

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOHİDROJEN ÜRETİMİNDE DİNAMİK ANALİZ

Gamze FIRAT

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2009

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Gamze FIRAT tarafından hazırlanan “ Biyohidrojen Üretiminde Dinamik Analiz ” adlı tez çalışması 19/03/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Bülent AKAY

,

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Sedat DÖNMEZ

Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Üye : Prof. Dr. Hale HAPOĞLU

Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü

Üye : Doç. Dr. Bülent AKAY

Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof.Dr.Orhan ATAKOL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİYOHİDROJEN ÜRETİMİNDE DİNAMİK ANALİZ

Gamze FIRAT

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Bülent AKAY

Bu yüksek lisans tezinin temel amacı karanlık hidrojen üretim sistemini etkileyen parametreleri araştırmak ve sistemi tanımlayan en uygun modeli bulmaktır. Bu amaçla çalışmada biyoreaktörde *Clostridium* türleri (*Clostridium butyricum* ve *Clostridium acetobutylicum*) ile patates ortamı kullanılarak hem ucuz hem de verimli hidrojen üretimi için anaerobik biyoreaktör işletim sistemi kurulmuş ve geliştirilmiştir.

Biyoreaktörde yüksek hidrojen verimi elde edebilmek için pH, sıcaklık, HRT, karıştırma hızı gibi parametrelerin optimum değerlerinde işletilmesi gerekmektedir. Hidrojen üretimi prosesinde kontrol edilmesi gereken en önemli parametre pH'dır. Proses süresince, üretilen organik asitlerden dolayı ortamın pH' ı 1-1.5 değer azalış göstermiştir. Sistemin en uygun pH'ını bulmak amacıyla farklı başlangıç pH değerleri denenerek en yüksek verimde hidrojen üretimi pH 6 değerinde tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada atık ve besin maddeleri arasından uygun besi ortamını belirlemek amacıyla dört farklı ortam (peyniraltı suyu, melas, patates, kimyasallı patates) kullanılmış ve peyniraltı suyunda en yüksek hidrojen verimi (% 60) elde edilmiştir.

Biyoreaktörün pH değişiminin dinamik davranışı incelenmiş ve sistem tanımlama yöntemi ile prosesi en iyi tanımlayan model elde edilmiştir. Biyoreaktörde kontrol edilen ve ayarlanabilen değişken olarak sırasıyla pH ve baz akış hızı seçilmiştir. Çeşitli giriş sinyalleri (kare, rastgele, ternary), kontrol edilen sistemin dinamiğini tanımlamak için bir etki fonksiyonu olarak kullanılmış ve sistem çıktısı ölçülmüştür. Elde edilen çıkış değerleri kullanılarak model parametreleri Yinelemeli En Küçük Kareler Metodu (YEKK) yöntemi ile belirlenmiştir. Hidrojen üretim prosesinin farklı giriş sinyallerinden elde edilmiş farklı modeller durumunda MATLAB programlama dilinde kodlanmış PID kontrol yöntemi ile pH kontrolü gerçekleştirilmiştir.

Mart 2009, 179 sayfa

Anahtar Kelimeler: Karanlık fermentasyon, Biyohidrojen üretimi, *Clostridium butyricum*, pH kontrol

ABSTRACT

Master Thesis

DYNAMIC ANALYSIS IN BIOHYDROGEN PRODUCTION

Gamze FIRAT

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemical Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Bülent AKAY

The main aim of this master thesis is exploring the parameters that affect the dark fermentation and the hydrogen production, and finding the best model that defines the system. For this purpose, in this work, for either cheap and efficient hydrogen production, anaerobic hydrogen operating system is installed and improved by using potato environment and kinds of *Clostridium* (*Clostridium butyricum* ve *Clostridium acetobutylicum*) in bioreactor.

In order to get the higher hydrogen efficiency, some parameters such as pH, temperature, HRT (hydraulic retention time), agitation rate should be operated at their optimum values. The most important parameter that should be controlled in hydrogen production process, is pH. During the process, because of the organic acid production, the medium pH value decreases by showing 1-1.5 difference. In order to find the optimum pH value, different initial values of pH were tested and the highest yield of hydrogen production was realized at pH value of 6. In the work done, to obtain the suitable growth media through the waste and nutrient materials, four different growth media (potato, cheese whey, molasses and potato with chemical substances) were tested and the highest hydrogen production yield (60 %) is achieved in cheese whey.

Dynamic behavior was investigated. The best model of the process was found by utilizing system identification. In the bioreactor, controlled and manipulated variables were chosen as pH and base flow rate respectively. For the system identification, various input signals (square, random, ternary) were used as load effect and system output was measured. By using the system output values, model parameters were determined via Recursive Least Square Method (RLS). pH control is achieved for the hydrogen production process by using PID controllers which include various types of model evaluated from the different input signals, and coded in MATLAB.

March 2009, 179 pages

Key Words: Dark fermentation, biohydrogen production, *Clostridium butyricum*, pH control

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

İki yıl süren yüksek lisans çalışmamın sonuna yaklaştığım şu günlerde hem büyük bir sevinç hem de garip bir hüznü yaşıyorum. Çalışmalarına yön veren, yaptığım araştırmaların her aşamasında bilgi, öneri ve her türlü yardımı esirgemedi, fikirleriyle gelişmeye büyük katkısı olan Danışmanım, Değerli Hocam Doç. Dr. Bülent AKAY'a (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi) teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım süresince karşılaştığım zorluklarda ve başarılarında bilgi ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Hale HAPOĞLU ve Prof. Dr. Mustafa ALPBAZ'a ve tüm proses kontrol grubuna teşekkür ederim.

Yüksek lisansım boyunca gece-gündüz demeden her an güler yüzlülüğüyle, sabrıyla ve sıcakkanlılığıyla hocamdan öte annem gibi gördüğüm Araş. Gör. Dr. Suna ERTUNÇ'a, her zaman dertlerimizi, sıkıntılarımızı paylaştığımız sevgili arkadaşım Araş. Gör. Zeynep YILMAZER'e ve çalışmalarımda en sıkıştığım anlarda yardımlarını esirgemeyen Nilüfer VURAL'a sonsuz teşekkür ederim.

En karamsar hallerim de bile bana tebessüm ettirebilen, her anımda yanımda olan canım dostum Ceren ATİLA'ya ve maddi-manevi desteklerinin yanı sıra bütün sıkıntılara katlanan annem, babam ve özellikle ablama teşekkürü bir borç bilirim.

Gamze FIRAT

Ankara, Mart 2009

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
3. KURAMSAL TEMELLER	10
3.1 Hidrojen Yakıtının Özellikleri	10
3.2 Hidrojen Üretim Yöntemleri	13
3.3 Biyolojik Hidrojen Üretimi	15
3.3.1 Hidrojen üreten mikroorganizmalar.....	16
3.3.2 Suyun biyofotolizi ile hidrojen üretimi	19
3.3.3 Su-Gaz dönüşüm reaksiyonu	22
3.3.4 Fotofermantasyon ile hidrojen üretimi.....	23
3.3.5 Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi	25
3.3.5.1 Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretim metabolizması	26
3.3.5.2 Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimini etkileyen parametreler	31
3.3.5.3 pH kontrolünün önemi	33
3.3.5.4 Karanlık fermentasyonun avantajları	34
3.3.6 Biyolojik hidrojen üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları.....	35
4. SİSTEM TANIMLAMA.....	36
4.1 Sistem Tanımlamanın Uygulanması	37
4.2 Sistem Tanımlamada Kullanılan Sinyaller.....	38
4.3 Sistem Modelleri	39
4.3.1 Doğrusal modeller	40
4.3.1.1 ARMAX (CARMA) model.....	42
4.4 Model Parametrelerinin Hesaplanması	44
4.4.1 En Küçük Kareler Yöntemi (EKK).....	44
4.4.2 Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi (YEKK)	47

4.4.2.1 YEKK yönteminde unutma çarpanı etkisi.	52
4.5 Modelin Sınanması ve Geçerliliği.....	53
4.6 Kontrol Parametrelerinin Hesaplanması.	56
5. MATERYAL ve YÖNTEM.....	60
5.1 Mikroorganizma Çoğaltılması.	60
5.2 Besi Ortamı.	61
5.2.1 Sıvı besı ortamı	61
5.2.2 Saklama Ortamı.....	62
5.3 Ölçek Büyütme ve Biyohidrojen Üretim Aşamaları.....	62
5.3.1 Aşılama.	64
5.3.2 Reaktörün sterilizasyonu.....	64
5.3.3 Hidrojen toplama sistemi.	64
5.4 Biyoreaktör ve On-line pH kontrolü.	65
5.5 Deney Yöntemi	68
5.5.1 Dinamik deneyler.....	68
5.5.1.1 Kalibrasyon çalışmaları.....	68
5.5.1.2 Yatışkın koşulun belirlenmesi.....	68
5.5.1.3 Baz akış hızına negatif ve pozitif etki verilmesi deneyleri	69
5.5.1.4 Sistem tanımlama deneyleri.	69
5.5.2 Hidrojen üretimi deneyleri.	69
5.5.3 Analizler.....	70
5.5.3.1 Gaz bileşiminin belirlenmesi	70
5.5.3.2 Organik asit analizi	70
5.5.3.3 On-line gaz analizi	71
5.5.3.3 pH ve çözünmüş oksijen derişimi analizi.....	71
6. ARAŞTIRMA BULGULARI	72
6.1 Kalibrasyon Çalışmaları.....	72
6.1.1 pH probu kalibrasyonu.....	72
6.1.2 Pompa kalibrasyonları.....	72
6.1.3 CO ₂ probu kalibrasyonu	74
6.2 Dinamik Çalışmalar	75
6.2.1 Açık-hat biyoreaktör işletimi	75

6.2.2 Ayar değişkeni seçimi	76
6.2.3 Asit-baz çifti derişiminin belirlenmesi.....	76
6.2.4 Biyoreaktörün dinamik analiz sonuçları	78
6.2.4.1 Yatışkın koşulun belirlenmesi.....	79
6.2.5 Girdi-çıkı ilişkisi	83
6.2.5.1 Pozitif basamak etki	83
6.2.5.2 Negatif basamak etki.....	85
6.3 Sistem Tanımlama Deney Sonuçları.....	87
6.3.1 Mikroorganizmasız ortamda etki deneyleri	87
6.3.1.1 Kare dalga etkisi.....	88
6.3.1.2 Rastgele etki	89
6.3.2 Mikroorganizmalı ortamda etki deneyleri.....	91
6.3.2.1 Kare dalga etkisi.....	91
6.3.2.2 Rastgele etki	93
6.3.2.3 Ternary etkisi	94
6.3.3 MATLAB programlama dilinde yazılan YEKK programı ile hesaplanan parametrelerin sınanması.....	97
6.3.3.1 Girdi sinyali olan kare dalga etkisi içi uygun parametrelerin bulunması.....	98
6.4 PID Kontrol Çalışmaları	112
6.4.1 PID parametrelerinin hesaplanması	112
6.4.2 En Uygun Model Parametrelerinin Seçilmesi.....	115
6.5 Hidrojen Üretim Deneyleri	119
6.5.1 <i>Clostridium acetobutylicum</i> mikroorganizması ile hidrojen üretim çalışmaları	120
6.5.1.1 Mikroorganizma aktarımı	120
6.5.1.2 Mikroorganizma derişiminin ölçülmesi	120
6.5.1.3 Gaz toplama sistemi	121
6.5.1.4 pH derişiminin incelenmesi.....	123
6.5.2 <i>Clostridium butyricum</i> mikroorganizması ile hidrojen üretim çalışmaları.....	125
6.5.2.1 Fermentasyon süresince pH derişiminin incelenmesi	125
6.5.2.2 Başlangıç pH etkisinin incelenmesi	130
6.5.2.3 Mikroorganizma saklama koşullarının ve farklı besi ortamlarının hidrojen üretimine etkisi	137

6.5.2.3.1 Besi ortamlarının hazırlanması	138
6.5.2.3.2 Kaynak olarak patates ortamı kullanıldığı durumda farklı bes ortamlarında hidrojen üretimi	139
6.5.2.3.3 Kaynak olarak gliserin ortamı kullanıldığı durumda farklı bes ortamlarında hidrojen üretimi	146
6.5.2.3.4 Kaynak olarak süt ortamı kullanıldığı durumda farklı bes ortamlarında hidrojen üretimi	151
7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	158
KAYNAKLAR	164
EKLER.....	169
EK 1 Gaz Kromotogramları	170
EK 2 Organik Asit Ve Alkol Analizi İçin Gaz Kromotogramı	171
EK 3 Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi Matlab Programı	172
EK 4 Model Geçerlilik Sınama Testleri Matlab Programı	174
EK 5 Teorik PID Kontrol İçin Matlab Programı	176
EK 6 Doğrusal Regresyon Yöntemi İçin Matlab Programı	178
ÖZGEÇMİŞ	179

SİMGELER DİZİNİ

ADP	Adenosine diphosphate
ATP	Adenosine triphosphate
CoA	Koenzim A
COD	Kimyasal oksijen ihtiyacı
FAD	Avine adenine dinucleotide
FADH	Avine adenine dinucleotide (indirgenmiş hali)
Fd(ox)	Ferredoxin (okside hali)
Fd(red)	Ferredoxin (indirgenmiş hali)
NAD ⁺	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide (indirgenmiş hali)
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NFDM	Non fat dry milk

Yunan Alfabesi

Δ	Fark işleci ($\Delta=1-q^{-1}$)
Φ	Pse output (yalancı çıktı)
$\varepsilon(t)$	Gerçek çıkış değişkeni ile model çıkış değişkeni arasındaki fark
θ	Parametre vektörü
λ	Unutma çarpanı
τ	Zaman sabiti
τ_D	Türevsel zaman sabiti
τ_I	İntegral zaman sabiti
τ_r	Yükselme zamanı
φ	Veri vektörü
φ^T	Veri vektörünün transpozu
ϕ	Ardışık veri vektörü

ϕ^T	Ardışık veri vektörünün transpozu
$\phi_{\varepsilon\varepsilon}(\tau)$	Normalize edilmiş otokorelasyon (fark-fark)
$\phi_{u\varepsilon}(\tau)$	Normalize edilmiş çaprazkorelasyon (girdi-fark)

Kısaltmalar

ARMAX	Auto Regressive Moving Average with Exogenous
EKK	En Küçük Kareler Yöntemi
ISE	Hata karesi integrali
PID	Oransal-İntegral-Türevsel Kontrol
YEKK	Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Hidrojen enerji sistemi	11
Şekil 3.2 Biyolojik yolla hidrojen üretim yöntemleri şeması	15
Şekil 3.3 Doğrudan biyofotoliz sistematığı şeması.....	21
Şekil 3.4 Dolaylı biyofotoliz sistematığı şeması.....	22
Şekil 3.5 Foto-fermantasyonun şematik gösterimi.....	23
Şekil 3.6 Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi.....	27
Şekil 3.7 Glikoz fermentasyonu ile hidrojen oluşumu yol izi.....	28
Şekil 3.8 Kesikli hidrojen fermentasyonu tipik gösterimi	29
Şekil 3.9 Anaerobik prosesin fazları	30
Şekil 3.10 Hidrojenin karanlık fermentasyon ile yan ürünlere dönüşüm sistematik yol izi.....	33
Şekil 4.1 t anında giriş değişkeni $u(t)$, çıkış değişkeni $y(t)$ ve gürültü $e(t)$ içeren dinamik bir sistem	36
Şekil 4.2 Sistem tanımlama akış diyagramı.....	37
Şekil 4.3.a. Bir kesikli $u_d(t)$ sinyali b. Kesikli sinyalin sürekli zaman eşdeğeri $u_c(t)$	39
Şekil 4.4 Eşitlik 4.21 ile gösterilen model yapısının blok diyagramı	41
Şekil 4.5 Yinelemeli parametre hesaplama yönteminin şematik gösterimi	48
Şekil 4.6 Proses reaksiyon eğrisi üzerinden parametre hesaplanması	57
Şekil 4.7 Smith (1972) tarafından önerilen parametre hesaplama yöntemi	58
Şekil 4.8 Doğrusal regresyon parametre hesaplama yöntemi	59
Şekil 5.1 <i>Clostridium acetobutylicum</i> mikroorganizmasının mikroskop altındaki görüntüsü.....	60
Şekil 5.2 Bakterinin çoğaltılması aşamaları.....	61
Şekil 5.3 Besi ortamı hazırlık ve ölçek büyütme aşamaları	63
Şekil 5.4 Techfors S biyoreaktor ve Multisensor analiz deney düzeneği	66
Şekil 5.5 On-line pH kontrolü sistemi	67
Şekil 6.1 pH değerine karşı bilgisayar sinyali değişimi	72
Şekil 6.2 Asit pompası için gösterge değerine karşı akış hızının değişimi kalibrasyonu ...	73
Şekil 6.3 Baz pompası için gösterge değerine karşı akış hızının değişimi kalibrasyonu....	73

Şekil 6.4 CO ₂ probu için multisensör gösterge değerine karşı bilgisayar sinyali değişimi kalibrasyonu	74
Şekil 6.5 Biyoreaktörde fermentasyon süresi boyunca pH değişimi	75
Şekil 6.6 0.5 M asit çözeltisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi	76
Şekil 6.7 0.1 M asit çözeltisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi	77
Şekil 6.8 0.05 M asit çözeltisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi	77
Şekil 6.9 0.01 M asit çözeltisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi	78
Şekil 6.10 Dinamik çalışmalarda kullanılan simulink işletim modeli	79
Şekil 6.11 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi.....	80
Şekil 6.12 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi.....	81
Şekil 6.13 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi.....	82
Şekil 6.14 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, 0.02 M baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi.....	82
Şekil 6.15 pH 5.2 değerinde 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında yatışkın koşulda işletilen sistemde baz pompasına 0.087 ml/dk'dan 0.4581 ml/dk'ya basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	83
Şekil 6.16 pH 6.1 değerinde 0.32 ml/dk sabit asit akış hızında yatışkın koşulda işletilen sistemde baz akış hızına 0.285 ml/dk' dan 0.5737 ml/dk' ya basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	84
Şekil 6.17 Baz akış hızına 1 ml/dk' dan 0.5737 ml/dk negatif basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	86
Şekil 6.18 Baz akış hızına 1.3 ml/dk' dan 0.081 ml/dk negatif basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	86
Şekil 6.19 Baz akış hızına kare dalga etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	88
Şekil 6.20 Deneysel sistem tanımlamada kare dalga etkisi.....	89
Şekil 6.21 Baz akış hızına rastgele etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	90
Şekil 6.22 Deneysel sistem tanımlamada rastgele etki	90
Şekil 6.23 Mikroorganizmalı ortamda baz akış hızına kare dalga etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	92

