glikozdan, 12 mol hidrojen üretilebilir (reaksiyon 2.13). Ancak 2.13-2.16 nolu reaksiyonların standart Gibbs serbest enerjileri değerlendirildiğinde, reaksiyon 2.13'ün termodinamik olarak uygun olmadığı görülür. Glikozdan olası fermantatif hidrojen üretim reaksiyonları (2,14-2,16), 4 mol H₂/mol glikoz üretim hızı ile en çok arzu edilen son ürünün asetat olduğunu (reaksiyon 2.14) göstermektedir (Genç, 2010):





Organik maddelerden fermantatif hidrojen üretiminde ana metabolitler, asetat ve bütirat olduğu halde bütirat daha baskındır. Çünkü Gibbs serbest enerji değeri düşüktür (Kim ve diğ., 2006). Önceki reaksiyonların aksine propiyonatın üretimi, (reaksiyon 2.17) hidrojen üretimini düşürür. *Clostridium aceticum* gibi homoasetojenlerin aktivitesi ile, hidrojen (reaksiyon 2.18) veya glikoz (reaksiyon 2.19) tüketimi meydana gelebilir.



Glikozdan elde edilen en yüksek hidrojen verimi, 2,0-2,4 mol H₂/mol glikoz civarındadır. Asetata kıyasla bütirat üretimi, teorik verimden sapma sebeplerinden birisi olabilir. Fang ve Liu (2002)'ya göre, glikozun kısmi oksidasyonu düşük verim için diğer bir sebep olabilir. Fakat glikozun parçalanma oranı %95'i aştığında, verim 1,7 mol H₂/mol glikozdan daha az olabilir (Lin ve Chang, 2004). Bu yüzden bakteriyel büyüme için enerji kaynağı olarak substrat kullanımı, teorik değerlendirmeden daha düşük verim elde edilmesinin temel sebebidir. Basit şekerlerden biyohidrojen üretimi, birçok araştırmacı tarafından çalışılmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçların bazıları, Çizelge 2.16'da verilmiştir.

Çizelge 2.16. Kesikli karanlık fermentasyon ile saf karbonhidratlardan biyohidrojen üretim hızı ve veriminin karşılaştırılması (Kapdan ve Kargı, 2006).

Organizma	Karbon kaynağı	H ₂ verimi	% H ₂ verimi	Gaz kar. H ₂ içeriği (%)
<i>Klebsiella oxytoca</i> HP1	Glikoz (50 mM)	1 mol/mol glikoz	16,7	*
<i>E. cloacae</i> IIT-BT 08	Glikoz (%1)	2,2 mol/mol glikoz	*	*
<i>E. coli</i>	Glikoz (20 g/L)	4,73×10 ⁻⁸ mol/mol glikoz	*	*
<i>H. alvei</i>	Glikoz (10 g/L)	5,87×10 ⁻⁸ mol/mol glikoz	*	*
Kompost çamuru	Glikoz (10 g/L)	2,1 mol/mol glikoz	*	*
Karışık kültür	Glikoz (1 g KOİ/L)	0,9 mol/mol glikoz	23	60
Karışık kültür	Sakkaroz (6 g/L)	300 mL/g KOİ	*	40
<i>Klebsiella oxytoca</i> HP1	Sakkaroz (50 mM)	1,5 mol/mol sakkaroz	12,3	*
<i>C. pasteurium</i> (dominant)	Sakkaroz (20 g KOİ/L)	4,8 mol/mol sakkaroz	*	55
<i>E. cloacae</i> IIT-BT 08	Sakkaroz (10 g/L)	6 mol/mol sakkaroz	28	92
Karışık kültür	Sakkaroz (1 g KOİ/L)	1,8 mol/mol sakkaroz	23	*
<i>Thermoanaerobacterium</i>	Selüloz (5 g/L)	102 mL/g selüloz	18	*
<i>Clostridium</i> sp.	Mikrokristal selüloz (25 g/L)	2,18 mmol/g selüloz	*	60
<i>E. aerogenes</i>	Nişasta (20 g glikoz/L)	1,09 mol/mol glikoz	*	*
<i>Thermoanaerobacterium</i>	Nişasta (4.6 g/L)	92 mL/g nişasta	17	60
<i>C. pasteurium</i>	Nişasta (24 g/L)	106 mL/g nişasta	19	*
Karışık kültür	Patates nişastası (1 g KOİ/L)	0,59 mol/mol nişasta	15	*
Karışık kültür	Şeker pancarı suyu	1,7 mol H ₂ /mol heksoz	*	*

* Değer bulunamadı.

2.4.1.2 Nişasta içeren atıkların kullanımı

Tarım ve gıda endüstrisi atıklarının çoğu, karbonhidratça zengin olan nişasta ya da selüloz gibi bileşikler içermektedir. Bu bileşiklerin karmaşık yapısı, biyolojik olarak parçalanmalarını zorlaştırmaktadır. Ayrıca zirai atıkların yapısındaki lignin de, problem oluşturmaktadır. Bu nedenle atıkların biyolojik ayrıştırma öncesinde, ön işlemlere tabi tutulması gerekmektedir. Nişasta, asidik ya da enzimatik hidrolizle glikoz ve maltoza hidrolize olabilir. Ardından karbonhidratlar, organik asitlere, daha sonra da hidrojen gazına dönüşürler.

Reaksiyon stokiyometrisine göre 1 g nişastadan, maksimum 553 mL hidrojen gazı ve yan ürün olarak da asetat üretilmesine rağmen gerçek verim teorik değerden daha düşüktür. 24 g/L yenilebilir mısır nişastası, *C. pasteurianum* tarafından substrat olarak kullanıldığında maksimum spesifik hidrojen üretim oranı 237 mL H₂/g uçucu askıda katı madde (UAKM).gün olmuştur (Liu ve Shen, 2004). Zhang ve diğ. (2003), karışık bir çamur kullanarak 37°C’de 4,6 mg/L nişasta konsantrasyonuyla 480 mL H₂/gUAKM.gün’lük daha yüksek spesifik bir verim rapor etmişlerdir. *Thermoanaerobacterium* ile termofilik koşullarda çalışmak, 365 mL H₂/gUAKM.gün’lük üretim verimliliğini artırmamıştır.

2.4.1.3 Selüloz içeren atıkların kullanımı

Selüloz, hemiselüloz ve lignin içeren lignoselülozik materyaller bitki hücre duvarının yapısal bileşenini oluşturan fotosentez ürünleridir. Lignoselüloz, tarım, kağıt ve orman endüstrisinin lignoselülozik atıklarından elde edilebilir. Lignoselülozik materyaller etanol üretimi için, özellikle de endüstriyel fermantasyon için, potansiyel kullanıma sahiptir ve heksoz ile pentoz şekerlerinin en büyük yenilenebilir kaynağıdır. Fakat selülozu, basit şekerlere hidrolize etmek için gereken ön arıtım prosesi bir kısıtlamadır.

Isıl olarak parçalanmış çamur ile mezofilik şartlarda mikrokristalin selülozdan hidrojen gazı üretim potansiyeli araştırılmıştır. Selüloz konsantrasyonu arttıktan sonra 12,5 g/L selüloz konsantrasyonu ile elde edilen maksimum verim (2,18 mol H₂/mol selüloz) azalmıştır. Bununla birlikte 25 g/L selüloz konsantrasyonu, en yüksek spesifik hidrojen üretim oranını (11,16 mmol/g.UAKM.gün) sağlamıştır (Lay, 2001). Liu ve diğ. (2003), selülozu 37°C’de daha yüksek bir oran ile hidrojene dönüştürebilmiştir. Fakat hidrojen miktarı sadece termofilik aralıkta artış göstermiştir. Bu çalışmada elde edilmiş olan maksimum hidrojen verimi, teorik verimin sadece %18’idir (102 mL/g selüloz). Verimin düşük olması selülozun kısmi parçalanmasından kaynaklanmıştır (Kapdan ve Kargı, 2006).

2.4.1.4 Gıda endüstrisi atıkları ve atıksularının kullanımı

Gıda endüstrisi atıkları, kentsel katı atıkların oldukça büyük miktarını oluşturur. Düzenli depolama, kompostlama ve yakma katı atık yönetimi için bilinen yaklaşımlardır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar yüksek seviyede karbonhidrat ve protein içeriğinden dolayı, katı gıda atıklarının biyolojik hidrojen üretimi için iyi

bir ham madde olduğunu, dolayısıyla hem atık yönetimi hem de enerji üretimi amacıyla bu atıkların değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur. Gıda atıkları içindeki özellikle karbonhidratlı organik bileşenler, anaerobik hidrojen üretimi için potansiyel bir substrat olabilir. Gıda atıklarındaki problem, karbonhidrat ve protein türlerindeki değişimler ve karışımındaki konsantrasyonudur. Her bileşen, hidrojen gazı üretimi için farklı çevresel ve biyoproses koşulları gerektirir. Çizelge 2.17’de, farklı materyaller ile elde edilen hidrojen gazı üretimleri verilmiştir. Çizelge 2.18’de ise, gıda atıkları ve nişasta içerikli atıklardan biyohidrojen üretim verimleri karşılaştırılmıştır (Chong ve diğ., 2009). Gıda endüstrisi atıksuları, karbonhidratça zengin atıksulardır. Ginkel ve diğ. (2005) şekerleme, elma ve patates işleyen endüstriyel atıksulardan ve kentsel atıksulardan hidrojen üretimi üzerine çalışmıştır. En yüksek üretim verimi (0,21 L H₂/g KOİ), patates işleme atıksuyundan elde edilmiştir. Melas, karbonhidratça zengin diğer bir substrattır ve iyi bir sakkaroz kaynağıdır. *E. aerogenes* E.82005 türü ile sürekli işletimde maksimum ve elde edilebilir hidrojen üretim oranı, sırasıyla 36 ve 20 mmol H₂/L.saat olmuştur (Kapdan ve Kargı, 2006).

2.4.1.5 Arıtma çamuru kullanımı

Atıksu arıtma ünitelerinden çıkan biyolojik katı maddeler, büyük miktarda polisakkarit ve protein içermektedir ve hidrojen eldesinde kullanılabilir. Wang ve diğ. (2003c), biyohidrojen eldesi için ham madde olarak atık çamur kullanmışlar ve 1 g biyokatı başına, 1,8 mg H₂/g kuru çamur verim almışlardır. Bu değer, Huang ve diğ., (2000) tarafından elde edilenden (0,16 mg H₂/g kuru çamur) çok daha yüksektir. Filtrattan elde edilen verim ise, 15 mg H₂/g KOİ olarak rapor edilmiştir. Arıtma çamurlarından biyolojik yolla hidrojen üretimi, bölüm 2.5’de ayrıntılı bir şekilde açıklanacaktır.

Çizelge 2.17. Karanlık fermantasyonla farklı atık materyallerden biyohidrojen üretim verimlerinin karşılaştırılması (Kapdan ve Kargı, 2006).

Organizma	Karbon kaynağı	H ₂ verimi	% H ₂ içeriği
Karışık kültür	OFMSW	150 mL/g OFMSW	66
<i>Thermoanaerobacterium</i>	Gıda atığı (6 gUKM/L)	1,8 mol H ₂ /mol heksoz	55
Mezofilik karışık kültür	Gıda atığı (%3 UKM)	0,05 mol/mol heksoz	1
Karışık kültür	Patates endüstrisi atıksuyu (21 g KOİ/L)	2,8 L/L atıksu	60
Karışık kültür	Elma (9 g KOİ/L)	0,9 L/L atıksu	60
Karışık kültür	Evsel atıksu	0,01 L/L atıksu	23
<i>E. aerogenes</i>	Melas (%2 sakkaroz)	1,5 mol/mol sakkaroz	60
<i>E. aerogenes</i>	Pirinç şarabı atıksuyu (36 g KOİ/L)	2,14 mol/mol heksoz	53-61
<i>E. aerogenes</i>	Biyokatı	1,2 mg/g KOİ	*
<i>E. aerogenes</i>	Filtrat	15 mg/g KOİ	*
<i>C. butyricum</i> +	Tatlı patates nişasta kalıntısı (%0,5)	2,4 mol/mol glikoz	*
<i>E. aerogenes</i>			
<i>C. butyricum</i> +	Tatlı patates nişasta kalıntısı (%2)	2,7 mol/mol glikoz	*
<i>E. aerogenes</i>			

* Değer bulunamadı; OFMSW: Katı atığın organik fraksiyonu

Çizelge 2.18. Gıda atığı ve nişasta içerikli atıklardan biyohidrojen üretim verimlerinin karşılaştırılması (Chong ve diğ., 2009).

Organizma	Substrat	Çalışma şekli	Eklemeler ^a	pH/ Sıcaklık	Verim
Gıda atığı					
Karışık kültür	Elma işleme atıksuyu (9 gKOİ/L)	Kesikli	Var	6,0/-	0,9 L H ₂ /L ortalama (0,1 L H ₂ /g KOİ)
Karışık kültür	Patates işleme atıksuyu (21 gKOİ/L)	Kesikli	Var	6,0/-	2,1 L H ₂ /L ortalama (0,1 L H ₂ /g KOİ)
Karışık kültür	Gıda atığı	Sürekli	Yok	6,5/35°C	0,39 L H ₂ /g KOİ
Karışık kültür	Gıda atığı	Kesikli	Yok	5,6/50°C	57 mL H ₂ /g UKM
Nişasta bazlı atıksu					
Karışık kültür	Melas	Sürekli	Yok	7,0/35°C	5,57 m ³ H ₂ /m ³ reaktör/gün
Karışık kültür	Pirinç şarabı (5,5 g karbonhidrat/L)	Kesikli	Var	4,5/37°C	346 mL H ₂ /g karbonhidrat
Selülozik atık					
<i>Thermoanaerobacterium</i> 'ce zengin çamur	POME ^b	Kesikli	Var	5,5/60°C	6,33 L H ₂ /L POME
Karışık kültür	POME	Kesikli	Yok	5,5/60°C	4,7 L H ₂ /L POME
Karışık kültür	POME	HRT 5 gün	Yok	5/-	0,42 L/g ayrışabilir KOİ
Laktoz bazlı atıksu					
<i>C. saccharoperbutylacetonicum</i> ATCC27021	Peynir altı suyu (49,2 g laktoz/L)	Kesikli	Yok	6-30°C	2,7 mol H ₂ /mol laktoz
Karışık kültür	Mandıra atığı (10,4 g KOİ/L)	HRT 24 saat	Yok	6/28°C	1,105 mmol H ₂ /m ³ /dak
Karışık kültür	Peynir işleme atıksuyu (10 g KOİ/L/gün)	HRT 24 saat	Yok	7,5/35- 38°C	2,4 mM H ₂ /gKOİ

^a Vitamin ve mineral ilavesi

^b Hurma yağı fabrikası çıkış suyu

2.4.1.6 Süt endüstrisi atıkları

Peynir ve süt endüstrisi atıksuları, laktozca zengindir. Peyniraltı suyu, fermentasyon amacıyla substrat olarak kullanılabilen yaklaşık %5 laktoz içerir. Laktozca zengin atıksuyu, diğer ürünlere dönüştürmek için farklı teknolojiler uygulanabilmesine rağmen bu atıksuyun kullanımı ve bertarafı hala süt endüstrisi için en önemli problemlerden biridir.

Ham peyniraltı suyundan hidrojen üretim olasılığını belirlemek için, *Clostridium thermolacticum* ile çalışmalar yapılmıştır. Çalışma sonucunda hidrojen üretim oranı, orta asidik pH'da optimum seviyede etkilenmiştir. pH 7'de farklı seyrelme oranları ile çalışıldığında, en yüksek H_2 verimi 3,0 mol H_2 /mol laktoz (1,5 mol H_2 /mol heksoz) olmuştur (Lay, 2001). Venkata Mohan ve diğ. (2007), atıksu arıtımı ile birlikte süt endüstrisi atıksuyundan hidrojen üretim potansiyelini değerlendirmiştir. Hacimsel hidrojen üretim oranı, 3,5 kg KOİ/m³ günlük organik yükleme hızında en yüksek seviyeye ulaşmıştır (1,105 mmol H_2 /m³ dak). Elde edilen maksimum substrat (KOİ) giderim verimliliği ise, %64,7'dir (Chong ve diğ., 2009).

2.5 Atıksu Arıtma Çamurları

2008 yılında yaklaşık 2,38 milyar m³/yıl kentsel ve endüstriyel atıksu, Türkiye'deki atıksu arıtma tesislerinde arıtılmış ve yaklaşık 1075000 ton/yıl atık çamur üretilmiştir (URL-4). Kentsel atıksu arıtma tesislerinde üretilen çamurun işlenmesi ve bertarafı, önemli bir çevresel problemdir. Kullanılmadan deşarj edilen biyokütle kalıntıları, potansiyel bir enerji kaynağı olmasına rağmen iyi bir yönetim olmadığı için önemli seviyede çevresel problem ortaya çıkarmaktadır (Guo ve diğ., 2008). Fermantatif H_2 üretimi için substrat olarak atıksu arıtma çamuru kullanmak, diğer biyokütle kaynaklarının kullanımına göre bazı avantajlara sahiptir. Çünkü kaynak boldur, insan yerleşiminin olduğu herhangi bir yerde çok az maliyetle ya da hiçbir maliyet olmaksızın elde edilebilir (Nicolau ve diğ., 2008).

Günümüzde, iyi bir atıksu arıtma tesisi tasarımı ve atıksu çıkış standartlarının sağlanması için konulan katı kurallar, yaygın olarak arıtma çamuru olarak bilinen atık aktif çamur miktarının artmasına sebep olmaktadır. Atık aktif çamur, atıksu arıtım prosesinin bir yan ürünüdür. Atık çamur, çoğunlukla mikroorganizmalardan oluşur ve onun organik madde kompozisyonu, glikoz ya da nişasta gibi

karbonhidratça zengin substratlardan farklıdır. Arıtma çamuru, %41 protein, %25 lipid, %14 karbonhidrat ve %20 bilinmeyen bileşenler (kimyasal oksijen ihtiyacı kökenli) ya da %32-41 protein ve toplam kuru katı kökenli %5-12 yağ içerir. Bu yüzden hidrojen üretimi için, potansiyel bir substrattır (Cai ve diğ., 2004; Guo ve diğ., 2010). Son zamanlarda yenilenebilir enerjinin üretimi için biyolojik materyal olarak, aktif çamurun kullanımı yönündeki ilgi artmıştır. Buna örnek olarak, anaerobik arıtım prosesi kullanarak hidrojen ve metan üretimi verilebilir (Sittijunda ve diğ., 2010).

Fakat atık çamur içindeki organik bileşenler, çoğunlukla kullanılamaz durumdadır. Bu yüzden H_2 fermantasyonu sırasında onları kullanılabilir hale getirmek için, ön işlem gereklidir. Diğer bir güvenilir seçenek ise, gıda atığı ya da melas gibi karbonhidratça zengin biyokütle atıkları ile ortak fermantasyon uygulamaktır (Kotay ve Das, 2010).

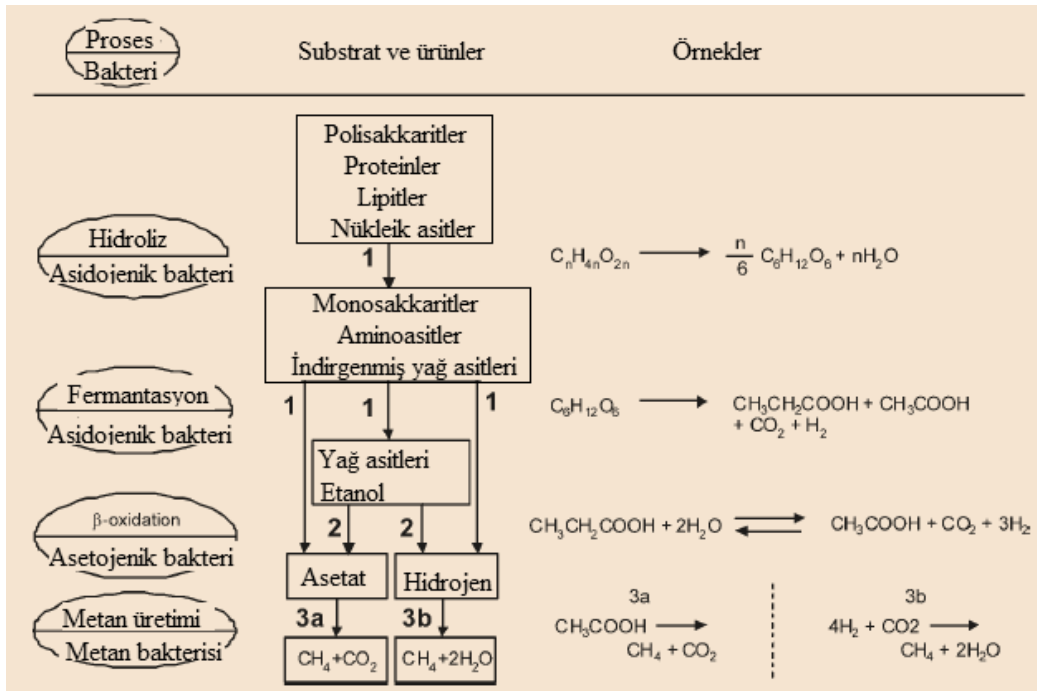
Çamura uygulanan ön işlemlerin etkisinin incelendiği çalışmada, fermantasyon sırasında karbonhidrat değişiminin proteine benzediği, ancak ön işlem ve fermantasyondan sonra salınan ve tüketilen karbonhidrat miktarının proteinden çok az miktarda düşük olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlardan proteinin, hidrojen üretimi için kullanılan ana besin olduğu ifade edilmiştir (Guo ve diğ., 2008). Ancak bazı araştırmalarda hidrojenin, protein ve lipitlerden çok az üretildiği, buna karşın bazı çalışmalarda saf ve karışık kültürden hidrojen üretimi için, azot kaynağı olarak kullanılması gerektiği ifade edilmektedir (Kim ve diğ., 2004). Yapılan araştırmalarda çamur ham olarak kullanıldığında, hidrojen verimleri $1,2 \text{ mgH}_2/\text{gKOİ}$ ve $0,6 \text{ mol/kg KOİ}$; çamur filtratının kullanılması durumunda ise, bu değer $15 \text{ mgH}_2/\text{gKOİ}$ 'ye yükseldiği ifade edilmektedir (Kapdan ve Kargı, 2006). Çamurun fermantasyonu, besin salınımı için bir avantajdır, ancak hidrojen üretimi için dezavantajdır. Filtrat kullanılması durumunda ise, hidrojen üretim verimliliği herhangi bir ürün inhibisyonuna sebep olmadan yükselmiştir (Guo ve diğ., 2010; Genç, 2011).

2.5.1 Atıksu arıtma çamurundan biyohidrojen üretiminin uygulanabilirliği ve arıtma çamurlarına uygulanabilecek farklı ön işlemler

Arıtma çamuru, ayrışabilen ve hoş olmayan kokular üretebilen yüksek oranda (%59-88) organik maddeden oluşur. Bu organikler, çoğunlukla mikrobiyal maddelerdir ve hidrojen üretici ve hidrojen tüketici mikroorganizmaları bir arada içerir. Fazla

çamurun arıtımı ve bertarafı, birçok tesis için büyük bir zorluk ve önemli bir problem olmaktadır. Anaerobik fermantasyon, son bertaraftan önce fazla çamurun ağırlığı ve hacminde azalma sağlamak için uygun bir tekniktir ve çamur stabilizasyonu için en eski ve en önemli proses olarak dünya çapında kullanılmaktadır. Ayrıca anaerobik fermantasyon ile hidrojen ve metan üretimi yolu ile, çamurun biyoenerjisi kısmen geri kazanılabilir. Anaerobik fermantasyon prosesi, genellikle 4 aşamadan oluşur: Hidroliz, asidojeniz, asetojeniz, metanojeniz (Şekil 2.13). Hidrojen, anaerobik fermantasyonun ara ürünüdür. Anaerobik fermantasyonun 3. Aşamasında, hidrojen tüketen mikroorganizmalar tarafından diğer ürünlere dönüşür ve hızlıca kullanılır. Diğer tarafta hidrojenin kullanımı, metan kullanımına göre daha yaygındır. Bu yüzden çamurun anaerobik fermantasyonundan hidrojeni almak, daha faydalı olacaktır. Hidrojeni toplamak için çamurun anaerobik fermantasyonu, hidrojen ve asetik asit oluşum safhasında, yani fermantasyonun ikinci safhasında durdurulmalı ve hidrojen tüketimi engellenmelidir. Laboratuvar ölçeğinde hidrojen tüketiminin sınırlandırılması için, şu metotlar kullanılmaktadır:

- Kısa HRT’de işletim
- Hidrojen tüketicilerini inhibe edecek, düşük pH’da işletim
- Ön işlem görmüş çamur ile aşılama (Genç, 2010).



Şekil 2.13. Anaerobik metabolizma (Digman ve Kim, 2008).

Arıtma çamurları, bünyesinde bol miktarda hidrojen üretme potansiyeli olan enterik bakteriyi barındırdığı için substrat olarak kullanılma özelliğinin yanı sıra aşı kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Bazı saf kültürler ve karışık kültürler, başarılı bir şekilde zenginleştirildikten sonra H₂ üretme potansiyelleri test edilmiştir (Kotay ve Das, 2009). Araştırmalar karışık kültür kullanılan anaerobik fermantasyon proseslerinin, daha pratik olduğunu göstermiştir (Valdez-Vazquez ve diğ., 2005). Bu bilgiye dayanarak günümüzde araştırmacılar, atıksu ve atık arıtımı için karışık kültür kullanımı ile daha fazla ilgilenmektedir. Karışık kültür içinde hidrojen üreten bakteri (*Clostridium sp.* ve *Enterobacter* gibi) tarafından üretilen hidrojen, hemen onların metabolizmalarının bir parçası olarak diğer bileşiklere hidrojeni dönüştüren metanojenler tarafından tüketilir (Ray ve diğ., 2008). Bu yüzden karışık anaerobik kültürden H₂ üretmek için, hidrojen üreten bakterinin aktivitesi korunuyor iken hidrojen tüketen bakteri aktivitesi inhibe edilmeli ya da engellenmelidir. Birçok hidrojen üreten mikroorganizma, endospor oluşturabilir. Bu endosporlar, asit ve alkali içeren zararlı kimyasallar ve yüksek sıcaklık gibi istenilmeyen çevresel koşullara mikroorganizma maruz kaldığında, organizma tarafından geliştirilen hayati yapılar olarak düşünülebilir. Tercih edilen koşullara geri dönüldüğü zaman, sporlar gelişmeye başlar ve bitkisel hücreler oluşur. Fakat hidrojen tüketen mikroorganizmaların çoğu, bu karakteristiğe sahip değildir (Xiao ve Liu, 2009). Karışık anaerobik kültürden hidrojen üretecek asidojenik bakteriyi seçili olarak zenginleştirmek ve metanojenik aktiviteyi sınırlandırmak için, ısıtma işlemi, havalandırma, asidik ve bazik işlem, 2-bromoethanesulfonate (BES), iodoopropan, kloroform gibi inhibe edici kimyasal ilavesi ve asidojenik kültür hazırlama gibi birkaç metot uygulanabilir. Hidrojen üreten bakteri (asidojenik bakteri) ve hidrojen tüketen bakteri (metanojenik bakteri) arasındaki fizyolojik farklılıklar esas alınarak, hidrojen üreten aşının hazırlanması için önerilen çeşitli ön işlem metotları geliştirilmiştir. Ayrıca çoğu hidrojen üreten organizmanın büyüme hızı, hidrojen tüketen mikroorganizmaya göre çok daha yüksektir.

Hidrojen üretimi için substrat olarak çamurun kullanılması durumunda, uygulanan ön işlem metotları sadece partikül boyutunu azaltmaz aynı zamanda çözünebilir proteinin seviyesini de artırır. Kim ve diğ. (2003), özellikle de termal ve termokimyasal uygulamalar sonucunda partikül boyutunun önemli oranda azaldığını rapor etmiştir. Çözünebilir proteinin seviyesi, özellikle de kimyasal ve termokimyasal ön işlemler sonucunda artmıştır. Proteinler, organizmanın ana

bileşenidir ve onlar hidrojen, oksijen ve azotun yanısıra yaygın bir organik madde olan karbon içerir. Bu nedenle, çözünebilir protein seviyesi arttığı için, anaerobik fermantasyonun verimliliğinin gelişmiş olabileceği rapor edilmiştir. Çalışmada üretilen biyogazın miktarındaki farklılıklar, hız sınırlayıcı aşamanın etkisinin ön işlemle azaltılabileceğini ve böylece atık aktif çamurun fermantasyon verimliliğinin geliştirilebileceğini göstermiştir.

Şu ana kadar, atıksu çamurundan fermantatif hidrojen üretimi üzerine çok az çalışma yürütülmüştür. Sınırlı veri, atık aktif çamur ve anaerobik fermantasyon kullanarak biyohidrojen üretiminin oldukça düşük (0,08 mmol H₂/g kuru katı) olduğunu göstermektedir (Huang ve diğ., 2000). Ancak çamura uygulanan ön işlem, çözünemeyen organik maddenin suya hidroliziyle çamurun anaerobik stabilizasyon verimliliğini artırabilir (Lee ve Mueller, 2001). Cheng ve diğ., (2000), termal olarak kaynatılan atık aktif çamurun anaerobik olarak fermantasyonu ile 0,7 mmol H₂/g KOİ verim elde etmişlerdir. Bu değer, protein içeren atıksuyun fermantasyonu ile elde edilen verime yakındır. Fakat hala polisakkarit için elde edilen değerden, çok daha düşüktür.

Huang ve diğ., (2000) atık aktif çamurdan, 1,6 g H₂/kg kuru katı verim rapor etmiştir. Halbuki Wang ve diğ. (2003a, 2003c) atık çamura uyguladıkları ön işlem sonucunda, 0,9–6,3 g H₂/kg kuru katı verim elde etmiştir. Fakat şu ana kadar ki bütün çalışmalarda, aşı olarak saf bakteri kültürünün kullanıldığı unutulmamalıdır. Bu durum, daha yüksek verim alınmasını sağlar. Ancak binlerce litre çamur içeren bir reaktörü aşılama için gerekli bakteriyel biyokütleyi, depolamak ve hazırlamak ilave zaman, maliyet ve enerji gerektireceğinden geniş ölçekte kullanmak pahalıdır ve pratik değildir. Fakat bu sınırlamaya rağmen yayınlanan çalışmalar, arıtma çamurundan fermantatif olarak hidrojen üretilabileceğini göstermektedir. Wang ve diğ. (2003a), fermantasyondan önce arıtma çamuruna farklı işlemler uygulamanın hidrojen verimi üzerine önemli bir etki yapacağını rapor etmiştir. Özellikle de 121°C’de arıtma çamurunun sterilizasyonu, hidrojen üretimini oldukça artırmakta hidrojen verimi üzerinde negatif etkiye sebep olan metan üretimini azaltmaktadır (Nicolau ve diğ., 2008).

Sonuç olarak, arıtma çamuru ile elde edilen hidrojen üretim verimini artırmak için, ön işlemin etkisi denenmelidir. Çünkü aynı çamura farklı ön işlemler yapıldığında, hidrojen veriminde ve hidrojen gazının gecikme süresinde (lag time) farklılıklar görülmüştür (Guo ve diğ., 2008). Sayısız türde substrat ve aşı bakteri

kullanılarak yapılmış hidrojen üretim çalışmaları, literatürde rapor edilmiştir ve sonuçlar g H₂/g UAKM, mL H₂/g KOİ ve vb. şekillerde verilmiştir. Birim dönüşümü için gerekli ayrıntılar çalışmalarda verilmediği için, malesef bu çalışmalardan elde edilen deneysel sonuçlar neredeyse hiç karşılaştırlanamamaktadır. Çizelge 2.19’da, literatürden elde edilen bazı sonuçların listelendiği bu tür bir karşılaştırma verilmiştir.

2.5.1.1 Hidrojen üretimi üzerine ultrasonik ön işlemin etkisi

Ultrasonik işlem, atık çamur içinde kavitasyon oluşturmaktadır. Kavitasyon etkisi ile oluşan hücre yıkımı ve partikül boyutu azalımı, fermentasyon prosesinin gelişmesine sebep olabilir (Clark ve Nujjoo, 2000). Mao ve diğ. (2004) ultrasonik kavitasyon tarafından yaratılan mekanik kesme kuvvetlerinin, çamur dezentegrasyonu için anahtar bir faktör olabileceğini ve kavitasyon kabarcıklarının çökmesinin çamur karakteristiklerini önemli oranda değiştirdiğini rapor etmişlerdir. Tiehm ve diğ. (2001), çamuru dezentegre etmek için ultrasonik işlem uyguladıklarında (3,6 kW, 31 kHz, 64 s) çamur içindeki organik maddelerin serbest hale geçtiğini rapor etmiştir. Bu durum süpernatant içindeki çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacını, 630 mg/L’den 2270 mg/L’ye artırmıştır. Dahası fermentasyon süresi, 8 güne azalmıştır. Chu ve diğ. (2002a) zayıf ultrasonik ön işlem ile, metanın nihai verimi ve üretim hızının büyük oranda arttığını rapor etmişlerdir. Chiu ve diğ. (1997) ise eş zamanlı olarak uygulanan alkali ve ultrasonik ön işlemin, çözünmüş KOİ’yi açığa çıkarmada daha etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Ultrasonik dezentegrasyon mekanizması konusunda çalışan Tiehm ve diğ. (2001), ultrasonik kavitasyon tarafından üretilen hidromekanik kesme kuvvetlerinin, çamur dezentegrasyonuna neden olduğunu belirlemişlerdir. Bununla beraber aşağıda verildiği gibi atık aktif çamurun ultrasonik dezentegrasyonundan sorumlu, dört mekanizma vardır:

- Hidromekanik kesme kuvvetleri,
- Ultrasonik radyasyon altında üretilen •OH, •H, •N ve •O radikallerinin oksidasyon etkisi,
- Çamur içindeki uçucu hidrofobik maddelerin termal ayrışması,
- Ultrasonik aktif çamur dezentegrasyonu süresince sıcaklık artışı.

Çizelge 2.19. Atık çamur kullanılarak biyohidrojen üretimi konusunda literatürden elde edilen verilerin karşılaştırılması

Substrat	Çalışma koşulları				Aşı	H ₂ verimi	Kaynaklar
	pH	T (°C)	rpm	Reaktör tipi			
Atık aktif çamur	7,0	55	250	Kesikli	Anaerobik çamur (100°C'de 2 saat ısıt arıtım uygulanmış)	7,81 mmol	Lin ve diğ. (2012)
Ultrasonik arıtım uygulanmış kentsel çamur	6,7~7,9	36	1,050	Kesikli	-	34,2~34,9 mL/g UKM	Wu ve diğ. (2009)
Aerobik termofilik parçalanmaya uğramış çamur	5,5	55	50	Kesikli	-	136,9 mL H ₂ /g TKM	Sittijunda ve diğ. (2010)
121°C'de 20 dk sterilize edilmiş atık çamur	-	35	125	Kesikli	<i>Pseudomonas sp, GZ1</i>	1,34 mg H ₂ /g TKOİ	Guo ve diğ. (2010)
Atıksu çamuru	~ 6,4	35	-	Kesikli	<i>Clostridium bifermentans</i>	1,5-2,1 mmol H ₂ /g KOİ	Wang ve diğ. (2003a)
Sterilize çamur	7,38	35	125	Kesikli	<i>Pseudomonas sp, GZ1</i>	15,02 mL H ₂ /g TKOİ	Guo ve diğ. (2008)
Sterilize çamur	-	37±1	140-150	Kesikli	Sterilize çamur içindeki konsorsiyum	11,77 mL H ₂ /g kuru katı	Xiao ve Liu (2009)
Alkali arıtılmış çamur	11,0	36±1	150	Kesikli	Alkali ön işlemde geçmiş çamur	16,59 mL H ₂ /g substrat	Cai ve diğ. (2004)
Sterilize çamur				Kesikli	Tanımlanmış konsorsiyum (1:1:1)	41,23 mL H ₂ /g ayrışabilir KOİ	Kotay ve Das (2010)
Ham atıksu çamuru	11,5					7,57 mL H ₂ /g UKM	
Asit ön işlem	7±0,1					3,25 mL H ₂ /g UKM	
Alkali ön işlem	11,5	37±1	140-150	Kesikli	-	11,68 mL H ₂ /g UKM	BenYi ve JunXin (2009)
Termal ön işlem	6,8					8,62 mL H ₂ /g UKM	
Ultrasonik ön işlem	6,9					3,83 mL H ₂ /g UKM	

Çamur sıcaklığı artırılırsa, sitoplazmik membran üzerindeki lipid ayrıştırılabilir. Bu durum, membran üzerinde küçük deliklerin oluşumu ile sonuçlanır. Hücre içi maddeler, bu deliklerden salınabilir. Bu ise, katının üst kısmındaki sıvı içerisinde çözünmüş KOİ'nin artmasına neden olur (Wang ve diğ., 2005).

Çamur içindeki uçucu hidrofobik madde miktarının çok düşük olmasından dolayı, yukarıda verilen üçüncü madde göz ardı edilmiştir. Çamur sıcaklığındaki artış hızı, düşüktür. Wang ve diğ. (2005) yaptıkları çalışmada, en uzun dezentegrasyon zamanını 60 dakika alarak, dezentegre olan çamur sıcaklığını 82°C'ye kadar çıkarmışlardır. Termal çamur dezentegrasyonu konusundaki bu çalışmaya göre, 1 saat içinde 80°C'ye çamur sıcaklığını artırmak düşük ÇKOİ₊ (dezentegrasyon işleminden sonra çamurun çözünmüş KOİ değeri) ve ÇKOİ_%'ne (çamur dezentegrasyon derecesi ya da serbest kalan çözünmüş KOİ yüzdesi) neden olmuştur. Bu yüzden 4. madde de, ihmal edilebilir.