Şekil 6.24 Mikroorganizmalı deneysel sistem tanımlamada kare dalga etki	92
Şekil 6.25 Mikroorganizmalı ortamda baz akış hızına rastgele etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	93
Şekil 6.26 Mikroorganizmalı deneysel sistem tanımlamada rastgele etki	94
Şekil 6.27 Mikroorganizmalı ortamda baz akış hızına ternary etki verilmesi durumunda sistemin cevabı.....	95
Şekil 6.28 Mikroorganizmalı deneysel sistem tanımlamada ternary etki	95
Şekil 6.29 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 1 değerinde etkisi	98
Şekil 6.30 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 1 değerinde model sına testleri ile sınanması.....	99
Şekil 6.31 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 0.99 değerinde parametre hesabına etkisi	100
Şekil 6.32 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 0.98 değerinde parametre hesabına etkisi	101
Şekil 6.33 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 0.96 değerinde parametre hesabına etkisi	102
Şekil 6.34 En iyi unutma çarpanının seçimi.....	103
Şekil 6.35 Kare dalga etki uygulandığında kovaryans matrisin model sına testlerine uygulanması.....	104
Şekil 6.36 Kare dalga etki uygulandığında kovaryans matrisin model sına testlerine uygulanması.....	105
Şekil 6.37 En iyi kovaryans matris seçimi	106
Şekil 6.38 Kare dalga etkisi altında, birinci mertbe dinamik için model parametrelerinin hesaplanması.....	107
Şekil 6.39 Kare dalga etkisi altında, ikinci mertbe dinamik için model parametrelerinin hesaplanması.....	108
Şekil 6.40 Kare dalga etkisi altında, üçüncü mertbe dinamik için model parametrelerinin hesaplanması.....	109
Şekil 6.41 En iyi model derecesi seçimi	110
Şekil 6.42 $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1$, $\tau_D = 189.4$ değerlerinde kare dalga set noktası değişimli teroik PID kontrol sonuçları ($a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = -0.0011$)	113

Şekil 6.43 $K_c = 0.146$, $\tau_I = 7952.1$, $\tau_D = 1345.8$ değerlerinde kare dalga set noktası değişimli teorik PID kontrol sonuçları ($a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = -0.0011$).....	113
Şekil 6.44 $K_c = 0.202$, $\tau_I = 5804$, $\tau_D = 965.08$ değerlerinde kare dalga set noktası değişimli teorik PID kontrol sonuçları ($a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = -0.0011$)	114
Şekil 6.45 Kare dalga etki parametrelerinin $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1s$, $\tau_D = 189.4s$ değerlerinde teorik PID programı sonuçları ($a_1 = -0.7157$, $a_2 = -0.2841$, $b_0 = 0.0172$, $b_1 = -0.0068$).....	116
Şekil 6.46 Rastgele etki parametrelerinin $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1s$, $\tau_D = 189.4s$ değerlerinde teorik PID programı sonuçları ($a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = 0.0011$)	117
Şekil 6.47 Ternary etki parametrelerinin $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1 s$, $\tau_D = 189.4$ değerlerinde teorik PID programı sonuçları ($a_1 = -0.9720$, $a_2 = -0.0276$, $b_0 = 0.0131$, $b_1 = 0.0008$).....	118
Şekil 6.48 Oluşan direk olarak toplanması gazın toplanması	121
Şekil 6.49 Oluşan gazın %37'lik KOH çözeltisinden geçirilerek toplanması	122
Şekil 6.50 KOH çözeltisinden geçirilerek ve geçirilmeden yapılan gaz toplama sistemi	122
Şekil 6.51 Biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca pH değişimi sonuçları.....	124
Şekil 6.52 Biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca toplanan gaz hacmi sonuçları	124
Şekil 6.53 <i>Clostridium butyricum</i> mikroorganizması ile biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca pH değişimi sonuçları.....	126
Şekil 6.54 <i>Clostridium butyricum</i> mikroorganizması ile biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca toplanan gaz hacmi sonuçları	126
Şekil 6.55 <i>Clostridium butyricum</i> mikroorganizması ile biyoreaktörde zamanla yüzde hidrojen gazı değişimi değerleri	127
Şekil 6.56 Zamanla hidrojen üretim hızının değişimi	128
Şekil 6.57 Sıvı ortamdaki organik asit ve alkol derişimleri	129
Şekil 6.58 Farklı başlangıç pH değerlerinde toplanan gaz hacmi sonuçları	131

Şekil 6.59 Farklı başlangıç pH değerlerinde a. Gaz karışımındaki yüzde hidrojen değerleri b. Hidrojen üretim hızları	132
Şekil 6.60 Tipik gaz oluşum eğrisi (Khanal <i>et al.</i> 2004)	133
Şekil 6.61 Farklı başlangıç pH değerlerinde gecikme zamanı değerleri.....	133
Şekil 6.62 Örneklerin başlangıç ve bitiş pH değerleri	135
Şekil 6.63 Farklı pH değerlerinde sıvı ortamdaki organik asit ve alkol derişimleri	136
Şekil 6.64 Farklı besi ortamları a. Patates ortamı b. Kimyasallı patates ortamı c. Melas d. Peyniraltı suyu	140
Şekil 6.65 Farklı besi ortamlarında patates kaynağının ile oluşan gaz miktarı sonuçları	141
Şekil 6.66 Farklı besi ortamlarının toplam gaz miktarındaki yüzde H ₂ değerleri.....	141
Şekil 6.67 Farklı besi ortamlarında patates kaynağı ile zamanla hidrojen üretim hızları değişimi.....	142
Şekil 6.68 Patates kaynağından aktarılan farklı besi ortamlarında oluşan diğer gaz yüzdeleri	143
Şekil 6.69 Farklı besi ortamlarının başlangıç ve son pH değerleri	144
Şekil 6.70 Patates kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri	145
Şekil 6.71 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarındaki toplanan gaz miktarları	146
Şekil 6.72 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının toplam gaz miktarındaki yüzde H ₂ değerleri	147
Şekil 6.73 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının H ₂ üretim hızlarının kıyaslanması.....	148
Şekil 6.74 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının başlangıç ve son pH değerleri	148
Şekil 6.75 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri	150
Şekil 6.76 Gliserin kaynağından aktarılan farklı besi ortamlarında oluşan diğer gaz yüzdeleri	150
Şekil 6.77 Süt kaynağı kullanıldığı durumunda farklı besi ortamlarındaki toplanan gaz miktarları	152

Şekil 6.78 Süt kaynağı kullanıldığı durumda farklı besi ortamlarının toplam gaz miktarındaki yüzde H_2 değerleri	152
Şekil 6.79 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının H_2 üretim hızlarının kıyaslanması.....	153
Şekil 6.80 Süt kaynağından aktarılan farklı besi ortamlarında oluşan diğer gaz yüzdeleri.....	154
Şekil 6.81 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının başlangıç ve son pH değerleri	154
Şekil 6.82 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri.....	156
Şekil 1 TCD1 dedektör kromatogramı.....	170
Şekil 2 TCD2 dedektör kromatogramı.....	170
Şekil 3 FID dedektör kromatogramı	170
Şekil 1 Organik asit ve çözücü analizi GC kromatogramı.....	171

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Hidrojen ve diğer yakıtların özellikleri.....	12
Çizelge 3.2 Biyolojik hidrojen üretim yöntemlerinin substrat ve ürünlerinin karşılaştırılması	17
Çizelge 3.3 Hidrojen üreten mikroorganizmalar.....	18
Çizelge 3.4 Önemli biyohidrojen proseslerinin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması	35
Çizelge 4.1 Eşitlik 4.9'e göre elde edilen değişik model yapıları.....	42
Çizelge 5.1 Sıvı besi ortamı bileşimi	62
Çizelge 6.1 Farklı proses reaksiyon eğrileri için farklı yöntemlerle hesaplanan parametre değerleri.....	85
Çizelge 6.2 Model parametrelerinin hesaplandığı deney koşulları.....	87
Çizelge 6.3 Mikroorganizmalı ortamda model parametrelerinin hesaplandığı deney koşulları.....	91
Çizelge 6.4 Sistemin girdi değişkenine verilen etkiler sonucunda hesaplanan ARMAX Model parametreleri	96
Çizelge 6.5 Sistemin girdi değişkenine verilen etkiler sonucunda en uygun katsayılarla hesaplanan ARMAX model parametreleri	111
Çizelge 6.6 Cohen-Coon yöntemi ile hesaplanan PID parametreleri	112
Çizelge 6.7 Terorik PID programında işletilen parametrelerden elde edilen ISE değerleri	
Çizelge 6.8 Farklı etki değerlerine karşı elde edilen ISE kriterlerinin kıyaslanması.....	115
Çizelge 6.9 Direk toplanan ve KOH'den geçirilerek toplanan örneklerin GC analizi sonucunda elde edilen CO ₂ -H ₂ miktarları.....	123
Çizelge 6.10 <i>Clostridium butyricum</i> mikroorganizması ile pH kontrolsüz deney işletim koşulları.....	125
Çizelge 6.11 Sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri	129
Çizelge 6.12 Farklı çalışmalarda elde edilen pH değerlerinin karşılaştırılması.....	134
Çizelge 6.13 Farklı pH örnekleri için sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri	136

Çizelge 6.14 <i>Clostridium butyricum</i> mikroorganizması ile farklı kaynak ve farklı besi ortamı deneyleri işletim koşulları	137
Çizelge 6.15 Kimyasallı patates ortamı içeriği	139
Çizelge 6.16 Patates kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri	145
Çizelge 6.17 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri	149
Çizelge 6.18 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri	155
Çizelge 6.19 Farklı mikroorganizma ve besi ortamlarında hidrojen verimi	157

1. GİRİŞ

Artan yakıt ihtiyacına karşın rezervlerin her geçen gün azalması dünyayı alarma geçirmiş ve 1990'lardan beri hidrojene olan ilgi giderek artmıştır (Kim *et al.* 2006). Bugün dünyada enerji ihtiyacının yaklaşık %90'ı fosil yakıtlardan sağlanmaktadır (Liu and Shen 2004). Dünyanın enerji gereksiniminin büyük bölümünü karşılayan fosil yakıt rezervlerin giderek azaldığı ve yakın gelecekte ihtiyaçları karşılayamaz hale geleceği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra fosil yakıtların çok ciddi çevre ve hava kirliliğine sebep olması ve yanması sonucu açığa çıkan CO₂'in küresel ısınmaya yol açmasından dolayı yenilenebilir enerji olan hidrojen kullanımı giderek önem kazanmıştır (Liu and Shen 2004).

Hidrojen ideal bir enerji taşıyıcısıdır ve bilinen yakıtlara göre en yüksek enerji değerine sahiptir. Bir kg hidrojenin içerdiği enerji, 2.7 kg doğal gaz ve 3 kg benzine eşittir (Uyar 2008). Ayrıca, hidrojenin temiz bir enerji kaynağı olduğu ve yandığında sadece H₂O oluşturduğu, CO₂, NO_x ve S gibi atmosferi kirlletici yan ürünler oluşturmadığı açıklanmıştır (Mizuno *et al.* 2000). Hidrojen enerjisinin hidrokarbon yakıtlarından elde edilen enerjiden 2.75 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (122 kJ/mol) (Kim *et al.* 2006). Dünyada CO₂ emisyonundaki artış, sera etkisi ve iklim değişiklikleri hidrojenin geleceğin en önemli yakıtı olarak, yakıt pillerini ise geleceğin yakıt teknolojisi olarak öngörmüştür. Hidrojen, kömür ve doğalgaz gibi fosil yakıtlardan, güneş ve nükleer enerjiden ve su gibi sonsuz kaynaktan elde edilmektedir. Hidrojen, alışlagelmiş birincil yakıtların tümüne alternatif olarak doğrudan yakılarak veya yakıt pilleri ile elektriğe dönüştürülerek kullanılmaktadır (Karaosmanoğlu 2004). Bu nedenle, son yıllarda hidrojen enerjisi üzerinde araştırma ve geliştirme faaliyetleri yoğunlaşmıştır. Temiz ve yenilenebilir bir enerji olan hidrojen enerjisinin, dünyanın artan enerji gereksinimini karşılayacağı bir gelecek için gelişmiş ülkeler çok yoğun bir şekilde büyük ölçekli teknolojik araştırma ve geliştirme programları yürütmektedirler (www.metalurji.org.tr/dergi/dergi134/d134_101105.pdf, 2008).

Hidrojen bir doğal yakıt olmayıp, birincil enerji kaynaklarından yararlanılarak su, fosil yakıtlar ve biyokütle gibi değişik hammaddelerden üretilen yapay bir yakıttır.

Birincil enerji kaynaklarının dönüştürülmesi ile elde edilen ikincil enerjilere, "enerji taşıyıcısı" denir. Hidrojen enerji taşıyıcısı olarak da bu sorunların çözümü için potansiyel oluşturmaktadır, ve hidrojen 21. yüzyıla damgasını vuracak bir enerji taşıyıcısıdır. Üretilmesi aşamasında buhar reformasyonu, atık gazların saflaştırılması, elektroliz, fotosüreçler, termokimyasal süreçler, radyoliz gibi alternatif birçok hidrojen üretim teknolojileri mevcuttur.

Hidrojenin en ekonomik üretimi fosil kaynaklar kullanılarak gerçekleştirilen prosesler ile elde edilir. Doğalgazın buhar reformasyonu ve kömürün gazlaştırılması en çok kullanılan yöntemler arasındadır. Günümüzde hidrojen üretiminin yaklaşık %50 'si doğalgazın buhar reformasyonu ile gerçekleştirilmektedir ve en pahalı hidrojen üretiminin suyun elektrolizi ile olduğu açıklanmıştır (Uyar 2008).

Elektrokimyasal ve termokimyasal hidrojen üretim proseslerinde gerekli enerji yüksektir ve çevreye zararlı etkileri mevcuttur. Ancak, biyolojik hidrojen üretimi proseslerinde, normal sıcaklık ve basınçlarda çalışıldığı için enerji ihtiyacı düşüktür. Bu biyolojik üretim prosesleri sadece çevreye dost olmasıyla değil ayrıca yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımını sağladığı için avantajlıdır.

Biyokütle en iyi yenilenebilir enerji kaynaklarından en iyisidir ve uzun yıllardan beri enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bugün dünyadaki enerjinin %12'si biyokütleden elde edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde bu oran %40–50 'ye kadar artış göstermektedir. Atık maddelerden enerjiye dönüşüm uygulamaları sayesinde biyokütle araştırmaları giderek artış göstermektedir. Örneğin; her yıl 150 GT bitki biyo materyalinden 1.8×10^{10} GJ enerji üretilmektedir (Leung *et al.* 2006).

Hidrojen günümüzde fizikokimyasal ve biyolojik yöntemler ile üretilmektedir. Fizikokimyasal yöntemle üretimde fosil yakıtların yanması için elektriğe ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak biyolojik metod ile hidrojen üretiminde atık maddeler ve biyokütlenin substrat olarak kullanılması ile maliyet açısından daha avantajlı hale gelmektedir. Biyolojik metod ile hidrojen üretimi iki farklı yöntem ile yapılmaktadır.

1) Fotosentetik Metod 2) Fermentatif Metod. Birçok araştırmacı fotosentetik prosesler üzerinde yoğunlaşmış olmalarına rağmen, bu prosesin ışık dönüşüm etkisi ve üretim hızı düşüktür. Diğer taraftan fermentatif proseslerinin üretim hızlarının yüksek olması, ışığa ihtiyaç duymamaları ve reaktör tasarımlarının basit olması bu yönüne olan ilgiyi arttırmıştır (Kim *et al.* 2006).

Fermentatif proses olan karanlık fermantasyon yönteminde H₂ oluşum hızı yüksek olmasına karşın, hidrojen verimi (mol H₂/mol substrat) diğer yöntemlere göre daha düşüktür. Ancak geliştirilen yeni teknolojiler ve atık maddelerin kullanılmasıyla fermantasyon sistemleri daha cazip hale gelmektedir (Das and Veziroğlu 2001).

Hidrojen üretimin proseslerinde yüksek verimde ürün elde edebilmek için pH, sıcaklık, HRT (hidrolik alıkonma süresi), substrat konsantrasyonu gibi parametrelerin optimum değerlerinde işletilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada kullanılan *Clostridium butyricum* ve *Clostridium acetobutylicum* karanlık fermantasyon yöntemi ile hidrojen üreten bakterilerdir. Bu bakterilerin fermentasyon sırasında oluşturduğu organik asitler nedeni ile pH değerlerinde düşme gözlenir. Yüksek değerlerde pH'nın azalması hidrojen üretimini engellediğinden dolayı pH'nın optimum değerinde kontrol edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, kesikli işletilen 5 L'lik biyoreaktörde, oksijensiz koşullar sağlanarak, 600 devir/dk karıştırma hızında, 28°C sıcaklıkta, besi ortamı olarak patates kullanılarak çalışılmıştır. Biyoreaktörde, deney süresince pH değişimini ölçmek için pH ve sıvı fazdaki çözünmüş oksijen miktarını ölçmek amacıyla da DO elektrotları kullanılmıştır.

Çalışmalara ilk olarak *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 ile başlanmış ve hidrojen üretim prosesi sisteminin kurulması, geliştirilmesi ve anaerobik aktarım çalışmaları bu mikroorganizmayla gerçekleştirilmiştir. Daha sonra asıl *Clostridium butyricum* NRRL B-1024 mikroorganizması aktiflendirilerek hidrojen üretim deneylerinde kullanılmıştır.

Bu konu ile ilgili kaynaklarda, karanlık fermentasyon ile hidrojen üretim proseslerinde incelenen parametrelerin başında pH kontrolüne yönelik çalışmalar gelmektedir. Bu nedenle çalışmalarımızda uygun pH değerini bulmak için karıştırma hızı ve sıcaklığı sabit tutulan sistemde patates ortamında farklı başlangıç pH değerleri denenerek 120 saatlik fermentasyon sonucunda hidrojen veriminin en yüksek olduğu başlangıç pH değeri belirlenmiştir. Daha sonra çalışmalarımıza biyohidrojen üretimi için en uygun besi ortamının ve mikroorganizma saklama koşullarının belirlenmesi için yapılan çalışmalar ile devam edilmiştir. Bu amaçla dört farklı besi ortamı (patates, melas, peyniraltı suyu ve kimyasallı (glikoz+CaCO₃) patates ortamı) seçilmiştir. Seçilen ortamlara, üç farklı mikroorganizma saklama ortamında (süt, gliserin ve patates) muhafaza edilen mikroorganizmalar aktararak en iyi hidrojen üretim performansı veren saklama ve besi ortamı tayin edilmiştir.

Mikroorganizma çoğalması sırasında pH düşmesinden dolayı, ayar değişkeni olarak baz akış hızı seçilmiş ve baz akış hızının ayarlanması amacıyla bilgisayara on-line bağlı pompa kullanılmıştır. Bilgisayar programı olarak MATLAB programlama dili kullanılmış, bu program içerisinde yer alan Simulink yazılımında model hazırlanarak dinamik deneylerde, pompaya farklı etkiler verilmesini, on-line pH verilerinin alınmasını, ekranda grafiğinin çizilmesini ve kaydedilmesini sağlamıştır.

Bu çalışmada elde edilen girdi-çıkış verilerinden yararlanılarak, sistem tanımlama teknikleriyle biyoreaktör modellenmiştir. Çıkış değişkeni olan pH ile giriş değişkeni olan hava akış hızı arasındaki ilişki ARMAX türü bir model ile ifade edilmiştir. Modelin katsayıları hesaplanırken parametre tahmin yöntemlerinden Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi kullanılmıştır.

pH kontrolünün yapılabilmesi için gerekli olan kontrol parametrelerinin saptanması için yapılan çalışmalarda PID kontrol yöntemi kullanılmıştır. Sisteme mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız besi ortamlarında ayarlanabilen değişkene pozitif basamak etkiler verilerek birçok dinamik inceleme gerçekleştirilmiştir. Elde edilen proses reaksiyon eğrisi, farklı yöntemler (eğri geçirme, Smith ve doğrusal regresyon) kullanılarak gerekli parametreler hesaplanmıştır. Saptanan parametrelerden sistemi en iyi simule eden

veriler seçilerek Cohen-Coon parametre ayarlama yöntemi kullanılarak PID parametreleri hesaplanmıştır. Parametrelerin uygunluğu MATLAB programlama dilinde yazılan teorik PID programında, ISE kriteri değerlerine göre kıyaslanarak belirlenmiştir.

1. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Yokoi et al. (1998), *Clostridium butyricum* ve *Enterobacter aerogenes* ile karışık kültür oluşturarak hidrojen üretimi gerçekleştirmişlerdir. Saf kültür olarak *Clostridium butyricum*, indirgeyici madde kullanılarak ve karışık kültür ile indirgeyici madde kullanılmadan deneyler gerçekleştirmişlerdir. *Clostridium butyricum* ve *Enterobacter aerogenes* ile hazırlanan karışım kültürde fakültatif anaerob olan *Enterobacter aerogenes* mikroorganizması reaktördeki oksijeni tükettiği için anaerobik şartlarda ortama indirgeyici madde ilave edilmeden hidrojen üretilenmiştir. Bu yöntemle maliyeti artırıcı etki yaratan indirgeyici madde L-cysteine kullanılmasına gerek kalmadan üretim yapılabilmiştir. Ayrıca karışık kültür uygulayarak sistemin gecikme fazının süresinin 5 saatten 2 saate kadar düştüğü gözlenmiştir. Sonuç olarak karışım kültür ile 2.6 mol H₂/ mol glikoz verimine ulaşmışlardır.

Kim et al. (1999), *Clostridium butyricum* NCIB 9576 ile glikoz, laktoz, nişasta ve gliserin içeren ortamda hidrojen üretimi gerçekleştirmişlerdir. pH kontrolü yapılmadığında başlangıç pH'ı 6.8 değerinden 12–16 saatlik fermentasyon süresi boyunca 4.2–4.5 değerlerine düştüğü gözlenmiştir. Bu durumda glikoz tam olarak tüketilememiş, pH 5.5 değerinde kontrol edildiği durumda ise glikoz tamamen tüketilmiştir ve pH kontrolsüz deneye göre hidrojen üretiminin % 38–50 artış gösterdiği belirtilmiştir.

Fang et al. (2002), glikoz substrat olarak kullanarak karışım kültür mikroorganizma ile hidrojen üretiminde pH'ın etkisi incelemişlerdir. 36 °C sıcaklıkta 6 saat HRT (Hydrolic Retention Time) süresinde pH 4–7 aralığında glikoz dönüşümü incelenmiş, pH 4 değerinde %90.3 olan glikoz dönüşümü pH 5.5 değerinde artarak %99.3'e çıktığı gözlenmiştir. En yüksek hidrojen verimi ve hidrojen üretim hızına optimum değer olarak belirlenen pH 5.5 da ulaştığı, maksimum hidrojen veriminin 2.1 mol H₂/ mol glikoz olduğu saptanmıştır.

Sung et al. (2003), biyolojik hidrojen üretiminde pH'ın etkisi ve farklı substratlar (sakkaroz, yağsız süt tozu, yemek atığı) kullanılarak biyohidrojen üretim hızları araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda optimum hidrojen üretimi için en uygun pH değerinin 5.5 olduğu bulunmuştur. Yapılan biyokinetik çalışmalarda hidrojen üreten bakterilerin spesifik büyüme hızlarının sakkaroz, yağsız süt tozu ve yemek atıklarında sırasıyla 0.10 h^{-1} , 0.176 h^{-1} , 0.215 h^{-1} olarak bulunmuştur.

Logan et al. (2003), bazı organik substratlardan mikrobiyal fermentasyon ile hidrojen üretiminde ortamda bulunan metanogenlerin çoğalmasını engelleyerek yüksek hidrojen verimine ulaşmışlardır. Metanogenlerin çoğalmasını kısıtlamak için iki farklı yöntem uygulamıştır. Isıl işlem uygulanması pH 6.2 ve 7.5 değerlerindeki aşılmalarda, ısı işlem uygulanmamış pH 6.2 deki inokulasyona göre daha yüksek verimde hidrojen derişimi (% 57-72) elde etmişlerdir. Hidrojen gaz faz konsantrasyonunun kesikli üretim çalışmalarında 30 saat sonunda %57-72 değerine ulaştığı ancak bu saatten sonra 80 saat boyunca hidrojen derişiminin sürekli azaldığı belirtilmiştir. Hidrojenin azalmasının asetogenesiz ile meydana geldiği ve ısı etkisinin asetogenesisi engelleyemediği sonucuna varmışlar ve ısı etkisinin sadece ölçülebilir değerlerdeki metan oluşumunu elimine edebildiğini belirtmişlerdir.

Khanal et al. (2004), yaptıkları çalışmada biyolojik hidrojen üretimine pH'ın etkisinin incelemişler, maksimum hidrojen veriminin sakkaroz ve nişasta gibi organik substratlar kullanılarak optimum işletim koşullarını saptamışlardır. Bu çalışmada başlangıç pH'ının hidrojen üretim potansiyeli ve hidrojen üretim hızına etkisi belirlenmiştir. Düşük başlangıç pH 4.5 da spesifik hidrojen üretimi hızının azaldığını, yüksek başlangıç pH'larında ise hidrojen üretim hızının arttığını, ancak hidrojen üretim potansiyelinin düşüş gösterdiğini saptamışlardır. Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda spesifik hidrojen üretim hızının en yüksek olduğu değerin pH 5.5–5.7 aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Crabbe et al. (2005), yaptıkları çalışmada *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* kullanarak peynir altı suyu besi ortamında başlangıç pH'nın etkisini araştırmışlardır.

Hidrojen üretim hızı ve veriminin pH 6 başlangıç değerinde en yüksek değerine ulaştığını ve pH'ın arttıkça düşüş gösterdiğini belirtmişlerdir. En yüksek hidrojen üretim hızı ve verimi 28.3 ml H₂ h⁻¹ ve 7.89 mmol H₂ g⁻¹ laktoz elde edilmiştir. pH 6-8 değerleri arasında fermentasyon süresi 50-52 saat sürerken bu süre pH 9-10 değerlerinde 62-82 kadar artış göstermiştir. Prosesin gecikme fazı, pH 5 ve pH 6 gibi düşük pH değerlerinde daha uzun iken yüksek pH değerlerinde gecikme fazının daha kısa olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda en uygun pH değerinin 6 olduğuna karar verilmiş ve bu pH değerinde 47.07 ml.h⁻¹ ve 1432 ml hidrojen üretildiği saptanmıştır.

Kim et al. (2006), fermentasyon süresince reaktöre gaz püskürtme yönteminin hidrojen verimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada, N₂ ve CO₂ gazlarının 100, 200, 300, 400 ml/dk gibi farklı akış hızlarındaki etkileri incelenmiştir. Hidrojen üretiminin hiç gaz püskürtmesi yapılmayan deneylere göre daha yüksek verime ulaştığı gözlenmiş ve ayrıca CO₂ gazının, N₂ gazına göre verimi daha çok yükselttiği belirtilmiştir. En yüksek verimde hidrojen üretiminin 300 ml/dk akış hızında CO₂ püskürtülmesiyle bulunmuştur.

Zhang et al. (2006), *Clostridium acetobutylicum* saf kültürü ile çalışmışlardır. Glikozun 1.6 ml/dk akış hızında reaktöre gönderilerek hidrolik alıkonma süresi 2.1 dk seçilmiştir. Gaz faz hidrojen derişiminin ortalama % 74 olduğu saptanmıştır. Glikoz konsantrasyonunun 1–10.5 g/L'ye artışıyla birlikte, hidrojen üretim hızının 89 ml/h.L değerinden 220 ml/h.L değerine artış gösterdiği, teorik olarak 1 mol glikoz başına 4 mol hidrojen oluşumu temel alınarak, hidrojen verimi %15–27 olduğu açıklanmıştır. Fermentasyon sonucunda yan ürünler olarak asetat ve buterat oluşumu saptanmıştır

Zhou et al. (2007), iki aşamalı karanlık ve foto fermentasyon prosesi ile substrat olarak sukroz kullanılarak hidrojen verimi arttırılmıştır. Karanlık fermentasyon ile maksimum hidrojen üretim hızının 360 ml H₂/ L.h ve maksimum hidrojen verimi 3.67 mol H₂/mol sakkaroz bulunmuştur. Karanlık fermentasyon ile üretilen organik asitler özellikle buterat ve asetat foto fermentasyon prosesinde *Rhodobacter sphaeroides* SH2C ile

hidrojene dönüştürülmüştür. Karanlık fermantasyon ile elde edilen 3.67 mol H₂/ mol sukroz verimi 2 aşamalı sistem ile 6.63 mol H₂/ mol sukroz değerine çıkarılmıştır.

Li et al. (2008), anaerobik fermantasyon yöntemi ile yaptıkları kesikli deneylerde pH ve glikozun hidrojen oluşumuna etkisini incelemişlerdir. Dört farklı glikoz derişiminde (5.0, 7.5, 10 ve 20 g glikoz/ L) ve pH 5, 6 ve 7 değerlerinde kesikli üretim deneylerinde anaerobik fermentasyon ile hidrojen üretiminde 7.5 g glikoz/L ve pH 6.0 değerinde en iyi hidrojen üretim performansı elde edilmiştir. Bulunan optimum koşullarda maksimum hidrojen üretim hızı 0.22 mol H₂/mol glikoz. h, kümülatif H₂ veriminin 1.83 mol H₂/mol glikoz ve biogaz içerisinde %63 H₂ değerine ulaşmıştır.

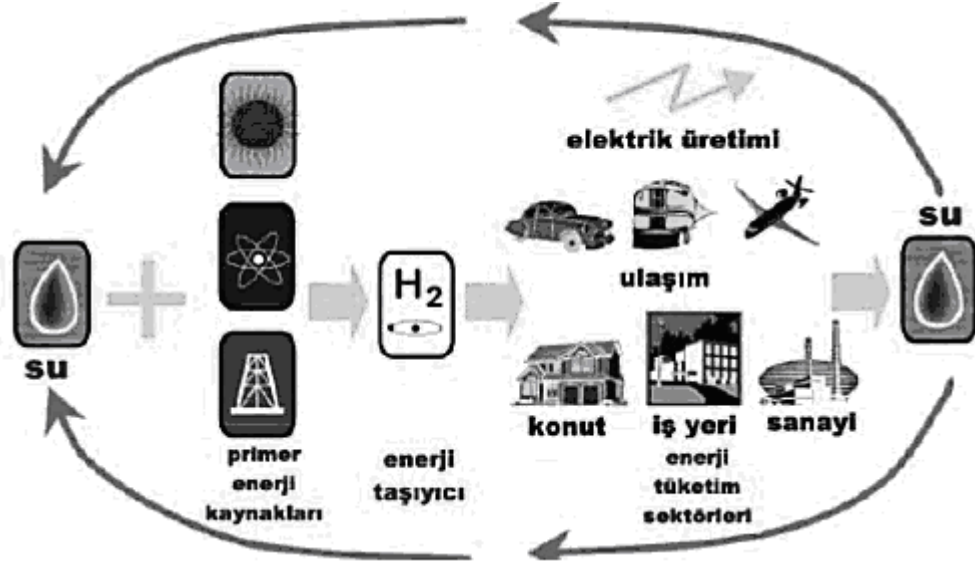
Alalayah et al. (2008), yaptıkları çalışmada *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564) suşunu kullanarak fermentatif olarak hidrojen üretimi gerçekleştirmişlerdir. Hidrojen üretim prosesi üzerine etki eden substrat derişimi, başlangıç pH'ı ve sıcaklığın etkisini araştırmışlardır. Glikoz derişimi 10g L⁻¹, başlangıç pH'ı 6±0.2 ve 37 °C sıcaklıkta hidrojen verimini 3.1 mol/mol glikoz olarak tespit etmişler, ayrıca başlangıç eklenen glikoz derişimi arttıkça üretilen hidrojen hacminde azalmanın meydana geldiğini açıklamışlardır.

3. KURAMSAL TEMELLER

3.1 Hidrojen Yakıtının Özellikleri

Hidrojen, en hafif kimyasal elementtir. Evrendeki en basit ve en çok bulunan element olup; renksiz, kokusuz, zehirsiz ve havadan 14.4 kez daha hafif bir gazdır. Güneş ve diğer yıldızların termonükleer tepkimeyle vermiş olduğu ısıнын yakıtıdır ve evrenin temel enerji kaynağıdır. Hidrojen $-252.77\text{ }^{\circ}\text{C}$ ta sıvı hale getirilebilmekte, sıvı hidrojenin hacmi gaz halindeki hacminin sadece 1/700 kadarını oluşturmaktadır. Hidrojen, bilinen tüm yakıtlar içerisinde birim kütle başına en yüksek enerji içeriğine (Üst ısı değeri 140.9 MJ/kg, alt ısı değeri 120.7 MJ/kg) sahiptir. 1 kg hidrojen, 2.1 kg doğalgaz veya 2.8 kg petrolün sahip olduğu enerjiye sahiptir. Petrol yakıtlarına göre ortalama 1.33 kat daha verimli bir yakıttır. Buna karşın, enerji olarak kullanılabilmesi için doğadaki bileşiklerden ayrıştırılması gerekir (Veziroğlu 1998). Hidrojenin diğer yakıtlardan önemli bir farkı, güneş veya rüzgar enerjisinin yardımıyla sudan üretilmesi ve yakıldığında sadece su açığa çıkmasıdır.

Hidrojen doğada serbest halde değil, bileşikler halinde bulunur. En çok bilinen bileşiği ise sudur. Isı ve patlama enerjisi gerektiren her alanda kullanımı temiz ve kolay olan hidrojenin yakıt olarak kullanıldığı enerji sistemlerinde, atmosfere atılan ürün sadece su ve/veya su buharı olur. Bunun dışında çevreyi kirleten hiçbir gaz ve zararlı kimyasal madde (karbonmonoksit veya karbondioksit gibi) açığa çıkmaz (Veziroğlu 1998).



Şekil 3.1 Hidrojen enerji sistemi (Veziroğlu 1998)

Hidrojenin en önemli özelliklerinden biri de depolanabilir olmasıdır. Ancak, hidrojenin son derece hafif olması nedeni ile depolanması için büyük hacimler gerekmektedir. Bu nedenle hidrojen enerjisi kullanımının yaygınlaşması için güvenli, küçük hacimde yüksek miktarda hidrojen depolayabilen sistemlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Günümüzde hidrojen, kullanım alanlarına bağlı olarak gaz, sıvı veya metal hidrürler, kimyasal hidrürler, nanotüpler gibi katı maddeler içinde depolanabilir. Ancak bu yöntemler henüz gelişim aşamasındadır ve ekonomik hale gelmesi zaman alacaktır.

Doğadaki birincil (ana) enerji kaynaklarını kömür, petrol, doğal gaz gibi fosil yakıtlar ile güneş, rüzgâr, jeotermal, dalga ve hidrolik (su) gibi yenilenebilir kaynaklar olarak sınıflamak mümkündür. Birincil kaynaklardan elde edilen ikincil enerjilere, enerji taşıyıcısı da denilir. Hidrojen doğal bir yakıt olmayıp, birincil enerji kaynaklarından yararlanılarak elde edilen ikincil bir enerji kaynağıdır. Doğada bileşik biçimde, örneğin su olarak bol miktarda bulunan hidrojen serbest biçimde bulunmadığından, bir doğal enerji kaynağı değildir (Dincer *et al.* 2002) .

Hidrojenin bazı fiziksel özellikleri ve diğer yakıtlarla kıyaslanması Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Hidrojen ve diğer yakıtların özellikleri
(www.metalurji.org.tr/dergi/dergi134/d134_101105.pdf, 2008)

Özellik	Benzin	Metan	Hidrojen
Yoğunluk, kg/m ³	4.40	0.65	0.084
Hava içindeki difüzyonu, cm ² /s	0.05	0.16	0.61
Sabit basınçta özgül ısısı, J/g.K	1.20	2.22	14.89
Havada ateşleme sınırı, % hacim	1.0–7.6	5.3–15.0	4.0–75.0
Havada ateşleme enerjisi, mJ	0.24	0.29	0.02
Ateşleme sıcaklığı, °C	228–471	540	585
Havada alev sıcaklığı, °C	2197	1875	2045
Patlama enerjisi, g TNT kJ ⁻¹	0.25	0.19	0.17
Alev yayılması (emisivitesi), %	34–42	25–33	17–25

Hidrojen, özellikle güneş, rüzgâr ve küçük hidroelektrik santralleri gibi yenilenebilir enerji kaynaklarından düzensiz olarak sağlanan elektrik kullanılarak üretilabilir ve depolanabilir. Bu yöntemle daha önce depolanamayan yenilenebilir kaynakların, istenilen zamanda ve yerde en verimli şekilde kullanılmasına olanak sağlar.