İkinci madde için ise, Hart (1986) ve Hart ve Henglein (1986) göstermişlerdir ki; •OH miktarı •H, •N ve •O radikalleri miktarından oldukça fazladır. Buna göre; •H, •N ve •O radikallerinin oksidasyon etkisi önemsiz olabilir. Yukarıdaki analiz yorumlarından ultrasonik çamur dezentegrasyonuna, hidromekanik kesme kuvvetleri ve •OH radikalının oksidasyon etkisinin katkıda bulunduğu anlaşılmaktadır (Wang ve diğ., 2005).

2.5.1.2 Hidrojen üretimi üzerine termal ön işlemin etkisi

Termal ön, işlem hücreler arası bağlı suyun salınımı ve çamurun jel yapısının kırılmasıyla sonuçlanır. Bu yüzden bu arıtım, yüksek miktarda çözünmeye imkan tanır, biyogaz üretimini artırır, patojen mikroorganizmaların azalımı ve çamur karakteristiklerinin modifikasyonunu (viskozite azalması ve filtre olabilirlikte artış) sağlar. Termal uygulama için ana parametre sıcaklıktır. Uygulama süresi, daha az etkiye sahiptir. Bazı yazarlara göre optimum sıcaklık, 170-200°C civarındadır. Aslında daha yüksek sıcaklık, çamurun biyolojik parçalanabilirliğini daha fazla artırmaz, aksine azaltabilir. Bu, Maillard reaksiyonlarıyla bağlantılı dayanıklı bileşiklerin oluşumundan dolayı olabilir. Fakat anaerobik fermentasyonla birleşen 175°C civarındaki termal arıtım çamur üretimini yüksek oranda azaltabilir. Bu azalma, prosese göre %50-70'e kadar ulaşabilir (Bougrier ve diğ., 2007; Genç, 2010).

Kim ve diğ., (2003), atık aktif çamur içindeki organik partiküllerin termal arıtım aracılığı ile daha düşük moleküler ağırlıklı bileşiklere dönüştürüldüğünü ya da çözünebilir karbonhidrat, lipit ve proteinlere sıvılaştırıldığını rapor etmiştir. Li ve Noike (1992) yaptığı çalışmada, atık aktif çamurun anaerobik fermantasyonunu geliştirmek için optimum arıtım sıcaklığı ve temas zamanını sırasıyla, 170°C ve 60 dakika olarak bulmuştur. Termal ön işlem sonucunda atık aktif çamurdan gaz üretimi, büyük oranda artırılmıştır (Kim ve diğ., 2003).

Xiao ve Liu (2009) yaptıkları çalışmada, kendi kendine anaerobik fermantasyonla hidrojen üretmek için sterilize çamur; kontrol için ise, işlem görmemiş ham çamur kullanmışlardır. Hidrojen üreten ve hidrojen tüketen mikroorganizmaların bir arada bulunmasından ve onların farklı büyüme hızlarından dolayı, ham çamurun kendi kendine anaerobik fermantasyonunda hidrojen üretimi ve hidrojen tüketimi birarada belirlenmiştir. Fakat ham çamur içinde bulunan organiklerin çoğunun, hücre duvarıyla sarılı olan mikrobiyal hücreler olduğu görülmüştür. Hidrojen üreten ve hidrojen tüketen mikroorganizmalar için ham çamur içinde bulunan bu türdeki bazı organiklerin, büyüme hızları ve metabolizmalarında düşüş görülmüştür. Sonuç olarak ham çamurun kendi kendine anaerobik fermantasyonunda, az miktarda hidrojen belirlenmiştir. Ham çamurdan farklı olarak sterilizasyon işleminden geçen çamurda, bazı mikrobiyal hücrelerin parçalandığı ve hücreden bazı hücre içi organiklerin salındığı rapor edilmiştir. Sonuçta sterilize çamur içinde termal olarak kaplanan hidrojen üreten mikroorganizmalar, bu organikleri hızlı bir şekilde kullanıp hidrojen üretebilmiştir. Xiao ve Liu (2009) sterilize çamurun maksimum hidrojen veriminin (16,26 mL H₂/g UKM), ham çamur ile elde edilen verimden (0,35 mL H₂/g UKM) çok daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Guo ve diğ., (2008) sterilizasyon işlemi uygulanan çamur ile, 1,34 mg H₂/g TKOİ verim rapor etmiştir. Bu değer protein fermantasyonu ile karşılaştırılabilir, fakat hala polisakkaritlerden elde edilen verimden çok daha düşüktür.

Çoğu hidrojen tüketen mikroorganizma, sterilizasyon süresince ölmesine rağmen, sterilize çamurun kendi kendine anaerobik fermantasyonunun daha sonraki safhalarında (36 saatten sonra) bile hala hidrojen tüketimi görülmüştür. İlginç olan şudur ki, sterilize çamurun kendi kendine anaerobik fermantasyonunda hiç metan belirlenmemiştir. Xiao ve Liu (2009), böyle bir durumda hidrojen tüketiminden sorumlu üç sebep ileri sürmüştür:

1) Çamur içinde, otoklavlamaya dirençli ve spor oluşturabilen, bazı hidrojen tüketen mikroorganizmalar vardır (Örneğin; homoasetojenik bakteri). Anaerobik fermentasyonun başlangıç safhasında, hidrojen tüketim aktivitesi zayıftır ve az miktardaki hidrojen tüketen mikroorganizmadan dolayı önemsizdir. Hidrojen üretici mikroorganizmalar ile kıyaslandığında ise, hidrojen tüketicilerin büyüme hızı daha düşüktür. Anaerobik fermentasyonun daha sonraki safhasında, hidrojen tüketen mikroorganizmalardaki artış ile birlikte hidrojen tüketim aktivitesi daha belirgin hale gelmiştir.

2) Uçucu yağ asitlerinin artışı, özellikle de asetik asit, hidrojen üreten mikroorganizmaların daha hızlı büyümesini sınırlamış ve bu durum, hidrojen üretim hızının azalması ile sonuçlanmıştır.

3) Proteinlerin anaerobik fermentasyonu sadece hidrojen üretmez, aynı zamanda hidrojen de tüketir. Bu nedenle sterilize çamur içindeki yüksek miktarda protein içeriği, hidrojen tüketimi ile sonuçlanabilir.

Bu üç maddeye rağmen hidrojen üretmek için sterilize çamur kullanmanın, bazı avantajları vardır:

1) Ekstra besleme ya da ekstra aşı olmaksızın kendi kendine anaerobik fermentasyonla H_2 üretmek uygun ve basittir.

2) Herhangi bir ekstra ilave materyal olmaksızın (alkali ya da asit önarıtımda kullanılan alkali ve asit gibi) sterilize edilen çamur, hidrojen üretiminden sonra kolaylıkla arıtılmış olur.

3) Metanojenlerin çoğu otoklavla öldürüldüğü için, kendi kendine anaerobik fermentasyon prosesinde hiç metan üretimi olmamıştır (Xiao ve Liu, 2009).

75°C ile 121°C aralığında değişen ısıtım sıcaklıkları ve 15 dakika ile 2 saat arasında değişen maruz kalma süreleri, yapılan çalışmalarda kullanılmıştır (Li ve Fang, 2007). Ancak şu ana kadar optimum ısıtım sıcaklığı ve ısıtım için gerekli süre konusunda, herhangi bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. En yaygın çalışma koşulu, 100°C'de 15 dakika ısıtım uygulamaktır. Mohan ve diğ. (2008) 100°C'de 1 saat ısıtım uygulamak sureti ile, anaerobik karışık aşının hidrojen üretimini değerlendirmiştir. Isıtım prosedürü ile hidrojen üretim verimi, 0,002 mmol H_2 /g KOİ'den 0,122 mmol H_2 /g KOİ'ye artmıştır. Mu ve diğ. (2007) hidrojen üreten aşırı zenginleştirmek ve karışık kültür içindeki metanojenleri baskılamak için ısıtım, asidik ve bazik ön işlem metotlarını kullanmıştır. Sonuçta en yüksek H_2 verimine, ısıtım uygulanan çamur ile ulaşılmıştır (2 mol H_2 /mol glikoz). Ren ve

diğ. (2008), hidrojen üreten bakteriyi zenginleştirmek için ısı şok arıtım, asit arıtım, alkali arıtım ve tekrarlanan havalandırılmalı arıtım metotlarını denemişlerdir. Çalışma sonucunda en iyi sonuç, çamura uygulanan ısıl ön işlem sonrasında alınmış ve 180,4 mL'den (kontrol) 189,5 mL'ye artan hidrojen üretimi rapor edilmiştir (Özkan, 2009).

2.5.1.3 Hidrojen üretimi üzerine asidik ya da bazik ön işlemin etkisi

Hidrojen üretimi, asidifikasyon safhasında meydana gelir ve pH değeri, biyohidrojen fermentasyonunu etkileyecek en önemli faktörlerden biridir (Cai ve diğ., 2004). Konvansiyonel metanojenik proseslerde, pH 7 civarında kontrol edilir. Van Haandel ve Lettinga (1994), Chen ve diğ. (2002) 6,3'ün altında ya da 7,8'in üzerindeki pH değerlerinde, metan üretim hızının keskin bir şekilde düştüğünü rapor etmiştir. Bu yüzden anaerobik çamurun pH'ını ayarlamakla ($pH > 7$), metanojenlerin biyoaktivitesi sınırlandırılabilir. Diğer tarafta hidrojen üreten *Clostridium*, koruyucu sporlar oluşturarak aşırı asidite ve alkaliniteye direnç gösterebilir. Örneğin Chen ve diğ. (2002), 24 saat süresince çamurun pH'ını 3'de tutmak suretiyle arıtma çamurunun H_2 veriminin 333 kat arttığını, 24 saat pH 10'da tutarak ise 200 kat arttığını rapor etmiştir. Benzer sonuçlar, Chang ve diğ. (2002) tarafından da rapor edilmiştir.

Wang ve Wan (2008) substrat olarak glikoz kullanılarak yapılan fermentatif hidrojen üretiminde, asit (96,8 mL) ve bazla (125,9 mL) ön işlemde geçen çamurun hidrojen üretim potansiyelinin işlem yapılmayan ham çamura (65,7 mL) kıyasla daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Diğer bir çalışmada ise ham çamur substrat olarak kullanıldığı zaman, 0,81 mg H_2 /g kuru katı verim alınırken aynı çamura alkali ön işlem yapıldığında, hidrojen verimi 1,48 mg H_2 /g kuru katı olmuştur (Cai ve diğ., 2004).

Cai ve diğ. (2004) farklı başlangıç pH değerlerinde, alkali ön işlemde geçen çamur ile ham çamurun çözünebilir organik madde konsantrasyonlarını analiz etmiştir. Açık bir şekilde görülmüştür ki, alkali ön işlemde geçen çamur içindeki üç çözünebilir organik maddenin bütün konsantrasyonları, ham çamur içindikilerden çok daha yüksektir. Çözünebilir protein, bu üç çözünebilir organik maddenin (protein, karbonhidrat ve lipitler) ana bileşenidir. Ham çamur için alkali ön işlem (pH 11) asidik ön işleme (pH 5) kıyasla, organik maddeyi çözmede daha etkili olmuştur. Çözünebilir organik madde miktarındaki bu artıştan ötürü, çamura uygulanacak alkali ön işlemin ardından biyohidrojen üretimi için daha fazla çözünebilir organik madde sağlanabildiği rapor edilmiştir.

2.5.1.4 Hidrojen üretimi üzerine mikrodalga ön işlemin etkisi

Mikrodalga ısıtma işleminin temel avantajı, proses sıcaklığının tam kontrolü ve sıcaklığın değişmemesidir. Guo ve diğ. (2008) çamura mikrodalga ön işlem uygulandıktan sonra, maksimum hidrojen üretim veriminin 14,65 mL'ye (11,44 mL H₂/g TKOİ) çıktığını, hidrojen gazı çıkışı için gerekli sürenin ise 10 saate kadar düştüğünü rapor etmiştir. Nakazato ve diğ. (2006) mikrodalga ön işlemin, çamurun susuzlaştırılma miktarını artırdığını rapor etmiştir. Bu etki, hidrojen üretmek ve çamuru hidrolize etmek için önemlidir. Bu çalışmada, besin maddesinin serbest bırakıldığı da görülmüştür. Diğer tarafta, mikrodalga ön işlem yapılmış çamur ile beslenen anaerobik reaktör, ham çamur ile beslenen ve dışarıdan ısıtılan çamur ile beslenen diğer iki reaktöre kıyasla fekal koliform inaktivasyonunda daha etkilidir (Hong ve diğ., 2006).

2.5.1.5 Diğer metotlar

Metanojenler, birçok kimyasala oldukça duyarlı ve kuvvetli anaerobiktir. Bu yüzden, hidrojen tüketen metanojenlerin aktivitesi, toksik kimyasalların ilavesi ile ya da basit havalandırma ile engellenebilir. Ueno ve diğ. (1995, 1996) havalandırmaya maruz kaldıktan sonra kompost çamur ile, metan üretimi olmaksızın selüloz içeren atıksudan 330-340 mL H₂/g heksoz verim alındığını rapor etmiştir. 2-Bromoethanesulfonate (BES), asetilen ve kloroform yaygın olarak kullanılan metanojen inhibitörlerdir. BES, metanojenler içindeki koenzim M'nin bir benzeridir ve bu yüzden, metanojenlere karşı çok spesifiktir. 25 mM-100 mM konsantrasyonda BES kullanımının, hidrojen üretimi için etkili olduğu rapor edilmiştir. Fakat bu konsantrasyonlardaki BES'i, çamura uygulamak büyük ölçekli çalışmalar için çok maliyetli olacaktır.

Roychowdhury (2000), elektrik akımı uygulayarak anaerobik çamur içerisinden hidrojen üreten bakterinin ayrılabilceğini rapor etmiştir. Düşük voltajlı elektrik akımı ile (3,0-4,5 V) arıtmadan sonra, selülozik deponi çamuru ve arıtma çamuru ile metan üretimi olmaksızın H₂ üretilebilmiştir (Wu, 2009).

Çizelge 2.20, hidrojen üreten bakteriyi zenginleştirmek için kullanılan aşı çamur ön işlem metotları ve aşı çamur kaynaklarını özetlemektedir. Bölüm 2.5.1'in ardından anlatılan metotların biri veya birkaçı art arda uygulanarak, aşı ya da substrat

kaynağı olarak kullanılacak arıtma çamurunun hidrojen üretim yeteneği geliştirilebilir.

Çizelge 2.20. Aşı çamur kaynağı ve aşıya uygulanan ön işlem metotları (Li ve Fang, 2007).

Arıtım metodu	İşlemin tanımı	Çamur kaynağı
Isıl işlem	100°C’de 15 dk	Anaerobik çürümüş çamur
Isıl işlem	100°C’de 15 dk	Soya küspesi
Isıl işlem	104°C’de 2 saat	Kompost ve toprak
Isıl işlem	104°C’de 2 saat	Toprak
Isıl işlem	75°C’de 1 saat	Atıksu çamuru
Isıl işlem	80°C’de 10-60 dk	Anaerobik çürümüş çamur
Isıl işlem	100°C’de 2 saat	Kompost
Isıl işlem	104°C’de 2 saat	Anaerobik çürümüş çamur
Isıl işlem	121°C’de 30 dk	Atık biyokatı
Isıl işlem	90°C’de 10 dk	Anaerobik çürümüş çamur
Isıl işlem	80°C’de 20 dk	Atıksu çamuru
Isıl işlem	90°C’de 10 dk	Kompost
Isıl işlem	100-105°C’de 2 saat	Kompost
Isıl işlem	100°C’de 15 dk	Anaerobik çürümüş çamur
Isıl işlem	100°C’de 45 dk	Atıksu çamuru
Isıl işlem	105°C’de 2 saat	Kompost
Isıl işlem	100°C’de 45 dk	Ortama alıştırılmış çamur
Isıl işlem	100°C’de 30 dk	Anaerobik çürümüş çamur
Asit / baz	24 saat pH 3,10	Atıksu çamuru
Asit / baz	24 saat pH 3-4	Atıksu çamuru
Havalandırma	-	Kompost
Havalandırma	24 saat havalandırma altında inkübasyon	Anaerobik çürümüş çamur
Havalandırma	60°C’de 3 gün	Kompost
Metanojenik inhibitörler	BES 25 mM	Anaerobik çürümüş çamur
Metanojenik inhibitörler	BESA 100 mM	Atık biyokatı
Metanojenik inhibitörler	Asetilen %1	Anaerobik çürümüş çamur
Metanojenik inhibitörler	Kloroform 28 mg/L	Anaerobik çürümüş çamur
Elektrik akımı	3,0-4,5 V’luk düşük voltaj	Anaerobik çürümüş çamur

BESA: $C_2H_4BrO_3SNa$, Sodium 2-Bromoethanesulfonate

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Substrat

Bu çalışmada kullanılan atık aktif çamur, Samsun'un Bafra ilçesinde bulunan evsel atıksu arıtma tesisi aktif çamur ünitesi geri devir akımından temin edilmiştir. Çamur kullanılmadan önce, 2-3 gün süreyle +4°C'de bekletilmiştir (Wang ve diğ., 2003a). Bu süre sonunda çöken çamurun üst kısmında kalan atıksu, bir pompa yardımıyla çekilerek aktif çamurun katı madde içeriğinin artması sağlanmıştır. Elde edilen yoğun çamur, substrat olarak analizlerde kullanılmak üzere maksimum 2 hafta süreyle +4°C'de depolanmıştır (Nicolau ve diğ., 2008). Tüm tez çalışması süresince farklı zamanlarda alınan ve katı madde içeriği artırıldıktan sonra çalışmalarda kullanılan arıtma çamurunun, ortalama karakteristiği Çizelge 3.1'de verilmiştir. Çalışmalar uzun sürmesine rağmen substrat olarak kullanılan atık çamur, uzun süre saklanamadığı için çalışma süresince rutin aralıklarla atık çamur temin edilmiştir. Alınan atık çamur, izlediğimiz parametreler açısından her defasında analiz edilmiştir. Ayrıca saklama süresince de parametrelerde değişiklik olduğu için, atık çamur fermentöre konulmadan önce girişteki değerler sürekli analiz edilmiştir ve her çalışma için belirlenen değerler, hesaplamalarda kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan arıtma çamurunun genel karakteristiği.

	Birim	Değer
pH	-	6,59±0,19
Tprotein	mg/L	6338,27±1592
Çprotein	mg/L	142,29±88
Tkarbonhidrat	mg/L	1970,08±363,7
Çkarbonhidrat	mg/L	17,27±11,87
TKOİ	mg/L	15700,21±1880
ÇKOİ	mg/L	229,75±206,31
TKM	mg/L	17785±3585
TUKM	mg/L	12322,78±2137,45
TUYA	mg/L	1144±205,68

3.2 Atık Çamurdan Biyohidrojen Üretimi Üzerine pH ve Sıcaklığın Etkisi

Bu çalışma atık çamurdan biyohidrojen üretimi üzerine, pH ve sıcaklığın etkisini değerlendirmek ve en uygun pH ve sıcaklık değerini, belirlemek amacıyla yapılmıştır. Reaktör çalışma hacmi, 750 mL aktif çamur olacak şekilde ayarlanmıştır. Reaktörde kullanılan substrata, herhangi bir aşı mikroorganizma, enzim ya da besin ilavesi yapılmamıştır. Bütün deneyler, hidrojen gazı üretimi durana ya da azalmaya başlayana kadar devam etmiştir.

Yapılan denemelerde kullanılan atıksu çamuru, Bafra atıksu arıtma tesisinden farklı zamanlarda temin edilmiştir. Normal sıcaklıkta, farklı zamanlarda alınan atıksu çamurunun çözünmüş organik madde konsantrasyonları farklılık gösterdiği için, deneylerde konsantrasyon olarak, aynı kompozisyona sahip atıksu çamuru ile çalışılmamıştır.

Fermantasyondan önce reaktörler, anaerobik koşulları sağlamak için, 3 dakika boyunca azot gazı ile yıkanmıştır. Reaktörün sızdırmazlığı sağlandıktan sonra, $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ve $45 \pm 1^\circ\text{C}$ olmak üzere iki farklı sıcaklıkta (mezofilik ve termofilik) pH 4-9 arasında çalışılmıştır. Reaktörlerin başlangıç pH'ları, 4M NaOH ve 2M HCl ile ayarlanmıştır. Gaz emisyonlarını hızlandırmak, gaz sıvı ara yüzeyindeki basıncı azaltmak ve atık çamurun çökmesini engellemek için, reaktör 150 rpm'de çalışan bir karıştırıcı düzeneği üzerine yerleştirilmiştir. Reaktörlerin gaz üretimleri ve her reaktörün gaz içeriği, günlük olarak belirli aralıklarla ölçülmüştür. Fermantasyondan önce, sonra ve farklı zamanlarda alınan örneklerle, fermantördeki atık çamurun karakteristiği tayin edilmiştir.

3.3 Aşı Mikroorganizma

Çalışmada iki farklı süt üretim tesisinden temin edilen, anaerobik kültür kullanılmıştır. Karanlık fermantasyon denemeleri için, öncelikli olarak Samsun Otat Süt Ürünleri Üretim Tesisine ait anaerobik atıksu arıtma ünitesinden temin ettiğimiz atıksu, aşı mikroorganizma kaynağı olarak kullanılmıştır.

Daha sonra ise, Aksaray SÜTAŞ entegre tesislerinden elde edilen iki farklı karışık anaerobik kültür, aşı olarak kullanılmıştır. Kullanılan aşı kültür, tesiste bulunan atıksu arıtma tesisine ait sürekli karıştırılmalı tank reaktörden (SKTR) ve yaklaşık 6 aydır devrede olan katı atık bertaraf tesisinde 30 gün beklemiş, fermante gübre (hayvan gübresi+aktif çamur) karışımından temin edilmiştir.

Isıl işlem görmüş karışık anaerobik kültür: Hidrojen tüketicilerin biyolojik aktivitesini inhibe etmek ve spor oluşturan hidrojen üretici asidojenleri zenginleştirmek için, karışık anaerobik kültüre 100°C’de 2 saat ısıtma işlemi uygulanmıştır.

3.3.1 Biyohidrojen üretimi üzerine kültür tipinin etkisi

Bu çalışma, atık aktif çamurdan biyohidrojen üretimi üzerine, dört farklı tipteki karışık kültür ile yapılan aşılamanın etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Kullanılan karışık kültürler;

- 1- Samsun Otat Süt Ürünleri Üretim Tesisi’ne ait, anaerobik atıksu arıtma ünitesinden temin edilmiş olan anaerobik kültür,
- 2- Aksaray SÜTAŞ entegre tesislerine ait, SKTR tank reaktöründen alınan karışık anaerobik kültür,
- 3- Aksaray SÜTAŞ entegre tesisleri seperatör girişinden temin edilen, fermante gübre,
- 4- Isıl işlem görmüş fermante gübre.

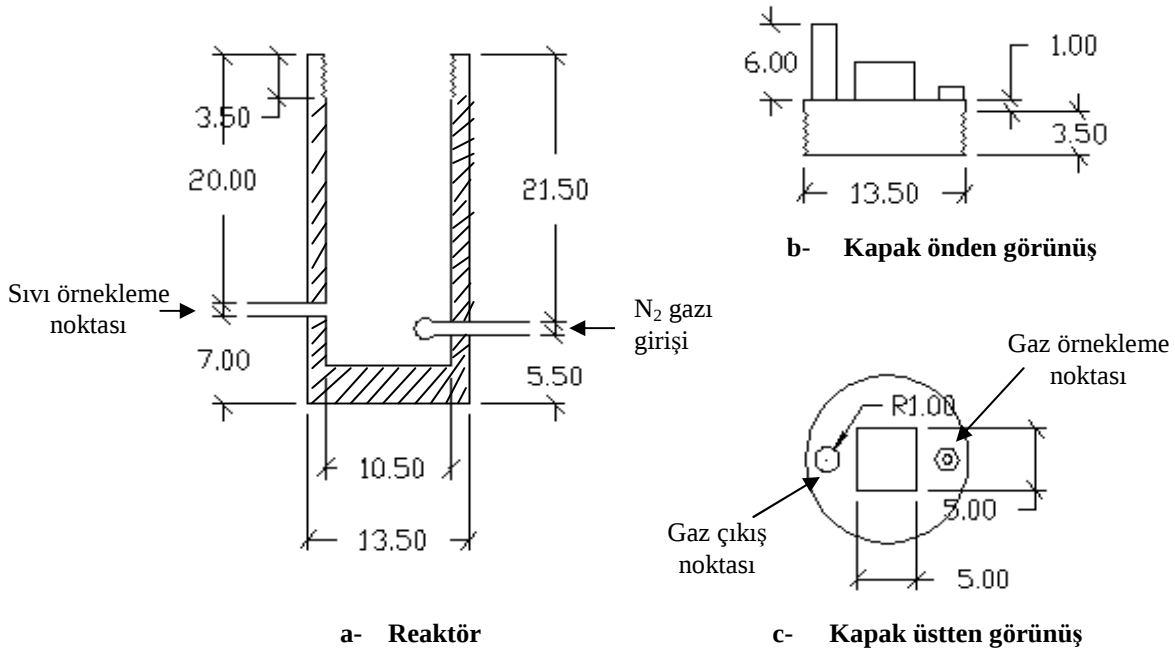
Kullanılan aşı kültürlerin hazırlanışı ve temini bölüm 3.3’de verilmiştir. Deneyler, 800 mL çalışma hacmi ile gerçekleştirilmiştir. Her reaktör, %10 (v/v) aşı kültür ile aşılandıktan sonra karışımın pH’sı 5’e ayarlanmıştır (Wang ve diğ., 2003a; Ting ve Lee, 2007; Kotay ve Das, 2007, 2010). Reaktör içerisinde kullanılan aşı kültür hacmi belirlenirken, literatür araştırmaları ve ön deneysel çalışmalar göz önünde tutulmuştur. Substrat ilavesi ve aşılamanın ardından reaktördeki anaerobik koşulları sağlamak amacıyla, reaktör içerisi 3 dk boyunca azot gazı ile yıkanmıştır. Reaktörün sızdırmazlık kontrolü yapıldıktan sonra, hazırlanan karışım 45±1°C’ye ayarlanan karıştırıcı ısıtma kabini içerisinde 150 rpm’de sürekli karıştırılarak fermante edilmiştir. Reaktörlerin gaz üretimleri ve her reaktörün gaz içeriği, günlük olarak belirli aralıklarla ölçülmüştür. Gaz ölçümleri yanı sıra TKOİ, ÇKOİ, Tprotein, Çprotein, Tkarbonhidrat, Çkarbonhidrat ve pH ölçümleri de yapılmıştır.

3.4 Kesikli Reaktörün Çalışması

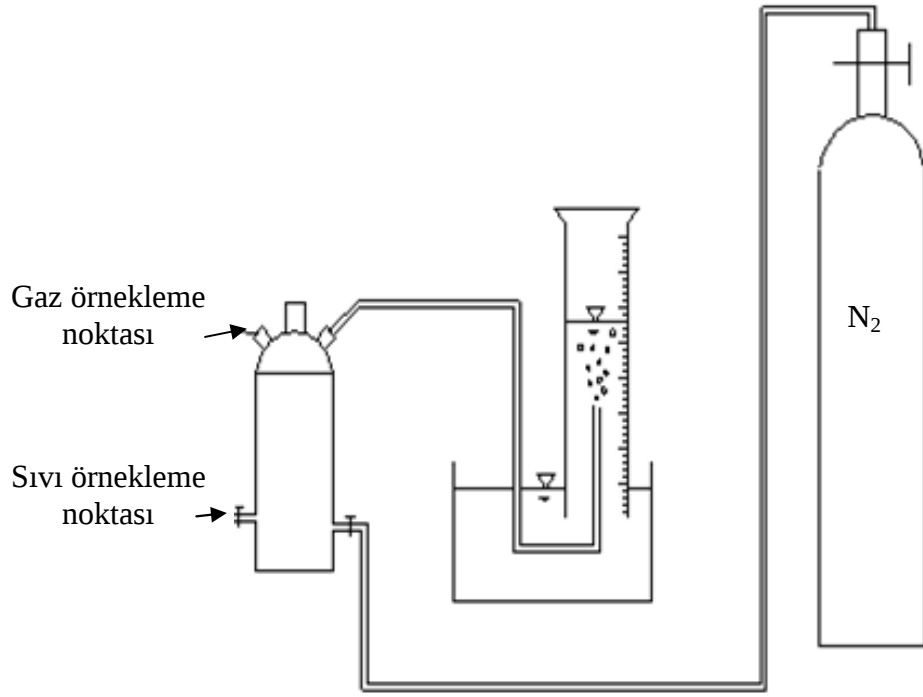
Kesikli hidrojen üretim denemelerinde, atık aktif çamurdan hidrojen üretimi için uygun şartların belirlenmesine (pH, sıcaklık, ön işlem) çalışılmıştır. Atık çamurdan hidrojen üretimi amacıyla, yaklaşık 2 L hacimli ve kesikli sistemde çalıştırılan

biyoreaktör kullanılmıştır. Reaktörün çalışma hacmi (V_1) her çalışma için ayrı belirlenmiştir. Farklı zamanlarda reaktörden alınan örnekler sebebiyle reaktördeki substrat konsantrasyonu azalmıştır. Reaktörde kalan substrat miktarı kaydedilip bulgular tartışma kısmındaki çizelgelerde verilmiştir.

Çalışmalarda kullanılan reaktör, literatürde verilen bilgiler esas alınarak çalışma koşullarına ve amacına uygun bir şekilde tasarlanıp sanayide uzman bir torna tesviye ustasına yaptırılmıştır. Reaktörün yapımında, delrin adı verilen sert bir malzeme tercih edilmiştir. Bu malzemenin seçilme sebebi ısıya direnci, metal olmadığı için paslanma sorunu yaşanmayacak olması, dayanıklılığı, kimyasallara karşı yüksek direnç göstermesi ve düşük su emme özelliğidir. Reaktörde kullanılan bağlantılarda (numune alma vanası, reaktöre N_2 gazı girişini sağlayan vana ve gaz örneklemesinin yapıldığı bölüm) ise, paslanmaz çelik malzeme tercih edilmiştir. Yine reaktöre azot gazı girişinin yapıldığı noktada, reaktör içerisine bir akvaryum taşı yerleştirilmiştir. Bu sayede N_2 gazının, reaktöre eşit bir şekilde dağılarak tam bir karışımın olması sağlanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmalarda kullanılan reaktörün, ölçüleri ve kesiti Şekil 3.1’de, deney düzeneği ise, Şekil 3.2’de görülmektedir.



Şekil 3.1. Fermantasyon deneylerinde kullanılan reaktör.



Şekil 3.2. Anaerobik fermantasyon ile biyohidrojen üretimi deney düzeneği.

Her deney setinde koşullar değiştirilerek, farklı parametrelerin hidrojen üretimine etkisi denenmiştir. Bütün deneylerde, belirlenen hacimde substrat (atık

aktif çamur) reaktör içerisine eklenmiştir. Aşı kültür ilavesinin ve besin ilavesinin hidrojen üretimine etkisinin araştırıldığı deneyler dışında, herhangi bir besin ya da aşı ilavesi yapılmamıştır. Reaktör, belirlenen sıcaklıkta ($35 \pm 1^\circ\text{C}$ ve $45 \pm 1^\circ\text{C}$) ve 150 rpm'de (Xiao ve Liu, 2009; Cai ve diğ., 2004; BenYi ve JunXin, 2009) çalışan bir inkübatör içerisine yerleştirilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce anaerobik ortamı sağlamak için, reaktörün içi 3 dakika süreyle azot gazı ile yıkanmıştır. Karıştırma işlemi, gaz sıvı ara yüzeyindeki basıncı azaltmak ve gaz emisyonlarının dışarı çıkışını hızlandırmak için uygulanmıştır. Karanlık fermantasyon deneylerinin başlangıcında başlangıç pH'ı her zaman, 4M NaOH ve 2M HCl ile en iyi verimin alındığı pH değeri olan pH 5'e ayarlanmıştır.

Bütün deneylerde fermantasyonun başlangıcında, sonunda ve fermantasyon süresince farklı zamanlarda reaktörden örnekler alınarak toplam ve çözünebilir karbonhidrat, protein, kimyasal oksijen ihtiyacı analizleri ve pH ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca bazı deneylerde toplam katı madde (TKM), toplam uçucu katı madde (TUKM) ve toplam uçucu yağ asidi (TUYA ya da TVFA) analizleri de yapılmıştır. Fermantasyon süresince reaktörde oluşan gaz miktarı, gaz sıvı yer değiştirme metoduna göre belirli aralıklarla ölçülmüştür. Üretilen biyogaz içerisindeki H_2 ve CH_4 konsantrasyonları, termal kondüktivite detektörü (TCD) dedektörü kullanılarak gaz kromatografisi (GC) yardımıyla tayin edilmiştir.

3.5 Biyohidrojen Üretim Verimi ve Atık Çamurun Çözünürlüğü Üzerine Uygulanan Ön işlemlerin Etkisi

Anaerobik çamur içinde hidrojen üretecek spor formlarının zenginleştirilmesi amacıyla uygulanacak en etkili ön işlem metodunu bulmak için, kesikli karanlık fermantasyon deneylerinin bir serisi atık çamurdan hidrojen üretimi için gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, atık çamurun çözünürlüğü üzerine ön işlemin etkisi ve biyohidrojen üretim verimine ön işlemin etkisi olmak üzere temelde iki kısımdan oluşmaktadır. Çalışmanın bu kısmında, atık çamur altı farklı (Alkali işlem, sterilizasyon, ısıl işlem, asit işlem, dondurma-çözme ve metanojenik inhibitör ilavesi) metotla ön işleminden geçirilmiştir. Yukarıda bahsedildiği gibi bu çalışmanın bir amacı da, çamurun yapısında bulunan organik bileşiklerin çözünürlüğünü geliştirmek ve gözlemlemektir. Bu nedenle her ön işlem için, bir de kontrol çalışması yapılmıştır. Kontrol için kullanılan atık çamura, herhangi bir ön işlem

uygulanmamıştır. Ön işlemden sonra reaktörde substrat olarak kullanılan atık aktif çamurun TKOİ, ÇKOİ, Tprotein, Çprotein, Tkarbonhidrat, Çkarbonhidrat, pH, TKM, TUKM, TUYA analizleri yapılmış ve pH değerleri ölçülmüştür. Ön işlemden sonra atık çamurun çözünübilirlik %'leri, Denklem 3.1'deki gibi hesaplanmıştır (Kim ve diğ., 2003):

$$\text{Çözünübilirlik (\%)} = \frac{\text{Ön işlemden sonra ölçülen çözünmüş madde konsantrasyonu}}{\text{Ön işlemden sonra ölçülen toplam madde konsantrasyonu}} \times 100 \quad (3.1)$$

Aşağıda çamura uygulanan ön işlem metotları, ayrıntılı bir şekilde açıklanmıştır:

Alkali ön işlem: 4 M NaOH ile pH 12'ye ayarlanmıştır. Atık çamur, 24 saat 25°C'de 100 rpm'de çalışan karıştırıcı düzeneği üzerinde bekletilerek etkili karışımın olması sağlanmıştır. Bu süre içinde, pH 11-12 arasında sabit kalmıştır (Cai ve diğ., 2004).

Sterilizasyon işlemi: Atık aktif çamur örneği, 121°C ve 1,5 atm basınçta 30 dk otoklavda tutularak sterilizasyon işlemi yapılmıştır. Ön işlemden geçen sterilize çamur, oda sıcaklığına kadar soğutularak analizlerde kullanılmıştır. Daha önceden yapılmış benzer çalışmalarda da, aynı koşullarda çalışılmıştır (Wang ve diğ., 2003a; Xiao ve Liu, 2009; BenYi ve JunXin, 2009; Wang ve diğ., 2003b; Kim ve diğ., 2003).

Isıl ön işlem: Atık çamur içindeki anaerobik bakteriyi toplamak ve hidrojen tüketici mikroorganizmaları inaktive etmek için, atık çamura 100°C'de 2 saat (Lin ve diğ., 2012) ısı işlem uygulanmıştır.

Asit ön işlem: 0,1 N HCl kullanılarak atık çamurun pH değeri, pH 3-4 arasında tutulmuştur. Atık çamur, 24 saat 25°C'de 100 rpm'de çalışan karıştırıcı düzeneği üzerinde bekletilerek etkili karışımın olması sağlanmıştır. Bu süre içinde, pH 3-4 arasında sabit kalmıştır (Kotay ve Das, 2009).

Dondurma-çözme işlemi: Atık çamur, 24 saat -17°C'de dondurulmuş ve ardından 25°C'de su banyosunda 12 saat bekletilip çözünmesi sağlanmıştır (Wang ve diğ., 2003a; Ting ve Lee, 2007).

Metanojenik inhibitör uygulaması: Atık çamur, içerisine %0,05'lik kloroform (CHCl₃) eklenerek etkili karışım için 17 saat süresince oda sıcaklığında, 70 rpm'de çalışan manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Daha sonra kloroform ile ön arıtmadan geçen atık çamur, çalışmalarda kullanılmıştır (Argun, 2010).

850 mL çalışma hacmine sahip reaktörler, ön işlemden geçen atık çamur ve kontrol için hiçbir işlem görmeyen atık çamur ile doldurulmuştur. Reaktörlere, aşı

ilavesi yapılmamıştır. Atık çamur içerisinde bulunan mikroorganizmaların gereksinim duyduğu iz elementleri karşılamak amacıyla, hazırlanan karışımdan yeterli miktarda (8,5 mL) reaktöre ilave edilmiştir. Hazırlanan iz element karışımının içeriği, Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. İz element karışımının içeriği (Lay ve diğ., 1999).