3.2 Hidrojen Üretim Yöntemleri

Hidrojen enerji sistemi yeni olmasına karşın hidrojen üretimi yeni değildir. Şu anda dünyada her yıl 500 milyar m³ hidrojen üretilmekte, depolanmakta, taşınmakta ve kullanılmaktadır. En büyük kullanıcı payına kimya sanayii, özellikle petrokimya sanayii sahiptir. Ülkemizde suni gübre sanayii (25.000m³), bitkisel yağ (margarin) üretimi (16.000m³), petrol rafinerileri (1.200m³), petrokimya endüstrisi (30.000m³), hidrojene hayvansal yağ üretimi (200-300m³) ve çeşitli yerlerde kullanılmakta, basınçlı silindirlerde gaz veya sıvı hidrojen üretimi (6.000m³) sadece sanayide kullanılmak üzere yapılmaktadır. Enerji üretimi amacıyla ticari boyutlu hidrojen üretimi henüz mevcut değildir (http://www.biyolojidunyasi.com/Enerji_Hidrojen.asp, 2008).

Hidrojenin üretim kaynakları çeşitlilik göstermektedir. Fosil yakıtlardan elde edilebildiği gibi güneş, rüzgâr, hidrolik enerji gibi yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanılması ve suyun elektrolizi, biyokütleden ve biyolojik proseslerle üretimi mümkündür. Günümüzde hidrojen ağırlıklı olarak doğal gazın buhar reformasyonu ile elde edilmektedir. Suyun elektrolizi bilinen bir yöntem olmakla beraber ekonomik hale getirilmesi konusunda çalışmalar, yine benzer şekilde güneş enerjisinden biyoteknolojik yöntemlerle hidrojen üretimi konusunda araştırma-geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Hidrojen; fosil yakıtlar, su ve biyokütle olmak üzere üç farklı kaynak ile üretilir (Das and Veziroğlu 2001).

1) Fosil yakıtlar ile hidrojen üretim yöntemleri

- Doğalgazın buhar reformasyonu
- Kısmi oksidasyon
- Doğalgazın termal parçalanması
- Kömürün gazlaştırılması

2) Biyokütle ile hidrojen üretimi

- Piroliz
- Gazlaştırma

3) Su ile hidrojen üretim yöntemleri

- Elektroliz
- Termokimyasal prosesler
- Termoliz
- Biyolojik üretim

Hidrojenin yaklaşık %90'ı doğalgazın yüksek sıcaklıkta buhar reformasyonu sonucu üretilmektedir. Kömürün gazlaştırılması ve elektroliz ise diğer tercih edilen yöntemlerdir (Das and Veziroğlu 2001).

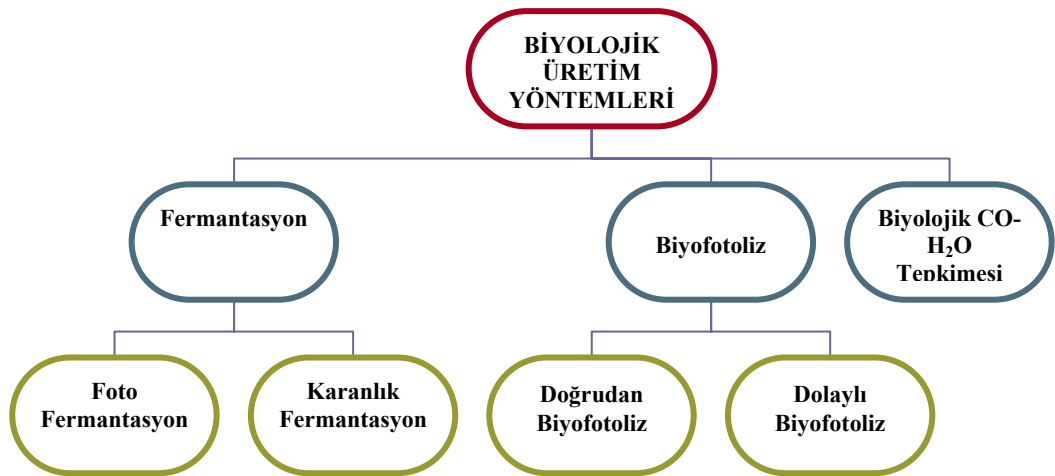
Doğalgazın buhar reformasyonu, kısmi oksidasyon, doğalgazın termal parçalanması, kömürün gazlaştırılması gibi endüstriyel metodlar, başlıca enerji kaynağı olarak fosil yakıtları kullanılmaktadır. Elektrokimyasal ve termokimyasal hidrojen üretim proseslerinde ise gerekli enerji yüksektir ve çevreye zararlı etkileri mevcuttur. Ancak biyolojik hidrojen üretimi proseslerinde, normal sıcaklık ve basınçlarda çalışıldığı için enerji ihtiyacı düşüktür. Biyolojik üretim prosesleri sadece çevreye dost olmasıyla değil ayrıca yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımını sağlamasıyla da avantajlı hale gelmektedir (Das and Veziroğlu 2001).

3.3 Biyolojik Hidrojen Üretimi

Biyohidrojen kavramı, yenilenebilir kaynaklardan (güneş, su, organik atıklar) hidrojenin biyolojik ya da fotobiyolojik yolla üretimi için kullanılmaktadır. Bu amaçla bazı bakteriler ve mikroalglerden yararlanılmakta, biyolojik yolla hidrojen eldesi küçük ölçeklerde son 25 yıldan beri daha yoğun olarak çalışılmaktadır. 1970’lerde ortaya çıkan petrol krizi ile birlikte, özellikle hidrojen üretimi prosesleri öne çıkmaya başlamıştır. Hidrojen üretiminde biyolojik yöntemlerin kullanılması henüz ucuz olmamakla birlikte, çevre dostu temiz teknolojinin tercih edildiği durumlar ve özellikle 21. yüzyıl için iyi bir alternatif enerji kaynağı olması kaçınılmazdır.

Biyolojik hidrojen üretimi üç farklı grupta incelenir ve bunlar Şekil 3.2’de gösterilmektedir. Bunlar;

1. Biyofotoliz
 - Doğrudan biyofotoliz
 - Dolaylı biyofotoliz
2. Biyolojik CO-H₂O tepkimesi
3. Fermentasyon
 - Fotofermentasyon
 - Karanlık fermentasyon



Şekil 3.2 Biyolojik yolla hidrojen üretim yöntemleri şeması

Biyofotoliz prosesinin başlangıçta diğer yöntemlere göre daha cazip gibi görünmektedir. Çünkü herhangi bir organik bileşiğe ihtiyaç duymadan suyu hidrojen ve oksijene ayrılmasını sağlamaktadır. Ancak hidrojen üretim hızının düşük ve oksijen oluşumunun hidrojen üretimini bozucu yönde etki ettiği bildirilmiştir (Uyar 2008).

Karanlık fermantasyon ile hidrojen üretiminde, bazı anaerobik bakteriler karanlık koşullarda organik substratları ayrıştırarak hidrojen üretirler. Ayrışma tamamlandığında, düşük molekül ağırlıklı organik bileşikler ile birlikte, hidrojen ve karbondioksit üretilir, fermantasyon sonucunda üretilen organik asitler fotosentetik bakteriler tarafından hidrojen üretiminde kullanılırlar (Wakayama and Miyake 2001, Uyar 2008).

3.3.1 Hidrojen üreten mikroorganizmalar

Biyolojik hidrojen üretimi sistemlerinde, algler, siyanobakteriler (mavi-yeşil algler), fotosentetik ve fermantatif bakteriler kullanılmaktadır (Das and Veziroğlu 2001).

Biyolojik olarak hidrojen üretilen dört farklı proste kullanılan substratlar, mikroorganizmalar ve oluşan yan ürünler farklılık göstermektedir. Çizelge 3.2’de yöntemlerin substrat ve ürünler yönünden kıyaslanması verilmektedir. Çizelge 3.3’de ise bu mikroorganizmaların sınıflandırılması ve farklı türleri verilmektedir.

Çizelge 3.2 Biyolojik hidrojen üretim yöntemlerinin substrat ve ürünlerinin karşılaştırılması (Eroğlu 2008)

Biyo Prosesler	Mikroorganizma	Substratlar	Ürünler	Reaksiyon
Biyofotoliz Doğrudan Dolaylı	Algler Siyanobakteriler	Işık, H ₂ O, CO ₂	H ₂ , O ₂ biyokütle	$H_2O \rightarrow H_2 + (1/2) O_2$
Biyolojik CO-H ₂ O reaksiyonu	Fotosentetik bakteriler	CO H ₂ O	H ₂ , CO ₂ biyokütle	$CO + H_2O \rightarrow CO_2 + H_2$
Foto fermentasyon	Fotosentetik bakteriler	Işık Organik atıklar	H ₂ , CO ₂ , Biyokütle, Organik asitler	$Organik\ asitler + 6H_2O + ışıık \rightarrow 12 H_2 + 6CO_2$
Karanlık fermentasyon	Fermentatif bakteriler	Organik atıklar	H ₂ , CO ₂ , Biyokütle, Yüksek Organik asitler	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow 4H_2 + 2CO_2 + 2CH_3COOH$

Çizelge 3.3 Hidrojen üren mikroorganizmalar (Das and Veziroğlu 2001)

Türler	Mikroorganizma adları
Yeşil algler	<i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>C. moewusii</i>
Siyanobakteriler Heterocystous	<i>Anabaena azollae</i> <i>Anabaena CA</i> <i>A. variabilis</i> <i>A. cylindrica</i> <i>Nostoc muscorum</i> <i>N. spongiaeforme</i> <i>Westiellopsis proli_ca</i>
Fotosentetik bakteriler	<i>Rhodobater sphaeroides</i> <i>R. capsulatus</i> <i>R. sulidophilus</i> <i>Rhodopseudomonas</i> <i>sphaeroides</i> <i>R. palustris</i> <i>R. capsulata</i> <i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>Chromatium sp. Miami PSB 1071</i> <i>Chlorobium limicola</i> <i>Chloroexu aurantiacus</i> <i>Thiocapsa roseopersicina</i> <i>Halobacterium halobium</i>
Fermentatif bakteriler	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>E. cloacae</i> <i>Clostridium butyricum</i> <i>C. pasteurianum</i> <i>Desulfovibrio vulgaris</i> <i>Magashaera elsdenii</i> <i>Citrobacter intermedius</i> <i>Escherichia coli</i>

3.3.2 Suyun biyofotolizi ile hidrojen üretimi

Biyofotoliz, kimi alglerden güneş enerjisi yardımıyla hidrojen ve oksijen elde etme işlemidir. Deniz suyu içindeki algler, bir tür güneş pili gibi çalışarak deniz suyunu fotosentetik olarak ayrıştırırlar (Das and Veziroğlu 2001).

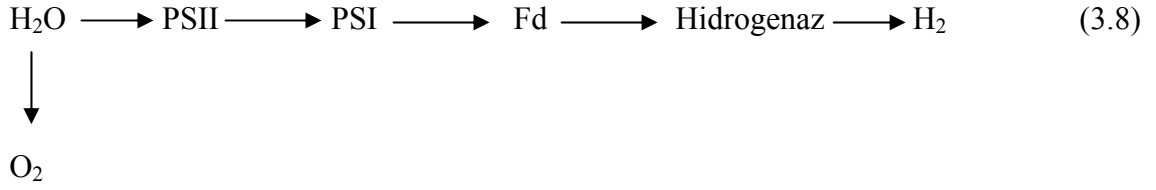
Fotokimyasal reaksiyonlar genelde, radyasyon (kızılötesi, görünür veya morötesi) şeklinde absorbe edilen enerji ile başlatılır. Fotokimyasal reaksiyonlar bazen ışık enerjisinin kimyasal enerjiye çevriminde oldukça yüksek verim gösterirler. Yeşil bitkilerdeki fotosentez olayında, sudaki hidrojen ve oksijen molekülleri arasındaki kararlı yapının ışık enerjisi yardımıyla kırılması şeklinde başlar. Ancak, bu reaksiyon sadece bitkilerde oluşur (Türe 2007) .

Fotosentetik olarak aktif bazı organizmalar, içerdikleri pigmentler nedeniyle, suyun ayrıştırılması için daha düşük enerjili, yani görünür bölgede ışınlama gerek duyarlar. Son yıllarda bu alanda yapılan çalışmalarda, çeşitli mikroorganizmalar ile deniz yosunları hidrojen üretimi için oldukça ümit verici bulunmuştur (Skulberg 1991, Smith *et al.* 1992).

Biyofotoliz işlemi, bitki ve alglerdeki fotosentezin esasını oluşturur. Fotosentezde, ışığın absorbe edilmesiyle iki ayrı fotosentetik sistem serisi oluşur: 1) suyun ayrılması ve O₂'nin yayılması sistemi (" fotosistem II" veya "PS II") ve 2) fotosistem I (PSI) ,CO₂ 'in indirgenmesi (Ramachandran *et al.* 1998)

Yeşil bitkiler karbon kaynağı olarak yalnızca CO₂ kullanırlar ve sadece enzimler hidrojen oluşumunu katalizleyebilirler. Ancak yeşil bitkilerde hidrogenaz enzimi yoktur ve bu nedenle hidrojen üretemezler (Das and Veziroğlu 2001) .

Mikroalgler çoğunlukla ökaryotik (yeşil algler gibi) veya prokaryotiktir (siyanobakteriler ve mavi-yeşil algler). Bunlar hidrogenaz enzimi içerirler ve özel koşullar sağlandığında hidrojen üretebilirler. Hidrogenaz enzimi ile ferrodoksin (Fd) taşıyıcılığıyla hidrojen oluşum denklemi, aşağıdaki gibi olmaktadır.



Bu proses doğal olarak diğer proseslere göre cazip gibi gözükmemektedir. Çünkü güneş enerjisini kullanarak suyu, oksijen ve hidrojene ayırmaktadır: ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + (1/2) \text{O}_2$). Ancak, ortamda bulunan düşük oksijen konsantrasyonlarında bile, hidrojenaz enziminin aktivitesini biyofotoliz boyunca inhibe ederek hidrojen oluşumunu azaltmaktadır (Das and Veziroğlu 2001, Benemann and Hallenback 2002) .

Biyofotoliz iki şekilde gerçekleşir;

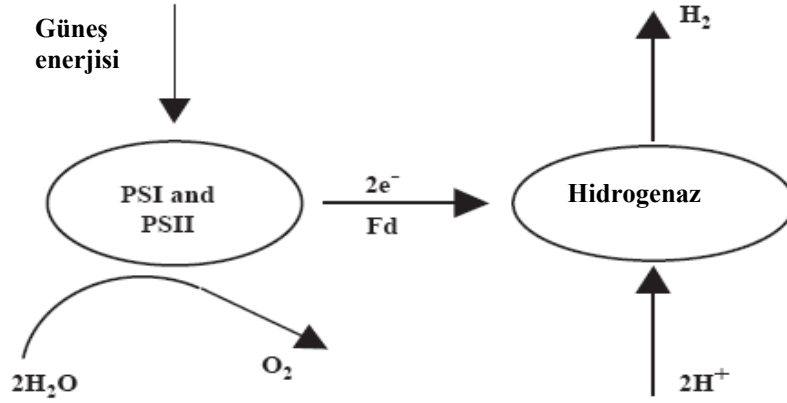
- Doğrudan biyofotoliz
- Dolaylı biyofotoliz

Doğrudan biyofotoliz

Doğrudan biyofotoliz ile hidrojen üretiminde mikroalgler ışık enerjisini kullanarak hidrojen üretirler (Leung *et al.* 2006).



Bu proseste, PSII ışık enerjisini absorpladığında elektronlar oluşmakta, bu elektronlar, PSI ile absorplanan enerjiyi kullanarak ferrodoksin ile transfer edilmekte ve hidrojenaz enzimi Fd 'den aldığı elektronları kullanarak hidrojen üretmektedir (Leung *et al.* 2006).



Şekil 3.3 Doğrudan biyofotoliz sistematığı şeması (Leung *et al.* 2006)

Hidrogenaz oksijene karşı hassastır. Bu yüzden ortamda en yüksek % 0.1 değerinde oksijen bulunabilir.

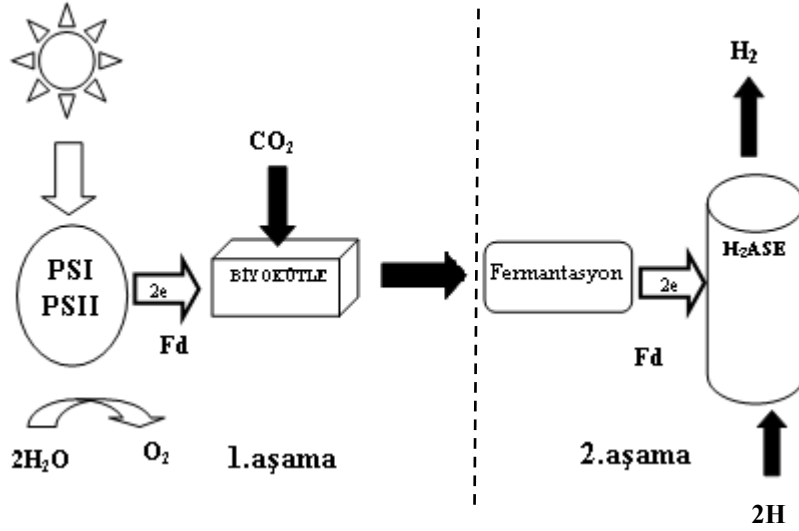
Yapılan çalışmalarda doğrudan biyofotoliz ile hidrojen üretiminin maliyetinin 20 \$/GJ olduğunu belirtmiştir (Benemann and Hallenbeck 2002).

Dolaylı biyofotoliz

Dolaylı biyofotoliz dört adımdan oluşur.

- Fotosenteze biyokütle üretimi
- Biyokütlenin derişimi
- Aerobik karanlık fermantasyonun alg hücreleriyle verimi 4 mol H_2 /mol glikoz ve 2 mol asetat oluşması
- 2 mol asetatın hidrojene dönüşümü

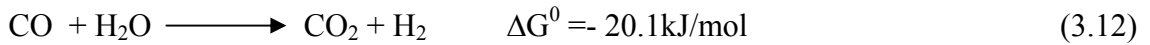
Dolaylı biyofotoliz ile hidrojen üretiminde siyanobakteriler kullanılır. Gerçekleşen reaksiyonlar 3.10 ve 3.11 eşitlikleriyle verilmektedir. Dolaylı biyofotoliz sistematığı Şekil 3.4’de verilmiştir (Leung *et al.* 2006).



Şekil 3.4 Dolaylı biyofotoliz sistematığı şeması (Benemann and Hallenbeck 2002)

3.3.3 Su-Gaz dönüşüm reaksiyonu

Bazı heterotrofik bakteriler (*Rhodospirillum rubrum* gibi) karanlıkta CO kullanarak ve ATP meydana getirerek, H^+ ’ı H_2 ’ye indirgerler (Leung *et al.* 2006) .



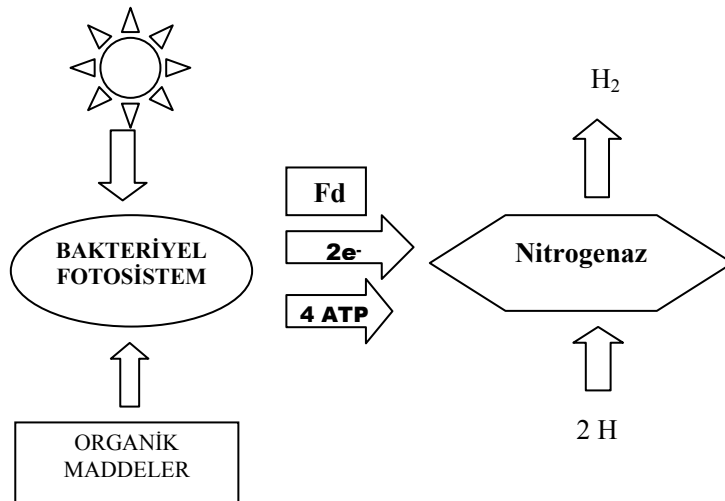
Ana ürünler CO_2 ve H_2 ’dir. Su-gaz reaksiyonu hidrojen üretimine oldukça uygun bir prosestir. Bu proseste gram + (*Carboxydotherrnus hydrogenoformans*) ve gram - (*R. rubrum*, *Rubrivax gelatinosus*) bakteriler kullanılabilir. Anaerobik koşullar altında CO birçok proteinin sentezini meydana getirmektedir. Bunlar CO dehidrogenaz, Fe-S proteini ve CO hidrogenazdır (Leung *et al.* 2006).

Biyolojik su-gaz dönüşüm reaksiyonu ile hidrojen üretimi hala laboratuvar ölçeklidir ve bu konuda yapılan çalışmalar kısıtlıdır.

Analizlerin gösterdiğine göre su-gaz dönüşüm reaksiyonu, metan derişimi %3'ün altına düştüğü zaman ekonomiktir. Hidrojen üretim fiyatı, bu yöntemle metan derişimi %1–10 arasında olduğunda 14.6 \$/GJ- 18.8 \$/GJ arasında değişmektedir.

3.3.4 Fotofermantasyon ile hidrojen üretimi

Fotosentetik bakteriler, biyokütle ve organik asitlerden nitrogenaz enzimini ve güneş enerjisini kullanarak hidrojen üretme kapasitesine sahiptir. Şekil 3.5'de fotofermantasyon yöntemi ile hidrojen üretimi şematik olarak gösterilmiştir. Son yıllarda bu konu ile ilgili çalışmalarda, girdi olarak endüstriyel ve tarımsal atıklar kullanılmaya başlanmıştır.



Şekil 3.5 Fotofermantasyon prosesi şematik gösterimi (Benemann and Hallenbeck 2002)

Fotosentetik bakterileri kullanmanın avantajları şu şekilde sıralanabilir (Uyar 2008) :

- Yüksek substrat dönüşüm etkisine sahiptirler.
- Çeşitli çevre şartlarına göre (aerobik, anaerobik, ışıklı ya da ışısız) fonksiyonel hale gelerek dayanabilirler.
- Geniş aralıktaki ışık spektrumunda çalışılabilir ve yüksek ışık yoğunluğuna dayanabilirler.

Fotosentetik bakteriler, fotofermantasyon sonunda uygun organik bileşikler ortama verildiğinde, azot yokluğu gibi stres koşulları altında iken ve oksijensiz ortamda büyütüldüklerinde hidrojen üretebilmektedirler (Meyer *et al.* 1978, Nandi *et al.* 1998). Oksijen ve amonyum iyonları hidrojen üretimini baskılayan yani negatif yönde etkileyen iki önemli faktördür. Bu mikroorganizmalar oksijensiz fotosentez yaptıklarından dolayı nitrogenaz enziminin oksijene duyarlılığı bir problem olarak ortaya çıkmamaktadır.

Fotosentetik bakterilerle hidrojen üretimi sırasında, nitrogenaz ve hidrogenaz enzimleri rol oynar. Nitrogenazdan başka hücrelerin redoks durumlarına göre hidrojen katalizi ile ilgili iki yönlü çalışan hidrogenaz (reversible) ve hidrojen tüketen hidrogenaz (uptake hydrogenase) enzimleri baskılanır ya da aktive olurlar. En iyi moleküler hidrojen üretimi bu üç enzim aktivitesinin dengelendiği durumlarda olmaktadır. Ortamdaki organik asitler hidrojen ve karbondioksite dönüştürülmektedir (Nandi *et al.* 1998) .

i) Nitrogenaz

Fotosentetik bakteriler ile hidrojen oluşumu bu enzim ile gerçekleşir ve oksijeni uzaklaştırır. Reaksiyon Eşitlik 3.13’de verilmiştir (Uyar 2008).



ii) Hidrogenaz

Enzim katalizi reaksiyonu basitçe Eşitlik 3.14’de verilmiştir.



Hidrojen üretim hızını etkileyen faktörler incelendiğinde, hidrojen üretiminin, üretime katılan enzimler veya çevresel faktörler tarafından etkilendiği bulunmuştur (Benemann and Hallenbeck 2002, Melis 2002). Işık önemli bir etken olarak ortaya çıkmakta, ışığın yoğunluğu, dağılımı hidrojen üretimini etkilemektedir. Ayrıca, azotlu bileşiklerin

konsantrasyonu, indirgenmiş bileşiklerin konsantrasyonu, besi ortamının pH değeri, sıcaklık, tuz miktarı, ortamın oksijen içermesi ve ortamdaki farklı metaller de üretim hızını etkileyen diğer faktörler arasındadır. Bunun yanı sıra fotobiyoreaktörün tipi, özellikle fotobiyoreaktör yüzey/hacim oranı hidrojen üretimini etkileyen faktörler arasındadır. Hidrojen üretimini sınırlayan fiziksel değerler tam olarak oluşturulamadığından, hidrojen verimi istenilen düzeyde değildir ve üretimin artırılması gelecekteki temel hedeflerdendir.

3.3.5 Karanlık fermantasyon ile hidrojen üretimi

Biyolojik hidrojen üretimi eğer teknik engelleri aşabilirse uygulanabilir alternatif yöntem olarak hidrojen üretiminde en çok kullanılan yöntemler arasına girecektir. Birçok anaerobik mikroorganizma kullanılarak karanlık fermantasyon reaksiyonu ile şeker, aminoasit ve doymuş asit metabolizması sonucunda H₂, CO₂ ve diğer indirgenen maddeler üretilir (Turner *et al.* 2007).

Karanlık fermantasyon ile hidrojen üretimi süresince, anaerobik bakteriler organik substratları kullanarak karanlık şartlarda hidrojen üretirler. Bu proses “karanlık hidrojen fermantasyonu” olarak adlandırılır. Çünkü kullanılan anaerobik bakteriler ışığa ihtiyaç duymazlar (Uyar 2008). Geniş bir aralıkta, zorunlu anaeroblar ve fakültatif anaerobik kemohetotroflar, clostridia ve enterik bakteri gibi mikroorganizma türleri karanlık fermantasyonla hidrojen üretiminde etkilidirler (Das and Nath 2004).

Birçok anaerobik mikroorganizma karbonhidrat içeren substratları kullanarak hidrojen üretebilir. Hidrojen üretimi bakterilerde bulunan hidrogenaz aktivitesi ile gerçekleştirilmektedir (Chenlin and Fang 2007). Bu mikroorganizmalar arasında *Enterobacter*, *Bacillus* ve *Clostridium* türleri öne çıkmaktadır (Hawkes *et al.* 2002). Hidrojen üreten mikroorganizmalardan *Clostridium* türleri *Clostridium butyricum*, *Clostridium termolactium*, *Clostridium pasteurianum*, *Clostridium paraputrificum* M-21 ve *Clostridium bifermentans* zorunlu anaerob, gram pozitif, çubuk şeklinde ve spor oluşturan organizmalardır (Chenlin and Fang 2007). *Clostridia* türleri hidrojen üretimini üstel büyüme fazı evresinde gerçekleştirirler. Popülasyon durgunluk fazına ulaştığında,

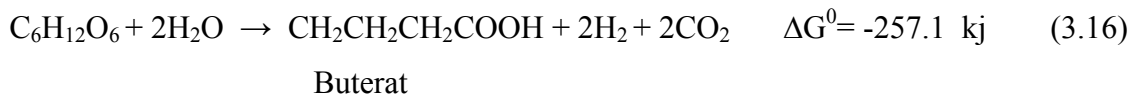
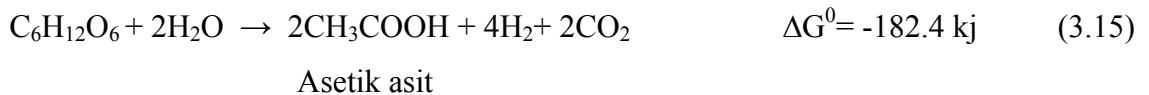
kesikli olarak *Clostridia*'nın büyüme metabolizması hidrojen ve asit üretim fazından çözücü üretim fazına dönüşür. Farklı mezofilik kültürlerle yapılan araştırmalarda hidrojen üretiminde %64–66 *Clostridia* türlerinin kullanıldığı gözlenmiştir (Kargı *et al.* 2006). Hidrojen üretimi için kullanılan diğer türlerden olan fakültatif anaeroblar ise *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*'dir. *Enterobacter* gram negatif ve çubuk şekillidir. *Clostridium* ve *Enterobacter* türleri karışım kültür halinde çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır (Chenlin and Fang 2007).

3.3.5.1 Karanlık fermantasyon ile hidrojen üretim metabolizması

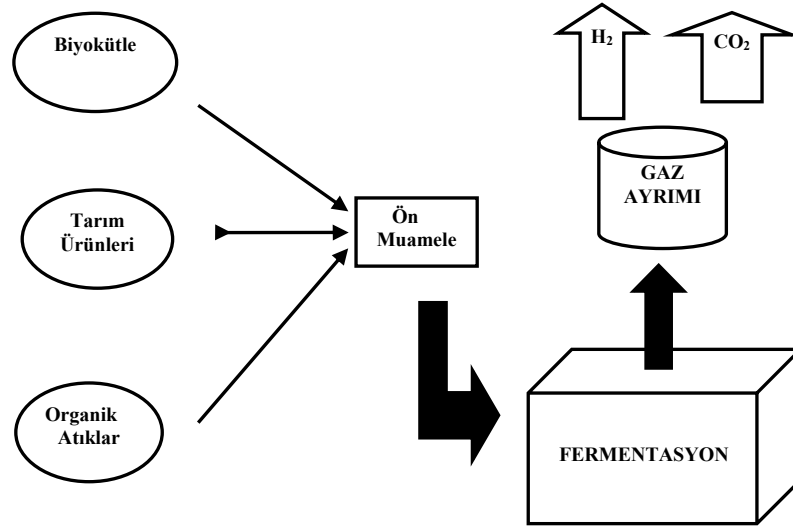
Karanlık hidrojen fermantasyonu potansiyelini etkileyen iki önemli engel bulunmaktadır. Bunlar yüksek maliyetli glikoz kaynakları ve düşük hidrojen molar verimidir. Glikoz ideal bir substrattır, ancak çok masraflıdır. Birçok tarımsal kaynaklar ve yiyecek atıkları karbonhidratlarca zengindir ve glikoz kaynağı olarak kullanılabilir (Turner *et al.* 2007).

Anaerobik bakteriler fermantasyon ile karbonhidratlarca zengin substratlarla 30°C–80°C de karanlık ortamda hidrojen üretebilirler. Karanlık fermantasyon ile hidrojen üretimi Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Biyofotoliz prosesinde sadece H₂ üretilir ancak karanlık fermantasyon prosesinde H₂'nin yanında CO₂ de çıkar. Ancak bu CO₂ değeri bitkilerin fotosentez yapması için gerekli olan miktar kadardır (Leung *et al.* 2006).

Thauer *et. al.*, *Clostridia* mikroorganizmasıyla sadece son ürün olarak asetat oluşması durumunda hidrojen veriminin 4 mol H₂/mol glikoz olacağını belirtmiştir (Eşitlik 3.15). Eğer son ürün olarak buterat meydana gelirse 2 mol hidrojen oluşmaktadır (Eşitlik 3.16) (Turner *et al.* 2007).



Ancak pratikte 1 mol glikozdan 4 mol H₂'e ulaşamaz. Çünkü üretim sonunda ürünlerin çoğu asetat ve buterat içerir. Ayrıca substratların bakterilerin büyümesi için harcanmasından dolayı teorik değer gerçekleşemez.



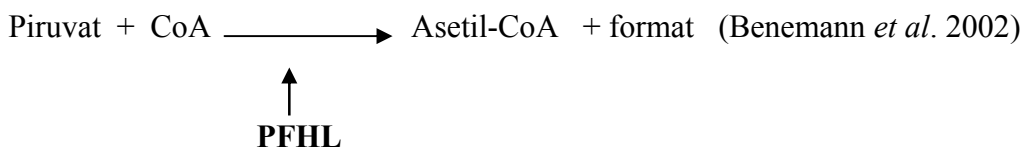
Şekil 3.6 Karanlık fermantasyon ile hidrojen üretimi şematik gösterimi (Benemann and Hallenbeck 2002)

Hidrojen üretimi hidrogenaz enzimi ile aşağıdaki reaksiyonlar ile katalizlenir.

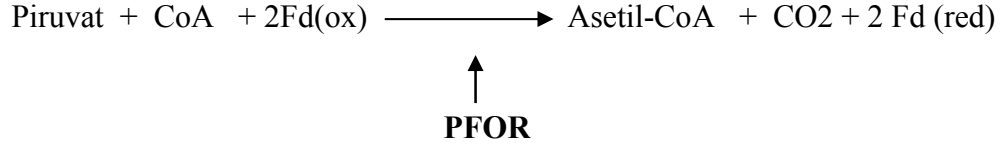


Hidrogenaz çeşitli mikroorganizmaların fizikogeneteğinde var olmaktadır. Hidrojen verimi, çeşitli mikroorganizmaların kullanımıyla yol izini temel olarak değişir. Substrat olarak glikoz kullanılmasıyla glikoliz yol iziyle hidrojen üretiminde iki farklı bakteri yol göstermektedir (Şekil 3.7) (Turner *et al.* 2007).

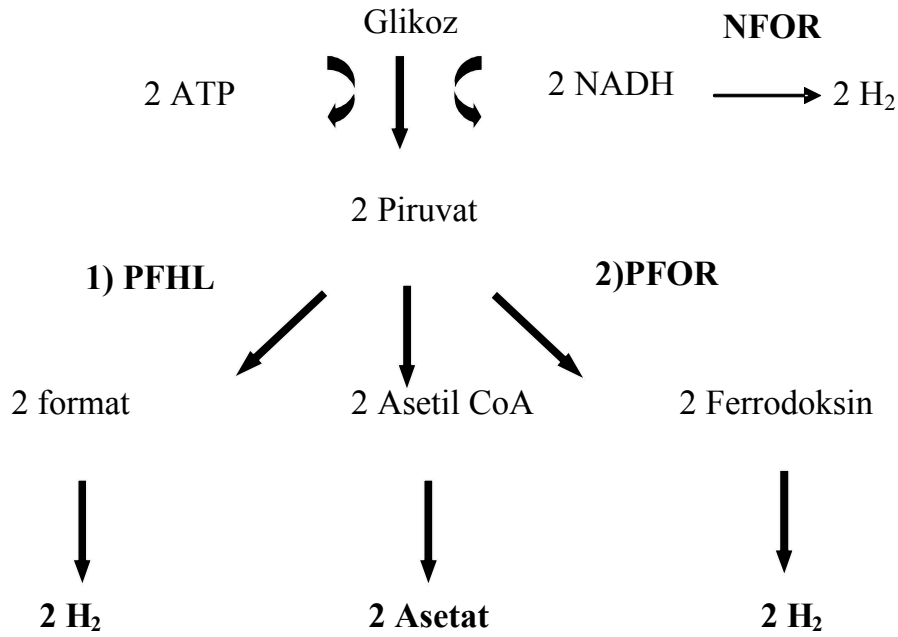
- 1) Enterik bakteri, *Esheria coli* gibi, piruvat-formate hydrogenlyase (PFHL) enzim kompleksi



- 2) Kuvvetli anaeroblar, *clostridia* türleri gibi, piruvat- ferrodoksin oksidoredüktaz (PFOR) (Benemann *et al.* 2002)

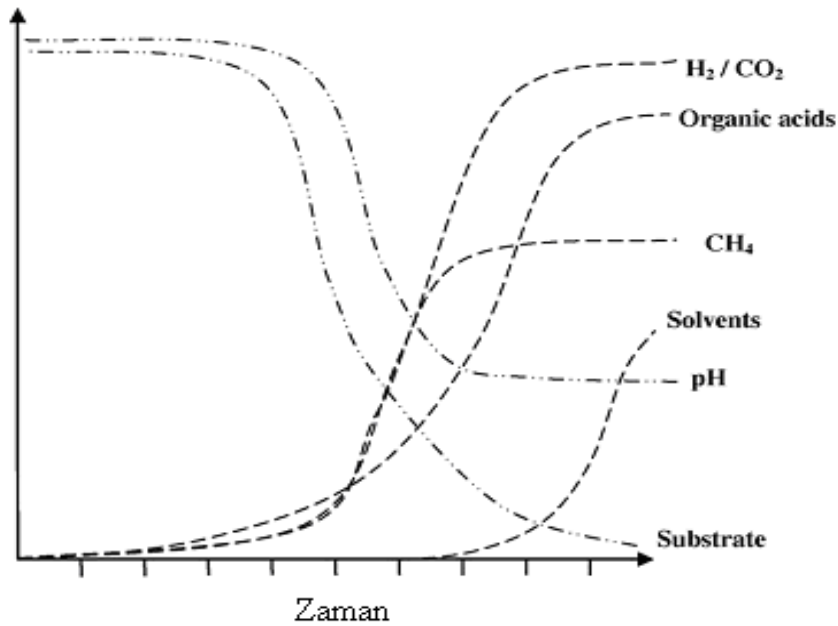


1 mol glikoz başına üretilen hidrojen verimi (molar hidrojen verimi) enterik bakteri ile 2 mol'dür (2mol H₂/mol glikoz). NADH varlığında *Clostridia* ile üretilen hidrojenin verimi ise en yüksektir. Ferrodoksin oksidoredüktaz (NFOR) aktivitesi ile ek olarak 2 mol hidrojen daha üretilir (Turner *et al.* 2007).