Kullanılan kimyasalın formülü	Karışımında kullanılan miktar (g/L)
NH_4HCO_3	200
KH_2PO_4	100
NaCl	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
FeCl_2	0,278
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,5

Uygulanan ön işlemin ardından çalışmaya başlamadan önce reaktörlerin başlangıç pH’ları, 4M NaOH ve 2M HCl ile tekrar pH 5’e ayarlanmıştır. Diğer çalışmalarda olduğu gibi reaktör, anaerobik koşulların sağlanması için, 3 dakika azot gazı ile yıkanıp gaz sızdırmazlık kontrolü yapıldıktan sonra $45 \pm 1^\circ\text{C}$ ’de ve 150 rpm’de çalışan karıştırıcı ısıtma kabineye yerleştirilmiştir. Fermantasyon süresince reaktördeki gaz üretimi ve kompozisyonları, günlük olarak belirli aralıklarla ölçülmüştür. İlaveten diğer çalışmalarda yapılan tüm ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.6 Analitik Metotlar

Toplam ve çözünebilir karbonhidrat içeriği, standart çözelti olarak glikoz kullanılarak, kolorimetrik analize dayanan fenol-sülfürik asit metodu ile tayin edilmiştir (Dubois ve diğ., 1956). Atık çamurun toplam kimyasal oksijen ihtiyacı (TKOİ) değeri, kapalı reflüks titrimetrik metot kullanılarak standart metotlara göre (5220 C) belirlenmiştir (APHA, 2005). Toplam ve çözünebilir protein miktarı, standart çözelti olarak bovine serum albumin (BSA) kullanılarak ilk denemelerde MERCK 1.10307.0500 test kiti ile (Bioquant Protein (Biuret Method)) daha sonra Lowry’s metoduna göre tayin edilmiştir.

Tüm çözünebilir madde konsantrasyonlarının belirlenmesi için ilk olarak analiz edilecek numune, biyokütle ve askıda katı maddelerin uzaklaştırılması için 4000 rpm’de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından santrifüj edilen örneklerin üzerinden alınan sıvı kısım, 0,45 µm gözenek çapına sahip membran filtreden geçirildikten sonra elde edilen süzüntüde çözünebilir kimyasal oksijen ihtiyacı (ÇKOİ), çözünebilir karbonhidrat ve çözünebilir protein analizleri yapılmıştır (Wang ve diğ., 2003b).

TUYA analizi, analitik test kiti (Spectroquant, 1.01763.0001, Merck) ve fotometre (Spectroquant Nova 60 Merck) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz için, 4000 rpm’de 30 dakika santrifüj edilen örneklerin üzerinden alınan sıvı kısım kullanılmıştır.

Örnek pH’sı, pH metre (Sartorius PB-20 pH metre) ile ölçülmüştür. TKM (209 A), TAKM (209 C) ve TUKM (209 A) değerleri standart metodlara göre ölçülmüştür (APHA, 1995). Analizler sonucunda KOİ çözünürlük derecesi, aşağıdaki denklem ile belirlenmiştir:

$$\text{KOİ çözünebilirliği (\%)} = \frac{\text{ÇKOİ}}{\text{TKOİ}} \times 100 \quad (3.2)$$

Reaktörde üretilen biyogaz (toplam gaz) miktarı, %2 H₂SO₄ ve %10 NaCl içeren çözelti kullanılarak gaz-sıvı yer değiştirme metoduna göre ölçülmüştür ve ölçülen gaz hacmi V_g (mL) olarak verilmiştir (Argun, 2010). Uygulanan gaz-sıvı yer değiştirme metodu, biyogazın tüm kompozisyonu ve toplam hacminin belirlenmesine imkan tanır (Nicolau ve diğ., 2008). Reaktörün üst kısmında biriken biyogaz, 1 mL’lik gaz sızdırmaz şırınga ile örneklendikten sonra toplam gaz içerisindeki H₂ ve CH₄ konsantrasyonu gaz kromatografisi cihazı kullanılarak belirli aralıklarla ölçülmüştür. Ölçülen sonuçlar mL/m³ (ppmv= gaz/gaz) olarak grafiklerde verilmiştir. Gaz ölçümü için kullanılan GC metodu ve analizlerde kullanılan diğer metotlar, Ek’ler bölümünde ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Atık Çamurdan Biyohidrojen Üretimi Üzerine pH ve Sıcaklığın Etkisi

4.1.1 35±1°C sıcaklıkta başlangıç pH'sının biyohidrojen üretimine etkisi

Anaerobik fermantasyonla hidrojen üretimi üzerine pH ve sıcaklık parametrelerinin etkisi, Bölüm 2.3.1.2 ve 2.3.1.3'de ayrıntılı bir şekilde tartışılmış ve doğru pH ve sıcaklıkta çalışmanın önemi, açıkça ortaya konulmuştur. Bu nedenle atık çamurdan biyohidrojen üretimi üzerine, pH ve sıcaklığın etkisini değerlendirmek ve en uygun pH ve sıcaklık değerini belirlemek amacıyla, çalışmalar yapılmıştır.

35±1°C ve 45±1°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta (mezofilik ve termofilik), farklı başlangıç pH değerlerinde çalışılmıştır. 35±1°C sıcaklıkta pH 4-8 aralığında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler, Çizelge 4.1-4.5'de verilmiştir. Reaktörden belirli aralıklarla örnekler alınmış, H₂ ve CH₄ konsantrasyonları izleyen bölümlerde sunulmuştur. Sonuçlar, biyohidrojen üretiminin atık aktif çamurun karakterizasyonuna göre değişim gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.1. 35±1°C sıcaklıkta pH 4'de fermantasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	0	4,00	5655	70	2210,17	5,25	14400	64
45	100							
120	150							
245	160							
350	160							
440	160							
1440	600							
1560	600							
1740	600							
1860	600	5,23	4655	59	1772,67	36,67	14041	64

Çizelge 4.2. 35±1°C sıcaklıkta pH 5’de fermantasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	0	5,00	5643	79	2213,54	4,50	14400	64,0
70	50							
140	60							
215	90							
295	100							
380	110							
1295	660	5,76	6334	85	1904,17	47,34	14400	89,6

Çizelge 4.3. 35±1°C sıcaklıkta pH 6’da fermantasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	0	6,00	6381	61	1858,34	7,08	14400	64
85	70							
150	90							
255	110							
405	140							
1455	210							
1710	230							
1920	230	6,84	6286	140	1691,67	50,42	16000	416

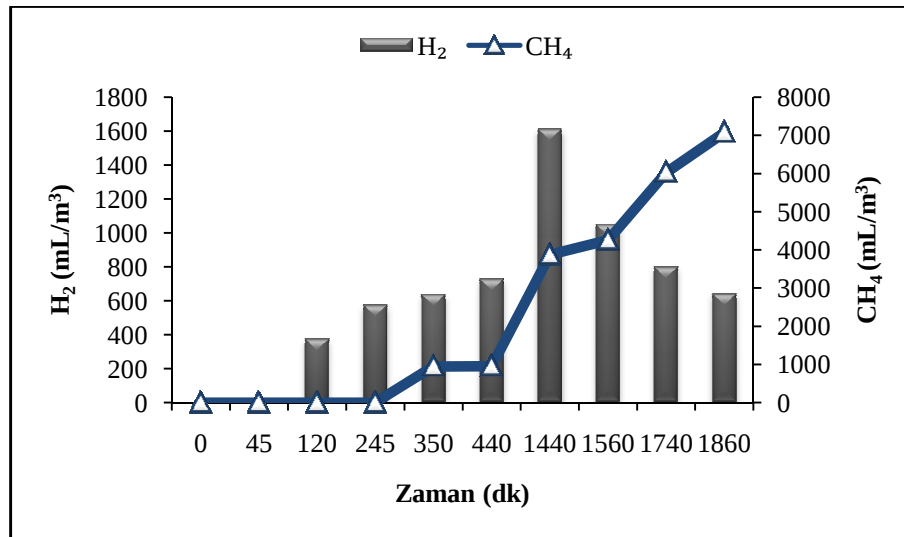
Çizelge 4.4. 35±1°C sıcaklıkta pH 7’de fermantasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	0	7,00	4905	65	2470,84	16,25	18000	224
90	50							
150	700							
1155	710							
5440	1020	6,65	3214	36	1692,71	29,42	16000	160

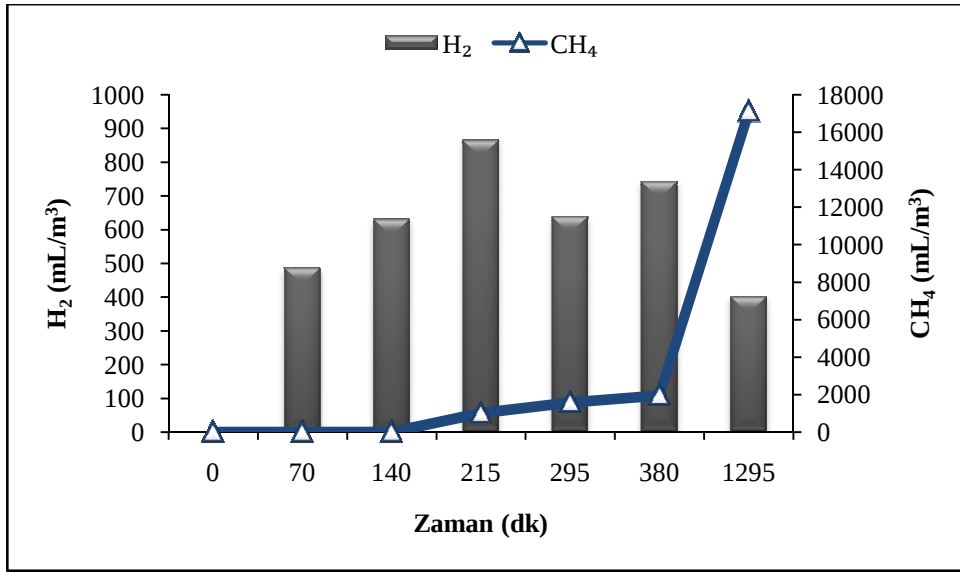
Çizelge 4.5. 35±1°C sıcaklıkta pH 8’de fermantasyonun başında ve sonunda reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	0	8,00	4917	64	2104,17	9,00	16000	84
90	30							
160	30							
250	50							
320	50							
400	50							
1415	160							
1490	170							
1680	170							
1930	170	6,92	5453	64	1871,53	41,67	18000	296

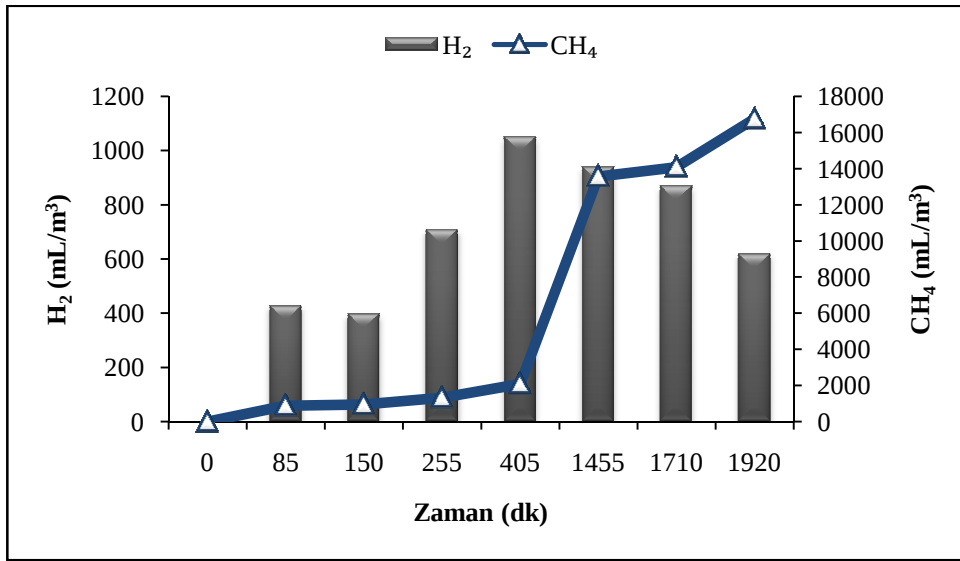
Anaerobik fermantasyonla biyohidrojen üretimine başladıktan bir süre sonra, çamur tarafından absorbe edilen organikler çözünmeye başlar. Organik ayrışma derecesi de hızlanacağı için, çözülmüş madde konsantrasyonları artacaktır. Karbon kaynağının çokluğu, biyolojik metabolizmayı devam ettirmek için gereklidir. Bu yüzden anaerobik bozulma hızlıdır. Organikler, nütrient olarak anaerobik bakteri tarafından tüketilir ve azalmaya başlar. Bu noktada biyohidrojen bakterisi hidrojen üretmeye başlayacağı için gaz çıkışı da artmaktadır (Wu ve diğ., 2009). Mezürde oluşan seviye değişiminin sebebi de, Çizelge 4.1-4.5’de gözüktüğü gibi artan gaz hacmidir (V_g).



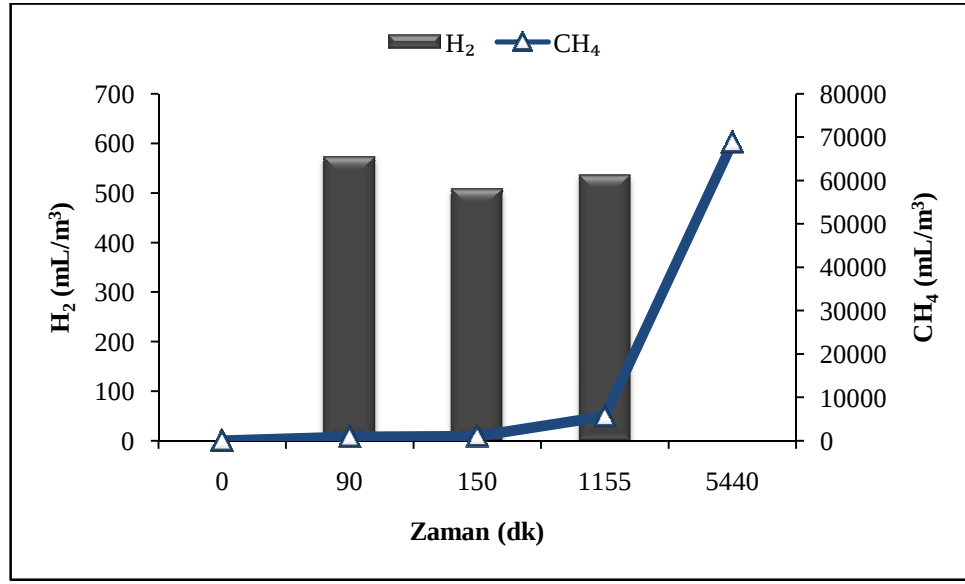
Şekil 4.1. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 4’de zamanla H₂ ve CH₄ konsantrasyonundaki değişim.



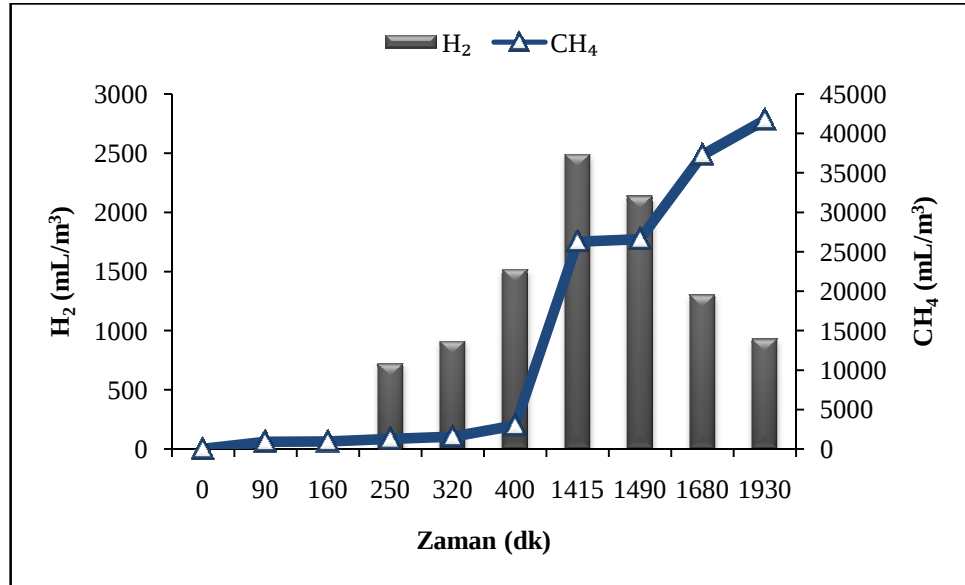
Şekil 4.2. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 5'de zamanla H₂ ve CH₄ konsantrasyonundaki değişim.



Şekil 4.3. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 6'da zamanla H₂ ve CH₄ konsantrasyonundaki değişim.



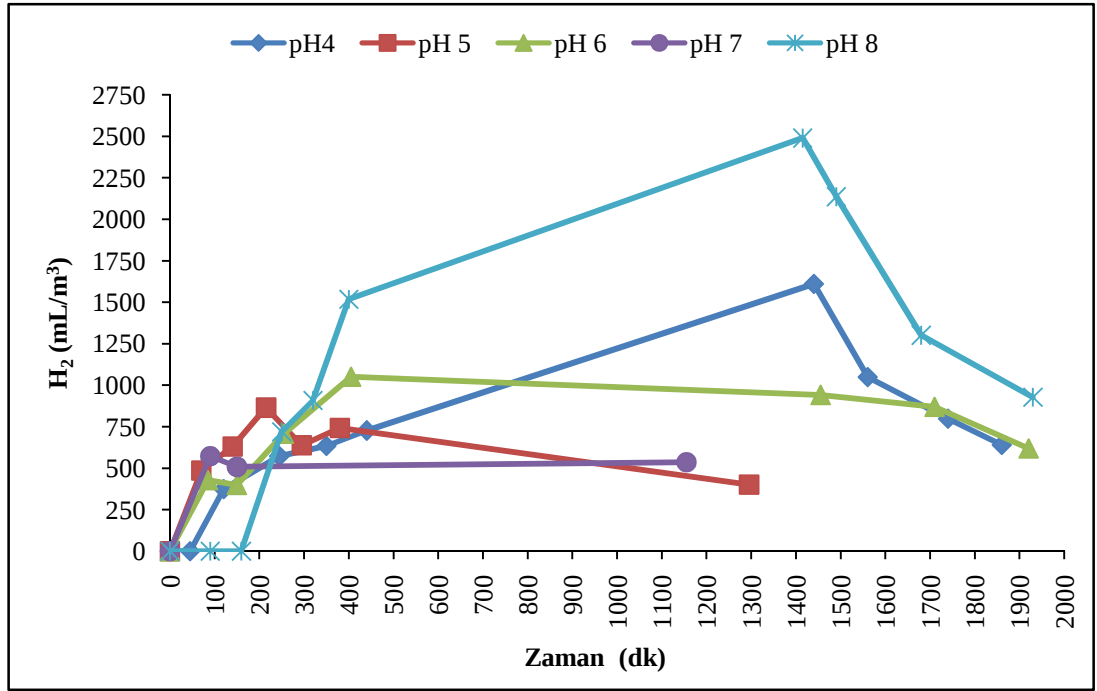
Şekil 4.4. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 7’de zamanla H₂ ve CH₄ konsantrasyonundaki değişim.



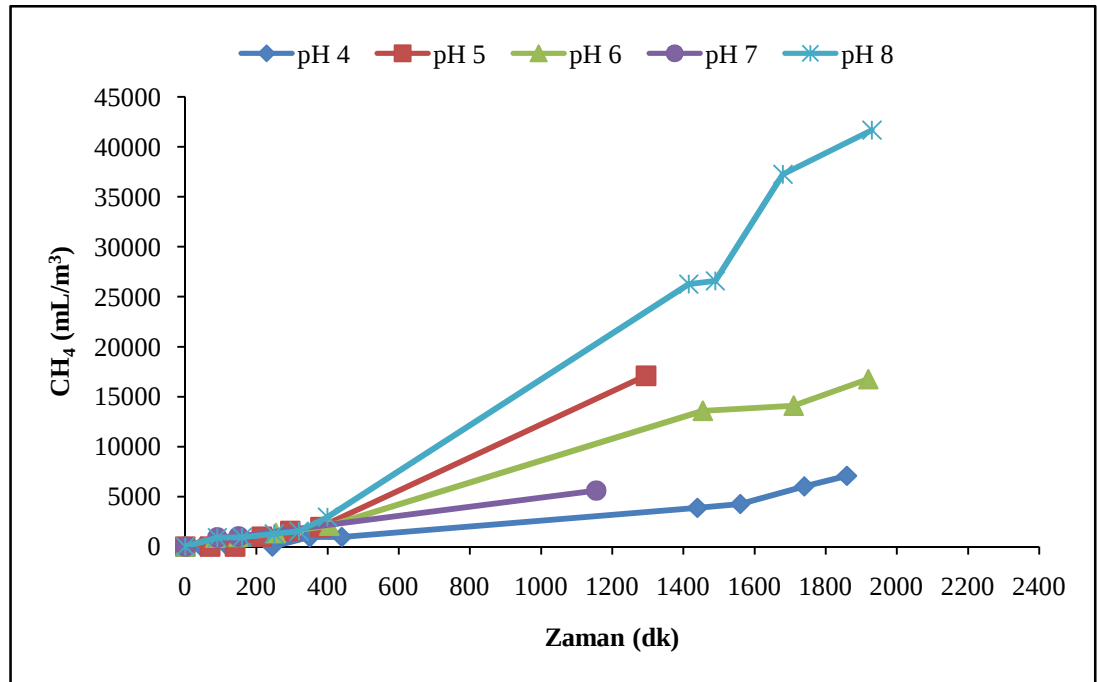
Şekil 4.5. 35±1°C sıcaklıkta ve pH 8’de zamanla H₂ ve CH₄ konsantrasyonundaki değişim.

35±1°C sıcaklıkta farklı pH değerlerinde yapılan denemelerde, Şekil 4.1-4.5’de de görüldüğü üzere, maksimum hidrojen üretiminin ilk 24 saat içerisinde gerçekleştiği gözlemlenmiştir. pH 8’de yapılan çalışma hariç, diğer pH değerlerinde 2 saat içinde H₂ gazı çıkışı olmuştur. Ancak Şekil 4.6’da görüldüğü gibi, 35±1°C sıcaklıkta farklı başlangıç pH değerlerinde 24 saat sonunda alınan sonuçlar incelendiğinde, en yüksek H₂ üretiminin pH 8’de (2489 mL/m³H₂) olduğu görülmektedir. Zamanla ortamdaki metan bakterilerinin hızlıca artmasıyla birlikte, çamurun hidrojen üretme yeteneği ve hidrojen içeriği, kademeli olarak azalmaya başlamıştır. Reaktördeki hidrojen üretimi azalmaya başladığında, hidrojen üretim periyodu sonlandırılmıştır. Genel olarak bakıldığında, ikinci günden sonra çok az hidrojen üretilmiştir ve çalışılan koşullarda, maksimum hidrojen üretim verimi pH 8’de elde edilmiştir.

35±1°C sıcaklıkta pH 4-8 aralığında gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, fermentasyon süresince okunan H₂ konsantrasyonları Şekil 4.6’da, CH₄ konsantrasyonları ise, Şekil 4.7’de sunulmuştur. Şekil 4.7’de görüldüğü gibi, fermentasyonun başlangıcından belirli bir süre sonra CH₄ konsantrasyonundaki artış, metan bakterilerinin ortamda çok fazla ürediğini göstermektedir. Bu durum üretilen hidrojenin tüketilmesine neden olduğu için, gaz safhadaki hidrojen konsantrasyonu Şekil 4.6’daki gibi artan ve azalan bir grafik göstermiştir. Cheng ve diğ. (2000) ve Wang ve diğ. (2003a) yaptıkları çalışmalarda, anaerobik fermentasyon süresince elde ettiğimiz sonuçlara benzer bir hidrojen tüketim safhası gözlemlemiştir (Wang ve diğ., 2003b). Çamur içerisindeki metan bakterilerinin oluşan H₂’yi tüketmesi atık çamurdan H₂ üretimindeki en önemli engeldir ve yapılan tüm çalışmaların genel amacı bu engelleyici unsuru ortadan kaldırmak ya da geciktirmektir.



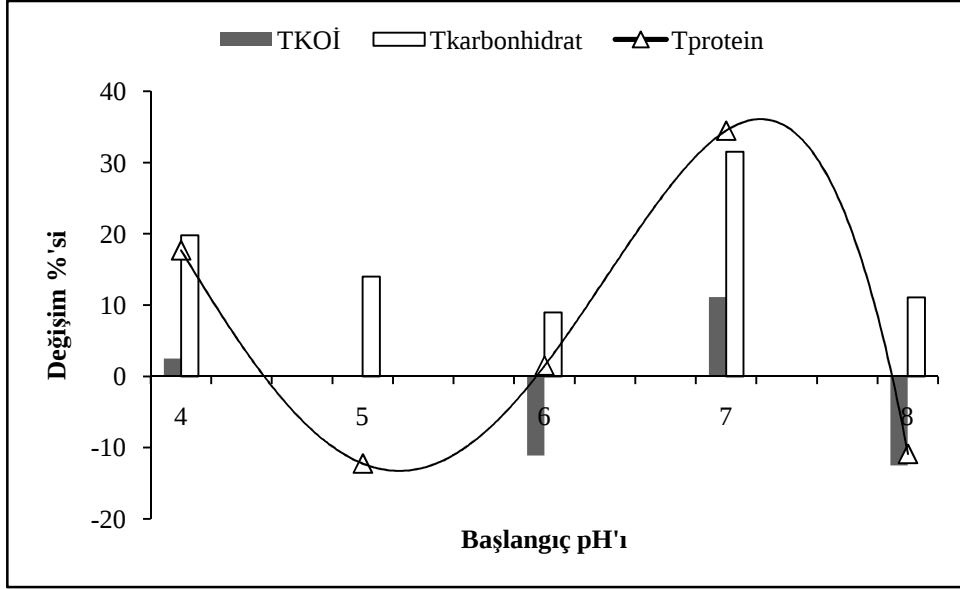
Şekil 4.6. 35±1°C sıcaklıkta farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen H₂ konsantrasyonları.



Şekil 4.7. 35±1°C sıcaklıkta farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen CH₄ konsantrasyonları.

Şekil 4.8 farklı pH değerlerinde atıksu çamuru ile yapılan fermantasyon denemeleri sonucunda, reaktörde oluşan Tprotein, Tkarbonhidrat ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim %'sini vermektedir. Fermantasyondan önce ve sonra,

reaktördeki atıksu çamuru için gerekli analizler yapılmış ve Çizelge 4.1-4.5’de verilmiş olan değerler esas alınarak, konsantrasyondaki değişim yüzdeleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.8. Fermantasyon sonunda Tprotein, Tkarbonhidrat ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim %'si.

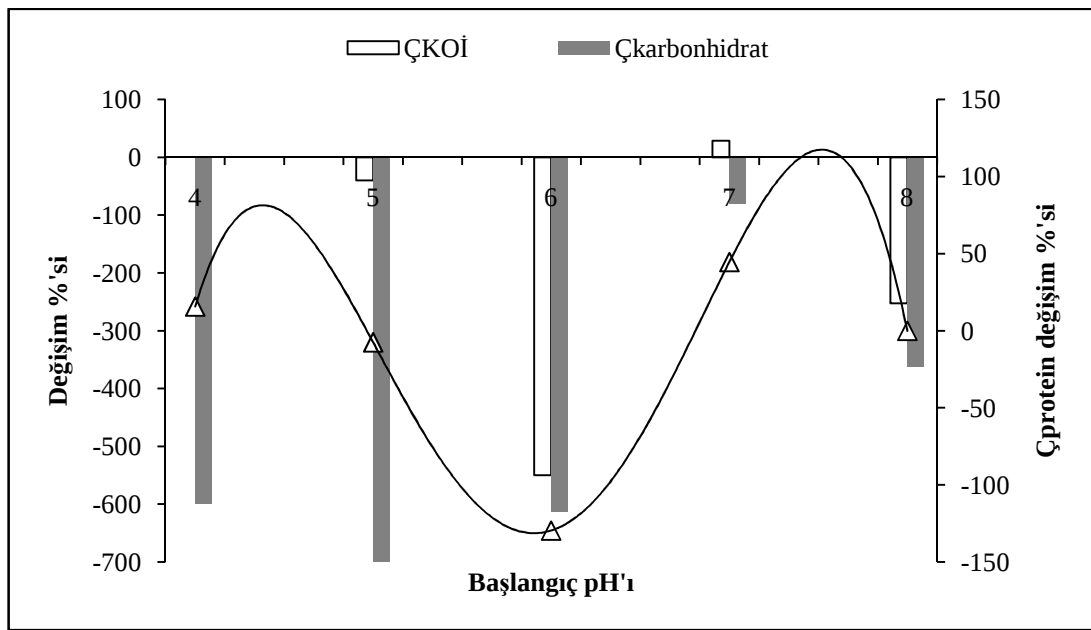
Atık çamur içerisinde bulunan organik madde, glikoz ya da sukrozdan farklı olarak çoğunlukla proteindir. Yapılan denemelerde protein miktarının, zamanla azaldığı görülmüştür. Ancak pH 5 ve pH 8’de, muhtemelen hidrolizden dolayı protein miktarı artmıştır. Bu nedenle Şekil 4.8’den de görüldüğü üzere, pH 4, 6 ve 7’ye ayarlanan reaktörlerde, protein tüketimi en fazla %34 (pH 7) olurken; pH 5 ve 8’de, hiç tüketim olmamış aksine hidrolizden dolayı protein konsantrasyonu daha da artmıştır. Hidrolizle birlikte protein konsantrasyonunun artması, özellikle başlangıç pH’ı 8’e ayarlanan reaktörde hidrojen gazı konsantrasyonunu da artırmıştır.

Şekil 4.1-4.5 ve Şekil 4.8 bir arada değerlendirildiğinde, ortamdaki protein, karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonu ile hidrojen üretimi arasında bir ilişki olduğu görülmektedir. H₂ üretiminin devam edebilmesi için yukarıda da belirtildiği üzere reaktör içerisindeki protein ve karbonhidratın mikroorganizmalar tarafından tüketilmemesi, aksine hidrolizle artması istenmektedir (Nicolau ve diğ., 2008, Guo ve diğ., 2008). Hidrojen gazı çıkışı için, mikroorganizmaların besin ihtiyacının sürekli karşılanması gerektiği açıktır. Görüldüğü üzere en az protein, karbonhidrat ve KOİ tüketimi, pH 8’e ayarlanan reaktörde olurken, en yüksek H₂ oluşumu da,

başlangıç pH değeri 8 iken (Şekil 4.6) izlenmiştir. Fermantasyon sonucunda elde edilen hidrojen verimliliğini etkileyen, iki temel mekanizma vardır:

- Rekabetçi mikrobiyal yükteki azalma
- Organiklerin elde edilebilirliğinde artış (Kotay ve Das, 2009).

35±1°C sıcaklıkta yapmış olduğumuz pH çalışmalarında Şekil 4.9 ve Çizelge 4.6'da görüldüğü üzere, pH 6'da yapılan çalışmada, diğer pH değerlerinde yapılan denemelere kıyasla atıksu çamurunun yapısında bulunan tüm organik maddelerin çözünürlüğü daha yüksektir.



Şekil 4.9. Fermantasyon sonunda Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim %'si.

Çizelge 4.6. Farklı başlangıç pH değerlerinde fermantasyondan önce (I) ve fermantasyondan sonra (II) karışım sıvısındaki ÇKOİ/TKOİ ve Çkar./Tkar.(%)'leri.

Başlangıç pH'sı	I ÇKOİ/TKOİ (%)'si	II ÇKOİ/TKOİ (%)'si	I Çkar./Tkar. (%)'si	II Çkar./Tkar. (%)'si
4	0,44	0,46	0,24	2,07
5	0,44	0,62	0,20	2,49
6	0,44	2,60	0,38	2,98
7	0,36	1,00	0,66	1,74
8	0,53	1,64	0,43	2,23

pH 6'da fermentasyon sonunda, çözünmüş durumdaki KOİ, karbonhidrat ve protein miktarının diğer pH çalışmalarına kıyasla daha fazla arttığı görülmektedir. Aynı zamanda fermentasyon sonunda reaktörden alınan atıksu çamuru ile yapılan analizlerde, pH 6 için ÇKOİ/TKOİ (%) ve Çkarbonhidrat/Tkarbonhidrat (%) oranları da bu sonucu doğrulamaktadır.

Literatürde yapılmış olan çalışmalar da, çözünmüş durumda bulunan KOİ, karbonhidrat ve protein miktarındaki artışın biyolojik yolla hidrojen üretimine olumlu yönde etki ettiğini göstermektedir. Ancak yukarıda da bahsedildiği üzere, mikroorganizmalar tarafından kolaylıkla kullanılabilir çözünmüş organik maddelerin ortamda olması, fermentasyon sonucu elde edilen hidrojen verimliliğini etkileyen tek parametre değildir. Atıksu çamuru içerisinde bulunan mikrobiyal türler de, biyolojik yolla hidrojen üretimi için oldukça önemlidir. Bu nedenle toplam ve çözünebilir madde konsantrasyonu açısından, pH 6'ya ayarlanan reaktör biyohidrojen üretimi için daha uygun görünmesine rağmen, başlangıç pH'ı 8 olan reaktörde, elde edilen H₂ miktarı daha yüksektir.

4.1.2 45±1°C sıcaklıkta başlangıç pH'sının biyohidrojen üretimine etkisi

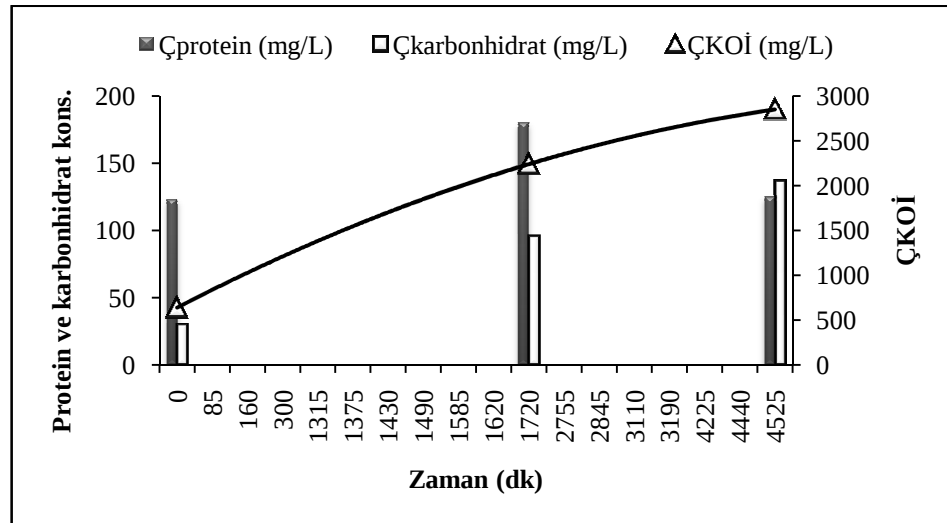
35±1°C sıcaklıkta gerçekleştirilen fermentasyon çalışmaları sonucunda elde edilen H₂ veriminin çok düşük olması, stabil olmaması ve pH konusunda kesin bir sonuca varılamaması nedeniyle, 45±1°C sıcaklıkta fermentasyon denemelerine geçilmiştir. 45±1°C sıcaklıkta pH 4-9 aralığında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler, sırasıyla Çizelge 4.7 - 4.12'de verilmiştir. Farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan anaerobik fermentasyon çalışmaları sonucunda reaktörde açığa çıkan hidrojen ve metan konsantrasyonları ise, metnin ilerleyen bölümlerinde sırasıyla Şekil 4.22 ve 4.23'de karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi, hidrolizden dolayı toplam protein ve karbonhidrat konsantrasyonu ilk 24 saatlik süre sonunda artmış, daha sonra ise azalmıştır. 3 günlük süre sonunda atık çamurdaki protein konsantrasyonu 5096 mg/L'den 3096 mg/L'ye, karbonhidrat konsantrasyonu ise 2187,5 mg/L'den 1200 mg/L'ye kademeli olarak azalmıştır. Fermentasyon süresince konsantrasyonlarda görülen değişimler, çamurun katı safhasından serbest bırakılan ve tükenen miktar arasındaki dengeden dolayı olabilir. Yukarıdaki deneysel sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, protein ve karbonhidrat parametrelerinin her ikisinin de

hidrojen üretiminde tüketildiği görülmektedir. Bu nedenle anaerobik fermantasyonla biyohidrojen üretimi sırasında görülen hidroliz aşaması, atık çamurun katı safhasındaki organik maddenin serbest hale geçmesinde önemli rol oynamaktadır (Chen ve diğ., 2002).

Çizelge 4.7. $45\pm1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta pH 4’de fermantasyon süresince reaktörde okunan değerler.

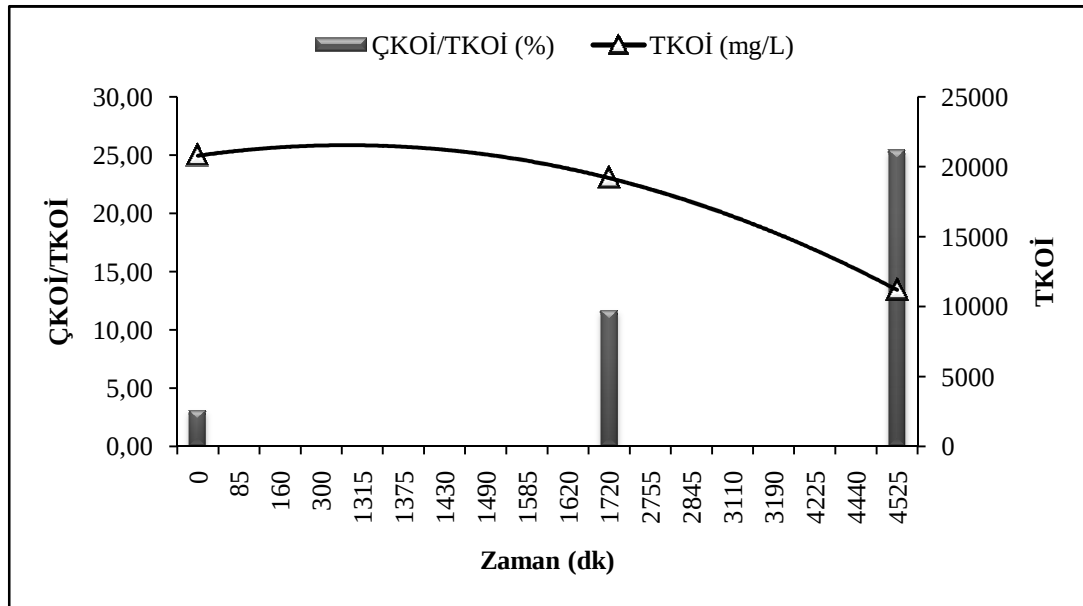
Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	750	0	4,00	3238	123	1937,5	30,00	20800	640
85		130							
160		150							
300		180							
1315		330							
1375		330							
1430		340							
1620		340							
1720	720	340	5,24	5096	180	2187,5	95,58	19200	2240
2755		340							
2845		340							
3110		340							
3190		340							
4225		370							
4440		370							
4525		370	5,35	3096	125	1200	136,58	11200	2850



Şekil 4.10. $45\pm1^\circ\text{C}$ ’de pH 4’de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.