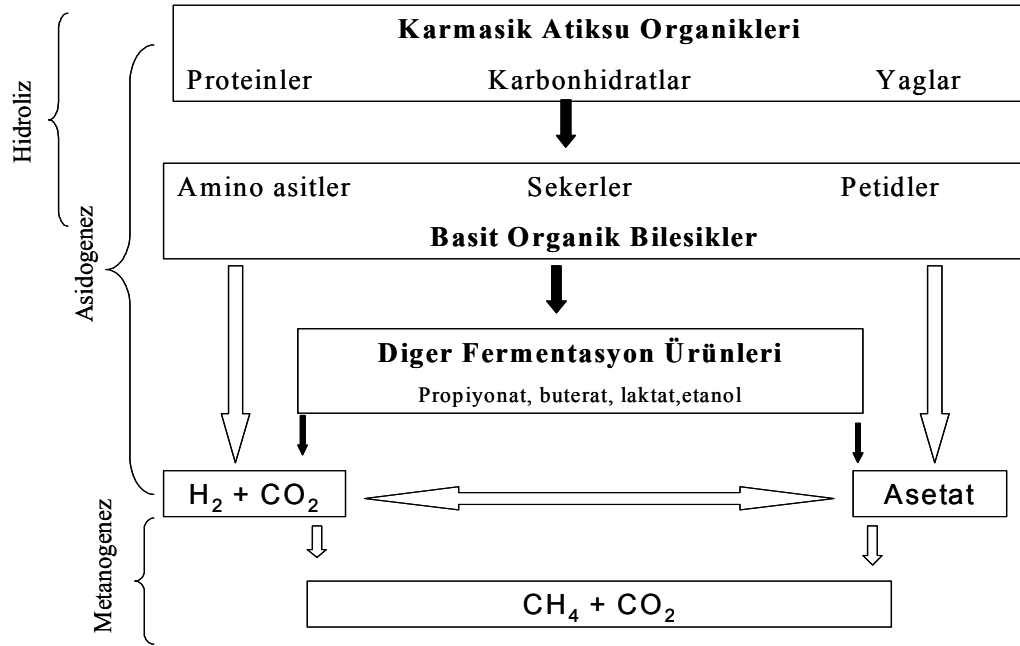
Şekil 3.7 Glikoz fermantasyonu ile hidrojen oluşumu yol izi (Turner *et al.* 2007)

Karanlık fermentasyon süresince pH'ın kontrol edilmediği durumda zamanla hidrojen ve organik asit oluşumu ve diğer parametrelerin değişimi Şekil 3.8'de gösterilmiştir. Düşük pH değerlerinde metan oluşumu sona ererek ve H_2/CO_2 üretilmektedir. Çoğu metogenler sınırlı pH aralığında (6–8) çoğalmalarını gerçekleştirirler. Birçok araştırmada metogenlerin oluşumunu engellemek için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar arasında kimyasal bileşikler kullanılarak (asetilen, etan, metil klorid, 2-bromethnsülfanat) metogenlerin oluşmasını engellemenin yanı sıra biyokinetik kontrolde yoğun olarak uygulanmaktadır. Biyokinetik kontrol yöntemleri, düşük pH ve ısı etkisi ($\sim 100^\circ C$ 15–30 dakika) uygulamaktır. Biyokinetik kontrol yönteminde, hem uygulamanın kolay hemde ekonomik olması açısından düşük pH uygulaması tercih edilir (Logan *et al.* 2003, Vazquez and Varaldo 2008).



Şekil 3.8 Kesikli hidrojen fermentasyonu tipik gösterimi (Vazquez and Varaldo 2008)

Atık suların karışım kültürler ile anaerobik işletiminde, organik atıkları genellikle metana dönüştürülür (Eroğlu 2006). Atıklardan metan üretiminde metabolik adımlar hidroliz, asetogenez ve metanogenezden oluşur (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 Anaerobik prosesin fazları (Eroğlu 2006)

Biyokütleden hidrojen üretiminde, termofilik anaerobik bakteriler, yüksek verimde hidrojen ürettiği için tercih edilirler. Verimleri yaklaşık olarak %83–100 civarındadır. Maksimum teorik değerleri 4 mol hidrojen /mol glikoz'dur. Zorunlu anaerob bakteri *clostridia* ile 2 mol H₂/mol glikoz ve fakültatif anaerob bakteri olan *enterobacter* ile 2 mol'den daha az verim elde edilmektedir. Ancak kullanılan mikroorganizmalarda optimum hidrojen verimi ve yüksek hidrojen üretim hızı istenmektedir. Ürün oluşumu hücre yoğunluğuna bağlıdır. Termofilik bakteriler düşük yoğunluklarda büyümelerini gerçekleştirirler. Bu yüzden üretim hızları da düşüktür. Yüksek üretim hızı maksimum 23 ve 58 mmol/L.h ile *Clostridium* ve *Enterobacter* mikroorganizmaları için geçerlidir (Veziroğlu and Frano1998) .

Hidrojen üreten mikroorganizmalar zorunlu anaeroblardır. Bundan dolayı, argon, azot, hidrojen gazı ve L-cysteine.HCl gibi indirgeyici maddeler ortamdaki oksijeni uzaklaştırmak için kullanılırlar. Ancak indirgeyici madde kullanımı prosesin maliyetini artırıcı bir etkidir. Bu olumsuzluğu ortadan kaldırmak için fakültatif mikroorganizmalar ile karışım kültür çalışmalarına ağırlık verilmiştir. Örneğin *Enterobacter aerogenes* fakültatif bir anaerobtur ve *clostridia* türleri karışım kültür

oluşturarak hidrojen üretebilir. *Clostridium butyricum* ile hidrojen üretiminde *Enterobacter aerogenes* kullanarak indirgeyici madde olmaksızın yüksek verimde hidrojen üretilmektedir (Yokoi *et al.* 1998, Kargı *et al.* 2006).

3.3.5.2 Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimini etkileyen parametreler

Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretiminde önemli parametreler aşağıda verilmiştir;

- pH
- Gaz kısmi basıncı
- Üretilen asitlerin çeşitliliği
- HRT (hidrolik alıkonma süresi)

Clostridium türleri karbonhidratlardan hidrojen üretiminde iki farklı metabolik yol izlerler: asetogenesiz (asetat ve buterat gibi organik asitlerin üretimi) ve solventogenesiz (aseton ve etanol oluşumu). Ancak asetogenesiz boyunca karbonhidrat fermentasyonu ile hidrojen veriminde yüksek değerler elde edilir. Şekil 3.8’de gösterildiği gibi hidrojen üretimi, organik asitlerin oluşumu pH değerinde düşüşe neden olmaktadır. Eğer pH kontrol edilmez ise fermentasyonun sonuna doğru çözücüler oluşabilir. Bu da hidrojen üretimin gerilemesine neden olmaktadır (Vazquez and Varaldo 2008). Yapılan çalışmalarda hidrojen üretiminde, optimum pH değeri 5-6 arasında tespit edilmiştir.

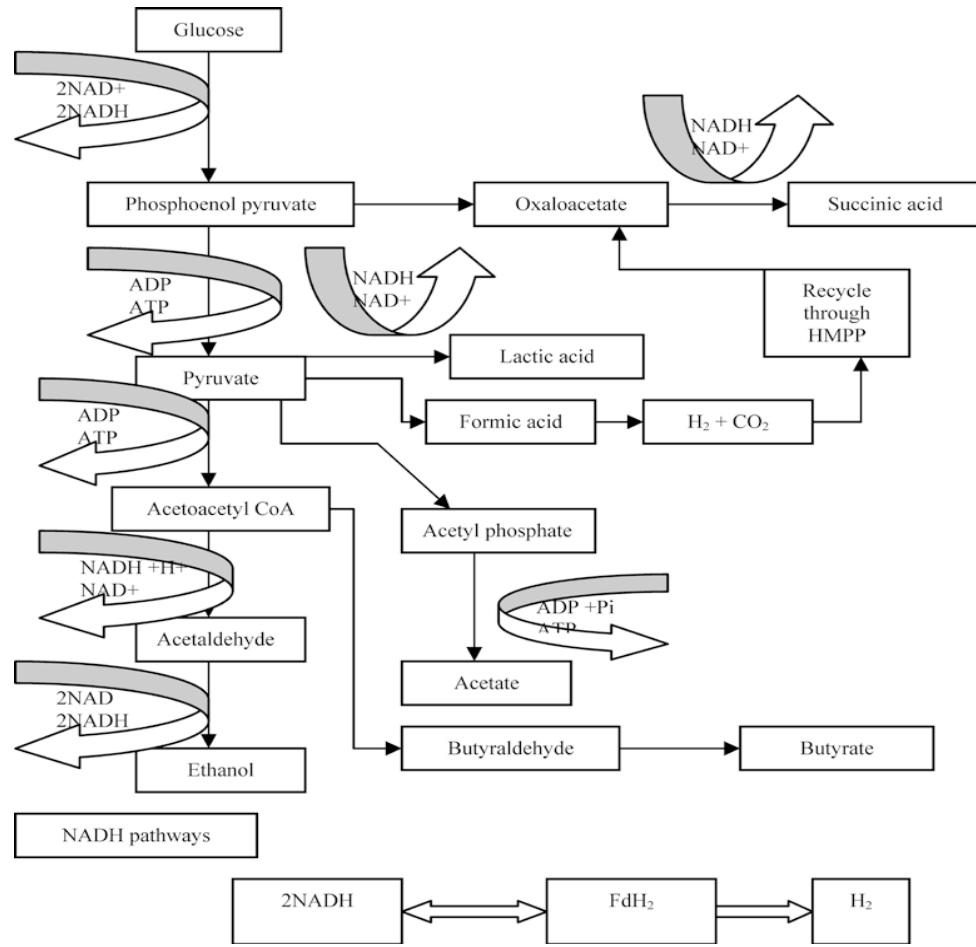
Sıvı fazdaki hidrojen kısmi basıncı, H_2 üretimine etki eden en önemli faktörlerden biridir. Hidrojen üretiminin temeli reoksidenin ferrodoksine indirgenmesi tepkimesi ve hidrojen taşıyıcı koenzimlerdir. Bu reaksiyonlar sıvı fazdaki hidrojen artışından olumsuz etkilenirler (Hawkes *et al.* 2002). Hidrojen derişimi arttığı zaman, metabolik yol izi ile laktat, etanol, aseton, bütanol veya alanin gibi substratlar üretilmektedir. Bu substratlar üretilen hidrojen miktarının azalmasına neden olurlar (Leung *et al.* 2006). Literatürde sıvı fazdaki hidrojen kısmi basıncını azaltmak için N_2 püskürtmesi ya da karıştırma yapılarak ortamdaki hidrojenin uzaklaştırılması sağlanmıştır.

Sürekli işletimlerde hidrojen verimini etkileyen diğer bir parametre de hidrolik alıkonma süresi (HRT)'dir. Anerobik mikroorganizmalar ile atık sular kullanılarak 0.5 gün optimum HRT değerinde maksimum hidrojen üretim etkisi incelendiğinde, HRT 0.5 günden 3 güne artırıldığında hidrojen üretim hızının 198 mmol/ L.gün'den 34 mmol/ L. gün 'e düştüğü görülmüştür (Leung *et al.* 2006). Bu nedenle HRT ile hidrojen veriminin ters orantılı olduğu söylenebilir.

Uygulamada yüksek hidrojen verimi, asetat ve buterat yan ürünlerinin oluşmasıyla gerçekleşir. Propiyonat ve indirgenmiş son ürünlerin (alkol, laktik asit) oluşmasıyla düşük hidrojen verimi elde edilir (Das and Nath 2004). Bu bakımdan *Clostridium pasteurianum*, *C. butyricum* ve *C. beijerinckii* kuvvetli hidrojen üreticileridir.

Karanlık fermantasyonu diğer proseslerden ayıran avantajlarından biri de değerli yan ürünler oluşmasıdır (Das and Nath 2004). Hidrojen üretiminde farklı yan ürünlerin oluştuğu sistematik yol izi Şekil 3.10'da verilmektedir. Oluşan ürünler; organik asitler (laktik asit, formik asit, asetik asit, propionik asit, bütirik asit) ve alkollerdir (etanol, propanol, butanol, 2,3-Butanediol). Eşitlik 3.15'te verildiği gibi optimum H₂ verimine son ürün olarak asetik asit oluşumu ile ulaşılmaktadır. Ancak uygulamada, yüksek H₂ verimi bütirik asit oluşumu ile ilişkilendirilmektedir. Düşük verim ise propiyonat, laktik asit ve alkollerin oluşumu ile meydana gelmektedir. *Clostridia* türleri özellikle *Clostridium butyricum*, bütirik asit oluşumunda üstün bir mikroorganizmadır (Hawkes *et al.* 2002). Heksoz kullanılarak propiyonat üretimi (Eşitlik 3.18) ve üretilen asetik asit kullanılarak etanol oluşumu (3.19) eşitliklerinde H₂ tüketilmektedir. Bu yüzden propiyonat ve etanol üretimi engellenmelidir (Vavilin *et al.* 1995).





Şekil 3.10 Hidrojenin karanlık fermantasyon ile yan ürünlere dönüşümünde sistematik yol izi (Das and Nath 2004).

3.3.5.3 pH kontrolünün önemi

Yapılan çalışmalarda maksimum hidrojen verimi veya özgül hidrojen üretim hızı için en uygun pH değeri olarak 5-6 bulunmuştur. Birçok anaerobik çalışmada pH kontrolsüz olarak hidrojen üretiminde son pH değerinin başlangıç pH değerinden 4–4.8 değerlerine düştüğü gözlenmiştir (Kim *et al.* 1999). pH'ın düşmesinin sebebi üretilen organik asitlerdir. pH'ın hidrogenaz enziminin içerdiği Fe aktivitesini etkilemesinden dolayı pH'ın yüksek değerlerde azalması hidrojen üretimini engeller (Kargı *et al.* 2006). Birçok çalışmada tespit edildiğine göre asit üreten kültürlerde pH 5.8 değerinde hidrogenaz aktivitesi pH 4.5 değerine göre 2.2 kat daha fazladır. Genelde hidrogenaz aktivitesi pH<5.2 olduğu değerlerde düşüktür (Vazquez and Varaldo 2008). Bu

Çalışmalardan da grldėđ gibi dolaylı hidrogenaz aktivitesi pH ile doğrudan bağlantılıdır ve hidrogen üretimi için pH'ın belirlenen optimum değerinde kontrolü gerekmektedir

Başlangıç pH'ı kesikli olarak hidrogen üretiminde gecikme fazını (lag phase) etkiler. Substrat bileşimi, sıcaklık, ortam bileşimi, mikrobiyal kültürün eşitleri gecikme fazını etkileyen diğer parametrelerdir. Yapılan çalışmalarda; düşük başlangıç pH'ı ile (4–4.5) uzun gecikme fazı süresi (≈20 saat) gözlenmiştir. Yüksek başlangıç pH değerlerinde ise gecikme fazının süresi azalmıştır ancak hidrogen verimi de dşmştir (Kargı *et al.* 2006).

3.3.5.4 Karanlık fermantasyonun avantajları

Karanlık fermantasyonla hidrogen üretiminin avantajları şöyle sıralanabilir (Das and Veziroğlu 2001) :

- Hidrogen oluşum hızı, fermentatif bakteriler ile çok daha hızlıdır. Bir gün ve gecede organik substratlardan hidrogen üretilir.
- Basit reaktör tasarımı yeterlidir.
- Işık enerjisine ihtiyaç yoktur.
- Atık maddeler kullanılabilir.
- Değerli yan ürünler (laktik asit, asetik asit, bütirik asit) retilir.

3.3.6 Biyolojik hidrojen üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları

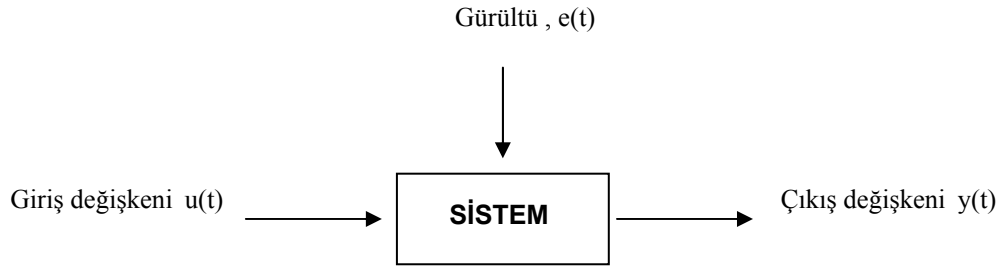
Biyohidrojen üretim yöntemlerinin birbirlerine göre üstünlükleri ve dezavantajları Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.4 Önemli biyohidrojen üretim proseslerinin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması (Das and Veziroğlu 2008)

BİYOPROSESLER	AVANTAJ	DEZAVANTAJ
Doğrudan biyofotoliz	Su ve ışıktaki direkt olarak H_2 üretebilir.	▪ Yüksek yoğunlukta ışık gerekir. ▪ O_2 sistemi için tehlikeli olabilir.
Dolaylı biyofotoliz	Su ile H_2 üretilir.	▪ Düşük fotokimyasal etki ▪ $\approx 30\%$ O_2 gaz karışımında bulunur. ▪ O_2 hidrojenaz enzimini inhibe edebilir.
Fotofermantasyon	▪ Geniş aralıkta spektral ışık enerjisi fotofermentatif bakteriler tarafından kullanılabilir ▪ Farklı atık maddeler kullanılabilir (alkol gibi)	▪ Işık çevrim etkisi çok düşüktür. ▪ FBR tasarımı zor ▪ Maliyet yüksek ve büyük ölçeklidir.
Karanlık fermentasyon	▪ Isık enerjisine ihtiyaç duyulmaz ▪ Çeşitli karbonlu atıkları substrat olarak kullanılabilir. ▪ Organik asitler üretilir ▪ O_2 kısıtlama problemi yok	▪ CO_2 'in ayrılması ▪ Artan H_2 fermentasyonu ile termodinamik uygunsuzlukların oluşması

4. SİSTEM TANIMLAMA

Sistem tanımlama, kontrol algoritmasında yer alan büyük öneme sahip ve zaman alan bir işlemdir. Şekil 4.1’de verilen dinamik bir sistem deneysel verilerden yararlanılarak modellenir.