Şekil 4.10'da $45\pm1^\circ\text{C}$ 'de pH 4'de zamana göre, Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere çözülmüş durumdaki protein, karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonu, fermentasyon süresince artış göstermiştir. Bu alanda yapılmış olan çalışmalar, çözünebilir karbonhidrat konsantrasyonundaki artışın atıksu çamurundan hidrojen üretimine pozitif etki yaptığını göstermektedir (Nicolau ve diğ., 2008; Kotay ve Das, 2009; Guo ve diğ., 2010). Ancak, çözülmüş protein miktarındaki azalma ile birlikte H_2 üretiminde de azalma olduğu görülmüştür. 1720. dakikadan sonra çözülmüş protein konsantrasyonu, 180 mg/L'den 125 mg/L'ye azalmıştır. Çprotein konsantrasyonundaki azalma ve reaktörde metan bakterilerinin artışı ile birlikte, hidrojen gazı konsantrasyonu da azalmıştır.

Şekil 4.11 ise, $45\pm1^\circ\text{C}$ 'de pH 4'de zamana göre, ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişimi vermektedir. Şekil 4.10 ve 4.11 bir arada incelendiğinde, çamurun ÇKOİ ve ÇKOİ/TKOİ oranının arttığı görülmektedir. ÇKOİ, hidrojen üretim testi süresince artmaya devam etmiştir.



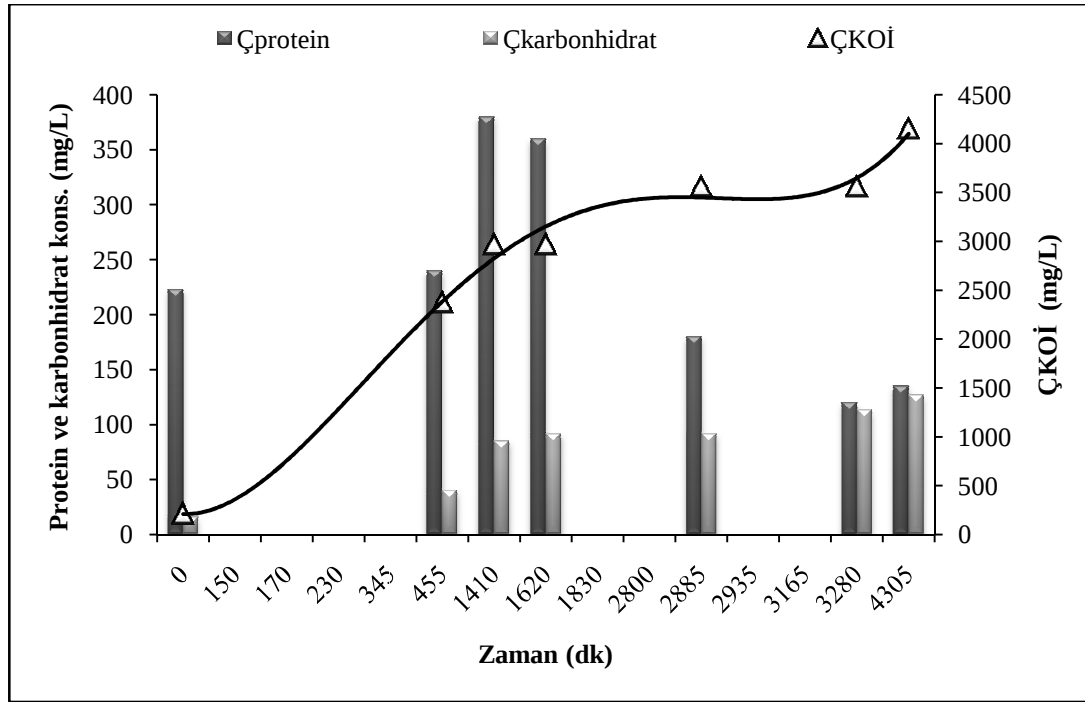
Şekil 4.11. $45\pm1^\circ\text{C}$ 'de pH 4'de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.

pH 5'de gerçekleştirilen çalışmada, farklı zamanlarda fermentörden alınan atık çamurun analizi sonucu elde edilen veriler Çizelge 4.8'de sunulmuştur. Zamana karşı reaktör içeriği incelendiğinde, toplam protein, karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonunda fermentasyon süresince azalma olduğu görülmektedir. Çözülmüş madde konsantrasyonu ise, Şekil 4.12'deki gibi bir değişim göstermiştir.

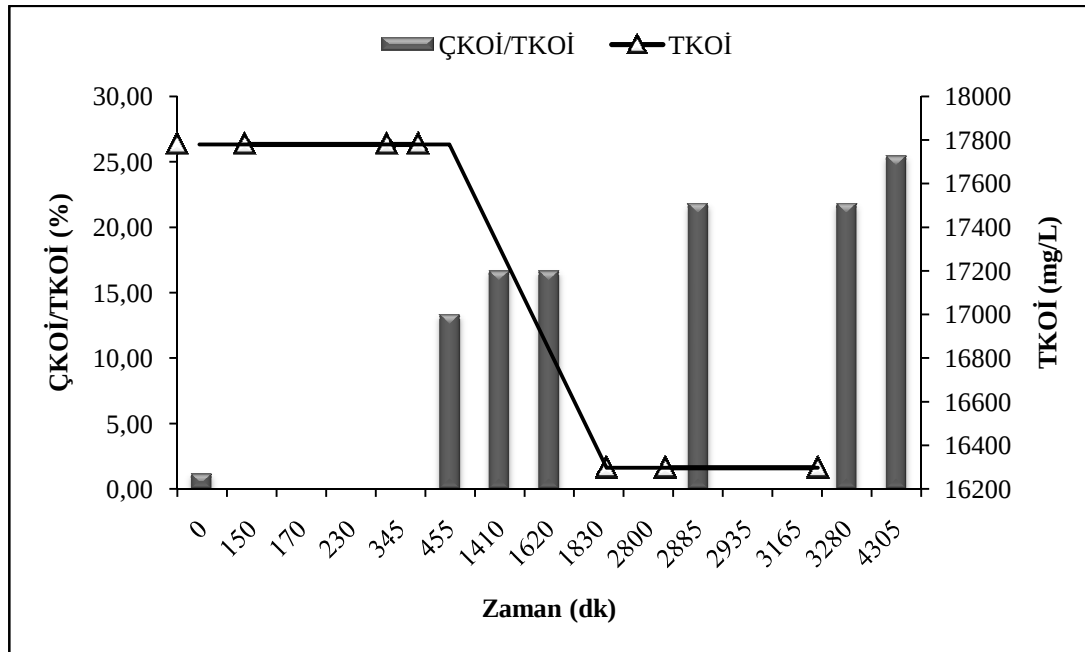
Karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonu, fermantasyon süresince artmaya devam ederken, çözünmüş protein konsantrasyonunun, 24 saatlik süre ardından azalmaya başladığı görülmüştür. İlk 24-30 saatlik sürede çözünmüş protein konsantrasyonundaki artış, Şekil 4.22'den de görüldüğü üzere, H₂ oluşumunu olumlu yönde etkilemiştir. Aynı şekilde ÇKOİ konsantrasyonundaki artış da, mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu besinin sağlanması ve sonuçta etkili bir H₂ üretimi için önemlidir. Reaktördeki ÇKOİ konsantrasyonunun fermantasyon süresince artan bir grafik izlediği Şekil 4.12'den görülmektedir.

Çizelge 4.8. 45±1°C sıcaklıkta pH 5'de fermantasyon süresince reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	750	0	5,00	7750	223	1997,22	15,67	17780	207,43
150		140							
170		140							
230		160							
345		230							
455	710	310	5,74	5100	240	2066,67	40,00	17780	2370,60
1410	680	380	5,87	4450	380	1879,17	85,00	17780	2963,20
1620	640	380	5,85		360	1708,33	91,67	17780	2963,20
1830		380							
2800		380							
2885	600	400	5,82	3750	180	1683,33	91,67	16298	3556,00
2935									
3165									
3280	560		6,34	3450	120	1670,83	113,33	16298	3556,00
4305		450	6,40	2650	135	1591,67	126,67	16298	4148,50



Şekil 4.12. 45±1°C'de pH 5'de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.



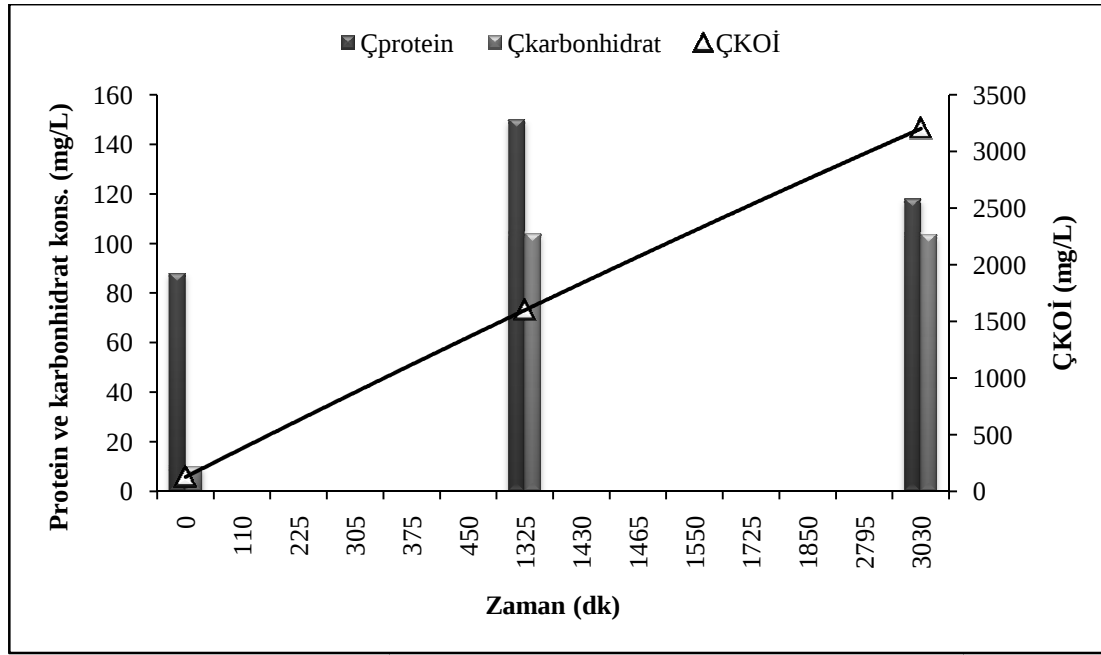
Şekil 4.13. 45±1°C'de pH 5'de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.

pH 6-9 arasındaki çalışmalar da, aynı şekilde gerçekleştirilmiş ve Çizelge 4.9-4.12'de verilen sonuçlar elde edilmiştir. Bu çizelgelerden elde edilen veriler kullanılarak çizilen Şekil 4.14-4.21'de, pH 4 ve pH 5'de gerçekleştirilen çalışmalarda olduğu gibi bir değişim gözlemlenmiştir. Genel sonuç, toplam protein, karbonhidrat

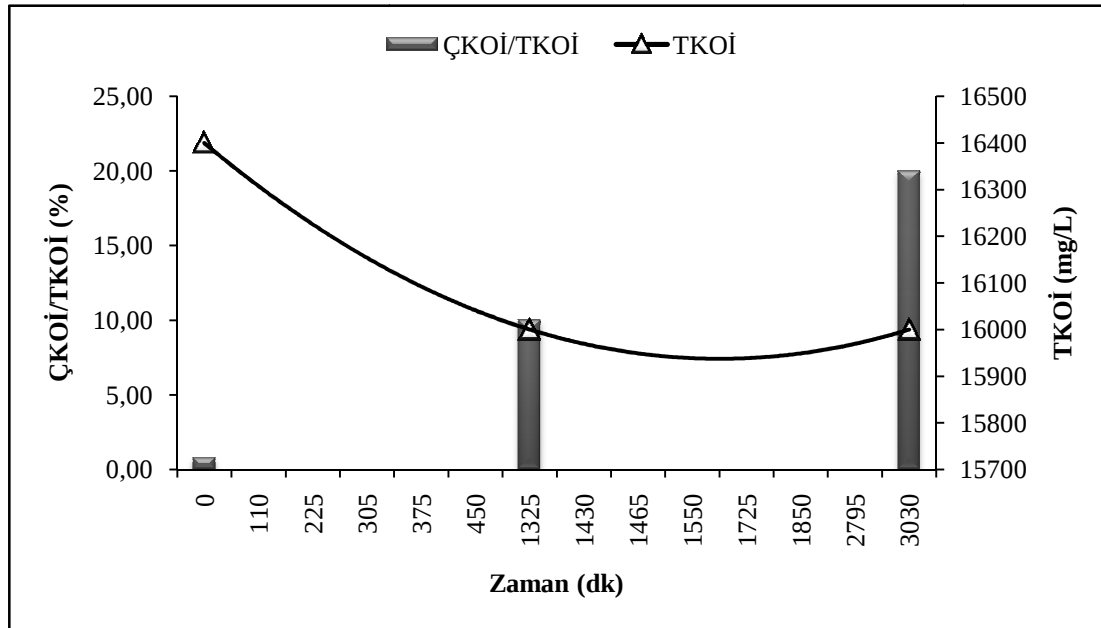
ve KOİ konsantrasyonunun zamanla azaldığı yönündedir. Ancak pH 6'da gerçekleştirilen çalışmada, toplam protein konsantrasyonu ~51 saatlik fermantasyon sonunda 7952 mg/L'den 9095 mg/L'ye yükselmiştir. Çözünmüş madde konsantrasyonları ise, genelde fermantasyonun ilk günlerinde artmış daha sonra ise azalmıştır. Konsantrasyondaki bu değişim ise, biyohidrojen üretimini etkileyen bir unsurdur.

Çizelge 4.9. 45±1°C sıcaklıkta pH 6'da fermantasyon süresince reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	750	0	6,00	7952	88	1988	10,00	16400	128
110		130							
225		190							
305		215							
375		290							
450		300							
1325	720	450	6,13	8143	150	1358,34	104,00	16000	1600
1430		450							
1465		450							
1550		460							
1725		460							
1850		460							
2795		480							
3030		480	6,20	9095	118	1241,67	103,67	16000	3200



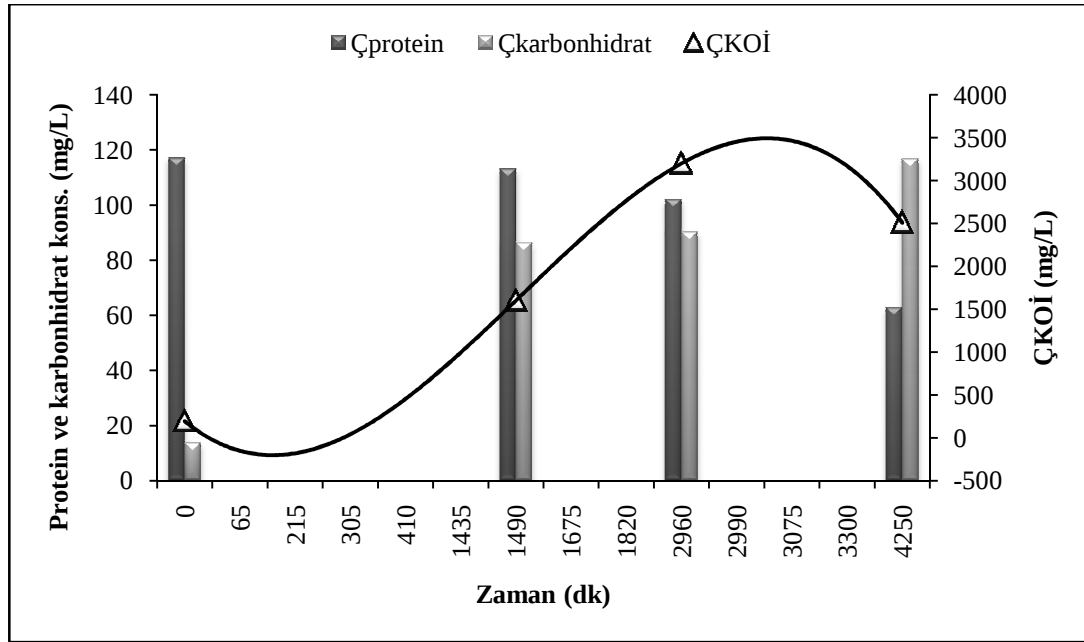
Şekil 4.14. 45±1°C'de pH 6'da zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.



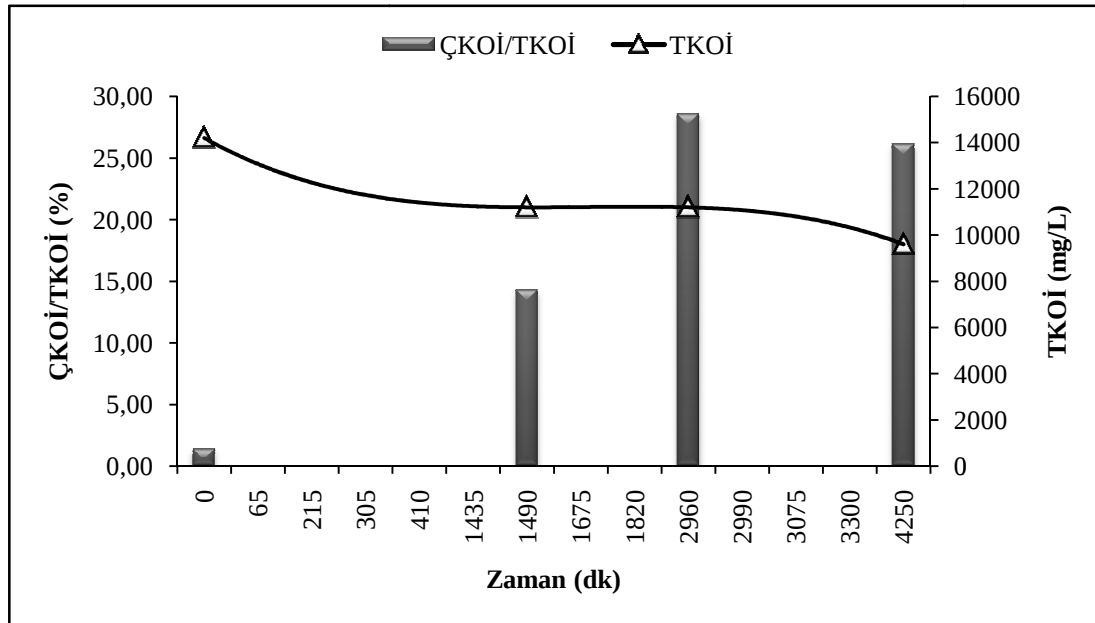
Şekil 4.15. 45±1°C'de pH 6'da zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.

Çizelge 4.10. 45±1°C sıcaklıkta pH 7’de fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	750	0	7,00	7905	117	1237,50	13,58	14200	192
65		110							
215		200							
305		230							
410		285							
1435		420							
1490	720	420	6,50	8095	113	758,33	86,25	11200	1600
1675		420							
1820		440							
2960	690	440	6,46	8619	102	729,17	90,17	11200	3200
2990		440							
3075		440							
3300		440							
4250		440	6,30	6429	62,7	800,00	116,67	9600	2508,8



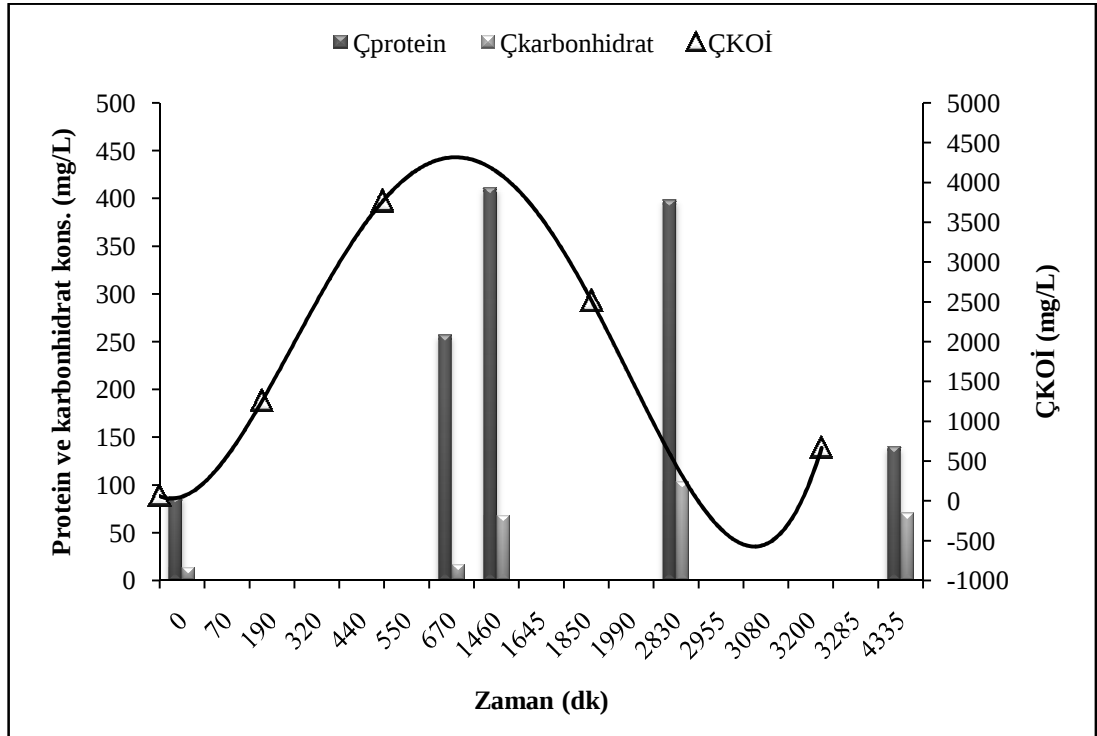
Şekil 4.16. 45±1°C'de pH 7'de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.



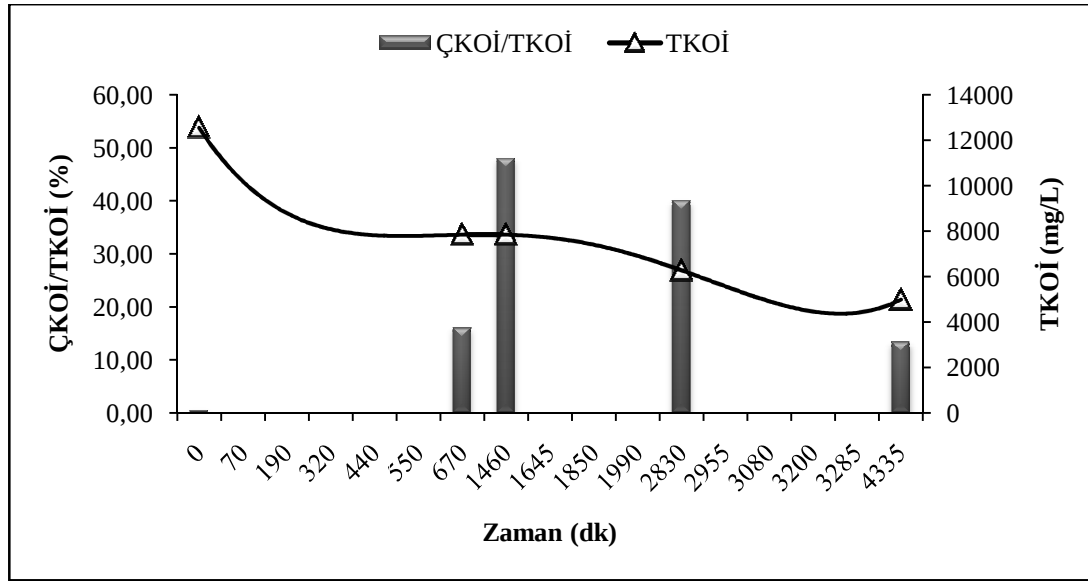
Şekil 4.17. 45±1°C'de pH 7'de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.

Çizelge 4.11. 45±1°C sıcaklıkta pH 8’de fermantasyon süresince reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	750	0	8,00	7600	88	812,50	13,50	12544	62,72
70		110							
190		180							
320		220							
440		265							
550		280							
670	720	300	7,01	7350	257	854,17	16,67	7840	1254,40
1460	690	340	6,88	7200	411	637,50	68,17	7840	3763,20
1645		340							
1850		340							
1990		340							
2830	660	340	6,80	6150	398	658,33	103,33	6272	2508,80
2955		340							
3080		340							
3200		340							
3285		340							
4335		340	6,84	5700	140	450,00	70,58	4992	665,60



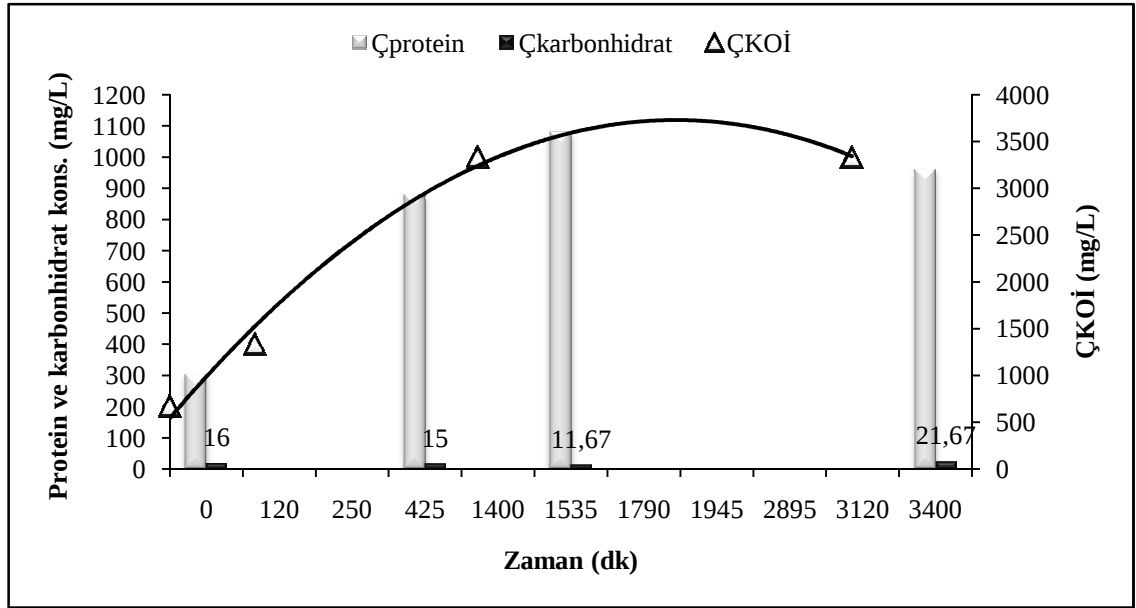
Şekil 4.18. 45±1°C’de pH 8’de zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.



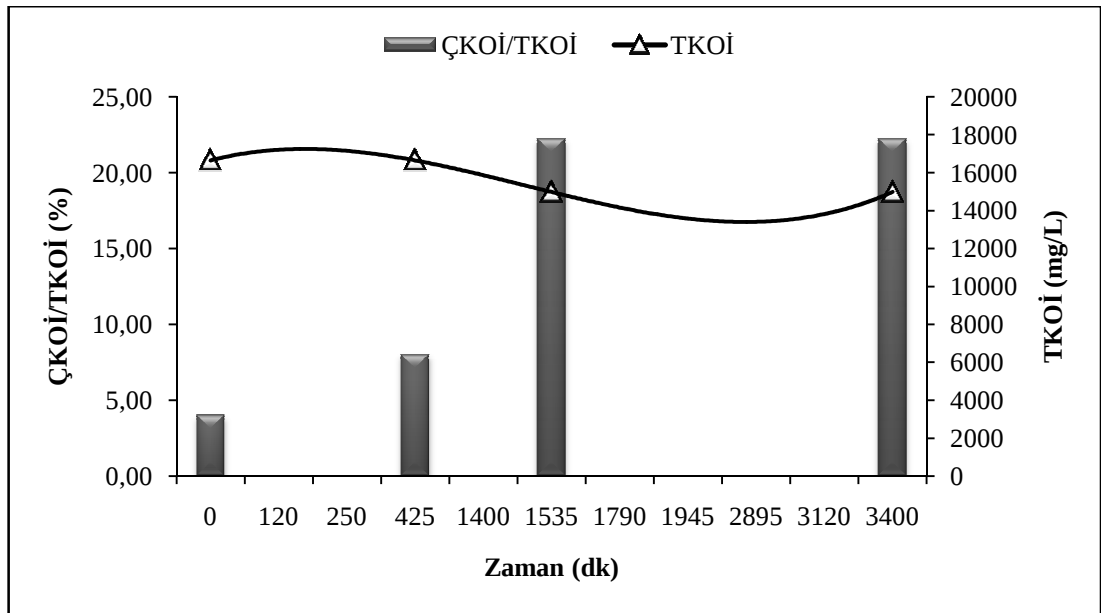
Şekil 4.19. 45±1°C'de pH 8'de zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.

Çizelge 4.12. 45±1°C sıcaklıkta pH 9'da fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	T _{pro.} mg/L	Ç _{pro.} mg/L	T _{kar.} mg/L	Ç _{kar.} mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	750	0	9,00	7775	303	869,44	16,00	16640	665,6
120		150							
250		200							
425	720	300	7,04	8275	880	695,83	15,00	16640	1331,2
1400		460							
1535	690	460	6,79	6082	1080	750,00	11,67	14976	3328,0
1790		460							
1945		460							
2895		460							
3120		460							
3400		460	6,72	5796	960	580,55	21,67	14976	3328,0



Şekil 4.20. 45±1°C'de pH 9'da zamana göre Çprotein, Çkarbonhidrat ve ÇKOİ konsantrasyonundaki değişim.



Şekil 4.21. 45±1°C'de pH 9'da zamana göre ÇKOİ/TKOİ (%) ve TKOİ konsantrasyonundaki değişim.

Çizelge 4.7-4.12'deki veriler baz alınarak çizilen şekiller incelendiğinde (Şekil 4.10-4.21), bazı istisnalar görülmekle birlikte (pH 7'de Çprotein konsantrasyonu fermentasyon süresince sürekli azalmıştır), genel itibariyle daha fazla çözünebilir besi maddesinin hidrojen fermentasyonu sırasında atık çamurun katı safhasından serbest bırakıldığı görülmektedir. Ancak sonuçlar, Şekil 4.22'deki hidrojen verimi için gözlenen eğilimle paralellik göstermemiştir. Ortaya çıkan sonuç çözülmüş

organik maddenin hepsinin, hidrojene dönüşmediğini göstermektedir. Benzer sonuçlar, Guo ve diğ., (2010) tarafından da rapor edilmiştir. Onların yapmış oldukları çalışmada, sterilizasyonla ön işleminden geçen atık çamur ve bu atık çamurdan elde edilen süzüntü (filtrat) kullanılarak fermantasyon testleri gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon süresince filtrattan salınan organik madde miktarı, çamurdan salınan organik madde miktarından daha azdır. Fakat filtratın hidrojen veriminin, atık çamurunkinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunun üzerine çözünmüş organik maddenin tümünün, hidrojene dönüşmediği anlaşılmıştır (Chen ve diğ., 2002).

45±1°C sıcaklıkta gerçekleştirilen tüm pH çalışmaları için genel bir değerlendirme yapıldığında, herhangi bir ön işleminden geçmemiş atıksu çamuru kullanılarak yapılan pH çalışmalarında, çözünebilir protein, karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonunun hidrolizden dolayı 24 saat içinde maksimum konsantrasyona ulaştığı görülmektedir. Ancak ilerleyen süreçte, konsantrasyonda kademeli bir azalma gözlenmiştir. Fakat testin sonundaki konsantrasyon, neredeyse tüm testlerde (pH 5 ve pH 7’de fermantasyon sonucunda reaktördeki çözünmüş protein konsantrasyonları hariç) başlangıca göre hala yüksektir.

Biyohidrojen üretimi için çözünebilir organik maddeler, oldukça önemlidir. Hidrojen üreten mikroorganizmalar, hidrojen üretmek ve yaşamak için çözünmüş durumdaki bu organik maddeleri kullanırlar (BenYi ve JunXin, 2009). Organik katılar arasında karbonhidratlar, anaerobik fermantasyon süresince en fazla bozunmaya uğrayan bileşiklerdir. Fakat protein ve lipidler de, hidrojen üretimine belirli ölçüde katkıda bulunur. Bu çalışmada fermantasyon sırasında proteinlerin, karbonhidratlara göre daha iyi çözünebildiği fark edilmiştir. Şekil 4.10, 4.12, 4.14, 4.16, 4.18 ve 4.20’de yapmış olduğumuz gözlemi doğrulamaktadır. Benzer sonuçlar, Kotay ve Das’ın (2009) yılında yaptıkları çalışmada da rapor edilmiştir.

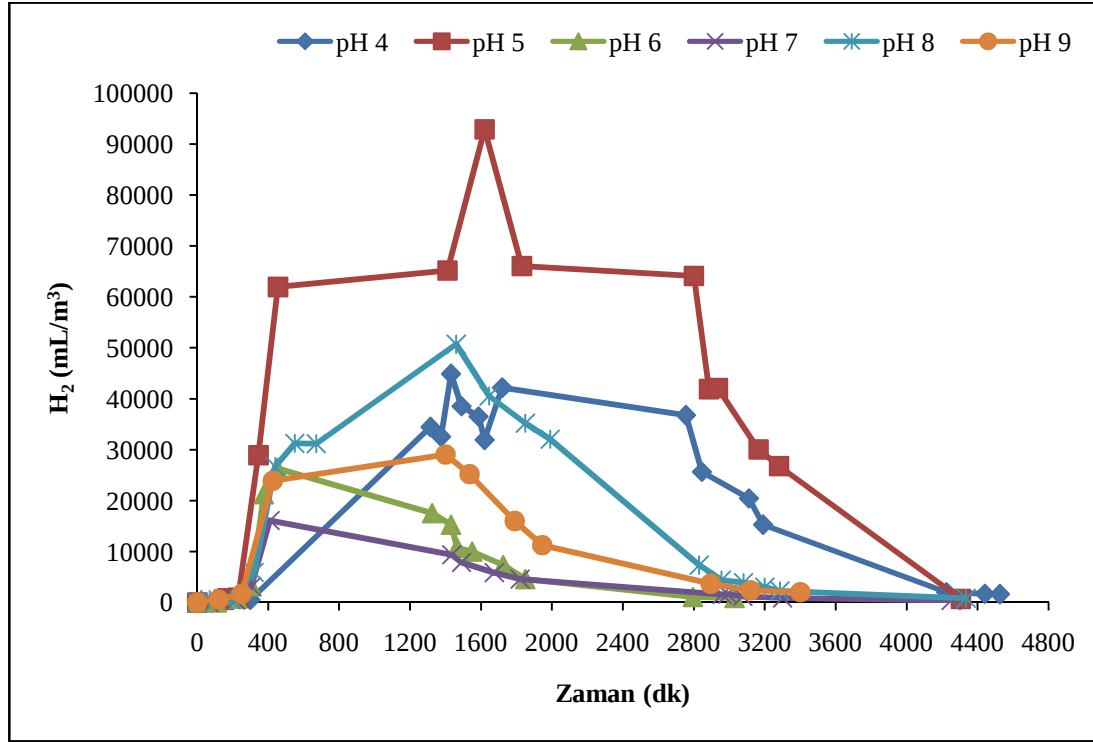
Proteinler, organizmanın birincil bileşenleridir ve karbon içerirler. Hidrojen, oksijen ve azot da ortak organik maddelerdir. Bu nedenle çözünebilir protein miktarı arttığında, anaerobik fermantasyon verimliliğinin de artması beklenir (Nah ve diğ., 2000). Çizelge 4.7-4.12 ayrı ayrı incelendiğinde görülüyor ki; ilk 24 saat içerisinde analiz edilen çözünmüş protein konsantrasyonları pH’ya bağlı olarak, pH 9 (1080 mg/L) > pH 8 (411 mg/L) > pH 5 (380 mg/L) > pH 4 (180 mg/L) > pH 6 (150 mg/L) > pH 7 (113 mg/L) şeklinde bir değişim göstermiştir. Bu sıralama tam uyuşmamakla birlikte, Şekil 4.22’de verilen hidrojen üretim grafiğini destekler niteliktedir.

Yine çalışmalardan görüldüğü üzere hidrojen üretim fermentasyonunun başlangıcında, çözünmüş durumdaki protein konsantrasyonu artmıştır. Ancak fermentasyon prosesi ile birlikte protein, hidrojen üretimi için kullanıldığından konsantrasyonda zamanla azalma görülmüştür. Fermentasyon süresince karbonhidrat değişimi, proteine benzer şekildedir. Fakat serbest kalan karbonhidrat miktarı artarken, toplam karbonhidrat miktarı azalmıştır ve hidrojen üretimi, protein kullanımına kıyasla biraz daha düşüktür. Bu da gösteriyor ki, hidrojen üretimi için kullanılan atık çamur içindeki organik madde protein, sonrasında ise karbonhidrattır. Guo ve diğ. (2008) anaerobik fermentasyonla hidrojen üretimi için, ön işlemden geçmiş atık çamur ve aşı olarak da *Pseudomonas sp.* GZ1 (EF551040) kullanmıştır ve bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzer şekilde, protein fermentasyonunun hidrojen üretiminde daha etkili olduğunu rapor etmiştir.