Şekil 4.1 t anında giriş değişkeni $u(t)$, çıkış değişkeni $y(t)$ ve gürültü $e(t)$ içeren dinamik bir sistem

Sistemlerin modellenmesinde, sistemi en iyi tanımlayan matematiksel model bulunmaya çalışılır. Deneysel çalışmalar sonucunda giriş değişkenine birim basamak etki verildiğinde elde edilecek çıkış değişkeni değerlerinin değerlendirilmesi, kullanılan yöntemlerden biridir. Diğer bir yöntem matematiksel modeller kullanmaktır. Matematiksel model oluşturma'nın iki yolu vardır.

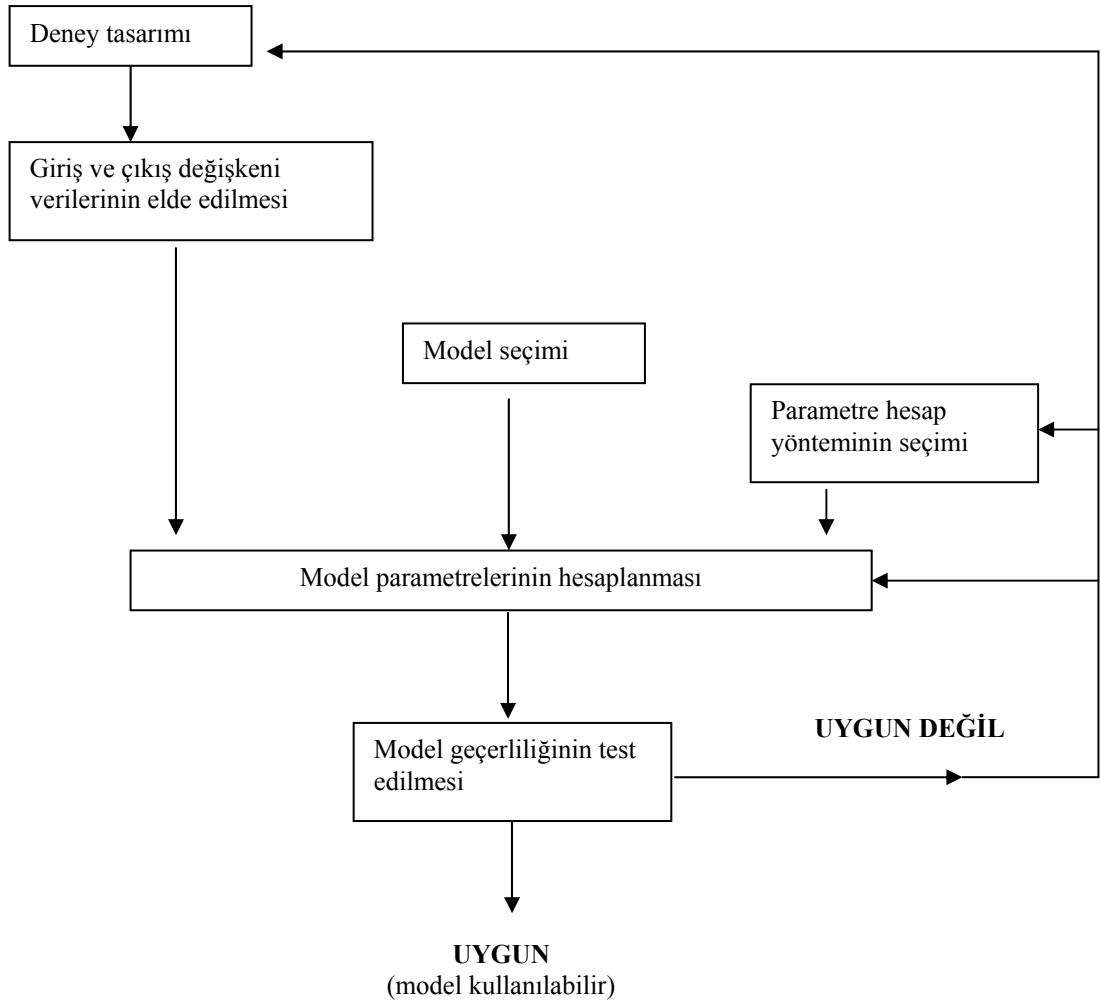
1. Modelleme: Prosesi doğru şekilde tanımlamak amacıyla, kütle-enerji denklikleri ve fizik yasaları kullanılarak model oluşturmada analitik bir yöntemdir.

2. Sistem tanımlama: Deneysel veriler kullanılarak modelin belirlendiği bir yöntemdir. Kestirilen model ile deneysel veriler karşılaştırılarak uygunluğu araştırılır.

Biyoteknolojik sistemlerde canlı yapılar olan mikroorganizmalar kullanıldığı için prosesi kütle ve enerji denklikleri ile tanımlamak oldukça zordur. Bu gibi durumlarda sistem tanımlama yöntemlerinin kullanılması daha uygundur.

4.1 Sistem Tanımlamanın Uygulanması

Sistem tanımlama uygulamaları sisteme verilen basamak, kare, rastgele, ternary vb. etkiler ile belli zaman aralılarında çıkış değişkenindeki değişim verilerinin kaydedilmesiyle gerçekleştirilir. Kaydedilen giriş ve çıkış değerleri kullanılarak prosesin modeli bulunur. Model parametrelerinin bulunması için kullanılan yöntemlerden biri Yinelemeli En Küçük Kareler (YEKK) yöntemidir. YEKK yöntemi ile bulunan parametreler model sınama testleri ile doğrulanır. Bu yöntem Şekil 4.2’de verilmiştir (Ljung 1987).



Şekil 4.2 Sistem tanımlama akış diyagramı (Ljung1987)

4.2 Sistem Tanımlamada Kullanılan Sinyaller

Sistem tanımlama çalışmalarına ilk olarak girdi sinyalinin seçilmesi ile başlanır. Verilecek etkilerden bazıları basamak, kare dalga, rastgele, sahte rastgele ikili ardışık etki (PRBS)'dir.

Çoğu zaman sistemi tanımlamak için kesikli zaman modeller kullanılır. Bu amaçla giriş ve çıkış değişkeni sinyalleri kesikli zamanda kaydedilir. Aşağıda girdi sinyallerine bazı örnekler verilmiştir.

1. Basamak etki: Sisteme basamak etki aşağıdaki gibi verilir.

$$u(t) = \begin{cases} 0 & t < 0 \\ u_0 & t \geq 0 \end{cases} \quad (4.1)$$

Basamak etkinin sisteme verilebilmesi için gürültünün sistem dinamiğini etkilemeyecek büyüklükte olması şarttır. Sisteme uygulanacak olan u_0 değeri seçilerek uygulanır.

2. Kare dalga sinyal: Kare dalga sinyal kolay oluşturulabilen ve sınırlı bir genlik aralığına sahip bir sinyal çeşididir. Sisteme uygulanacak kare dalganın genliği, frekans sistem dinamiğine göre, periyot ise sistemin zaman sabitinin yaklaşık altı katı olacak şekilde belirlenebilir.

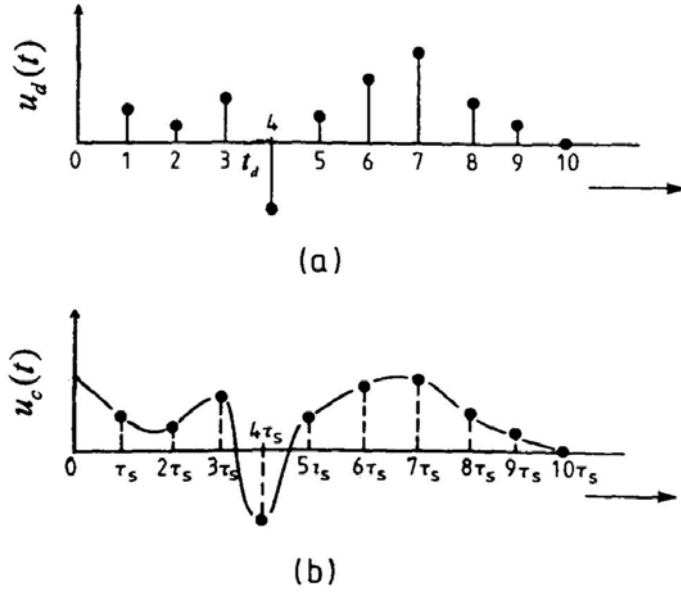
3. Sinüs girdi: Bu tip sinyaller Eşitlik 4.2'deki ifade edilebilir. Burada a_j genlik, w_j frekans ($0 < w_j < \pi$) ve φ_j ise faz açısıdır.

$$u(t) = \sum_{j=1}^m a_j \sin(w_j t + \varphi_j) \quad (4.2)$$

4.3 Sistem Modelleri

Sistem modelleme çalışmalarında kütle ve enerji denklıkları kullanılmakta, sistem tanımlamada ise deneysel olarak elde edilen veriler yardımıyla en uygun model bulunarak model sına testlerinden geçirilmektedir.

Şekil 4.1’de verilen bir sistem ele alındığında $u(t)$ ve $y(t)$ kesikli zaman yapısındadır ve zaman simgesi (t) bir tamsayıdır (Şekil 4.3.a). Genellikle kesikli zaman değeri, $(u_d(t))$ sürekli zaman sinyali olan $u_c(t)$ ’den Şekil 4.3.b’de gösterildiği gibi elde edilebilir. τ_s örnekleme zamanı olmak üzere, c alt indisi ile sürekli sinyal gösterilirse $u_d(t)$ kesikli dizi, $u_c(t)$ ’ye karşılık gelen değeri elde edilir.



Şekil 4.3.a. Bir kesikli $u_d(t)$ sinyali b. Kesikli sinyalin sürekli zaman eşdeğeri $u_c(t)$

Şekil 4.1’de verilen sistem gürültüsüz doğrusal fark eşitliği halinde aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$x(t) + a_1 x(t-1) + \dots + a_{na} x(t-na) = b_0 u(t) + b_1 u(t-1) + \dots + b_{nb} u(t-nb) \quad (4.3)$$

Burada $x(t)$, gürültü içermeyen çıktı değerleridir. Geriye kaydırma operatörü q^{-1} Eşitlik 4.4’deki gibi tanımlanırsa,

$$q^{-1} x(t) = x(t-1) \quad (4.4)$$

Eşitlik 4.3’de verilen fark modeli, kesikli zaman iletim fonksiyonu şeklinde Eşitlik 4.5’teki gibi yazılabilir.

$$x(t) = \frac{B}{A} u(t) \quad (4.5)$$

Burada A ve B, q^{-1} terimlerinin polinomları şeklinde tanımlanmıştır.

$$A(q^{-1}) = 1 + a_1 q^{-1} + \dots + a_{na} q^{-na} \quad (4.6)$$

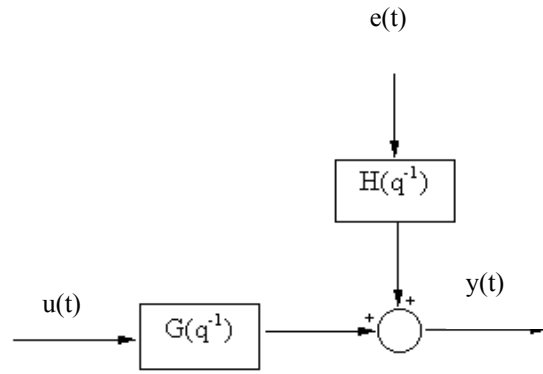
$$B(q^{-1}) = b_0 + b_1 q^{-1} + \dots + b_{nb} q^{-nb} \quad (4.7)$$

4.3.1 Doğrusal modeller

Modelin seçimi sistem tanımlamanın en önemli basamaklarından biridir. Tek giriş değişkeni ve tek çıkış değişkeni olan sistemlerde kesikli zaman yapısında bir doğrusal model yapısı genel olarak aşağıdaki eşitlikle ifade edilmektedir.

$$y(t) = G(q^{-1}; \theta)u(t) + H(q^{-1}; \theta)e(t) \quad (4.8)$$

Burada $y(t)$ bir n_a boyutlu çıkış değişkeni, $u(t)$ bir n_b boyutlu girdi değişkeni, $e(t)$ sıfır ortalamalı ve birbirinden bağımsız benzer dağılımlı rastgele değerlerden oluşmuş yüküdür. Bu tür yükler beyaz gürültü (white noise) olarak adlandırılır. Bu şekilde adlandırılmasının nedeni tüm frekanslarda sabit bir değişime sahip olmasıdır. Eşitlik 4.8’de $G(q^{-1}; \theta)$ bir $(n_a|n_b)$ boyutlu filtre, $H(q^{-1}; \theta)$ bir $(n_a|n_a)$ boyutlu filtre ve q^{-1} geriye kaydırma işlemcisidir. Eşitlik 4.8 ile verilen modelin blok diyagramı Şekil 4.4’de gösterilmiştir (Söderström and Stoica 1989).



Şekil 4.4 Eşitlik 4.21 ile gösterilen model yapısının blok diyagramı

Eşitlik 4.8 A, B, C, D ve F polinomları ile gösterilirse Eşitlik 4.9’daki gibi genel bir model yapısı oluşturulur.

$$A(q^{-1})y(t) = \frac{B(q^{-1})}{F(q^{-1})}u(t) + \frac{C(q^{-1})}{D(q^{-1})}e(t) \quad (4.9)$$

Eşitlik 4.9’da yer alan A, B, C, D, F polinomları aşağıdaki gibi verilmiştir.

$$A = 1 + a_1q^{-1} + \dots + a_{n_a}q^{-n_a} \quad (4.10)$$

$$B = b_0 + b_1q^{-1} + \dots + b_{n_b}q^{-n_b} \quad (4.11)$$

$$C = 1 + c_1q^{-1} + \dots + c_{n_c}q^{-n_c} \quad (4.12)$$

$$D = d_0 + d_1q^{-1} + \dots + d_{n_d}q^{-n_d} \quad (4.13)$$

$$F = 1 + f_1q^{-1} + \dots + f_{n_f}q^{-n_f} \quad (4.14)$$

Buna göre Eşitlik 4.9’da verilen genel model yapısı bazı düzenlemelerle Çizelge 4.1’de verilen model yapılarını oluşturur (Ljung 1987).

Bu çalışma kapsamında ARMAX tipi modeller ele alınmıştır.

Çizelge 4.1 Eşitlik 4.9’e göre elde edilen değişik model yapıları

Eşitlik 4.9’da kullanılan polinomlar	Oluşan model yapısı
AB	ARX
AC	ARMA
ABC	ARMAX
ABD	ARARX
ABCD	ARARMAX

4.3.1.1 ARMAX (CARMA) model (Auto Regressive Moving Average with eXogenous)

Armax modeli genel yapısı Eşitlik 4.15’ de verilmiştir.

$$A(q^{-1})y(t) = B(q^{-1})u(t) + C(q^{-1})e(t) \quad (4.15)$$

Eşitlik 4.15 ile gösterilen model fark eşitliği olarak yazılırsa,

$$y(t) + a_1 y(t-1) + \dots + a_{na} y(t-na) = b_1 u(t-1) + \dots + b_{nb} u(t-nb) + e(t) + c_1 e(t-1) + \dots + c_{nc} e(t-nc) \quad (4.16)$$

Eşitlik 4.15 düzenlenirse aşağıdaki model elde edilir.

$$y(t) = \frac{B(q^{-1})}{A(q^{-1})} u(t) + \frac{C(q^{-1})}{A(q^{-1})} e(t) \quad (4.17)$$

Bu model Eşitlik 4.8 ile karşılaştırılırsa aşağıdaki eşitliklerin geçerli olduğu görülür.

$$G(q^{-1}; \theta) = \frac{B(q^{-1})}{A(q^{-1})} \quad \text{ve} \quad H(q^{-1}; \theta) = \frac{C(q^{-1})}{A(q^{-1})} \quad (4.18)$$

Bu eşitlik matris şeklinde yazılacak olursa veri vektörü (ϕ) ve parametre vektörü (θ) sırasıyla Eşitlik 4.19 ve 4.20'deki şekilde tanımlanır.

$$\phi^T = [-y(t-1) \dots -y(t-n_a) \ u(t-1) \dots u(t-n_b) \ e(t-1) \dots e(t-n_c)] \quad (4.19)$$

$$\theta^T = [a_1 \dots a_{n_a} \ b_0 \dots b_{n_b} \ c_1 \dots c_{n_c}] \quad (4.20)$$

Böylece çıkış değişkenini veri ve parametre vektörüne bağlayan Eşitlik 4.21 elde edilir.

$$y(t) = \phi^T(t)\theta + e(t) \quad (4.21)$$

Burada $\phi^T(t)$ ile θ arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu nedenle “parametre bakımından doğrusal model” denir ve parametre hesaplama algoritmalarının başlangıç noktasıdır. ARMAX model, integrasyon ile ARIMAX modele dönüşür. ARIMAX model yavaş düzensizliği olan sistemleri tanımlamada faydalı bir model türüdür. Bu durumda $y(t)$ yerine Eşitlik 4.22 kullanılır.

$$\Delta y(t) = y(t) - y(t-1) \quad (4.22)$$

4.4 Model Parametrelerinin Hesaplanması

4.4.1 En Küçük Kareler Yöntemi (EKK)

Eşitlik 4.21 ile tanımlanan parametreler bakımından doğrusal model göz önüne alınarak, $y(1)$, $y(2)$, ..., $y(N)$ ve $\varphi(1)$, $\varphi(2)$, ..., $\varphi(N)$ kadar N tane ölçüm değeri olduğunda aşağıdaki eşitlikler yazılabilir.

$$\begin{aligned} y(1) &= \varphi^T(1)\theta + e(1) \\ y(2) &= \varphi^T(2)\theta + e(2) \\ &\vdots \\ y(N) &= \varphi^T(N)\theta + e(N) \end{aligned} \quad (4.23)$$

Yukarıdaki eşitlikler vektörler olarak ifade edilirse,

$$Y = \begin{bmatrix} y(1) \\ y(2) \\ \vdots \\ y(N) \end{bmatrix}, \quad \Phi = \begin{bmatrix} \varphi^T(1) \\ \varphi^T(2) \\ \vdots \\ \varphi^T(N) \end{bmatrix}, \quad E = \begin{bmatrix} e(1) \\ e(2) \\ \vdots \\ e(N) \end{bmatrix} \quad (4.24)$$

$$Y = \Phi\theta + E \quad (4.25)$$

$\hat{\theta}$ tahmin edilen parametre olmak üzere modelden elde edilen çıkış değişkeni ($\hat{y}$) Eşitlik 4.26'daki gibi yazılır.