Xiao ve Liu (2009) yaptıkları çalışmada, hidrojen üretim aşamasının çözünmüş karbonhidrat konsantrasyonundaki azalma ile ilişkili olduğunu ve anaerobik fermentasyonla hidrojen üretiminin ana maddesinin, karbonhidrat olduğunu rapor etmiştir. Nicolau ve diğ. (2008) de atıksu arıtma çamurlarının anaerobik fermentasyonunda hidrojen üretiminin kaynağı olarak, karbonhidratların hidrojene fermentasyonunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, Cai ve diğ. (2004) ve Guo ve diğ. (2008)'den farklıdır. Onlar, hidrojenin proteinlerin fermentasyonu ile üretileceği sonucuna varmışlardır. Bu çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların sebebi, hidrojen üretiminde kullanılan substrat ve aşı türlerinin ve temin edilen kaynakların farklı olmasıdır (Xiao ve Liu, 2009).

Şekil 4.22'de, $45\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan anaerobik fermentasyon çalışmaları sonucunda elde edilen hidrojen konsantrasyonları verilmiştir. Anaerobik fermentasyon için Cheng ve diğ. (2000) tarafından 66 saatlik gecikme süresi ile elde edilen sonuçlara kıyasla, bu çalışmada görülen gecikme süresi önemsizdir (~ 2 saat). Kullanılan substratın kimyasal ve biyolojik içeriği, sürenin kısılmasına sebep olmuş olabilir. Bütün pH testlerinde gaz safhadaki hidrojen konsantrasyonu 7-24 saat arasında gözlemlenen piklerle artan ve azalan bir eğri göstermiştir. Bu durum, üretilen hidrojenin önemli miktarının bir şekilde tükendiğini göstermektedir. Genellikle çok düşük hidrojen konsantrasyonlarında, metan oluşum safhası hızlı bir şekilde gerçekleşirse, hidrojen tüketen metanojenik

bakteriler H_2 'yi metana dönüştürürler. Bu da hidrojen miktarında hızlı bir düşüşe sebep olur (Cai ve diğ., 2004).

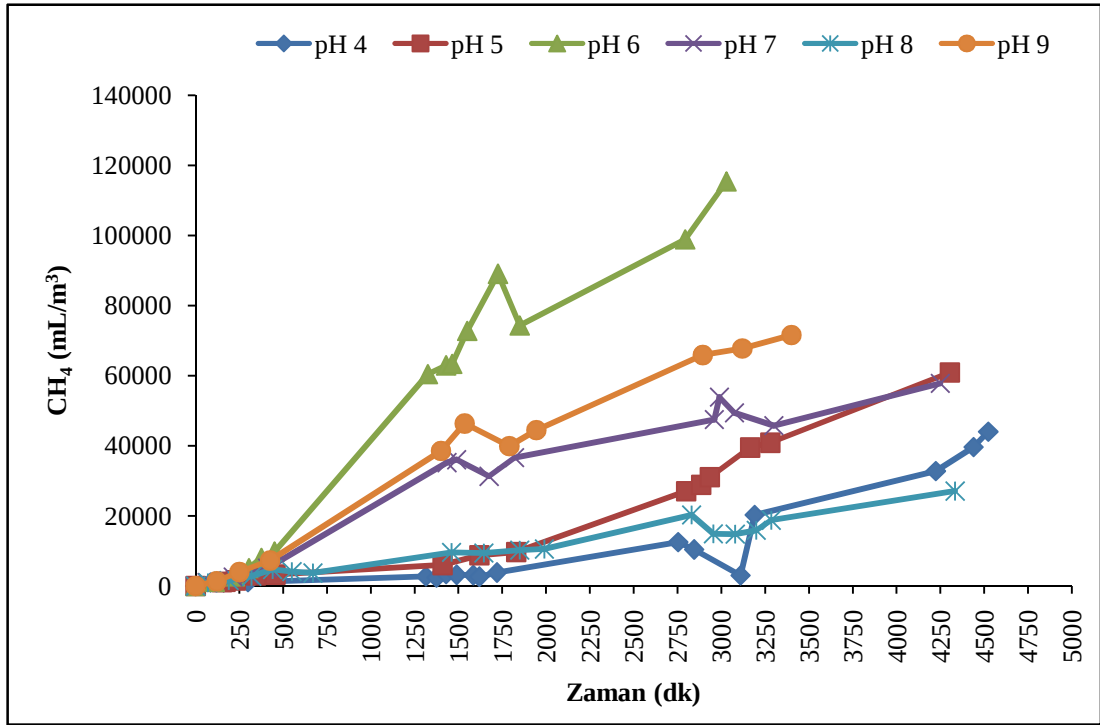


Şekil 4.22. 45±1°C'de farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan anaerobik fermantasyon çalışmaları sonucunda elde edilen hidrojen konsantrasyonları.

Yapılan testlerde 1-2 saatlik gecikme süresinden sonra, hidrojen içeriğinin zamanla arttığı ve yaklaşık olarak 250-300 dakikalık bir süre sonunda, hidrojen gazı çıkışının artış göstermeye başladığı görülmüştür. Ancak özellikle pH 6 ve 7'de, 7-8 saatten sonra hidrojen konsantrasyonu hızla azalmaya başlamıştır. pH 8 ve 9'da H_2 konsantrasyonu, pH 6 ve 7'ye kıyasla daha yüksektir. Ancak 24 saat sonunda bu pH değerlerinde de, H_2 azalmaya başlamıştır. pH 4 ve 5'de ise, 2. günden sonra hidrojen konsantrasyonu azalma göstermiştir. pH 5'de, en yüksek H_2 gazı konsantrasyonu okunmuştur. H_2 gazı çıkışı, pH 4'e kıyasla daha yüksek seviyede kalmış ve daha uzun süre devam etmiştir. Genel olarak bakıldığında, hidrojen içeriği zamanla monoton olarak azalmış ve 3 günün sonunda hemen hemen tüm pH değerlerinde, 1000 mL/m³'ün altına düşmüştür.

Şekil 4.23, anaerobik fermantasyon çalışmaları süresince reaktörde açığa çıkan metan konsantrasyonunu vermektedir. Tüm pH çalışmalarında, birinci günün sonunda metan konsantrasyonunda etkili bir artış gözlenmiştir. pH 6'da 1725. dk'da

yaklaşık 90000 mL/m³ metan üretimi olmuştur ve bu bütün testlerde elde edilen en yüksek konsantrasyondur. İkinci günün sonunda atıksu çamurundan üretilen metan miktarı, Şekil 4.23’den görüldüğü gibi pH 6>pH 9>pH 7>pH 5>pH 8>pH 4 şeklinde bir sıralama göstermiştir. pH 6, 7 ve 9’da CH₄ konsantrasyonu da, en yüksek seviyededir. Metan bakterilerinin ortamda aktif olması, reaktörde oluşan H₂ gazının tükenmesine sebep olduğu için hidrojen gazı konsantrasyonu kısa sürede azalmıştır. Sonuçta atık çamur hidrojen üretmesine rağmen, atık çamur içerisinde bulunan mikroorganizmalar hidrojeni hızlıca tüketmiştir.



Şekil 4.23. 45±1°C’de farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan anaerobik fermentasyon çalışmaları sonucunda elde edilen metan konsantrasyonları.

Çizelge 4.13’de, yaklaşık olarak 66 saatlik fermentasyon süresi sonunda ortaya çıkan [ÇKOİ/TKOİ] (%) oranları hesaplanmış ve fermentasyondan önce hesaplanan değerlerle karşılaştırılmıştır. Fermentasyon süresince [ÇKOİ/TKOİ] (%) oranındaki değişimin hidrojen gazı çıkışı üzerinde etkisinin olup olmadığını değerlendirmek için, Çizelge 4.13’de elde edilen veriler ile Şekil 4.22’deki hidrojen konsantrasyon grafiği arasında bir karşılaştırma yapılmıştır. pH 8 dışındaki diğer tüm testlerde, [ÇKOİ/TKOİ] oranı %20’nin üzerine çıkmıştır. pH 8’de ise, bu oran % 13,33’dür. pH 8’de oran diğerlerine göre düşük olmasına rağmen, hidrojen konsantrasyonu daha

yüksektir. pH 7’de ise, hidrojen gazı konsantrasyonu en düşük seviyededir. Elde edilen sonuçlardan, ÇKOİ/TKOİ oranındaki artış ile hidrojen gazı konsantrasyonundaki artışın doğru orantılı olmadığı anlaşılmaktadır. Bu yüzden atıksu çamurundan salınan organik maddenin hemen hepsinin, anaerobik fermantasyonla hidrojene kolaylıkla dönüşmediği anlaşılmaktadır. Wang ve diğ. (2003a), *Clostridium bifermentans* ile atıksu çamurundan biyohidrojen üretimi konusunda yaptıkları çalışmada benzer bulgular rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.13. Farklı başlangıç pH değerlerinde fermantasyondan önce ve fermantasyondan sonra karışım sıvısındaki [ÇKOİ/TKOİ] (%)’si.

pH	Fermantasyondan önce ÇKOİ/TKOİ (%)’si	Fermantasyondan sonra ÇKOİ/TKOİ (%)’si
4	3,08	25,45
5	1,17	25,45
6	0,78	20,00
7	1,35	26,13
8	0,50	13,33
9	4,00	22,22

Bilindiği üzere organik atıksu ya da atık biyokattının anaerobik fermantasyon prosesi hidroliz, asidifikasyon ve metan üretimi olmak üzere üç aşamadan meydana gelmektedir. Asidifikasyon safhasında, H₂ üretimi meydana gelir ve pH değeri biyohidrojen fermantasyonunu etkileyecek önemli faktörlerden biridir. Hidroliz safhasında, pH azalır. Asidifikasyon yani hidrojen üretim safhasında ise, pH artar ve sabit kalır.

Chen ve diğ. (2002) raporuna göre, uygun pH seviyesi gecikme süresini kısaltmalı ve anaerobik mikroorganizmaların ortama alışmasında etkili olup, hidrojen üretimi için faydalı olmalıdır. Chen ve diğerlerine göre, pH 6,5-7,0 hidrojen üretimini artırmak için en iyi seviyedir. Cai ve diğ. (2004), 125 mL hacimli serum şişesinde 50 mL çalışma hacmi ile çalışmışlardır. Substrat olarak atıksu çamuru kullanılarak ekstra bir nütrient ya da aşı ilavesi yapılmadan, 36±1°C’de 150 rpm’de pH 3-12,5 arasında çalışılmıştır. Başlangıç pH değeri, 7-12,5 arasında iken çalışma sonunda pH değerinin azaldığı; fakat 3-6 arasındaki pH’larda, başlangıç pH değerinin arttığı görülmüştür.

Aynı şekilde 45±1°C’de yapmış olduğumuz fermantasyon denemeleri sonucunda, başlangıç pH değeri 7-9 arasında iken fermantasyon sonunda pH

değerinin azaldığı (Çizelge 4.10-4.12); fakat 4-6 arasındaki pH'larda, başlangıç pH değerinin arttığı (Çizelge 4.7-4.9) görülmüştür. Biyohidrojen fermentasyonu süresince organik maddelerin ÇKOİ konsantrasyonundaki artışın sonucu olarak, UYA ve NH_4^+ -N konsantrasyonu arttığı için pH'daki farklı değişimler çamur örneklerinin ÇKOİ konsantrasyonu ile ilişkilidir (BenYi ve JunXin, 2009).

Yaklaşık 2 ila 3 saatlik süre sonunda bütün testlerde, H_2 üretilmeye başlanmıştır. Başlangıç pH'sına bağlı olarak hidrojen üretimleri birinci günün sonunda $\text{pH } 5 > \text{pH } 8 > \text{pH } 4 > \text{pH } 9 > \text{pH } 6 > \text{pH } 7$ şeklinde değişmiştir. Maksimum verim fermentasyonun 1410-1830. dakikaları arasında pH 5'de elde edilmiştir ($92894 \text{ mL/m}^3 \text{ H}_2$). Fakat reaktörün üst kısmında biriken hidrojen, fermentasyon süresinin devamında (2. günden sonra) hidrojen tüketiciler tarafından tüketilmiştir. pH 6, 7 ve 9'da ilk 4 saatten sonra, reaktördeki hidrojen miktarında hızlı bir tüketim olmuştur. Aynı zamanda en yüksek metan üretimi de, sırasıyla pH 6, 9 ve 7'de gözlemlenmiştir. Hidrojen gazı üretim ve tüketim sıralaması değerlendirildiğinde, başlangıç pH değeri 5 iken yapılan çalışmada daha iyi sonuç alındığı görülmüştür. pH 8'de de, hidrojen üretimi gerçekleşmiştir. Ancak oluşan hidrojen, kısa sürede hızlı bir azalma eğilimi göstermiştir. Literatürde bu konuda yapılmış olan çalışmalar da, elde ettiğimiz sonucu destekler niteliktedir. Fermentatif H_2 üretimi konusunda yayınlanan çalışmaların çoğunda, pH değeri 5-6 arasında tercih edilmiştir (Nicolau ve diğ., 2008).

pH değeri, atıksu çamurunun yapısında bulunan organik maddelerin çözünür duruma geçmesinde etkilidir. Bu çalışmada, pH 5'de diğer pH değerlerine kıyasla daha yüksek çözünürlük elde edilmiş (protein, karbonhidrat ve KOİ) ve arıtma çamurundan biyohidrojen üretimi için, daha fazla çözünebilir organik madde sağlanmıştır. Bu da, pH 5'de elde edilen hidrojen üretimini artırmıştır. Ayrıca 6,3'den daha düşük ortam pH'sında, metanojenez aktivitesi azaldığı ya da durduğu için pH 6'nın altında, metanojenlerin aktivitesinin inhibe olması beklenir. Beklenildiği üzere, pH 4 ve 5'de metan konsantrasyonu düşük seviyede kalmıştır (Şekil 4.23).

Üzerinde durulan tüm bu bilgiler ve Şekil 4.22'de verilen hidrojen üretim grafiği göz önüne alındığında, bundan sonraki çalışmalara $45 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve pH 5'de devam edilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

4.2 Aşı Mikroorganizma İlavesinin Biyohidrojen Üretimine Etkisi

Çalışmada karanlık fermantasyon denemeleri için öncelikli olarak, Samsun Otat Süt Ürünleri Üretim Tesisi'ne ait anaerobik atıksu arıtma ünitesinden, temin edilmiş olan atıksu kullanılmıştır. Bu atıksu içindeki mikroorganizmalar, anaerobik aşı mikroorganizma olarak kullanılmış fakat verimde herhangi bir artış gözlenmemiştir. Bunun üzerine Aksaray SÜTAŞ entegre tesislerinden elde edilen, iki farklı karışık anaerobik kültür aşı olarak kullanılmıştır. Kullanılan aşı kültür, tesiste bulunan SKTR reaktörden ve yaklaşık 6 aydır devrede olan katı atık bertaraf tesisinde 30 gün bekletilmiş fermante gübre (hayvan gübresi + aktif çamur) karışımından temin edilmiştir.

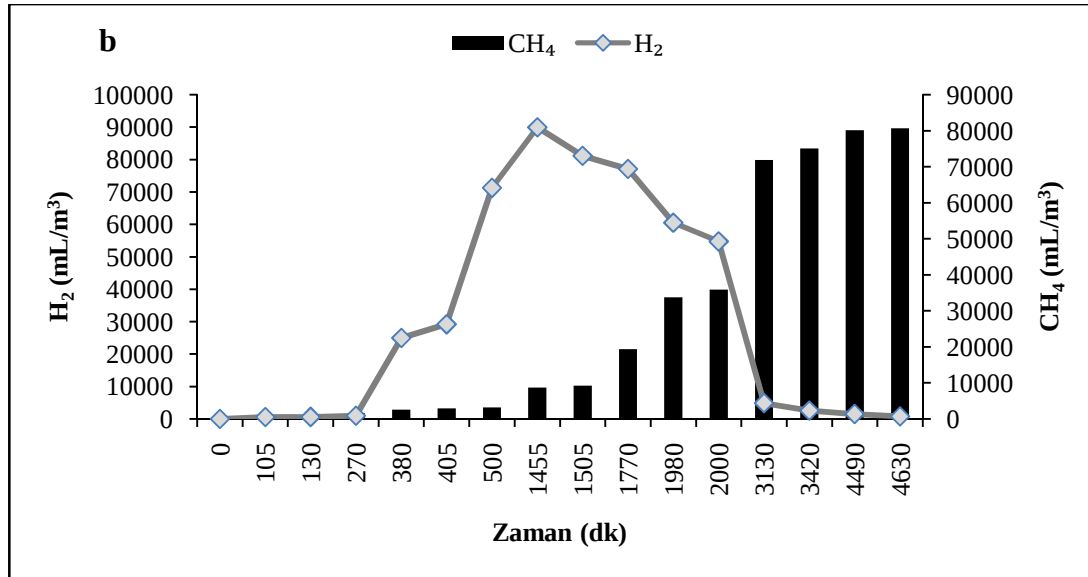
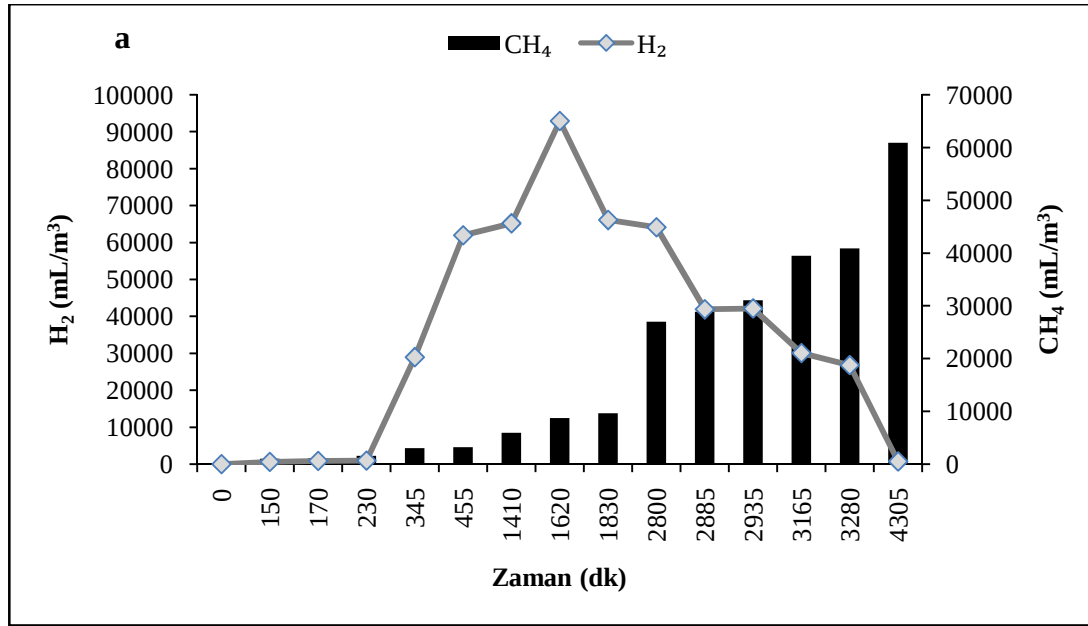
Aşı mikroorganizma temini için kullanılan anaerobik çamurların özellikleri, Çizelge 4.14'de verilmektedir. Çizelge 4.15'de ise, Otat'dan alınan atık su ile aşılanan atık aktif çamurun fermantasyonu sonucu elde edilen sonuçlar sunulmuştur. Atık aktif çamur ve Otat'dan alınan anaerobik atıksu karışımı ile yapılan anaerobik fermantasyon sonucunda, zamanla reaktörde oluşan hidrojen ve metan konsantrasyonları Şekil 4.24b'de verilmiştir. Sonuçlar, daha önce $45\pm 1^\circ\text{C}$ 'de pH 5'de yapılan fermantasyon çalışmasından elde ettiğimiz sonuçlar ile (4.24a) karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.14. Aşı mikroorganizma temini için kullanılan anaerobik çamurların özellikleri.

	Birim	Sütaş-Aksaray		
		Fermante gübre	Reaktör	Otat
pH	-	7,57	7,11	7,67
Tprotein	mg/L	26766,67	6625	21450
Çprotein	mg/L	173	3	10
Tkarbonhidrat	mg/L	11026,87	6395,83	1755
Çkarbonhidrat	mg/L	64,67	1,92	4,55
TKOİ	mg/L	34829,67	12653	6530,50
ÇKOİ	mg/L	967	59	88,16
TKM	mg/L	38116,67	5703,33	2715
TUKM	mg/L	24863,33	2113,33	95
TAKM	mg/L	47470	4770	460

Çizelge 4.15. Otat süt ürünleri üretim tesisinden temin edilen anaerobik atıksu ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	800	0	5,00	23650	365	1955,83	24,96	17298	592,7
105		110							
130		120							
270		170							
380		200							
405		220							
500	765	420	5,80	22050	814	1716,67	62,09	17780	1778,0
1455	730	520	5,96	19600	929	1579,19	98,08	14816	3556,0
1505									
1770									
1980	700		5,89	19600	923	1366,67	99,83	14816	2963,2
2000									
3130	670	550	5,84	19900	936	1408,34	111,83	14816	3556,0
3420		550							
4490		550							
4630		550	5,89	17650	850	1233,33	97,75	11853	4148,5



Şekil 4.24. a) Atık aktif çamur b) Atık aktif çamur + anaerobik atıksu ile anaerobik fermantasyon süresince reaktördeki hidrojen ve metan konsantrasyonları.

Şekil 4.24 (a, b)'de görüldüğü üzere Otat'dan alınan anaerobik atıksu ile yapılan aşılama işlemi (4.24b), sadece atık aktif çamur ile yapılan fermantasyon işlemine kıyasla (4.24a) verim de az da olsa azalmaya yol açmıştır. Ancak H₂ üretiminin hızlandığı 4.24b'de, 4.24a'ya göre daha kısa sürede 90000 mL/m³ civarında H₂ üretimi olmuştur. Aslında her iki çalışmada da, ilk 4 saatten sonra reaktördeki hidrojen konsantrasyonu artmaya başlamıştır ve 24 saat sonunda maksimum değere ulaşılmıştır. Ancak anaerobik atıksu ile yapılan çalışma, metan konsantrasyonunda daha hızlı bir artış gözlenmesine sebep olmuştur. Ortamdaki

metan bakterilerinin artmasıyla gözlemlenen bu artış ile birlikte, reaktörün üst kısmında biriken hidrojen 2. günün sonunda hızla tükenmeye başlamıştır. ~3. günde herhangi bir aşılama yapılmayan reaktörde, CH₄ konsantrasyonu ~61000 mL/m³ iken, aşılama yapılan reaktörde bu değer ~81000 mL/m³'dür. Sonuç olarak Otat'dan alınan atıksu ile yapılan aşılama sonucunda verimde istenen artış sağlanmadığı için, Aksaray Sütaş tesislerinden temin edilen aşı kültür ile çalışmalar tekrarlanmıştır.

Bu amaçla atık aktif çamurdan biyohidrojen üretimi üzerine, iki farklı tipteki karışık kültür ile yapılan aşılamanın etkisi araştırılmıştır. Aşı kültürlerin hazırlanışı ve temini, Bölüm 3.3'de verilmiştir. Kullanılan karışık kültürler ile yapılan denemeler sonucunda elde edilen sonuçlar sırasıyla;

- SKTR tank reaktöründen alınan karışık anaerobik kültür + aktif çamur (Set 1)

Çizelge 4.16,

- Fermante gübre + aktif çamur (Set 2) Çizelge 4.17,

- Isıl işlem görmüş fermante gübre + aktif çamur (Set 3) Çizelge 4.18

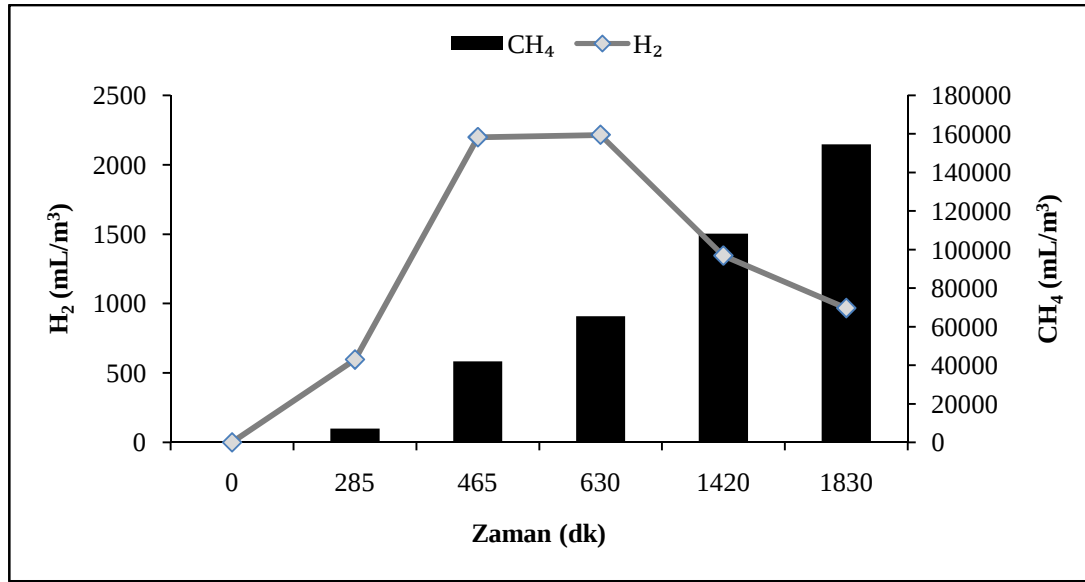
- Fermante gübre ve aktif çamur karışımına ısıtma işlemi uygulaması (Set 4)

Çizelge 4.19'da sunulmuştur. Her bir sette fermentasyon süresince ölçülen hidrojen ve metan konsantrasyonları ise, sırasıyla Şekil 4.25, 4.26, 4.27 ve 4.28'de verilmiştir.

Hidrojen ve metan üretimlerinin yanı sıra protein, karbonhidrat ve KOİ gibi parametrelerdeki değişimler de incelenmiştir. Çizelge 4.17, 4.18 ve 4.19 bir arada incelendiğinde görülüyor ki, sadece anaerobik kültüre ya da aktif çamur ve anaerobik kültür karışımına ön işlem uygulamak karışım içinde izlenen parametrelerde konsantrasyon artışına yol açmıştır. Çünkü ısıtma işlemi sırasında gerçekleşen hidroliz aşaması, çamurun yapısında bulunan organik maddelerin salınımını kolaylaştıracaktır. Set 2, set 3 ve set 4'de yapılan çalışmalarda başlangıç aşamasında toplam ve çözünmüş protein, karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonlarındaki artış hidroliz işleminin bir sonucudur. Ancak tek başına konsantrasyondaki artış, H₂ üretimini artırmaya yetmemiştir. Daha önce de belirtildiği üzere karışım içindeki mikroorganizmaların faaliyetleri de, H₂ üretimi için oldukça önemlidir.

Çizelge 4.16. Süttaş-SKTR reaktörden temin edilen anaerobik çamur ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon başlangıcında ve sonunda reaktörde okunan değerler.

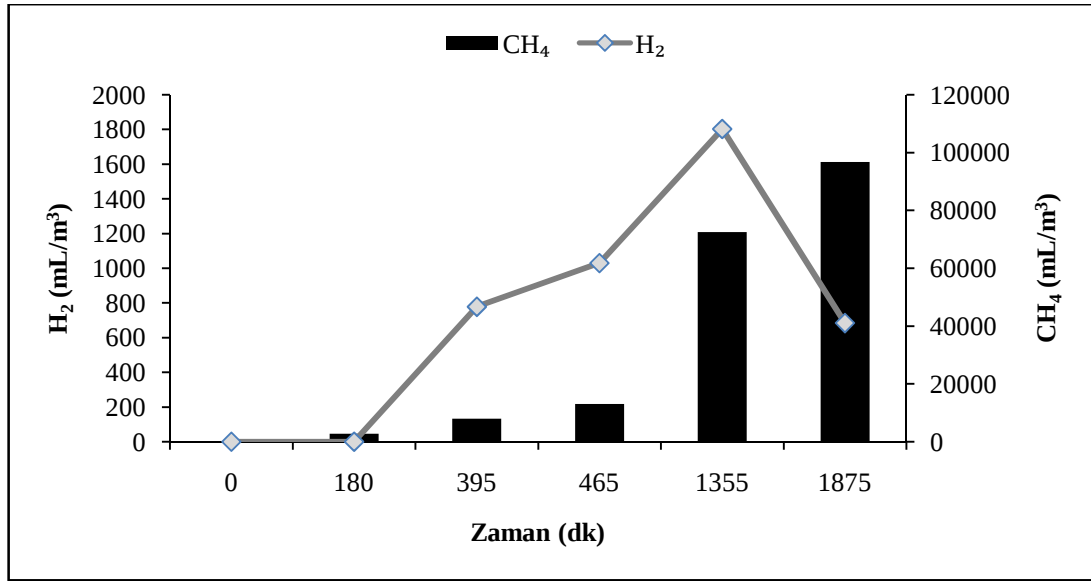
Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	800	0	5,00	6350	231	1483,34	14,58	17959,5	571
285		210							
465		310							
630		360							
1420		460							
1830		460	5,99	4300	470	1270,84	49,75	13061	2286



Şekil 4.25. Set 1'de fermentasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.

Çizelge 4.17. Süttaş fermante gübre karışımından temin edilen anaerobik kültür ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon başlangıcında ve sonunda reaktörde okunan değerler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	800	0	5,00	10500	478	1925	29,08	16327	718
180		210							
395		320							
465		340							
1355		510							
1875		510	5,92	8250	770	1675	81,33	14285,5	2327



Şekil 4.26. Set 2’de fermantasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.

Aksaray Sütüş tesislerinden temin edilen, iki farklı aş kültür ile çalışmalar yürütülmüştür. Fermantasyon sırasında oluşan hidrojen ve metan konsantrasyonlarının gösterildiği Şekil 4.25 ve Şekil 4.26 incelendiğinde, hidrojen konsantrasyonunun Set 1’de ilk 8 saat içinde, Set 2’de ise ~23 saat içinde maksimum değere ulaştığı, sırasıyla 2215 mL/m³ ve 1803 mL/m³, ve ardından azalmaya başladığı görülmektedir. Ayrıca birinci günün sonunda, oldukça yüksek seviyede metan gazı çıkışı olmuştur. Bu durum, anaerobik çamur içinde metan bakterilerinin yüksek konsantrasyonlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Özellikle Set-1’de metan gazı çıkışı daha yüksek seviyede ve hızlı bir şekilde artarak, 1830 dakika sonunda 154648 mL/m³ seviyesine ulaşmıştır. Fermantördeki yüksek metan gazı, metan bakterilerinin Set-1’de daha aktif olduğunu göstermektedir. Fermantasyon süresince okunan H₂ ve CH₄ konsantrasyonları ve Çizelge 4.14 göz önünde tutularak, çalışmaya fermante gübre ile devam edilmesine karar verilmiştir. Çünkü mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu besin maddelerinin ortamda yüksek konsantrasyonlarda bulunması ve mikroorganizma yoğunluğunu gösteren toplam katı madde ve toplam askıda katı madde konsantrasyonları, fermante gübre karışımında oldukça yüksektir.

Çizelge 4.18. 100°C'deki su banyosunda 2 saat ısıtılma tabi tutulan fermante gübre ile yapılan aşılama sonucunda fermentasyon süresince reaktörde okunan değerler.

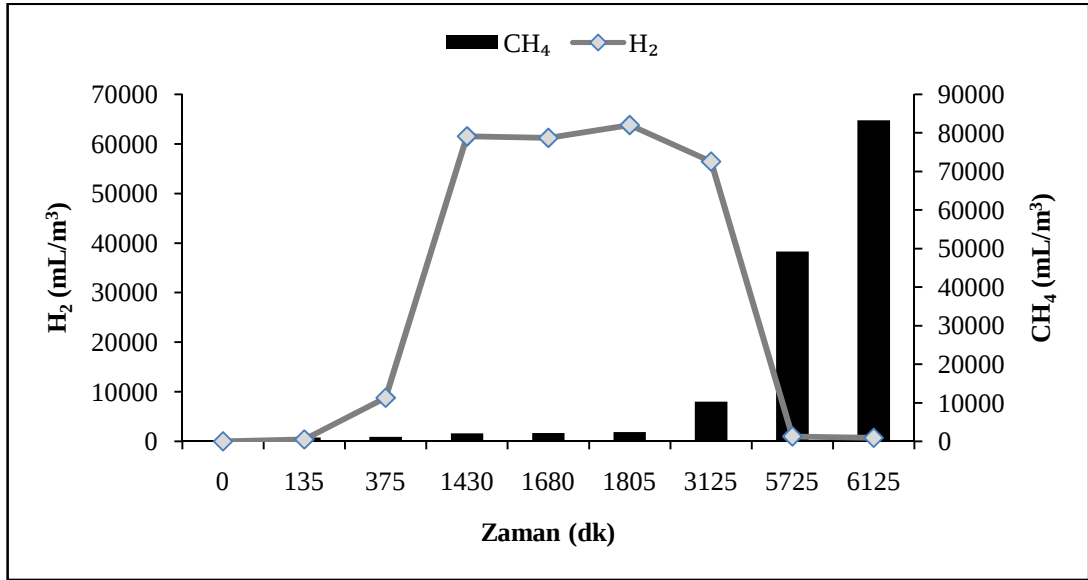
Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	800	5,00	12000	710	2229,17	43,33	18225	862
135								
375								
1430	770	5,88	7400	966	1666,67	100,25	17960	2286
1680								
1805	740	5,79	9000	859	1658,33	85,75	16327	3135
3125	710	5,83	9400	961	1670,84	54,50	16327	4963
5725								
6125		5,92	9400	1114	2133,33	30,83	15347	3265

Çizelge 4.19. 100°C'deki su banyosunda 2 saat ısıtılma tabi tutulan fermante gübre ve atık aktif çamur karışımı ile yapılan fermentasyonda çalışma süresince reaktörde okunan değerler.

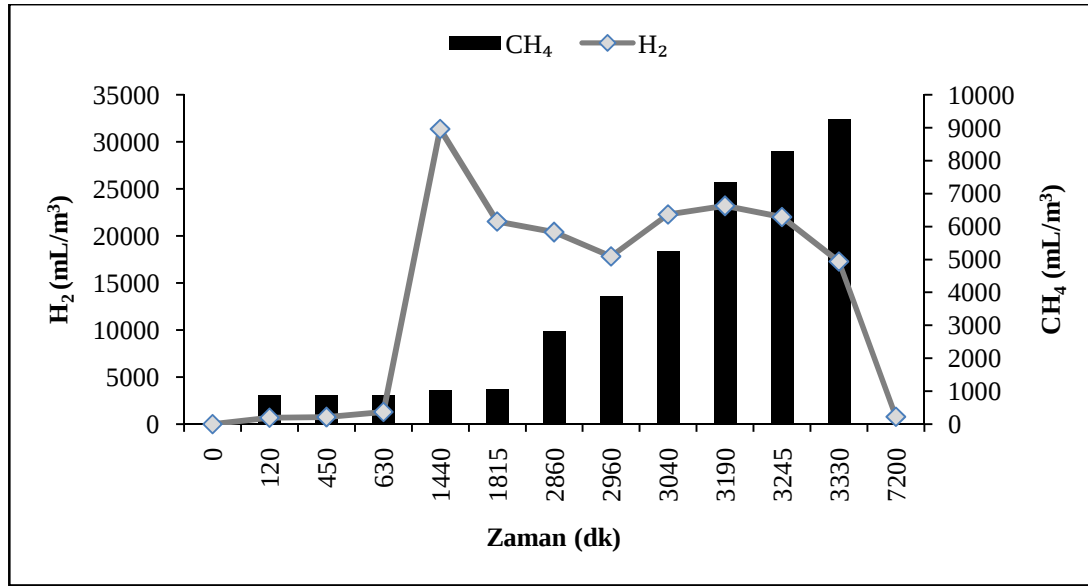
Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L
0	800	5,00	14400	1520	2616,67	152	19918	1620
120								
450								
630								
1440	770	5,86	10050	2028	1762,50	*	15020	2377
1815								
2860	740	5,94	9100	1228	2095,83	194	14530,5	2403
2960								
3040								
3190								
3245								
3330	710	6,13	6400	1252	2166,67	190	16326,5	*
7200		6,32	6900	672	1550,00	95	18939,0	2038

Çizelge 4.18 ve 4.19'da, anaerobik aşılamanın etkisi iki farklı şekilde değerlendirilmiştir. Çizelge 4.18'de 720 mL atık aktif çamur içerisine, 100°C'de 2 saat ısıtılma işleminden geçirilmiş fermante gübreden 80 mL ilave edilmiştir. Çizelge 4.19'da ise 720 mL atık aktif çamur ve 80 mL fermante gübre karıştırılmış ve karışım 100°C'de 2 saat ısıtılma tabi tutulmuştur. İki farklı uygulama sonucunda

açığa çıkan hidrojen ve metan konsantrasyonlarının değişimi, sırasıyla Şekil 4.27 ve Şekil 4.28’de sunulmuştur. Görüldüğü üzere sadece aşılama için kullanılan fermante gübreye ön işlem yapıldığında, birinci günün sonunda 61533 mL/m³ hidrojen gazı çıkışı olmuştur ve 30. saate kadar hidrojen gazı konsantrasyonu artarak devam etmiştir. 50 saatlik fermantasyon süresinden sonra ise, hidrojen konsantrasyonu azalmaya başlamıştır. Karışıma ısıtma işlemi uygulandığında ise, Şekil 4.28’de görüldüğü gibi birinci günün sonunda hidrojen konsantrasyonu ilk duruma kıyasla yarıya düşerek 31363 mL/m³ seviyesine inmiştir. 24 saatlik süre sonunda hidrojen gazı çıkışı azalmaya başlamış, 50. saatte tekrar bir artış gözlenmiş ancak sonraki okumalarda gittikçe azalan bir hidrojen grafiği izlenmiştir. Şekillerden de görüldüğü üzere sadece aşılama yapılan ısıtma işlemi, karışıma uygulanan ısıtma işlemine kıyasla verimin daha iyi çıkmasına neden olmuştur.



Şekil 4.27. Set 3’de fermantasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.



Şekil 4.28. Set 4'de fermantasyon süresince okunan hidrojen ve metan konsantrasyonları.

Şekil 4.27 ve Şekil 4.28 metan üretimleri açısından kıyaslandığında, her ikisinde de paralel bir artış olmasına rağmen 2. günün sonunda birinci çalışmada, CH₄ üretiminin biraz daha yüksek seviyede olduğu görülmektedir. Ancak ikinci günden sonra metan konsantrasyonunun çok hızlı arttığı, 5 gün sonunda oldukça artarak 212768 mL/m³ seviyesine yükseldiği görülmüştür. Bu artış ise hidrojen gazı çıkışını olumsuz yönde etkilemiştir.

Set 2, set 3 ve set 4'de yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, uygulanan yöntem ve yapılan ön işlem bir arada değerlendirilmiştir. Aşı olarak kullanılan anaerobik kültüre herhangi bir ön işlem yapmadan substrata ilave ettiğimizde, anaerobik kültür içinde bulunan metan bakterileri oldukça yüksek konsantrasyonda olduğu için oluşan hidrojenin çok hızlı bir şekilde tüketildiği görülmektedir. Böyle bir durumda ~24 saat sonunda okunan hidrojen konsantrasyonu, sadece 1803 mL/m³'dür.

Set 3'de, anaerobik kültür içindeki anaerobik mikroorganizmaları öldürmek için ısıl işlem uygulanmış ve ardından substrat ile karıştırılıp fermantasyon işlemi başlatılmıştır. Bu durumda, 24 saat sonunda okunan değer 34 kat artarak 61533 mL/m³H₂ seviyesine ulaşmıştır.

Set 4 de ise, substrat ve anaerobik kültür karışımı ısıl işleme tabi tutulmuş elde edilen sonuç set 3'e kıyasla yarı yarıya azalarak 31363 mL/m³H₂'ye düşmüştür. Bu sonuç bize literatürde verilen bilgilerin aksine ısıl işlem uygulamasının, hidrojen

üreten mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetleri üzerinde de etkili olduğunu göstermektedir. Buradaki temel amaç metanojen bakterileri yok etmektir. Ancak atık çamur içerisinde bulunan hidrojen üreten mikroorganizmalar da zarar görmüştür.

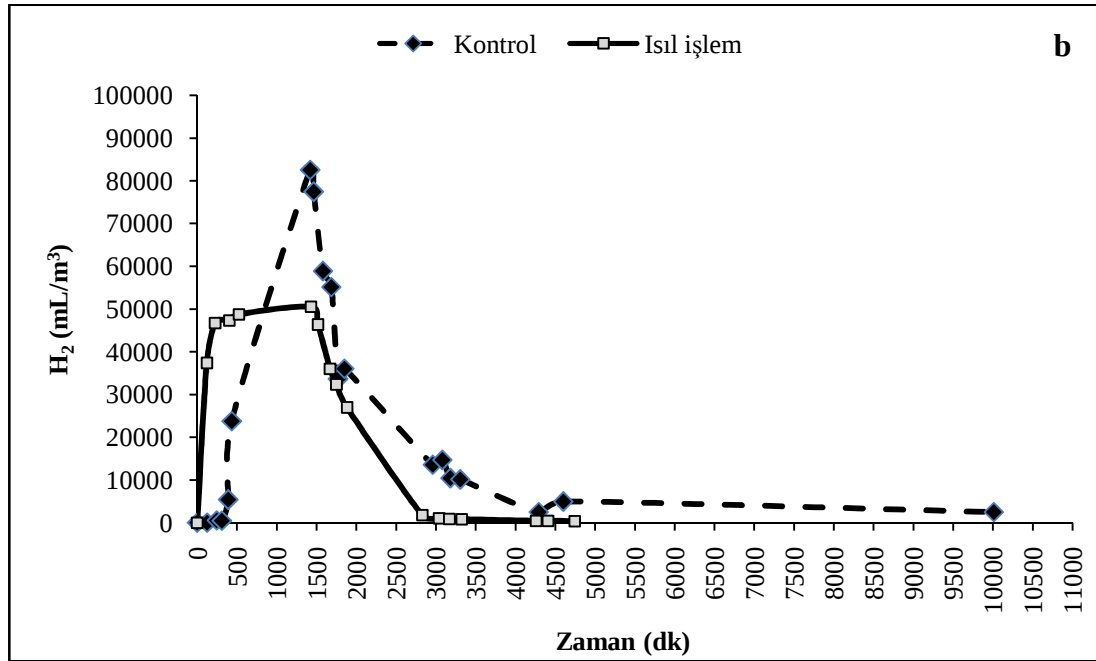
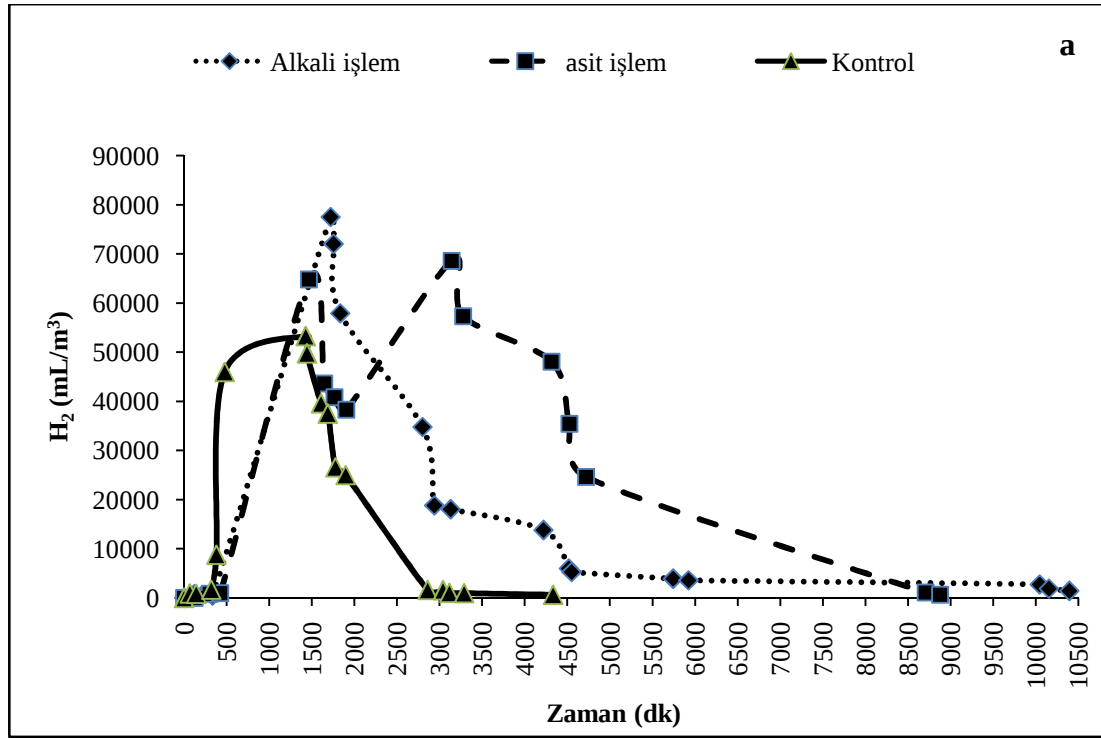
Sonuç olarak değerlendirildiğinde, atık aktif çamura anaerobik mikroorganizma ilavesinin hidrojen gazı verimini azalttığı, metan gazı konsantrasyonunu artırdığı, anaerobik kültürün ön işlemden geçirilmesi durumunda bile sadece atık aktif çamurun fermantasyonuna kıyasla hidrojen gazı çıkışının daha düşük seviyede kaldığı görülmektedir. Elde edilen hidrojen gazı konsantrasyonunu artırmaya yönelik olarak yapılan aşılama işleminden, istenilen sonuç alınamadığı için sadece atık aktif çamur ile çalışılmasına ve atık çamura farklı ön işlemler uygulayarak verimin artırılması yoluna gidilmesine karar verilmiştir.

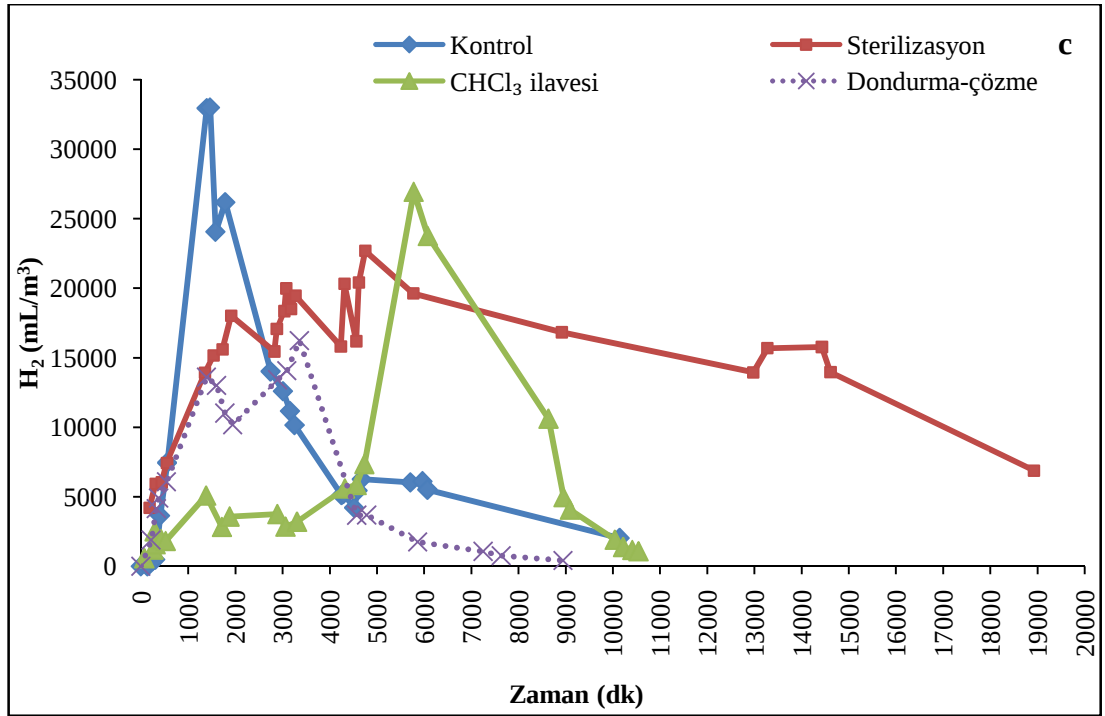
4.3 Biyohidrojen Üretim Verimleri ve Atık Aktif Çamurun Çözünübilirliği Üzerine Uygulanan Ön İşlemlerin Etkisi

Bu bölüm, biyohidrojen üretim verimi üzerine ön işlemlerin etkisi ve atık çamurun çözünübilirliği üzerine uygulanan ön işlemin etkisi olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Atık aktif çamura asidifikasyon, bazifikasyon, sterilizasyon, ısıl işlem, dondurma-çözme ve metanojenik inhibitör ilavesi gibi farklı ön işlemler uygulanmıştır. Ayrıca atık çamurun başlangıç değerlerini belirlemek için, kontrol reaktörü de kullanılmıştır. Kontrol için kullanılan reaktördeki atık aktif çamura, herhangi bir ön işlem uygulanmamıştır. Bu reaktör, atık çamurun başlangıç değerlerini belirlemek ve ön işlem uygulaması olmaksızın elde edilen biyohidrojen üretimini görmek için kullanılmıştır. Uygulanan her bir ön işlemin mekanizması farklı olduğu için, çamur üzerine bu ön işlemlerin etkisi de farklı olacaktır. Ortaya çıkan bu etkiler, ilerleyen sayfalarda iki bölüm halinde incelenmiştir.

4.3.1 Biyohidrojen üretim verimi üzerine ön işlemlerin etkisi

Uygulanan altı farklı ön işlem ardından reaktörlerde açığa çıkan H_2 ve CH_4 değerleri, kontrol amaçlı hazırlanan reaktörlerden elde edilen sonuçlar ile kıyaslanmıştır. Şekil 4.29'da atık çamura uygulanan farklı ön işlemlerin ardından fermantasyon süresince ölçülen H_2 konsantrasyonları, Şekil 4.30'da ise CH_4 konsantrasyonları verilmiştir.





Şekil 4.29. c) Sterilizasyon, dondurma-çözme ve CHCl₃ ilavesi ile ön işlem uygulaması sonrasında fermentasyon süresince ölçülen H₂ konsantrasyonları

Şekil 4.29'da verilen H₂ üretim grafikleri incelendiğinde işlem görmemiş ham atık aktif çamurla kıyaslandığında, asidik ve bazik ön işlem uygulanan atık çamurdan daha iyi verim alındığı görülmektedir (Şekil 4.29a). Bir günün sonunda işlem görmemiş atık çamurda okunan H₂ değeri 53256 mL/m³ iken, asidik ön işlem uygulamasından sonra 64806 mL/m³, bazik ön işlemde ise 77495 mL/m³ olmuştur. Her üç reaktörde de H₂ gazı çıkışı, hemen hemen aynı zamanda başlamıştır. Ancak ön işlem uygulanmayan reaktördeki H₂ çıkışı, birinci günün sonunda direk azalmaya başlamış ve 2. günde neredeyse tamamen bitmiştir. Diğer reaktörlerde ise, H₂ gazı çıkışı dalgalanmalar göstermekle birlikte bir süre daha devam etmiştir.

Isıl işlem uygulamasından sonra, kontrol reaktörüne kıyasla gecikme süresi oldukça azalmış ve 2 saat gibi kısa bir sürede 37352 mL/m³ H₂ üretilmiştir (Şekil 4.29b). Ardından bu artış 24 saate kadar devam ederek 50564 mL/m³'e ulaşmıştır. ~32. saatten sonra H₂ azalmaya başlamış ve oldukça azalarak sabit kalmıştır. Kontrol reaktöründe ise, 2 saat sonunda H₂ çıkışı gözlenmemiştir. Ancak 4 saatlik fermentasyonun ardından, 553 mL/m³ H₂ çıkışı olmuştur ve bu değer 24 saat içinde 82545 mL/m³ seviyesine ulaşmıştır. Fermentasyonun ilerleyen safhalarında diğer çalışmalarda olduğu gibi H₂ azalmaya başlamış ve 3. günde artık iyice azalarak sabit

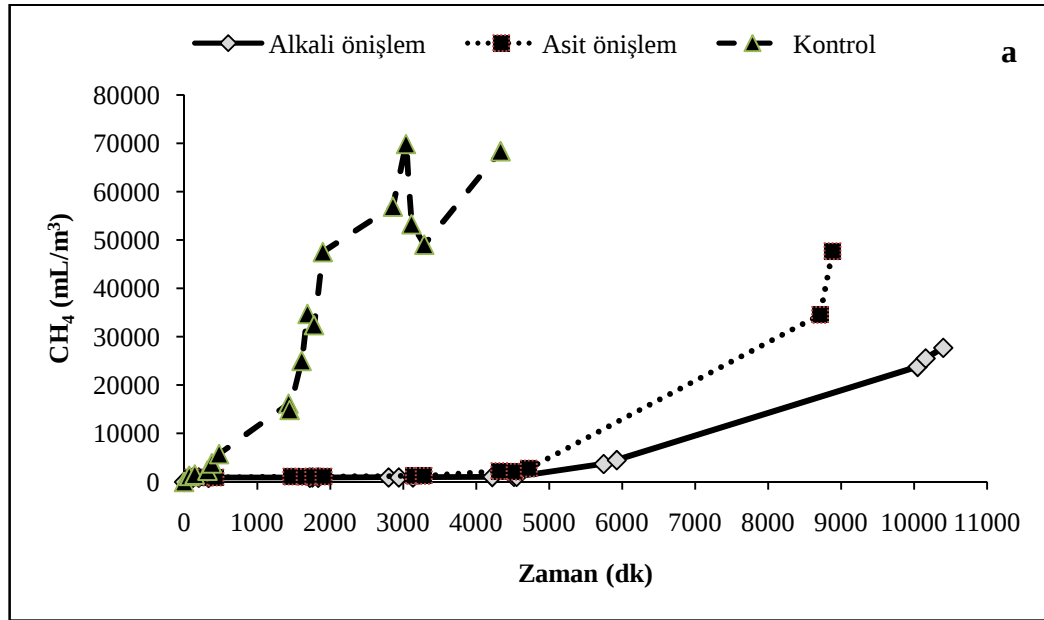
kalmıştır. Yani atık çamura uygulanan ısı işlem ardından, kontrol reaktörüne kıyasla daha fazla H_2 üretilmemiş, sadece gecikme süresinde azalma gözlemlenmiştir.

Üçüncü grafikte ise (Şekil 4.29c) sterilizasyon, dondurma-çözme ve atık çamura metanojenik inhibitör ilavesinden sonra, fermentasyon süresince reaktörlerde ölçülen H_2 değerleri verilmiştir. Ön işlem uygulaması ile birlikte reaktörlerde ilk 4-5 saat içinde oluşan H_2 , kontrol reaktörüne göre ~10 kat daha fazladır. Yani daha hızlı bir H_2 çıkışı olmuştur. Kontrol reaktöründe ilk 24 saatlik fermentasyondan sonra okunan H_2 değeri 33000 mL/m^3 , sterilizasyonda 15156 mL/m^3 , $CHCl_3$ ilavesinde 5081 mL/m^3 , dondurma-çözme işleminden sonra ise 13600 mL/m^3 'dür. Görüldüğü gibi ilk 24 saatlik fermentasyon sonunda, uygulanan hiçbir ön işlemin H_2 verimine olumlu bir etkisi olmamıştır. Sadece reaktörde H_2 'nin kalış süresinde farklılıklar gözlemlenmiştir. Ön işlem uygulanmayan reaktörde, H_2 24 saat sonunda pik yapmış ancak devamındaki fermentasyon sürecinde oluşan H_2 hızlı bir şekilde azalmıştır. 3. günde okunan değer, sadece 5115 mL/m^3 'dür. Buna karşın $CHCl_3$ ilavesi yapılan reaktörde 3. günden sonra H_2 oldukça artmış, 4. günde $\sim 27000 \text{ mL/m}^3$ H_2 üretilmiştir. Ancak daha sonra tekrar bir azalma gözlemlenmiştir. Aynı şekilde sterilizasyon uygulanan reaktörde de, H_2 gazı çıkışı dalgalanma göstermekle birlikte şekilden de görüldüğü gibi uzun süre devam etmiştir. Sonuçta anlaşıyor ki ön işlem uygulaması, H_2 gazı çıkışını artırmasa da daha uzun süre tükenmeden reaktörde H_2 oluşumunu sağlamıştır.

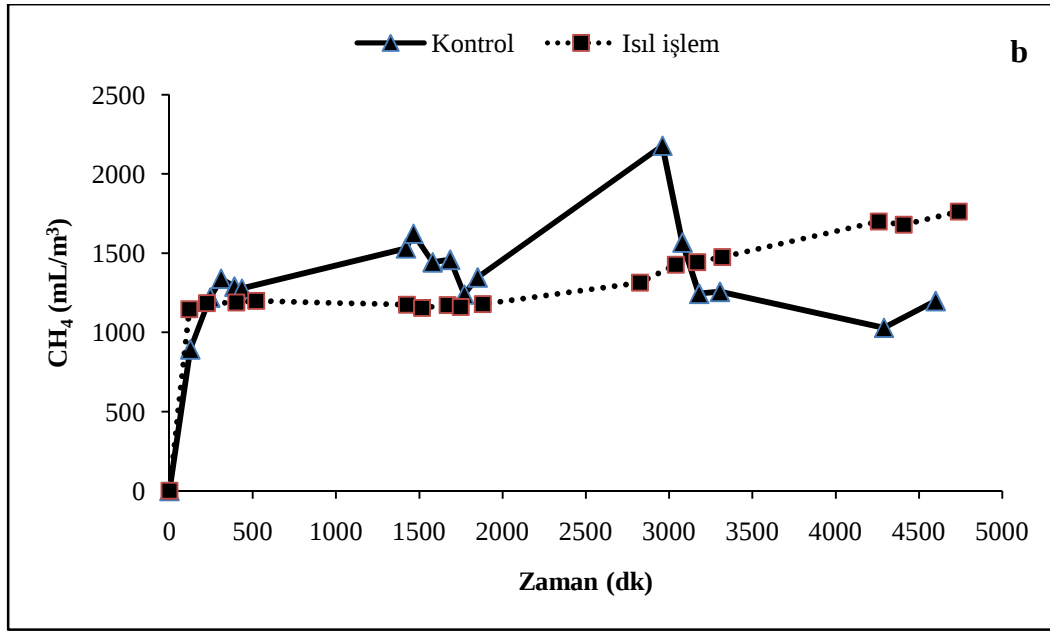
Reaktörün üst kısmında biriken hidrojen, anaerobik fermentasyonun ilerleyen aşamalarında tüketilir. Birçok araştırmacı, benzer sonuçları rapor etmiştir ve çamurun anaerobik fermentasyonunda asıl hidrojen tüketen aktivitenin metanojenez olduğuna inanılır (BenYi ve JunXin, 2009). Şekil 4.29'dan da görüldüğü üzere gaz safhadaki hidrojen konsantrasyonu, artan ve azalan bir eğri göstermektedir. Bu da üretilen hidrojenin önemli miktarının, bir şekilde tükendiği anlamına gelmektedir. Cheng ve diğ. (2000) yapmış oldukları çalışmada, anaerobik fermentasyon süresince benzer bir hidrojen tüketim safhası gözlemlenmiştir (Wang ve diğ., 2003a).

Şekil 4.29 (a, b, c)'da gösterilen kontrol çalışmalarının hepsi ön işlem görmeyen atık aktif çamur ile, $45\pm 1^\circ\text{C}$ 'de ve pH 5'de gerçekleştirilmiştir. Ancak her üç kontrol reaktörü için de 20-24 saatlik süreçte elde edilen maksimum H_2 konsantrasyonları (sırasıyla 53000, 82000, 33000 mL/m^3) oldukça farklılık göstermektedir. Aynı koşullarda çalışıldığı halde ortaya çıkan bu farklı sonuçlar,

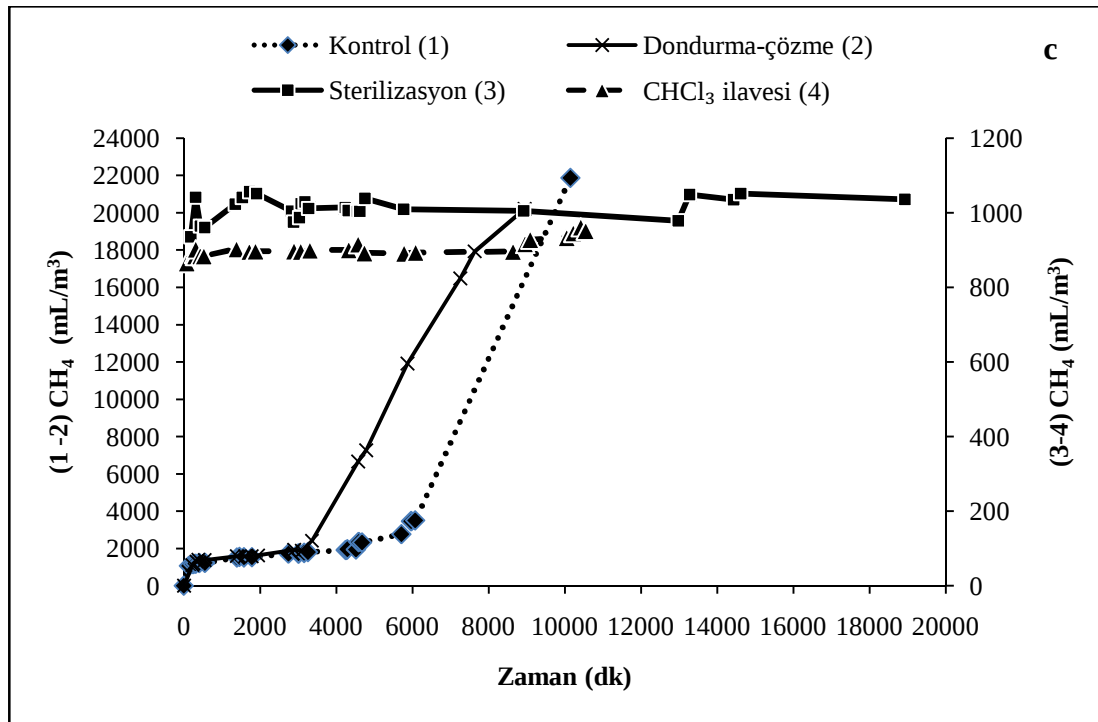
değişik zamanlarda alınmış olan atık çamurun karakteristiğindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Sonuçta her üç şekil de incelendiğinde H_2 üretimi açısından en iyi verimin, atık çamura alkali ve asit ön işlem uygulaması sonrasında elde edildiği görülmektedir. Aslında atık çamura uygulanan ön işlemler, hücre duvarını tahrip edip çözünemeyen maddelerin serbest hale geçmesinde ve çamur içindeki metanojenik bakterinin inaktive olmasında etkilidir (Ting ve Lee, 2007). Bu yüzden ön işlem uygulaması, H_2 üretimi için bir avantaj olarak gözükmektedir. Ancak sonuç her zaman beklendiği gibi değildir. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmada uygulanan ön işlemlerin hepsinde, biyohidrojen verimi açısından artış gözlenmemiştir. Bu çalışmada da olduğu gibi atık çamura uygulanan ön işlemler, biyohidrojen veriminin artışında çoğu zaman etkili olmayabilir.



Şekil 4.30. a) Asit ve alkali ön işlem uygulaması sonrasında fermantasyon süresince ölçülen CH_4 konsantrasyonları.



Şekil 4.30. b) Isıl ön işlem uygulaması sonrasında fermantasyon süresince ölçülen CH₄ konsantrasyonları.



Şekil 4.30. c) Sterilizasyon, dondurma-çözme ve CHCl₃ ilavesi ile ön işlem uygulaması sonrasında fermantasyon süresince ölçülen CH₄ konsantrasyonları

Şekil 4.30'daki zamana karşı metan grafikleri, ön işlemin etkisini açıkça ortaya koymuştur. İlk grafikte (Şekil 4.30a), asit ve alkali ön işlemin metan üretimine etkisi görülmektedir. Görüldüğü gibi atık çamura ön işlem uygulaması, CH₄ gazı çıkışını

oldukça azaltmış ve düşürmüştür. Genel olarak 4-6 günlük fermantasyondan sonra, reaktördeki CH_4 artmaya başlamıştır. Ön işlem uygulanmayan reaktörde ise, fermantasyon başlangıcından itibaren CH_4 artmaya başlamış ve fermantasyon süresince de bu artış devam etmiştir. ~51 saat fermantasyondan sonra, reaktördeki CH_4 konsantrasyonu $\sim 70000 \text{ mL/m}^3$ 'dür. Oysaki alkali ön işlem uygulamasında, 7. günde reaktördeki CH_4 27694 mL/m^3 , asit işlem uygulamasında ise, 6. günde 47704 mL/m^3 'dür. Uzun süreli fermantasyon sürelerinde bile kontrol reaktöründe okunan metan değerlerine ulaşılammıştır.

İkinci grafiğe geçtiğimizde (Şekil 4.30b), her iki reaktörde de ilk saatlerden başlayarak reaktördeki CH_4 konsantrasyonunun paralel bir şekilde arttığını görmekteyiz. Ancak fermantasyonun ilerleyen zamanlarında ön işlem uygulanmayan reaktörde, CH_4 daha hızlı bir şekilde artmıştır. Artışın ardından bir süre, reaktörde okunan CH_4 konsantrasyonu azalmıştır. Fakat fermantasyonun sonunda, tekrar artıp 7. günde reaktördeki CH_4 konsantrasyonu 5830 mL/m^3 olmuştur. Isıl işlem uygulanmış reaktörde ise, CH_4 konsantrasyonu zamanla düzgün bir şekilde artmıştır.

Şekil 4.30c ise, dondurma-çözme, sterilizasyon ve CHCl_3 ilavesi ile ön işlemde geçirilen atık aktif çamurların fermantasyonu süresince reaktörlerde oluşan CH_4 konsantrasyonlarını vermektedir. Sterilizasyon işlemi ve metanojenik inhibitör ilavesi, CH_4 konsantrasyonunu oldukça azaltmıştır. Her iki reaktörde de, 7-14 günlük fermantasyon sürecinde CH_4 konsantrasyonunda önemli bir artış görülmemiştir. 3 ve 4 numaralı reaktördeki CH_4 konsantrasyonu, fermantasyon süresince stabil kalmıştır. 2 nolu reaktörde ise, ikinci günden sonra reaktördeki CH_4 kontrol reaktörüne (1) kıyasla daha hızlı bir artış sergilemiştir. Sonuçta daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlardan da beklenildiği üzere ısı işlem, sterilizasyon ve metanojenik inhibitör ilavesinin CH_4 üretimini baskıladığı görülmüştür. Ancak reaktördeki CH_4 bakterilerinin azalması, H_2 üretimini artırmak için yeterli olmamıştır. Çünkü en yüksek H_2 konsantrasyonu, asit ve alkali ön işlem uygulamasından sonra elde edilmiş, diğer ön işlemler yetersiz kalmıştır.

4.3.2 Çamurun çözünürlülüğü üzerine uygulanan ön işlemlerin etkisi

Bu bölümde atık çamura uygulanan farklı ön işlemlerin, atık çamurun yapısında bulunan maddelerin çözünürlülüğü üzerine etkisi araştırılmıştır. Bilindiği üzere atık çamura uygulanan ön işlemler, flok yapının bir bölümünü ve çamurun mikrobiyal

hücresini dağıtır. Sonuçta bazı mikrobiyal maddeler suya salınırken, çözünemeyen formdan çözünebilir forma geçiş olur. Biyohidrojen üretimi için bu çözünebilir formdaki organikler, çok önemlidir. Hidrojen üreten mikroorganizmalar, hidrojen üretmek ve gelişmek için bu çözünebilir formdaki organikleri kullanırlar (BenYi ve JunXin, 2009).

Yukarıdaki açıklamadan da beklenildiği üzere uygulanan tüm ön işlemler (asidifikasyon, bazifikasyon, sterilizasyon, ısıl işlem, dondurma-çözme ve CHCl_3 ilavesi), Çizelge 4.20’de görüldüğü gibi atık çamur yapısında bulunan organik maddenin çözünebilir hale gelmesinde etkili olmuştur. Yapılan ön işlemler sonrasında, çözünmüş durumdaki protein, karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonu önemli oranda artmıştır. Toplam protein, karbonhidrat ve KOİ konsantrasyonu ise, artmış ya da önemli bir değişim göstermemiştir.

Toplanan örnek, heterojen yapıda olduğu için atık çamur testlerinde elde edilen büyük veri dalgalanmaları literatür çalışmalarında sıkça rastlanan ve rapor edilen bir durumdur. Benzer bir durum bizim sonuçlarımızda da gözlemlenmektedir.

Fermantasyondan önce atık çamurun sıvı safhasında çözünmüş haldeki protein ve karbonhidrat konsantrasyonu, Çizelge 4.20’de görüldüğü şekilde değişiklik göstermiştir. Daha önceden de belirtildiği üzere farklı zamanlarda tesisten alınan atık aktif çamurun kalitesi değişiklik gösterdiği için, çalışmalarda kullanılan işlenmemiş atık aktif çamurun başlangıçtaki çözünmüş madde konsantrasyonları farklıdır. Ancak asidifikasyon, bazifikasyon, ısıl işlem, dondurma-çözme, CHCl_3 ilavesi ve sterilizasyon ön işleminden sonra protein konsantrasyonu sırasıyla 1260, 5160, 1925, 480, 393, 2020 mg/L; karbonhidrat konsantrasyonu ise her bir ön işlem için sırasıyla 179, 588, 200, 37, 55 ve 223 mg/L seviyesine yükselmiştir.

Protein ve karbonhidrat, hidrojen üretimi için kullanılan biyokatıdan açığa çıkan esas nütrientlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmadan da görüldüğü üzere atık çamura uygulanan ön işlem, sıvı safha içerisine protein ve karbonhidratların salınımını artırmaktadır. Şekil 4.31 ve 4.32 incelendiğinde fermantasyon süresince de çözünür durumdaki protein ve karbonhidrat salınımının, alkali işlem uygulanan atık çamur dışında devam ettiği görülmektedir.

Çizelge 4.20. Çalışmalarda kullanılan ham (herhangi bir ön işleme maruz kalmayan) ve ön işleminden geçmiş atık aktif çamurun özellikleri.

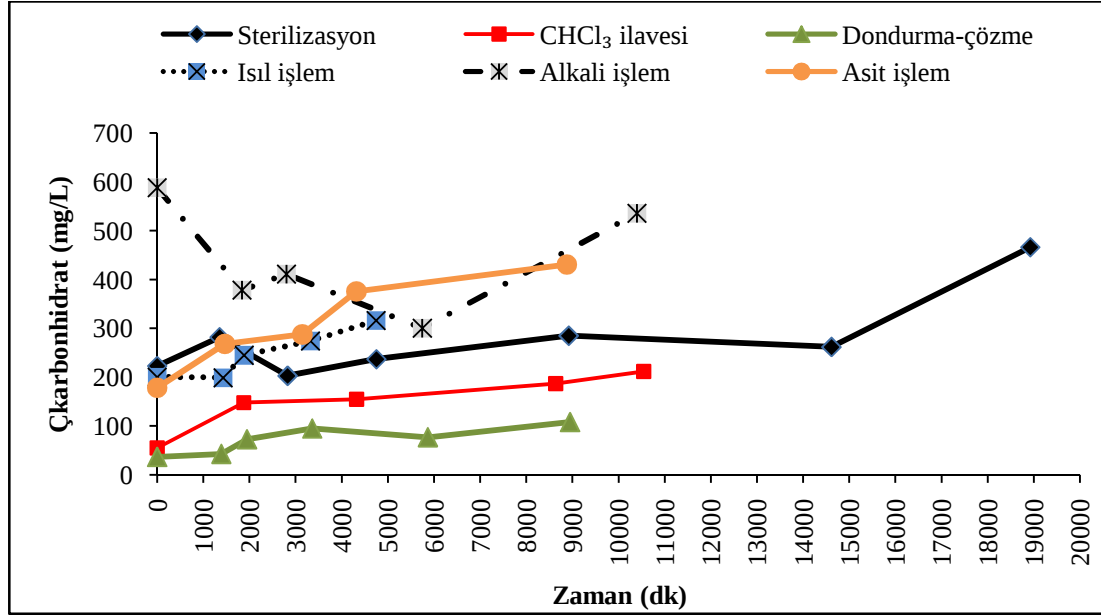
Parametre (mg/L)	Ham atık aktif çamur (I)	Asit ön işlem (Asidifikasyon)	Bazik ön işlem (Bazifikasyon)
TKOİ	21077	21384,5	16448,5
ÇKOİ	1415	2154	4785
Tprotein	17700	14250	15000
Çprotein	260	1260	5160
Tkarbonhidrat	2330,33	2300	2429
Çkarbonhidrat	47	178,5	588
TKM	22825±125	20526,67±219	21620±339
TUKM	15345±193	14373,33±481	11940±424
TUYA	984	1216	1170
pH	6,79	3,66	11,62

Parametre (mg/L)	Ham atık aktif çamur (II)	Isıl işlem
TKOİ	18823,5	15551,5
ÇKOİ	295	4905
Tprotein	17200	10650
Çprotein	171	1925
Tkarbonhidrat	1946	1571
Çkarbonhidrat	23	200
TKM	15743,33±614	15940±312
TUKM	10863,33±421	11360±197
TUYA	1072	1685
pH	6,59	6,27

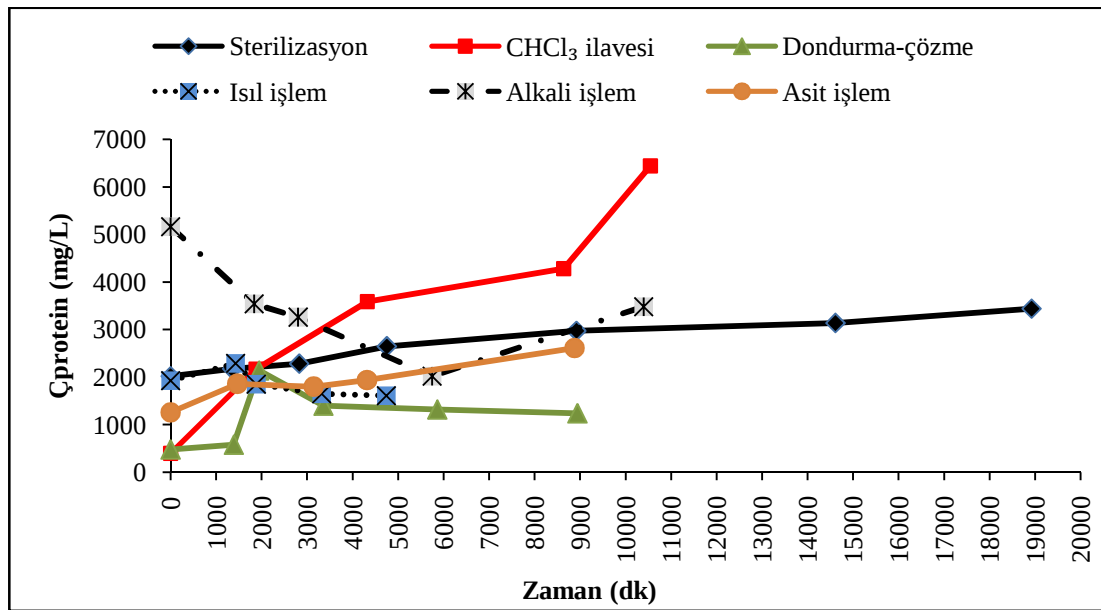
Parametre (mg/L)	Ham atık aktif çamur (III)	Dondurma- çözme	Metanojenik inhibitör ilavesi	Sterilizasyon
TKOİ	14815	29630	16667	13494
ÇKOİ	296	2370	788	3984
Tprotein	15750	17200	15850	18600
Çprotein	280	480	393	2020
Tkarbonhidrat	1347,33	3683	1500	1745,5
Çkarbonhidrat	31	37	55	223
TKM	14786,67±95	23360±162	16040±223	15800±271
TUKM	10760±122	16820±113	11506,67±293	11373,33±266
TUYA	1376	2496	8264	5088
pH	6,4	6,17	6,64	5,96

Ancak alkali işleminden geçen atık çamurun fermantasyonu ile birlikte açığa çıkan karbonhidrat, H₂ üretimi için kullanılmış ve karbonhidrat konsantrasyonu azalmaya başlamıştır. Alkali işlem uygulanan atık çamurun fermantasyonu süresince protein de, karbonhidrata benzer bir değişim göstermiştir (Şekil 4.31 ve 4.32). Diğer yöntemlerde karbonhidrat konsantrasyonundaki değişim sürekli bir artış gösterirken,

protein miktarı hidrojen üretim fermentasyonunun ilk aşamalarında tekrar artmıştır. Ancak fermentasyon prosesi ile birlikte protein, H₂ üretimi için kullanıldığından bir süre sonra konsantrasyon azalmaya başlamıştır. Bu da gösteriyor ki atık çamur içindeki protein, mikroorganizmaların besin ihtiyacı için karbondhidrata kıyasla daha çok tercih edilmektedir.



Şekil 4.31. Atık çamura uygulanan ön işlemler sonrasında zamanla çözünmüş karbondhidrat konsantrasyonundaki değişim.



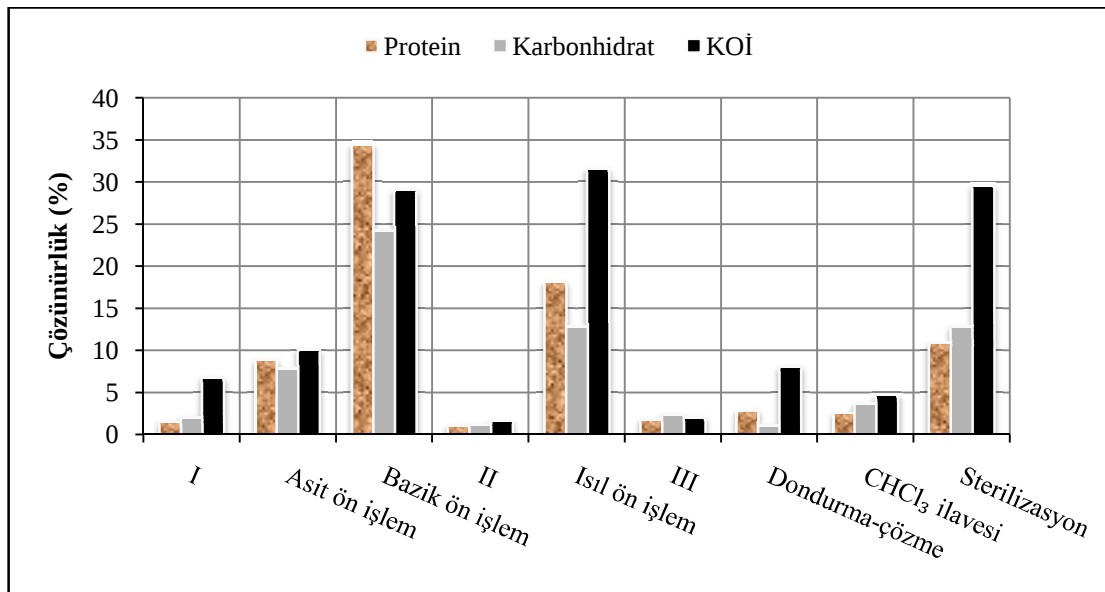
Şekil 4.32. Atık çamura uygulanan ön işlemler sonrasında zamanla çözünmüş protein konsantrasyonundaki değişim.

4.3.2.1 Çözünürlük oranları

Ön işlem görmemiş ve ön işleminden geçmiş atık çamurların başlangıç ÇKOİ değerleri artan bir değişim göstermiştir (Çizelge 4.20). Uygulanan ön işlemin KOİ çözünürlük verimleri, ısıl işlem>sterilizasyon>alkali işlem>dondurma-çözme>asit işlem>CHCl₃ ilavesi şeklinde sıralanmıştır. Ön işlem metotlarının KOİ çözünürlük verimlilikleri, çamura uygulanan ön işlemlerin hücre duvarını tahrip ettiğini ve çözünebilir maddenin daha verimli bir şekilde salındığını göstermiştir. Maksimum başlangıç ÇKOİ değeri, ısıl işlem uygulanan atık çamurda görülmüştür. Kontrol reaktöründe başlangıç ÇKOİ/TKOİ oranı %1,6 iken, ısıl işlem uygulamasından sonra %31,5'e yükselmiştir. Diğer uygulamalardan sonra elde edilen oranlar ise şu şekildedir:

İşlem görmemiş atık çamurun ÇKOİ/TKOİ oranı %6,7 iken; asidifikasyon işleminden sonra oran %10,07, bazifikasyon işleminden sonra ise %29,1 olmuştur. Dondurma-çözme, CHCl₃ ilavesi ve sterilizasyon ön işleminden önce oran %2 iken, ön işlem uygulamasından sonra sırasıyla %8, %4,7 ve %29,5 olmuştur. Ön işleminden geçmiş tüm atık çamurlarda, ÇKOİ değerleri orijinal çamura kıyasla daha yüksektir (Şekil 4.33).

Atık çamurun ÇKOİ değeri, fermantasyon süresince de artmaya devam etmiştir (Çizelge 4.21-4.26). Elde edilen sonuçlara göre sadece ön işlem değil, aynı zamanda fermantasyon da atık çamurdan organik maddelerin çözünmesinde oldukça etkilidir.



Şekil 4.33. Çamur çözünebilirliği üzerine farklı ön işlemlerin etkisi.

Şekil 4.33’de verilen sonuçlardan da görüldüğü gibi, ısıl işlem, bazik işlem ve sterilizasyon uygulamalarından sonra KOİ’nin çözünürlüğü diğer ön işlemlere kıyasla önemli oranda artmıştır. Son zamanlarda rapor edilen ve çamura termal ön işlem uygulamasının etkisinin araştırıldığı çalışmalarda da benzer bulgular elde edilmiştir (Bougrier ve diğ., 2008).

Cai ve diğ. (2004) yapmış oldukları çalışma sonucunda, alkali ön işlemde geçen atık çamur için başlangıç ÇKOİ konsantrasyonu ve başlangıç ÇKOİ/TKOİ oranının, ham çamurunkine kıyasla çok daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Alkali ön işlem uygulamasından sonra ÇKOİ/TKOİ oranı, %1,38’den %22,8’e yükselmiştir. Guo ve diğ. (2008), yaptıkları çalışmaya göre ise ham çamurun başlangıç ÇKOİ/TKOİ oranı 0,01 iken, sterilizasyon işleminden sonra oran 0,18’e yükselmiştir. Fermantasyon süresince ise ÇKOİ/TKOİ oranı daha da artmıştır. Wang ve diğ. (2003a), atıksu çamurundan hidrojen üretimine yapılan farklı ön işlemlerin etkisini araştırmıştır. Onların raporuna göre ham çamurun başlangıç ÇKOİ/TKOİ oranı %1,5 iken, uygulanan farklı ön işlemler sonrasında oran belirgin bir şekilde %4-5’e yükselmiştir. Bu sonuçlar, Lee ve Mueller (2001) yaptıkları çalışmadaki bulgular ile uyumludur. Literatürden elde edilen sonuçlar da, bizim bulmuş olduğumuz sonuçları destekler niteliktedir.

Yine Şekil 4.33’den ısıl ve bazik ön işlem sonrasında, karbonhidrat ve protein çözünürlüğünün diğer ön işlemlere kıyasla daha çok arttığı da görülmektedir. BenYi ve JunXin (2009) yapmış oldukları çalışmada, atıksu çamurundan biyohidrojen üretimi üzerine çeşitli ön işlemlerin etkisini araştırmışlardır. Diğer ön işlemlere kıyasla, sterilizasyon ve bazifikasyon uygulamasından sonra çözünebilir protein ve karbonhidrat seviyesinin maksimuma ulaştığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları, bizim yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen bulgularla paralellik göstermektedir.

Yapılan tüm ön işlemlerin ardından atık aktif çamurun çözünürlülilik (%)’si artış göstermekle birlikte, çözünmüş madde konsantrasyonları en çok ısıl işlem, sterilizasyon ve bazik işlem uygulamasından sonra artmıştır. Çözünürlülükteki bu artıştan ötürü, hemen hemen tüm ön işlemlerin ardından işlem görmemiş ham çamura kıyasla daha fazla H₂ çıkışı olması beklenmektedir. Ancak hidrojen üretim grafiklerinden de (Şekil 4.29) görüldüğü üzere, hidrojen gazı çıkışı tüm çalışmalarda yüksek değildir. Yani atık çamurun yapısından serbest bırakılan tüm organik maddeler, anaerobik olarak kolaylıkla biyohidrojene fermente olamamıştır. Sadece

asit ve baz ön işlem uygulamasından sonra, H₂ veriminde işlem görmemiş ham çamura kıyasla artış olmuştur. Bu aslında bizim beklediğimiz bir sonuç değildir. Sonuçları bölüm 4.3.1'deki H₂ üretim grafikleri ile birlikte değerlendirdiğimizde, beklenenin aksine çamurdan salınan organik maddenin hepsinin anaerobik fermantasyonla hidrojene kolaylıkla dönüşemediği anlaşılmaktadır.

Jones ve Woods (1986) süspansiyon içinde yağ asitlerinin birikiminden dolayı, fermantasyon süresince pH'daki düşüşün biyokütleden hidrojen üretimini engellediğini bildirmiştir. Ancak bu sonuç, bizim yapmış olduğumuz çalışma için uygun değildir. Çünkü çamur kuvvetli bir tamponlama kapasitesine sahiptir ve çalışma süresince pH'da keskin bir düşüş görülmemiştir (Çizelge 4.21-4.26). Anlaşılan o ki, tüketilen hidrojenin bir kısmı metana dönüştürülmüştür. Fakat oluşan hidrojenin tüketimi ve metanın üretimi birbiriyle paralel değildir. Örneğin alkali ön işlem sonucunda pik hidrojen üretimi ilk 29 saatte meydana gelmiştir. Ancak oluşan bu hidrojen ~76 saatte oldukça azalmıştır. Bu süre içinde açığa çıkan metan herhangi bir artış göstermemiş hemen hemen sabit kalmıştır. Bu nedenle metan üretim yol izi, hidrojen tüketim safhasından kısmen sorumlu olabilir.

Ting ve Lee (2007), herhangi bir aşılama işlemi yapmadan anaerobik fermantasyonla atıksu çamurundan hidrojen üretimi konusunda çalışmış ve oluşan hidrojen içeriğinin zamanla monoton olarak azalarak 72 saat içinde tamamen tükendiğini rapor etmiştir. Metan ise, 140 saat sonra ortaya çıkmış ve 480 saatte maksimum değere ulaşmıştır. Dolayısıyla Ting ve Lee tarafından yürütülen bu çalışmada da, metan üretim yol izi hidrojen tüketiminden sorumlu değildir.

Çeşitli ön işlem uygulamalarını takiben hidrojen verimlerinde görülen farklılık (Şekil 4.29), serbest kalan tüm KOİ'nin hidrojen oluşumu için kullanıma hazır olmadığını göstermektedir. Bütün çevresel faktörlerdeki değişim minimuma indirildiği için atık çamurdan serbest bırakılan canlı türler, biyohidrojen veriminde gözlemlenen farklılıklardan sorumludur (Wang ve diğ., 2003a).

Çizelge 4.21. Atık çamura asit ön işlem uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L	TUYA mg/L
0	850	0	5,0	14250	1260	2300	178,5	21384,5	2154	1216
125		80								
302		110								
428		120								
1467	820	270	5,33	14950	1860	2054	268	20461,5	4123	2544
1649		290								
1769										
1908										
3145	790	410	5,45	13950	1800	1930,33	287,5	20461,5	5169	8704
3279		410								
4317	760	410	5,47	13900	1940	1902,67	375,5	19692	5538	-
4527		410								
4720		410								
8707		410								
8879		410	5,6	12150	2610	870,5	430,5	16296,5	8889	9432

Çizelge 4.22. Atık çamura alkali ön işlem uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	T _{pro.} mg/L	Ç _{pro.} mg/L	T _{kar.} mg/L	Ç _{kar.} mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L	TUYA mg/L
0	850	0	5,0	15000	5160	2429	588	16448,5	4785	1170
120		180								
200										
335										
1722										
1758										
1836	820	680	6,05	10550	3540	1683,5	378	13458	5383	-
2801	790	1390	6,00	9900	3260	1600	411	14953,5	5383	2150
2941										
3132										
4221										
4517										
4553										
5745	760	2140	6,12	8850	2020	1796	300	14953	5785	3172
5925										
10046										
10155										
10395		2640	6,06	10550	3480	1650	535,5	14384,5	8185	5404

Çizelge 4.23. Atık çamura ısıt işleml uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	T _{pro.} mg/L	Ç _{pro.} mg/L	T _{kar.} mg/L	Ç _{kar.} mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L	TUYA mg/L
0	850	0	5,0	10650	1925	1571	200	15551,5	4905	1685
120										
225		290								
401		540								
520										
1427	820	610	5,72	9125	2285	1548	199	15775,5	5024	-
1516										
1670										
1750										
1881	790	1140	6,4	8850	1850	1429	245	14878,5	5084	-
2826										
3041										
3170										
3320	760	1140	6,4	8550	1650	1652	274	14878,5	5264	3352
4260										
4410										
4740			6,22	8400	1610	1652	316	14878,5	5482	3875

Çizelge 4.24. Atık çamura dondurma-çözme işlemi uygulamasından sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	V _g (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L	TUYA mg/L
0	850	0	5,0	17200	480	3683	37	29630	2370	2496
218		310								
327		330								
375		330								
543		400								
1389	820	500	6,0	15250	580	3458	43	27556	2963	-
1603		530								
1780		530								
1946	790	540	6,0	14900	2140	2800	73	26518,5	4741	3064
2895		540								
3093		540								
3360	760	600	5,90	13950	1400	2449,67	95	26370	4741	3440
4575		610								
4785										
5865	730	610	5,97	15600	1320	1391,5	77	26418,5	5333	-
7253										
7635										
8945		1050	6,14	12450	1240	1291,5	108	23704	4741	5080

Çizelge 4.25. Atık çamura metanojenik inhibitör ilavesinden sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler.

Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L	TUYA mg/L
0	850	5,00	15850	393	1500	55	16667	788	8264
72									
266									
290									
312									
427									
524									
1380									
1716									
1878	820	6,11		2167	458	148	7068	2313	11640
2891									
3064									
3306									
4323	790	6,21		3584	570,5	155	8996	2185	10408
4572									
4736									
5780									
6080									
8638	760	6,18		4278	1165,5	187	12326,2	2886	-
8957									
9090									
10045									
10220									
10545		5,98	11700	6440	1579,5	212	15421,5	3984	14520

Çizelge 4.26. Atık çamura sterilizasyon işlemi uygulandıktan sonra fermentasyon sırasında elde edilen ham veriler.

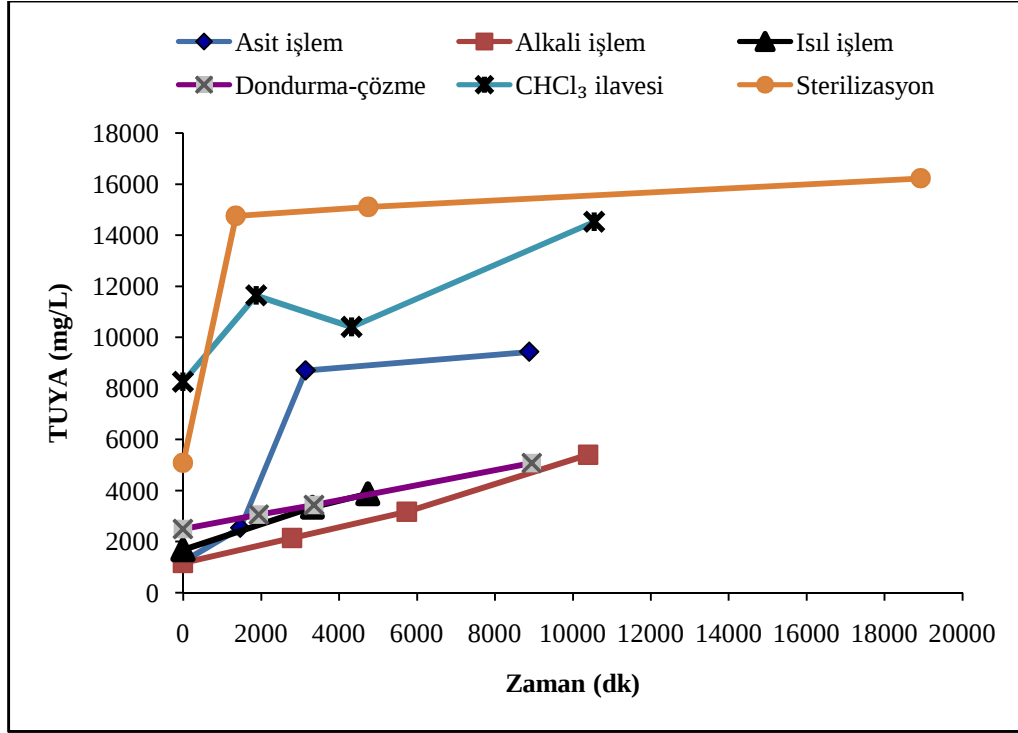
Örnekleme süresi (dk)	V ₁ (mL)	pH	Tpro. mg/L	Çpro. mg/L	Tkar. mg/L	Çkar. mg/L	TKOİ mg/L	ÇKOİ mg/L	TUYA mg/L
0	850	5	18600	2020	1745,5	223	13494	3984	5088
182									
310									
438									
550									
1353	820	5,75		2172	1087,5	282	13494	3984	14752
1538									
1730									
1910									
2826	790	5,90		2284	700	203	10281,5	4048	-
2879									
3080									
3178									
3273									
4236									
4314									
4563									
4753	760	5,80		2648	991,5	237	11793	3633	15104
5770									
8920	730	5,80		2973	1014	285	12326	3967	-
12976									
13276									
14433									
14617	700	5,80		3140	1041,5	262	12748,5	4016	-
18927		5,67	20900	3440	1070,5	466	11716,5	4780,5	16224

4.3.2.2 Uçucu yağ asidi üretimleri

Atık çamur yapısında bulunan karbonhidrat, protein ve lipitler, fermantatif bakteri tarafından uçucu yağ asitlerine hidrolize ve fermante edilmektedir. Sonrasında ise asetojenik bakteri tarafından, asetat ve CO_2/H_2 'ye dönüştürülmektedir. Asetojenez ürünleri (asetat ve CO_2/H_2), son olarak metanojenik bakteri tarafından metana dönüştürülür. Uçucu yağ asitlerinin inhibisyonu zayıflatılabilirse hidrojen üretimi büyük oranda artacaktır (Guo ve diğ., 2008).

Bilindiği gibi sterilizasyon işlemi, bütün mikroorganizmaları ve aynı zamanda bütün patojenleri öldürmektedir. Sterilizasyon, çamurun mikrobiyal hücre yapısını ve jel yapısını kısmen kırar ve çamurun karakteristiğinin değişmesine sebep olur (Xiao ve Liu, 2009). Sterilizasyondan sonra çamur yapısında bulunan protein ve karbonhidrat gibi nütrientler serbest hale geçer, ÇKOİ değeri artar (Guo ve diğ., 2008).

Atık çamura uygulanan sterilizasyon işlemi sırasında hücre duvarında meydana gelen bozulma, organik maddenin daha kolay hidrolize olmasını sağlayıp ham çamura kıyasla TUYA konsantrasyonunun daha fazla olmasına yol açmıştır. İşlem görmemiş ham çamurun TUYA konsantrasyonu 1376 mg/L iken, sterilizasyondan sonra bu değer 5088 mg/L olmuştur. Aynı sonuçlar, uygulanan diğer ön işlemler sonrasında da görülmüştür (Çizelge 4.20). Ön işlem sonrasında atık çamurun yapısında bulunan çözünmüş organik madde miktarındaki artıştan dolayı, tüm çalışmalarda fermantasyon öncesi ve fermantasyon sırasında TUYA konsantrasyonunda artış görülmüştür. Çizelge 4.21-4.26 ve Şekil 4.34'de, fermantasyon süresince farklı zamanlarda alınan örneklerle ait TUYA konsantrasyonları verilmiştir. Yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlardan anlaşıldığı üzere TUYA'nın sınırlayıcı etkisi ve konsantrasyondaki artış, zamanla oluşan hidrojenin azalmasına neden olmuştur.



Şekil 4.34. Rektörde açığa çıkan TUYA konsantrasyonunun zamana göre değişimi

Serbest bırakılan organikler, düşük moleküler ağırlıklı organiklere (UYA gibi) dönüşürler. Bu bozulma ve UYA miktarındaki artış, uzun süren fermentasyon sürelerinde pH'nın da düşmesine sebep olur (Xiao ve Liu, 2009). Ancak yaptığımız çalışmalarda, hidrojenin kısa sürede tükenmeye başlamasından dolayı fermentasyon süresi kısa tutulmuştur. Kısa fermentasyon sürelerinde ise pH'da herhangi bir düşüş gözlenmemiştir. Fermentasyon süresince, pH seviyesi genelde 5-6 arasında değişmiştir.

5. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Bu çalışmanın ana hedefi atıksu arıtma tesislerinden çıkan bir atık türü olan atık aktif çamurdan, karanlık fermantasyonla biyohidrojen üretim potansiyelini araştırmaktır. Bu atık tipinden biyohidrojen üretim potansiyeli üzerine pH, sıcaklık, kültür tipinin etkisi ve atık çamura uygulanan ön işlem metotlarının etkisi araştırılmıştır. Deneyler neticesinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Yapılan pH ve sıcaklık çalışmaları sonucunda, literatürde verilen bilgilere paralel olarak en iyi hidrojen üretimi 45°C’de pH 5’de elde edilmiştir.

- Atık aktif çamurdan biyohidrojen üretimi herhangi bir aşı ilavesi gerektirmez. Çünkü atık çamur, biyohidrojen üretimi için gerekli aşı mikroorganizmaları ve besinleri sunar. Ayrıca anaerobik aşı ilavesi neticesinde, reaktördeki CH₄ konsantrasyonu çok fazla arttığı için (Set 1’de 1830. dakikada 154648 mL/m³ CH₄ oluşmuştur) hidrojen üretimi inhibe olmaktadır.

- Metanojenik aktiviteyi inhibe etmek için uygulanan ön işlem metotlarının hepsi başarılı olamamıştır. Sadece ısıtma işlemi, sterilizasyon ve metanojenik inhibitör ilavesi sonucunda başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

- Alkali (25,91 mLH₂/gTKOİ) ve asit ön işlem (70,21 mLH₂/gTKOİ) uygulaması sonrasında, kontrol reaktörüne (10,9 mLH₂/gTKOİ) kıyasla daha yüksek hidrojen konsantrasyonuna ulaşılmıştır.

- Atık çamura uygulanan ön işlemler sonrasında, ön işlemde geçen tüm reaktörlerde kontrol reaktörüne kıyasla çözünmüş madde ve TUYA konsantrasyonlarının arttığı görülmüştür. Diğer ön işlemler ile karşılaştırıldığında ısıtma işlemi, sterilizasyon ve alkali ön işlem uygulaması ardından, çözünür madde ve TUYA konsantrasyonunda daha büyük bir artış olmuştur.

- Elde edilen sonuçlardan sadece ön işlem uygulamasının değil, aynı zamanda fermantasyon sürecinin de organik maddelerin çözünmesi için etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Tüm çalışma süresince elde edilen sonuçlara dayanarak şu sonuca varılabilir: Atık aktif çamur, biyohidrojen üretim potansiyeline sahiptir. Bu yüzden karanlık fermantasyonla atık aktif çamurdan biyohidrojen üretimi sadece atık minimizasyonu

ve atık yönetimi için değil, aynı zamanda atıktan enerji üretimi için de faydalı olacaktır.

Sonuç olarak arıtımı ve bertarafı büyük bir sorun olan arıtma çamurları biyohidrojen üretimi için kullanıldığında hem atık çamurun arıtımı ve bertarafı için gerekli çamur hacmi azalacak hem de fermentasyon sonucu açığa çıkan H_2 ve CH_4 , enerji üretimi için kullanılabilir.

Gelecek çalışmalar için fikir ve öneriler

Birçok araştırmacı, glikoz, sukroz ve hatta nişasta ve selüloz gibi polisakkaritleri substrat olarak kullanıp hidrojen üretiminde başarıya ulaşmıştır. Fakat atıksu çamuru gibi gerçek atıkların fermentasyonuna, bu türden substratlarla yapılan çalışmalardan elde edilen bulguları uyarlamak bazı zorlukları beraberinde getirmektedir. Çünkü substratın kendisi, kimyasal olarak ve yapısal olarak daha kompleks ve heterojendir. Bu nedenle basit substratlara kıyasla daha inatçı ve zor bir yapısı vardır. Atıksu çamuru, kendi yapısında mevcut olan mikrobiyal türleri de içerir. Bu türler, hidrojen üretimini engelleyecekleri gibi reaktörde oluşan hidrojeni de direk olarak tüketirler. Uygulama açısından değerlendirildiğinde atıksu çamurunun fiziksel karakteristikleri gösteriyor ki, laboratuvar ölçeğinde atıksu çamuru ile çalışmak zordur ve zaman ister. Atıksu çamurundan fermentatif H_2 üretimi üzerine yapılan laboratuvar ölçekli çalışmaların çoğu, mililitre ölçeğinde yapılmıştır (Nicolau ve diğ., 2008). Atıksu çamurundan, daha verimli bir şekilde hidrojen üretilmek isteniyorsa bu konuda hala çok fazla çalışma yapılması gerektiği yayınlanan makalelerden anlaşılmaktadır.

Yukarıdaki bilgiye ek olarak bu konuda daha sonra yapılacak çalışmalar için bazı tavsiyeler aşağıda sıralanmıştır:

- Fermentasyonda biyohidrojen üretimi üzerine sınırlayıcı etki yapan UYA'lerinin etkisini ortadan kaldırmak için, UYA ve oluşan H_2 eşzamanlı olarak ortamdan uzaklaştırılmalı ve kontrolü sağlanmalıdır.
- İki aşamalı ve sürekli sistemler kullanılarak uçucu asitlerin ve metanın H_2 'ye dönüşümü sağlanmalıdır.
- pH, sıcaklık gibi parametrelerin otomatik kontrol edilebildiği, reaktördeki gazı direk olarak dedektöre ileterek anlık sonuç alınmasını sağlayan bilgisayarlı yeni teknolojiler kullanılarak sürekli bir gaz ölçümü sağlanabilir.
- Anaerobik çamurdan hidrojen tüketen homoasetojenleri gidermek için daha etkili metotlar geliştirilmelidir. Çünkü doğal atık çamur içindeki mikroorganizmalar

arasındaki aşırı rekabet, gerçek atık akımlarından hidrojen üretilmesindeki temel engeldir.

- Atık çamur yapısında bulunmayan farklı mikroorganizmalar ile aşılama sonucunda, hidrojen üretim kapasitesindeki değişim araştırılabilir.

- Deneylerde kullanılan atıksu çamurunun içeriği, başlangıç pH'ı, reaktör tasarımı ve diğer işletme koşulları gibi deneysel koşullardaki farklılıklar elde edilen hidrojen verimini doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda bu parametrelere özellikle dikkat edilmelidir.

KAYNAKLAR

- Aksöyek E., 2011. İmmobilize biyoreaktörde hidrojen üretiminin incelenmesi, Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir, 291147.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF), 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995). 16 th Ed., Washington DC, USA.
- Argun H., 2010. Hydrogen gas production from waste ground wheat by dark and light fermentations, PhD Thesis, Dokuz Eylül University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, İzmir, 276490.
- Argun H., Kargı F., Kapdan İ. K., Öztekin R., 2007. Nişasta içeren zirai atıklardan fermantasyon ile biyolojik hidrojen gazı üretimi, 7. *Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi*, İzmir, 24-27 Ekim, 435-442.
- Baghchehsaraee B., 2009. Batch and continuous biohydrogen production using mixed microbial culture, PhD Thesis, The University of Western Ontario, School of Graduate and Postdoctoral Studies, London, Ontario, Canada, ISBN:978-0-494-54265-1.
- Bartacek J., Zabranska J., Lens Piet N. L., 2007. Developments and constraints in fermentative hydrogen production, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 1, 201-214.
- BenYi X., JunXin L., 2009. Effects of various pretreatments on biohydrogen production from sewage sludge, *Chinese Science Bulletin*, 54, 2038-2044.
- Bougrier C., Delgenes J. P., Carrere H., 2007. Impacts of thermal pretreatments on the semi continuous anaerobic digestion of waste activated sludge, *Biochemical Engineering Journal*, 34, 20-27.
- Bougrier C., Delgenes J. P., Carrere H., 2008. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion, *Chemical Engineering Journal*, 139 (2), 236-244.
- Cai M. L., Liu J. X., Wei Y. S., 2004. Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment, *Environmental Science & Technology*, 38, 3195-3202.
- Chang J. S., Lee K. S., Lin P. J., 2002. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors, *International Journal of Hydrogen Energy* 27, 1167-1174.
- Chen C. C., Lin C. Y., Lin M. C., 2002. Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58, 2, 224-228.

- Cheng S. S., Bai M. D., Chang S. M., Wu K. L., Chen W. C., 2000. Studies on the feasibility of hydrogen production hydrolyzed sludge by anaerobic microorganisms, *The Twenty-fifth Wastewater Technology Conference*, Yunlin, Taiwan (in Chinese).
- Cheng S. S., Chang, S. M., Chen, S. T., 2002. Effects of volatile fatty acids on a thermophilic anaerobic hydrogen fermentation process degrading peptone, *Water Science and Technology*, 46 (4/5), 209–214.
- Chiu Y. C., Chang C. N., Lin J. G., Huang S. J., 1997. Alkaline and ultrasonic pretreatment of sludge before anaerobic digestion, *Water Science and Technology*, 36 (11), 155–162.
- Chong M. L., Sabaratnam V., Shirai Y., Ali Hassan, M., 2009. Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 3277-3287.
- Chu C. P., Lee D. J., You C. S., Tay J. H., 2002a. Weak ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids, *Water Resources*, 36, 2681–2688.
- Clark P. B., Nujjoo I., 2000. Ultrasonic sludge pretreatment for enhanced sludge digestion, *Journal of the Institution of Water & Environmental Management*, 14, 66–71.
- Das D., Veziroğlu T. N., 2001. Hydrogen production by biological processes: A survey of literature, *International Journal of Hydrogen Energy*, 26, 13-28.
- Davila-Vazquez G., Arriaga S., Alatrisme-Mondragon F., de Leon-Rodriguez A., Rosales-Colunga L. M., Razo-Flores E., 2008. Fermentative biohydrogen production: trends and perspectives, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 7, 27-45.
- Demirbaş, A., 2009. Biohydrogen for future engine fuel demands. Springer-Verlag London Limited, 275 s.
- Digman B., Kim D. S., 2008. Review: Alternative energy from food processing wastes, *Environmental Progress*, 27, 524–537.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, Volume 28 (3), 350-356.
- Ensign S. A., Ludden P. W., 1991. Characterization of the CO oxidation/H₂ evolution system of *Rhodospirillum rubrum*. Role of a 22-kDa iron-sulfur protein in mediating electron transfer between carbon monoxide dehydrogenase and hydrogenase, *Journal of Biological Chemistry*, 266, 27, 18395-18403.
- Ewan B. C. R., Allen R. W. K., 2005. A figure of merit assessment of the routes to hydrogen, *International Journal of Hydrogen Energy*, 30 (8), 809–819.
- Fang H. H. P., Li C. L., Zhang T., 2006. Acidophilic biohydrogen production from rice slurry, *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, 683-692.
- Fang H. H. P., Liu H., 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by mixed culture, *Bioresource Technology*, 82, 87-93.

- Genç N., 2010. Fermantatif biyohidrojen üretim proseslerinde hidrojen veriminin geliştirilmesindeki yaklaşımlar, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26 (3), 225-239.
- Genç N., 2011. Atıkların biyohidrojen üretim potansiyellerinin değerlendirilmesi, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, Cilt 17, Sayı 2, 63-67.
- Ginkel S. W. V., Oh S. E., Logan B. E., 2005. Biohydrogen production from food processing and domestic wastewaters, *International Journal of Hydrogen Energy*, 30, 1535-1542.
- Guo L., Li X. M., Bo X., Yang Q., Zeng G. M., Liao D., Liu J. J., 2008. Impacts of sterilization, microwave and ultrasonication pretreatment on hydrogen producing using waste sludge, *Bioresource Technology*, 99, 3651-3658.
- Guo L., Li X. M., Zeng G. M., Zhou Y., 2010. Effective hydrogen production using waste sludge and its filtrate, *Energy*, 35, 3557-3562.
- Hafez H., 2010. A novel system for biological hydrogen production from wastes, PhD Thesis, Studies The University of Western, School of Graduate and Postdoctoral, London, Ontario, Canada, ISBN:978-0-494-73366-0.
- Hallenbeck P. C., 2005. Fundamentals of the fermentative production of hydrogen, *Water Science and Technology*, 52 (1-2), 21-29.
- Hart E. J., 1986. Isotropic exchange in the sonolysis of aqueous solutions containing $^{14,14}\text{N}_2$ and $^{15,15}\text{N}_2$, *The Journal of Physical Chemistry*, 90, 5989-5991.
- Hart E. J., Henglein A., 1986. Sonolytic decomposition of nitrous oxide in aqueous solutions, *The Journal of Physical Chemistry*, 90, 5992-5995.
- Hawkes F. R., Dinsdale R., Hawkes D. L., Hussy I., 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation, *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, 1339-1347.
- Hawkes F. R., Hussy I., Kayyeze G., Dinsdale R., Hawkes D. L., 2006. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress, *Hydrogen Energy*, 32, 172-184.
- Holladay J. D., Hu J., King D. L., Wang Y., 2009. An overview of hydrogen production technologies, *Catalysis Today*, 139, 244-260.
- Hong S. M., Park J. K., Teeradej N., Lee Y. O., Cho Y. K., Park C. H., 2006. Pretreatment of sludge with microwave for pathogen destruction and improved anaerobic digestion performance, *Water Environment Research*, 78, 76-83.
- Huang C. H., Lin H. Y., Tsai Y. Y., Hsie Y. K., 2000. The Preliminary studies of hydrogen production from anaerobic digestion with different substrates and cultivations, *The 25th Wastewater Technology Conference*, Yunlin, Taiwan, (in Chinese).
- Hwang M. H., Jang N. J., Hyun S. H., Kim I. S., 2004. Anaerobic biohydrogen from ethanol fermentation: the role of pH, *Biotechnology*, 111, 297-309.
- Iyer P., Bruns M. A., Zhang H., Ginkel V. S., Logan B. E., 2004. H_2 producing bacterial communities from a heat-treated soil inoculum, *Microbial Biotechnology*, 66, 166-173.

- Jalan R. K., Srivastava V. K., 1999. Studies on pyrolysis of a single biomass cylindrical pellet kinetic and heat transfer effects, *Energy Conversion and Management*, 40, 467-494.
- Jones D. T., Woods D. R., 1986. Acetone-butanol fermentation revisited, *Microbiological Reviews*, 50, 484-524.
- Kahveci M. İ., 2007. Biohydrogen production via dark fermentation, MSc. Thesis, İstanbul Technical University, Institute of Science and Technology, İstanbul, 224046.
- Kalıncı Y., Hepbaşlı A., Dinçer I., 2009. Biomass-based hydrogen production: A review and analysis, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 8799-8817.
- Kapdan I. K., Kargı F., 2006. Biohydrogen production from waste materials, *Enzyme and Microbial Technology*, 38 (5), 569–582.
- Kim D. H., Han S. K., Kim S. H., Shin H. S., 2006. Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy*, 31 (15), 2158-2169.
- Kim J., Park C., Kim T. H., Lee M., Kim S., Kim S. W., Lee J., 2003. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 95, 271-275.
- Kim S. H., Han S. K., Shin H. S., 2004. Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge, *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 1607-1616.
- Kotay S. H., Das D., 2010. Microbial hydrogen production from sewage sludge bioaugmented with a constructed microbial consortium, *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 10653-10659.
- Kotay S. M., Das D., 2008. Biohydrogen as a renewable energy resource- prospects and potentials, *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, 258-263.
- Kotay S. M., Das D., 2009. Novel dark fermentation involving bioaugmentation with constructed bacterial consortium for enhanced biohydrogen production from pretreated sewage sludge, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 7489-7496.
- Kovács K. L., Maróti G., Rákhely, G., 2006. A novel approach for biohydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, 1460-1468.
- Lay J. J., Lee Y. J., Noike T., 1999. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste, *Water Research*, 33 (11), 2579-2586.
- Lay J. J., 2001. Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose, *Biotechnology and Bioengineering*, 74, 281-287.
- Lee D. J., Mueller J. A., 2001. Preliminary treatments. In: Spinosa, L., Vesilind, A. (Eds.), *Sludge into Biosolids-Processing, Disposal, Utilization*, IWA Publishing, London, UK.
- Levin B. D., Chahine R., 2010. Challenges for renewable hydrogen production from biomass, *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 4962-4969.

- Levin D. B., Pitt L., Love M., 2004. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application, *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 173-185.
- Li C. L., Fang H. H. P., 2007. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 37, 1-39.
- Li Y. Y., Noiike T., 1992. Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by thermal pretreatment, *Water Science and Technology*, 26, 857-866.
- Lin C. Y., Chang R. C., 2004. Fermentative hydrogen production at ambient temperature, *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 715-720.
- Lin C. Y., Jo C. H., 2003. Hydrogen production from sucrose using an anaerobic sequencing batch reactor process, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 78, 678-684.
- Lin Y. H., Zheng H. X., 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 G., Shen J., 2004. Effects of culture medium and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 98, 251-256.
- Liu H., Zhang T., Fang H. P. P., 2003. Thermophilic H₂ production from cellulose containing wastewater, *Biotechnology Letters*, 25, 365-369.
- Logan B. E., Oh S. E., Kim I. S., Ginkel S. V., 2002. Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers, *Environmental Science & Technology*, 36, 2530-2535.
- Malis A., Melnicki M. R., 2006. Integrated biological hydrogen production, *Hydrogen Energy*, 31, 1563-1573.
- Mao T., Hong S. Y., Show K. Y., Tay J. H., Lee D. J., 2004. A comparison of ultrasound treatment on primary and secondary sludges, *Water Science and Technology*, 50, 91-97.
- Miyake J., Matsunaga T., Pietro A. S., 2001. Biohydrogen II An Approach to Environmentally Acceptable Technology, PERGAMON.
- Mohan V. S., Babu V. L., 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.
- Mu Y., Yu H. Q., Wang G., 2007. Evaluation of three methods for enriching H₂-producing cultures from anaerobic sludge, *Enzyme and Microbial Technology*, 40 (4), 947-953.
- Nah I. W., Kang Y. W., Hwang K. Y., Song W. K., 2000. Mechanical pretreatment of waste activated sludge for anaerobic digestion process, *Water Research*, 34, 2362-2368.
- Nakazato T., Akasaka M., Tao H., 2006. A rapid fractionation method for heavy metals in soil by continuous flow sequential extraction assisted by focused microwaves, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386, 1515-1523.

- Nath K., Das D., 2004. Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65, 520-529.
- Ni M., Leung D. Y. C., Leung M. K. H., Sumathy K., 2006. An overview of hydrogen production from biomass, *Fuel Processing Technology*, 87, 461-472.
- Nicolau M., Dinsdale J. R., Guwy A., 2008. Hydrogen production from sewage sludge using mixed microflora inoculum: Effect of pH and enzymatic pretreatment, *Bioresource Technology*, 99, 6325-6331.
- Ntaikou I., Antonopoulou G., Lyberatos G., 2010. Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: A Review, *Waste Biomass Valor*, 1, 21-39.
- Oh Y. K., Seol E. H., Yeol L. E., Park S., 2002. Fermentative hydrogen production by a new chemolithotrophic bacterium *Rhodopseudomonas palustris* P4, *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, 1373-1379.
- Özgener B., 2009. Nükleer enerjinin hidrojen üretimindeki yeri, IV. Ulusal hidrojen enerjisi kongresi ve sergisi, Kocaeli, 15-16 Ekim 2009, Sempozyum Bildiri Kitabı, s:175-180, Umuttepe Yayın No: 21.
- Özkan L., 2009. Dark fermentative biohydrogen production from sugar-beet processing wastes, MSc. Thesis, Middle East Technical University, The Graduate school of natural and applied sciences, Ankara, 259209.
- Öztürk İ., 2007. Anaerobik arıtma ve uygulamaları, 2. Baskı, Su vakfı, İstanbul, 2007.
- Ray S., Chowdhury N., Lalman J. A., Seth R., Biswas N., 2008. Impact of initial pH and linoleic acid (C18:2) on hydrogen production by a mesophilic anaerobic mixed culture, *Journal of Environmental Engineering (ASCE)*, 134 (2), 110-117.
- Ren N. Q., Wang B. Z., Huang J. C., 1997. Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, 54 (5), 428-433.
- Ren N., Guo W., Wang X., Xiang W., Liu B., Wang X., Ding J., Chen Z., 2008. Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, 4318-4324.
- Ren N., Li J., Li B., Wang Y., Lui S., 2006a. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system, *Hydrogen Energy*, 31, 2147-2157.
- Ren N., Li Y., Wang A., Li J., Ding J., Zadsar M., 2006b. Hydrogen production by fermentation: Review of a new approach to environmentally safe energy production, *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 9 (1), 39-42.
- Roychowdhury S. 2000. Process for production of hydrogen from anaerobically decomposed organic materials. U.S. Patent. US 006090266A.
- Sinha P., Pandey A., 2011. An evaluative report and challenges for fermentative biohydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 7460-7478.

- Sittijunda S., Reungsang A., O-thong S., 2010. Biohydrogen production from dual digestion pretreatment of poultry slaughterhouse sludge by anaerobic self-fermentation, *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 13427-13434.
- Soboh B., Linder D., Hedderich R., 2002. Purification and catalytic properties of a co-oxidizing: H₂-evolving enzyme complex from carboxydotherrmus hydrogenofomans, *Europe Journal of Biochemistry*, 269, 5712-5721.
- Sørensen B., 2005. *Hydrogen and fuel cells emerging technologies and applications*, Elsevier, New York.
- Şenaktaş B., 2005. Hidrojen enerjisi, üretimi ve uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 238114.
- Tanisho S., Kuromoto M., Kadokura N., 1998. Effect of CO₂ removal on hydrogen production by fermentation, *International Journal of Hydrogen Energy*, 23 (7), 559-563.
- Tiehm A., Nickel K., Zellhorn M., Neis U., 2001. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization, *Journal of Water Resources*, 35 (8), 2003–2009.
- Ting C. H., Lee D. J., 2007. Production of hydrogen and methane from wastewater sludge using anaerobic fermentation, *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 677-682.
- Troshina O., Serebryakova L., Sheremetieva M., Lindblad P., 2002. Production of H₂ by the unicellular cyanobacterium *gloeocapsa alpicola* calu 743 during fermentation, *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, 1283-1289.
- Ueno Y., Kawai T., Sato S., Otsuka S., Morimoto M., 1995. Biological production of hydrogen from cellulose by natural anaerobic microflora, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 79 (4), 395-397.
- Ueno Y., Otsuka S., Morimoto M., 1996. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82, 194-197.
- Urbaniec K., Grabarczyk R., 2009. Raw materials for fermentative hydrogen production, *Journal of Cleaner Production*, 17, 959–962.
- URL-1: http://www.eie.gov.tr/teknoloji/h_enerjisi.aspx/, (Ziyaret tarihi: 20 Aralık 2013).
- URL-2: <http://www.bayar.edu.tr/besergil/hidrojen.pdf/>, (Ziyaret tarihi: 03 Ocak 2014).
- URL-3: http://www.hydrogen.energy.gov/pdfs/review04/hpd_p7_evans.pdf/, (Ziyaret tarihi: 05 Şubat 2014).
- URL-4: <http://www.tuik.gov.tr/>, (Turkish Statistical Institute, 2008) (Ziyaret tarihi: 8 Ekim 2013).
- Valdez-Vazquez I. R., Sparling D., Risbey N., Rinderknecht-Seijas H. M., Poggi-Varaldo., 2005. Hydrogen generation via anaerobic fermentation of paper mill wastes, *Bioresource Technology*, 96, 1907–1913.

- Valdez-Vazquez I., Poggi-Varaldo H. M., 2009. Hydrogen production by fermentative consortia, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13, 1000–1013.
- Van Haandel A. C., Lettinga G., 1994. *Anaerobic sewage treatment-A practical guide for regions with a hot climate*, Wiley, New York.
- Venkata Mohan S., Lalit Babu V., Sarma P. N., 2007. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (ansbr): effect of organic loading rate, *Enzyme and Microbial Technology*, 41, 506–515.
- Vijayaraghavan K., Ahmad D., Khairil Bin Ibrahim M., Naemmah Binti Herman H., 2006. Isolation of hydrogen generating microflora from cow dung for seeding anaerobic digester, *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, 6, 708–720.
- Wang C. C., Chang C. W., Chu C. P., Lee D. J., Chang B. V., Liao C. S., 2003a. Producing hydrogen from wastewater sludge by *Clostridium bifermentans*, *Journal of Biotechnology*, 102, 83–92.
- Wang C. C., Chang C. W., Chu C. P., Lee D. J., Chang B. V., Liao C. S., 2003b. Hydrogen production from wastewater sludge using a *Clostridium* Strain, *Journal of environmental science and health Part A-Toxic Hazardous Substances & Environmental Engineering*, A 38, 1867-1875.
- Wang C. C., Chang C. W., Chu C. P., Lee D. J., Chang B. V., Liao C. S., Tay J. H., 2003c. Using filtrate of waste biosolids to effectively produce biohydrogen by anaerobic fermentation, *Water Research*, 37 (11), 2789–2793.
- Wang F., Wang Y., Ji M., 2005. Mechanisms and kinetics models for ultrasonic waste activated sludge disintegration, *Journal of Hazardous Materials*, B123, 145-150.
- Wang J., Wan W., 2008. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen producing bacteria from digested sludge, *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, 2934-2941.
- Wang J., WanW., 2009. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 799–811.
- Wongtanet J., Sang B. I., Lee S. M., Pak D., 2007. Biohydrogen production by fermentative process in continuous stirred-tank reactor, *International Journal of Green Energy*, 4, 385-395.
- Wu F., Zhou S. Q., Lai Y. L., Zhong W. J., 2009. Studies on the effects of pretreatment on production hydrogen from municipal sludge anaerobic fermentation, *Natural Science*, 1, 10-16.
- Wu X., 2009. Fermentative hydrogen production from liquid swine manure with glucose supplement using an anaerobic sequencing batch reactor, PhD Thesis, The University of Minnesota, A dissertation submitted to the faculty of the graduate school, United States Code, UMI Number: 3366955.
- Xiao B., Liu J., 2009. Biological hydrogen production from sterilized sewage sludge by anaerobic self-fermentation, *Journal of Hazardous Materials*, 168, 163-167.

- Yang H., Shen J., 2006. Effect of ferrous iron concentration on anaerobic biohydrogen production from soluble starch, *International Journal of Hydrogen Energy*, 31 (15), 2137-2146.
- Zhang T., Liu H., Fang H. H. P., 2003. Biohydrogen production from starch in wastewater under thermophilic conditions, *Journal of Environmental Management*, 69, 149–156.

EKLER

EK A: Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) Tayini Prosedürü

EK B: Fenol Sülfürik Asit Yöntemi ile Toplam Karbonhidrat Tayini Prosedürü

EK C: Toplam Protein Tayini (Lowry's Metot)

EK D: Biyogaz İçeriğinin Gaz Kromatografisi (GC) ile Tayini

EK E: Tezde Kullanılan Cihazlar

EK A Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) Tayini Prosedürü

Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), organik maddelerin redoks reaksiyonlarıyla oksitlenmesi esasına dayanır. Kimyasal oksijen ihtiyacı atık suların bünyesindeki organik maddelerin, kimyasal oksidasyonu için gerekli oksijen miktarı cinsinden belirlenir. Oksidasyon ortamında karbonlu organik maddeler CO₂ ve H₂O; azotlu organik maddeler ise NH₃ haline dönüşürler. KOİ tayini standart metot (Kapalı Reflaks titrimetrik) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (APHA, AWWA, WEF; 2001-5520C). Bu metodun ölçüm aralığı 40-400 mg/L KOİ'dir.

Ek A.1 Çözeltiler

Standart potasyum dikromat çözeltisi, 0,01667 M: 150 °C'de 2 saat süreyle kurutulup nemi giderilmiş potasyum dikromattan (K₂Cr₂O₇) 4,903 g alınıp üzerine 500 mL distile su, 167 mL renksiz konsantre H₂SO₄ ve 33,3 g HgSO₄ eklenir. Eklenen kimyasallar manyetik karıştırıcı yardımı ile karıştırılarak çözünmeleri sağlanır. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra hacim 1000 mL'ye tamamlanır.

Sülfürik asit çözeltisi: 5,5 g AgSO₄ / 1 kg H₂SO₄ eklenip, 1-2 gün AgSO₄'ün çözünmesi beklenmiştir.

Ferroin indikatör çözeltisi: 1,485 g 1,10-fenantrolin monohidrat ve 0,695 g FeSO₄.7H₂O bir miktar saf suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 5 kat seyreltilir. Bu çözelti sadece DAS'ın standardizasyonunda kullanılır.

Standart demir amonyum sülfat titrantı (DAS), yaklaşık 0,1 M: 39,2 g Fe(NH₄)₂(SO₄)₂.6H₂O bir miktar saf suda çözülür. Üzerine 20 mL derişik H₂SO₄ eklenir. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra saf su ile 1 L'ye tamamlanır. Hazırlanan DAS çözeltisi Standart K₂Cr₂O₇ çözeltisi ile aşağıda anlatılan şekilde standardize edilir:

100 mL'lik bir behere 5 mL Standart K₂Cr₂O₇ parçalama çözeltisi konur. Üzerine 10 mL saf su eklenir ve oda sıcaklığına soğutulur. İçerisine 1-2 damla seyreltilmiş ferroin indikatörü eklenir ve DAS ile titre edilir:

$$\text{DAS'ın molaritesi} = \frac{\text{Titre edilen 0,01667 M K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ hacmi, mL}}{\text{Titrasyonda kullanılan DAS hacmi, mL}} \times 0,100$$

Sülfamik asit: Nitritin girişim yapmasını engellemek için kullanılır. Her 1 mg NO₂⁻ - N için 10 mg sülfamik asit eklenir.

Potasyum hidrojen fitalat standardı (KHP), HOOC₆H₄COOK, 500 mg KOİ/L: 110 °C'de kurutulan ve desikatörde soğutulan KHP'den 0,425 g tartılır ve saf su ile 1 L'ye tamamlanır. Haftalık hazırlanması önerilmektedir.

Ek A.2 Reaksiyon Tüplerinin Hazırlanması

Kontaminasyonu önlemek amacı ile tüpler (16x100 mm) ve kullanılan tüm cam malzemeler % 20'lik H₂SO₄ çözeltisi ile yıkanır. Daha sonra Çizelge A.1'e göre tüpler hazırlanır ve ağızları kapatıldıktan sonra vorteks yardımı ile iyice karıştırılır. Ardından ısıtma bloğunda 148 °C'de 2 saat ısıtıldıktan sonra oda sıcaklığına kadar soğutulur. KOİ tüplerindeki örnekler uygun bir erlene aktarılır. 1-2 damla ferroin indikatörü damlatıldıktan sonra DAS ile titre edilir. Dönüm noktası çok keskindir. Renk mavi-yeşilimsiden kırmızımsı-kahverengiye döndüğü anda titrasyon sonlandırılır. Sarfiyattan aşağıda verilen hesaplama metoduna göre KOİ miktarı tayin edilir.

Çizelge A.1. Reaksiyon tüplerinin hazırlanması için kullanılan hacimler

H₂SO₄ Çözeltisi	Standart Potasyum Dikromat Çözeltisi 0,01667 M K ₂ Cr ₂ O ₇	Örnek
3,5 mL	1,5 mL	2,5 mL

Hesaplama:

$$KOİ, \text{ mg O}_2/\text{L} = \frac{(A - B) * M * 8000}{\text{mL numune}}$$

- A** : Kör için sarf edilen DAS miktarı, mL
B : Örnek için sarf edilen DAS miktarı, mL
M : DAS'ın molaritesi (Standardize edilmiş değer)
8000 : Oksijenin mek ağırlığı*1000 mL/L

Ek B Fenol Sülfürik Asit Yöntemi ile Toplam Karbonhidrat Tayini Prosedürü

Kolorimetrik fenol-sülfürik asit yöntemi, gıdalar içerisindeki karbonhidratların toplam konsantrasyonunun bulunmasında yaygın olarak kullanılan bir metottur. Analizi yapılacak olan numune solüsyonu test tüplerine yerleştirilir. Daha sonra fenol (%5) ve derişik sülfürik asit eklenir (Çizelge B.1). Fenol ve karbonhidratların birbiri ile tepkimeye girmesinden dolayı solüsyon sarımsı portakal renge döner. Rengin koyuluğu çözelti içerisindeki karbonhidrat miktarına bağlıdır. Örnek içerisindeki karbonhidrat miktarına orantılı olarak, absorbans için 420-490 nm yeterlidir. Eklenen sülfürik asit, çözelti içerisinde bulunan bütün indirgenmeyen şekerlerin indirgen şekerlere dönüşmesini sağlar. Böylelikle, bir çözelti içerisindeki tüm karbonhidrat konsantrasyonu ölçülebilir. Bu metot sitokiyometrik olmadığından, kalibrasyon grafiği konsantrasyonu bilinen bir karbonhidratın, farklı seyreltmeleri ile hazırlanabilir.

5 g fenol, 100 mL distile su içerisinde ısıtılarak çözünmesi sağlanır. Kolorimetrik bir ölçüm olduğu için, denemelerde renksiz ve kaliteli saf sülfürik asit (Merck, Co.) kullanılmalıdır. Toplam şeker analizi yapılacak olan örnekler standart eğrinin hazırlanmasında kullanılan uygun konsantrasyon aralığına göre seyreltilir. Seyreltme işleminden sonra, aşağıdaki tabloda verilen hacimlerde, boş deney tüpüne örnek, fenol çözeltisi ve sülfürik asit eklenir. Hazırlanan deney tüpleri vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır. Süre bitiminde tekrar vorteks ile karıştırılarak 25-30°C’de su banyosunda tüplerin iyice soğuması sağlanır. Süre bitiminde köre karşı 490 nm’de spektrofotometre ile örnekler okutulur. Standart eğrinin oluşturulmasından elde edilen denklemde okunan absorbans değeri yerine koyularak konsantrasyon hesaplanır. Standart eğri konsantrasyona karşı absorbans grafiği çizilerek hazırlanmıştır ve Şekil B.1’de örnek standart grafiği verilmiştir.

Çizelge B.1. Karbonhidrat tayini deney prosedürüne göre test tüplerinin doldurulması

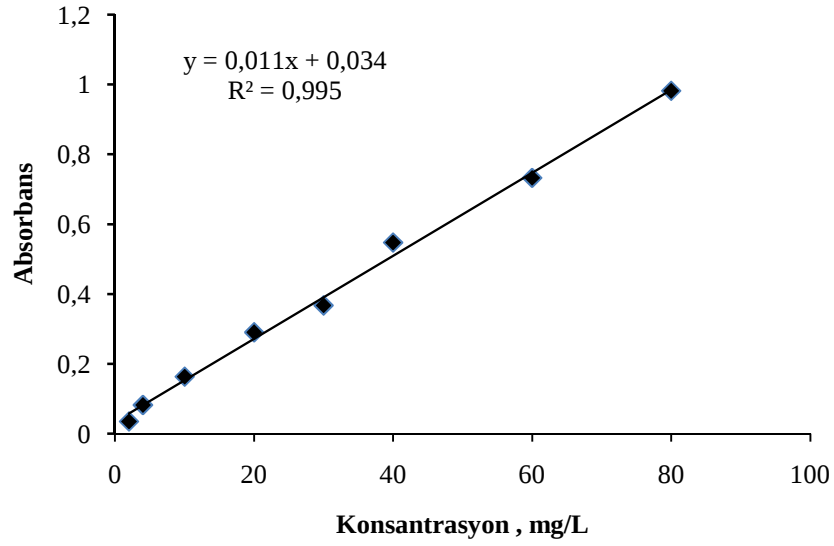
Karbonhidrat tayini kimyasalları	Kör	Örnek
dH ₂ O (kör için); Seyreltilmiş örnek (tayin için)	1 mL	1 mL
%5 fenol çözeltisi	1 mL	1 mL
Derişik H ₂ SO ₄	5 mL	5 mL

Standart Eğrinin Hazırlanması: 0,1 g glikoz tartıldıktan sonra 100 mL distile su içerisinde çözülür. Böylelikle, şeker konsantrasyonu 1000 mg/L olan şeker çözeltisi elde edilir. Bu çözeltiden 10 mL alınır ve yeni bir balon jode distile su ile 100 mL’ye tamamlanarak, % 0,01’lik (100 mg/L) glikoz çözeltisi elde edilir ve bu yeni çözelti standart kalibrasyon eğrisinin hazırlanması için kullanılır. Çizelge B.2’de gösterilen konsantrasyonlarda standartlar hazırlanarak absorbans değerleri okunmuştur.

Çizelge B.2. Toplam karbonhidrat tayini için standart eğrinin hazırlanması

Glikoz konsantrasyonu (mg/L)	Absorbans
2	0.035
4	0.082
10	0.163
20	0.290
30	0.367
40	0.547
60	0.732
80	0.981

Hazırlanan standartlar üzerine deney prosedüründe verilen hacimlerde fenol ve sülfürik asit çözeltisi eklenerek deney prosedürü uygulanır. Standartlar 490 nm’de spektrofotometrede okutulduktan sonra, konsantrasyona karşı absorbans grafiği çizilir. Grafikten elde edilen denklemden, bilinmeyen çözeltinin toplam karbonhidrat konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil B.1. Toplam karbonhidrat kalibrasyon grafiği ve denklemi

EK C Toplam protein tayini (Lowry's Metot)

Toplam ve çözünebilir protein miktarı standart çözelti olarak bovine serum albumin (BSA) kullanılarak ilk aşamalarda MERCK 1.10307.0500 test kiti ile (Bioquant Protein (Biuret Method)) daha sonra Lowry's metoduna göre tayin edilmiştir. Örnekteki protein konsantrasyonu 0,5-5,0 g/L arasında değişiklik gösterdiği için Biuret Method ile protein tayininde bu aralık için önerilen yöntem kullanılmıştır. Tartrate (Biuret reagent) içeren alkali bakır sülfat çözeltisi içinde proteinler blue-violet kompleksi oluşturur. Çözeltinin absorbansı 546 nm'de ölçülür. Örneğin protein konsantrasyonu protein standart çözeltisi ile kalibrasyonla belirlenebilir. Analizi yapılacak örnek temiz ve berrak olmalıdır. Bulanık çözeltiler filtrelenir ya da santrifüjlenir. Standart çözeltilerin hazırlanmasında BSA kullanılır. 1g BSA 100 mL distile su içinde çözülerek 10 g/L'lik stok çözelti hazırlanır. Daha sonra bu stok çözeltiden Çizelge C.1'de gösterildiği şekilde standartlar hazırlanarak Şekil C.1'deki kalibrasyon denklemi elde edilmiştir.

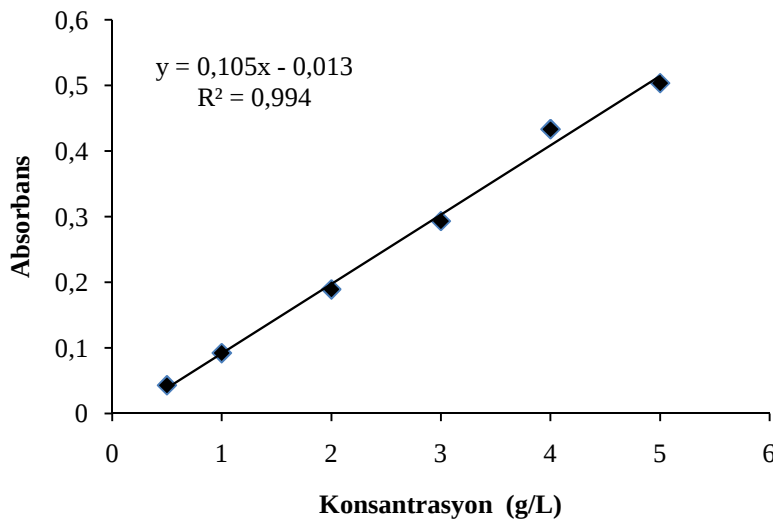
Çizelge C.1. Protein standartlarının hazırlanması

Standart çözeltiler (g/L)	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
Protein stok çözeltisi (mL) 10 g/L BSA	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
Distile su (mL)	9.5	9.0	8.0	7.0	6.0	5.0

Hazırlanan standart ve örneklere Çizelge C.2'de verildiği şekilde biuret reagent çözeltisi eklenir. Karışım iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dk bekletilip 546 nm'de tek kullanımlık semi micro küvetlerde oluşan mavi rengin absorbansı okunur.

Çizelge C.2. Biuret Method'a göre deney tüplerinin hazırlanması

Ölçüm aralığı (0,5-5,0 g/L)	Örnek ya da standart (mL)	Kör (mL)
Örnek/Standart	1	-
Distile su	-	1
Biuret reagent çözelti	2	2



Şekil C.1. Biuret Method ile protein kalibrasyon grafiği

Lowry metodu biyolojik örneklerdeki proteinlerin miktarını belirlemek için çok yaygın olarak kullanılan bir metottur. İlk olarak proteinler alkali çözelti içinde bakır iyonu ile ön işlemden geçirilir; ardından ön işlemden geçen örneklerdeki aromatik amino asitler folin reagent içinde bulunan phosphomolybdatephosphotungstic asidi indirger. Bu reaksiyonun son ürünü mavi renge sahiptir. Örnekteki proteinlerin miktarı seçilen standart protein çözeltisinin (Bovine Serum Albumin-BSA-çözeltisi) standart eğrisine karşı Folin reaksiyonunun son ürününün absorbansını 750 nm’de okuyarak değerlendirilebilir. Analizde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı aşağıda verilmiştir:

Reagent A: 0,1 N NaOH içinde %2’lik Na_2CO_3 çözülerek hazırlanır.

Reagent B: %1’lik sodyum tartarat ($\text{Na}_2\text{Tartrat} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) içinde % 0,5’lik $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözülerek hazırlanır.

Reagent C: 50 mL Reagent A ve 1 mL Reagent B karıştırılarak hazırlanır. Bu karışımın analizden hemen önce günlük olarak hazırlanması gerekmektedir.

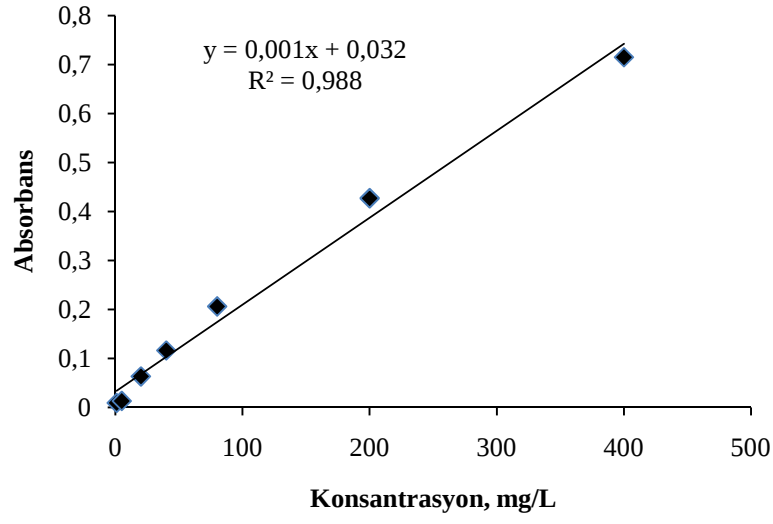
Reagent D: 1:1 oranında seyreltilmiş ticari olarak satın alınan Folin and Ciocalteu’s Phenol Reagent kullanılır.

Standart Eğrinin Hazırlanması: 50 mg bovine serum albumin (Fraction V) tartıldıktan sonra 50 mL distile su içersinde çözülür. Böylelikle 1000 mg/L’lik stok protein çözeltisi elde edilir. Bu çözeltiden 10 mL alınır ve yeni bir balon jode distile su ile 50 mL’ye tamamlanarak, % 0,02’lik (200 mg/L) protein çözeltisi elde edilir ve bu yeni çözelti standart kalibrasyon eğrisinin hazırlanması için kullanılır. Çizelge C.3’de gösterilen konsantrasyonlarda standartlar hazırlanarak absorbans değerleri okunmuştur.

Analiz için reaksiyon tüplerine 1 mL örnek ve kör olarak 1 mL saf su alınmıştır. Ardından her tüpe 5 mL Reagent C eklendikten sonra tüpler vorteks ile iyice karıştırılıp çökmesi için 10 dk beklenmiştir. Daha sonra 0,5 mL Reagent D eklenmiş 2-3 sn içinde vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra 30 dk karanlıkta oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre bitiminde oluşan mavi rengin absorbansı köre karşı 750 nm’de spektrofotometre ile okutulmuştur. Konsantrasyon standart eğrinin oluşturulmasından elde edilen denklemde yerine koyularak hesaplanmıştır. Standart eğri konsantrasyona karşı absorbans grafiği çizilerek hazırlanmıştır (Şekil C.2).

Çizelge C.3. Toplam protein tayini için standart eğrinin hazırlanması

Protein konsantrasyonu (mg/L)	Absorbans
1	0,009
5	0,013
20	0,063
40	0,116
80	0,206
200	0,427
400	0,715



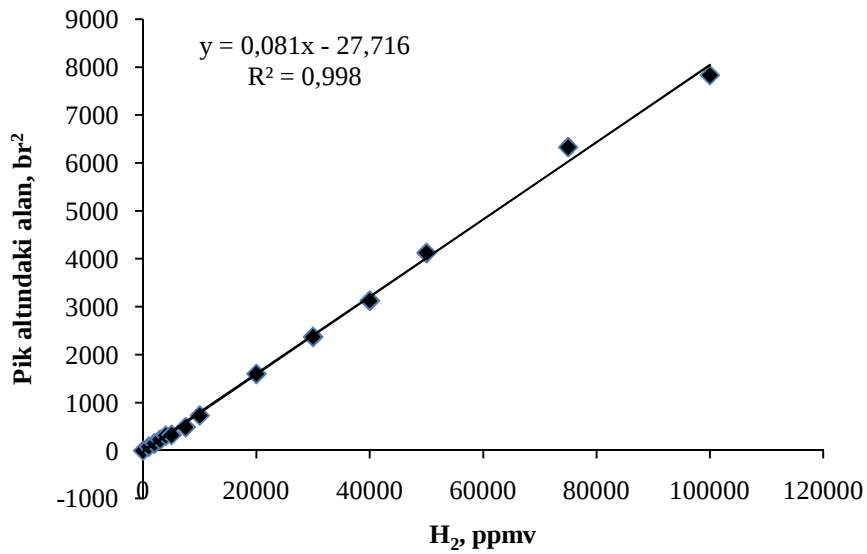
Şekil C.2. Toplam protein kalibrasyon grafiği ve denklemi

EK D Biyogaz İçeriğinin Gaz Kromatografisi (GC) ile Tayini

Denemelerde üretilen toplam gaz CO₂, H₂ ve CH₄ gazlarının karışımından oluşmaktadır. Gaz karışımı içerisindeki H₂ ve CH₄'ün hacimsel olarak tespiti için GC (Shimadzu GC-2010) termal kondüktivite detektörü (TCD) ve Rt[®]-Msieve 5A (19723) kapiler kolon (30 m x 0.53 mm x 50 µm) kullanılmıştır. Gaz ölçümü için kullanılan GC metodunda enjektör, detektör ve kolon sıcaklıkları sırası ile 200 °C, 200 °C ve 70 °C'dir. Helyum 19,3 mL/dak toplam akım debisi ile taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. GC'nin gaz kalibrasyonu için ise yüksek saflıkta hidrojen ve metan (%99,99) kullanılmıştır. Elde edilen kalibrasyon çizelgeleri ve grafikleri hidrojen ve metan için sırası ile Çizelge D.1, Şekil D.1 ve Çizelge D.2, Şekil D.2'de verilmektedir.

Çizelge D.1. Hidrojen gazı kalibrasyon tablosu

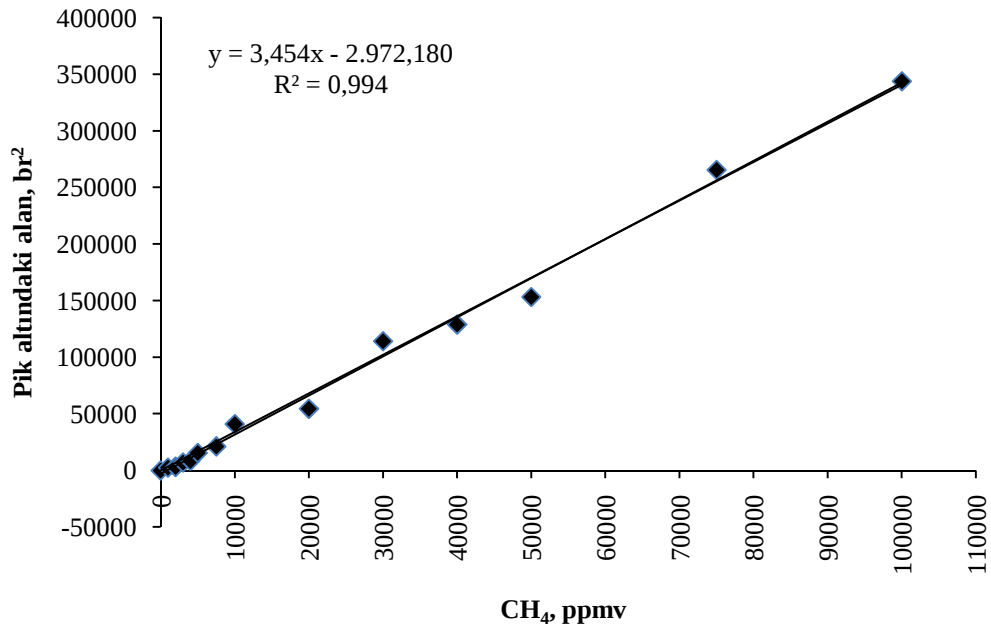
Konsantrasyon, ppmv	Pik altındaki alan, br ²
0	0
1000	82,9
2000	150,1
3000	227
4000	311,2
5000	328
7500	489
10000	732
20000	1598
30000	2372
40000	3126
50000	4121
75000	6327
100000	7826



Şekil D.1. H₂ kalibrasyon grafiği

Çizelge D.2. Metan gazı kalibrasyon tablosu

Konsantrasyon, ppmv	Pik altındaki alan, br ²
0	0
1000	2509,2
2000	3167,3
3000	7049,9
4000	8434,5
5000	15499,6
7500	21253,3
10000	40899,9
20000	54450,6
30000	114185,9
40000	128811,8
50000	153182
75000	265406,4
100000	343688,3



Şekil D.2. CH₄ kalibrasyon grafiği

EK E Tezde Kullanılan Cihazlar

Kullanılan Cihaz	Markası
Fotometre	Spectroquant NOVA 60 Merck
Isıtma bloğu	Spectroquant TR 620 Merck
Analitik tartı	Sartorius CP224S
Tüp karıştırıcı	Elektro-mag MIG Vortex Mixer
Saf su cihazı	TKA Made in Germany
Kül fırını	Lenton Furnaces
Etüv	Memmert
Otoklav	
Su banyosu	Clifton
Santrifüj cihazı	Universal 320 Hettich Zentrifugen
Çalkalayıcı kabin	Edmund Bühler TH 30 ve SM 30
pH metre	Sartorius PB-20 pH metre
Gaz kromatografisi	Shimadzu GC-2010

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: İlknur ŞENTÜRK

Doğum Yeri ve Tarihi: SAMSUN 22.08.1982

Adres:

E-Posta: ilknurg@omu.edu.tr ilknur.sentrk@yandex.com

Lisans: Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü (2000-2004)

Yüksek Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı (2005-2008)

Doktora: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı (2008-2014)

Mesleki Deneyim ve Ödüller:

01.12.2006 - 01.12.2014 Araştırma Görevlisi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun

Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölüm Üçüncülüğü (2004)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

ŞENTÜRK İ., BÜYÜKGÜNGÖR H., 2010. Biyohidrojen üretim yöntemleri ve kullanılan farklı atık materyallerin incelenmesi, Sigma Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, Cilt:28, Sayı 4, sayfa 369-395.

ŞENTÜRK İ., BÜYÜKGÜNGÖR H., 2010. Atıksu arıtma çamurlarından enerji eldesi, International Sustainable Water and Wastewater Management Symposium, 26-28 October, Konya, Turkey. Poster sunum.

ŞENTÜRK İ., BÜYÜKGÜNGÖR H., 2012. Evaluation of biohydrogen production potential from marine macro algae, NATO Advanced Research Workshop 984302 “Black Sea: Strategy for Addressing its Energy Resources Development & Hydrogen Energy Problems, 7-10 October 2012, Batumi, Georgia. Sözlü sunum.

ŞENTÜRK İ., BÜYÜKGÜNGÖR H., 2013. Evaluation of biohydrogen production potential from marine macro algae. Black Sea Energy Resource Development and Hydrogen Energy Problems (Nato Science for Peace and Security Series-C: Environmental Security), edited by A. Veziroglu, and M. Tsitskishvili. Springer, 450 p.

ŞENTÜRK İ., BÜYÜKGÜNGÖR H., 2013. Evaluation of biohydrogen production potential from sewage sludge, P15, The Sixth International Exergy, Energy and Environment Symposium, 1-4 July 2013, Rize, Turkey. Sözlü sunum.

ŞENTÜRK İ., BÜYÜKGÜNGÖR H., 2013. Arıtma çamurlarından biyohidrojen eldesinde işletme parametrelerinin verime etkisi, 9. Temiz Enerji Sempozyumu, 25-28 Aralık, Konya. Sözlü Sunum.

ŞENTÜRK İ., BÜYÜKGÜNGÖR H., 2014. Evaluation of biohydrogen production potential from sewage sludge. Progress in Exergy, Energy, and the Environment, edited by I. Dincer, A. Midilli, and H. Kucuk. Springer, pp 943-950.