$$\hat{y}(t) = \varphi^T(t)\hat{\theta} \quad (4.26)$$

Sistemde ölçülen çıkış değeri ile modelden elde edilen çıkış değerinin farkı tahmin hatası olarak tanımlanır ve $\varepsilon(t)$ olarak simgelenir. Tahmin hatası Eşitlik 4.27’de tanımlanmıştır.

$$\varepsilon(t) = y(t) - \hat{y}(t) = y(t) - \varphi^T(t)\hat{\theta} \quad (4.27)$$

N tane ölçüm için Eşitlik 4.27 yeniden düzenlenirse, Eşitlik 4.28 elde edilir.

$$\begin{aligned} \varepsilon(1) &= y(1) - \hat{y}(1) = y(1) - \varphi^T(1)\hat{\theta} \\ \varepsilon(2) &= y(2) - \hat{y}(2) = y(2) - \varphi^T(2)\hat{\theta} \\ &\vdots \\ \varepsilon(N) &= y(N) - \hat{y}(N) = y(N) - \varphi^T(N)\hat{\theta} \end{aligned} \quad (4.28)$$

$\varepsilon(t)$ matris şeklinde yazılırsa,

$$\varepsilon(t) = \begin{bmatrix} \varepsilon(1) \\ \varepsilon(2) \\ \vdots \\ \varepsilon(N) \end{bmatrix} \quad (4.29)$$

olarak ifade edilir.

$$\varepsilon(t) = Y - \phi\hat{\theta} \quad (4.30)$$

Eşitlik 4.30’teki θ ’nın En Küçük Kareler (EKK) yöntemi ile hesaplanması için Eşitlik 4.31’de verilen maliyet fonksiyonunun minimum yapılması gerekir. Bu durumda bulunan $\hat{\theta}$ kestirilen parametre vektörüdür (Söderström and Stoica 1989).

$$V = \sum_{t=1}^N \varepsilon^2(t) = \varepsilon^T \varepsilon = \|\varepsilon\|^2 \quad (4.31)$$

Burada $\|\cdot\|$ öklid vektörüdür. Eşitlik 4.31'deki ε yerine Eşitlik 4.30'daki değeri yazılırsa aşağıda verilen 4.32 eşitliği elde edilir.

$$\begin{aligned} V &= (Y - \phi\hat{\theta})^T (Y - \phi\hat{\theta}) \\ &= Y^T Y - \phi^T \hat{\theta}^T Y - (Y^T \phi \hat{\theta} + \phi^T \phi \hat{\theta}^T \hat{\theta}) \end{aligned} \quad (4.32)$$

Bu eşitliği minimum yapan $\hat{\theta}$ değerini bulmak için türev alınır ve sıfıra eşitlenirse Eşitlik 4.33 bulunur.

$$\begin{aligned} \frac{\partial V}{\partial \hat{\theta}} &= -2\phi^T Y + 2\phi^T \phi \hat{\theta} = 0 \\ &= -2(Y - \phi\hat{\theta})\phi = 0 \end{aligned} \quad (4.33)$$

Eşitlik 4.33 ile en küçük kareler yöntemi ile hesaplanmış model parametre vektörü bulunur.

$$\hat{\theta} = (\phi^T \phi)^{-1} \phi^T Y \quad (4.34)$$

Eşitlik 4.34 aşağıdaki gibi bir başka şekilde de ifade edilebilir.

$$\hat{\theta} = \left[\sum_{t=1}^N \phi(t)\phi^T(t) \right]^{-1} \sum_{t=1}^N \phi(t)y(t) \quad (4.35)$$

EKK yöntemi oldukça yaygın kullanılan bir yöntem olmasına karşılık adaptif ve öngörmeli kontroller için uygun değildir. Çünkü EKK yöntemi ile veriler depolanır ve parametre hesabı off-line olarak yapılır.

EKK yönteminde, Eşitlik 4.35'in her t anında çözülmesi gerekir ki bu da her zaman adımında matrisin boyutlarının daha da büyümesi demektir. Bu şekilde bir çözüm Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi ile bu yapılabilir. Yinelemeli parametre hesaplama yönteminde her adımda hesaplanan parametre ve yeni alınan veriler kullanılarak yeni bir parametre hesabı yapılmaktadır (Ljung 1987).

4.4.2 Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi (YEKK)

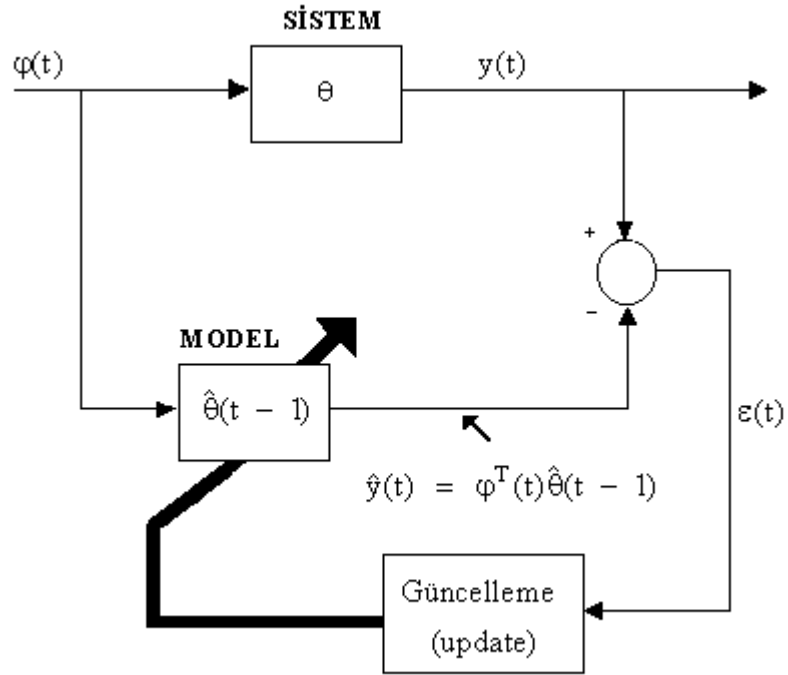
Yinelemeli En Küçük Kareler (YEKK) yöntemi ile on-line parametre tahmini yapmak mümkündür. Şekil 4.5'de verildiği gibi, geçmiş verilere dayanan model parametreleri ($\hat{\theta}(t-1)$) ile gelen yeni giriş ve çıkış değişkeni değerleri yeni çıkış değişkeninin değerini ($\hat{y}(t)$) hesaplamakta kullanılır. Bu hesaplanan yeni değer $y(t)$ ile karşılaştırılır ve aradaki fark $\varepsilon(t)$ bulunur. Bir önceki adımda hesaplanmış olan $\hat{\theta}(t-1)$ yeni hesaplanan $\hat{\theta}(t)$ ile güncellenir. Bu yöntem yinelemeli parametre hesaplaması olarak adlandırılır (Wellstead and Zarrop 1991). Herhangi bir t anındaki parametre hesabı aşağıda verilen eşitlikle ifade edilebilir.

$$\hat{\theta}(t) = (\phi^T(t)\phi(t))^{-1}\phi^T(t)Y(t) \quad (4.36)$$

Burada,

$$Y(t) = \begin{bmatrix} y(1) \\ y(2) \\ \vdots \\ y(t) \end{bmatrix}, \quad \phi(t) = \begin{bmatrix} \phi^T(1) \\ \phi^T(2) \\ \vdots \\ \phi^T(t) \end{bmatrix} \quad (4.37)$$

olarak verilmiştir.



Şekil 4.5 Yinelemeli parametre hesaplama yönteminin şematik gösterimi (Akay 1998)

Bir sonraki örnekleme zamanındaki (t+1) parametrenin hesaplanması Eşitlik 4.38’de verilmiştir.

$$\hat{\theta}(t + 1) = (\phi^T(t + 1)\phi(t + 1))^{-1}\phi^T(t + 1)Y(t + 1) \quad (4.38)$$

Burada $\phi(t + 1)$ ve $Y(t + 1)$ aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$\phi(t + 1) = \begin{bmatrix} \phi(t) \\ \phi^T(t + 1) \end{bmatrix}, \quad Y(t + 1) = \begin{bmatrix} Y(t) \\ y^T(t + 1) \end{bmatrix} \quad (4.39)$$

Bu eşitlikler kullanılarak düzenleme yapılırsa Eşitlik 4.40 elde edilir.

$$\phi^T(t + 1)\phi(t + 1) = [\phi^T(t)\phi(t + 1)] \begin{bmatrix} \phi(t) \\ \phi^T(t + 1) \end{bmatrix}$$

$$= \phi^T(t)\phi(t) + \phi(t+1)\phi^T(t+1) \quad (4.40)$$

Verilen $\phi(t+1)$ ile eski matrisler $\phi^T(t)\phi(t)$ 'den, yeni matris $\phi^T(t+1)\phi(t+1)$ kolaylıkla güncellenir. Fakat her zaman adımında matrisin tersini almak gerekir. Bununla birlikte $\phi^T(t+1)Y(t+1)$ teriminin de güncelleştirilmesi şarttır. Eşitlik 4.39 kullanılarak Eşitlik 4.41 denklemi bulunur.

$$\begin{aligned} \phi^T(t+1)Y(t+1) &= [\phi^T(t)\phi(t+1)] \begin{bmatrix} Y(t) \\ y(t+1) \end{bmatrix} \\ &= \phi^T(t)Y(t) + \phi(t+1)y(t+1) \end{aligned} \quad (4.41)$$

Kovaryans matris tanımlanacak olursa aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$P(t) = [\phi^T(t)\phi(t)]^{-1} \quad (4.42)$$

Eşitlik 4.42, Eşitlik 4.40'a uygulanırsa,

$$P(t+1)^{-1} = P(t)^{-1} + \phi(t+1)\phi^T(t+1) \quad (4.43)$$

Denklemi bulunur. $P(t)$ tanımı kullanılarak ve $\hat{\theta}(t-1)$ ile $\hat{\theta}(t)$ 'nin yazılması durumunda,

$$\hat{\theta}(t+1) = P(t+1)\phi^T(t+1)Y(t+1) \quad (4.44)$$

$$\hat{\theta}(t) = P(t)\phi^T(t)Y(t) \quad (4.45)$$

elde edilir. Eşitlik 4.44'deki $\phi^T(t+1)Y(t+1)$ ifadesi yerine Eşitlik 4.41'teki karşılığı yazılacak olursa,

$$\hat{\theta}(t+1) = P(t+1)[\phi^T(t)Y(t) + \phi(t+1)y(t+1)] \quad (4.46)$$

elde edilir. Bu eşitlik düzenlenirse, Eşitlik 4.47 denklemi bulunur.

$$\hat{\theta}(t+1) = P(t+1)\phi^T(t)Y(t) + P(t+1)\varphi(t+1)y(t+1) \quad (4.47)$$

Eşitlik 4.45'den, Eşitlik 4.48 bulunmaktadır.

$$\hat{\theta}(t)Y(t) = P^{-1}(t)\hat{\theta}(t) \quad (4.48)$$

Aynı zamanda Eşitlik 4.43'den aşağıdaki ifade elde edilebilir.

$$\phi^T(t)Y(t) = P^{-1}(t+1)\hat{\theta}(t) - \varphi(t+1)\varphi^T(t+1)\hat{\theta}(t) \quad (4.49)$$

Eşitlik 4.47'deki $\phi^T(t)Y(t)$ yerine Eşitlik 4.49'daki karşılığı yazılırsa,

$$\begin{aligned} \hat{\theta}(t+1) &= P(t+1)[P^{-1}(t+1)\hat{\theta}(t) - \varphi(t+1)\varphi^T(t+1)\hat{\theta}(t)] + \\ &\quad P(t+1)\varphi(t+1)y(t+1) \\ &= \hat{\theta}(t) - P(t+1)\varphi(t+1)\varphi^T(t+1)\hat{\theta}(t) + P(t+1)\varphi(t+1)y(t+1) \\ &= \hat{\theta}(t) + P(t+1)\varphi(t+1)[y(t+1) - \varphi^T(t+1)\hat{\theta}(t)] \end{aligned} \quad (4.50)$$

elde edilir. Yukarıdaki ifadede (t+1) anındaki tahmin hatası (prediction error),

$$\varepsilon(t+1) = y(t+1) - \varphi^T(t+1)\hat{\theta}(t) \quad (4.51)$$

şeklinde tanımlanırsa, (t+1) anındaki hesaplanan parametre vektörü Eşitlik 4.52'de verilen denklem şekilde bulunur.

$$\hat{\theta}(t+1) = \hat{\theta}(t) + P(t+1)\varphi(t+1)\varepsilon(t+1) \quad (4.52)$$

$P(t+1)$ matrisini hesaplarken ihtiyaç duyulan matrise ters alma kuralı uygulanır.

$$(A + BCD)^{-1} = A^{-1} - A^{-1}B(C^{-1} + DA^{-1}B)^{-1}DA^{-1} \quad (4.53)$$

Eşitlik 4.43’de,

$P^{-1}(t)=A$, $\varphi(t + 1)=B$, $C=1$ ve $\varphi^T(t + 1)=D$ olarak alınırsa,

$$P(t + 1) = P(t) - P(t)\varphi(t + 1)[1 + \varphi^T(t + 1)P(t)\varphi(t + 1)]^{-1}\varphi^T(t + 1) \quad (4.54)$$

yazılabilir. Bu eşitlikte $[1 + \varphi^T(t + 1)P(t)\varphi(t + 1)]$ skaler bir değer olduğu için paydaya alınabilir.

$$P(t + 1) = P(t) - \frac{P(t)\varphi(t + 1)\varphi^T(t + 1)P(t)}{1 + \varphi^T(t + 1)P(t)\varphi(t + 1)} \quad (4.55)$$

Elde edilen bu ifade ile kovaryans matrisin yeni değeri bulunur. Burada matrisin tersi alınmaz. Bu nedenle de işlemler daha da kolaylaşır. YEKK algoritması Eşitlik 4.51, 4.52 ve 4.55’den oluşmakta olup kullanılan algoritma aşağıda verilmektedir.

Algoritma:

t+1 anında,

- i) Yeni veriler kullanılarak $\varphi(t + 1)$ vektörü oluşturulur.
- ii) Eşitlik 4.51 ‘ten $\varepsilon(t + 1)$ hesaplanır.
- iii) Eşitlik 4.55 ‘den $P(t + 1)$ hesaplanır.
- iv) Eşitlik 4.52 ile parametre vektörü güncelleştirilir.
- v) Bir sonraki örnekleme zamanına kadar beklenir ve ilk adıma geri dönülür.

Clostridium butyricum mikroorganizmasının çoğaltıldığı kesikli bir biyoreaktörde pH kontrolü ile hidrojen üretimine yönelik olan Yüksek Lisans Tezi kapsamında prosesin modellenmesi amacıyla, yapılan teorik çalışmalarda YEKK Yöntemi kullanılmıştır.Elde edilen değerlendirmeler grafikleri ve sonuçları Bölüm 6’da ayrıntılı olarak verilmiştir.

4.4.2.1 YEKK yönteminde unutma çarpanı etkisi

Unutma çarpanı (forgetting factor) λ , önceki verilerin etkisini ardışık bir biçimde azaltmak için kullanılan bir sabittir. Algoritmanın değişen parametrelerini takip etmesi için yaygın olarak kullanılır. Eşitlik 4.31'deki maliyet fonksiyonunun 1'den N'ye kadar olan tüm bileşenleri sonuç üzerinde eşit ağırlığa sahiptir. Maliyet fonksiyonuna unutma çarpanı ilave edilerek verilere zamanla değişen ağırlıklar uygulanır (Wellstead and Zarrop 1991).

$$\begin{aligned} V(\theta, t) &= \sum_{i=1}^t \lambda^{t-i} \varepsilon^2(i) \\ &= \sum_{i=1}^t \lambda^{t-i} (y(i) - \varphi^T(i)\theta)^2 \end{aligned} \quad (4.56)$$

Eşitlik 4.56 ile verilen ifade kullanılarak maliyet fonksiyonunu minimum yapan θ değerinin bulunması hedeflenmektedir. λ unutma çarpanı $0 < \lambda \leq 1$ arasında değişmektedir. Hatırlanan veri sayısı (VS);

$$VS = \frac{1}{1 - \lambda} \quad (4.57)$$

şeklinde ifade edilmektedir. Burada veri hafızası Eşitlik 4.57'de verilen denklem ile geçmişe dönük giriş ve çıkış değişkeni verilerinin kaç tanesinin parametre hesabında kullanılacağını belirler.

Bu durumda YEKK yöntemi algoritmasının unutma çarpanlı olarak modifiye edilmiş şekli Eşitlik 4.58'de verilmiştir.

Algoritma için 4.55 eşitliğinin yerine Eşitlik 4.58 kullanılacaktır.

$$P(t+1) = \frac{1}{\lambda} \left[P(t) - \frac{P(t)\varphi(t+1)\varphi^T(t+1)P(t)}{\lambda + \varphi^T(t+1)P(t)\varphi(t+1)} \right] \quad (4.58)$$

4.5 Modelin Sınanması ve Geçerliliği

Proses verilen girdi etkisine karşılık elde edilen çıktı değerleri ile elde edilen modelin sınanması ve geçerliliğinin test edilmesi gerekmektedir. Bu adım sistem tanımlamanın en önemli bölümüdür. Model çıktısı $y_m(t)$ ölçülebilen girdiye bağlı olarak Eşitlik 4.59'da verildiği gibi yazılabilir (Akay 1998).

$$y_m(t) = G(q^{-1}, \theta_N) \hat{u}(t) \quad (4.59)$$

İyi bir model için $y_m(t)$ ölçülebilen çıktı değeri, girdi etkisine karşılık elde edilen çıktı değeri olan $y(t)$ değerine eşit ya da yakın olmalıdır. $y_m(t)$ değerlerinin $y(t)$ değerlerinden sapmaları modelleme hatasının veya gürültünün bir sonucudur.

Doğrusal sistemler için geliştirilen testlerin çoğu modelleme hatası (fark) ve proses giriş değişkeni arasında kurulan korelasyon fonksiyonlarının hesaplanmasını içerir. Model karşılaştırma temelli geçerlilik testleri, ikili modellerin karşılaştırılmasına istatistiksel uygulamayı ve minimum veya maksimum istatistiksel değerin elde edilmesi ile en iyi modelin seçilmesini içermektedir (Söderström and Stoica 1989).

Korelasyon testleri, model karşılaştırmalı testlere göre bir avantaja sahiptir. Çünkü bu testler, tüm uygun model setlerinin test edilmesine gerek kalmadan doğrudan model tanımlamasına uygundur.

Tek girdi- tek çıktı doğrusal kesikli zaman modeli Eşitlik 4.60'da verilmiştir.

$$y(t) = f_1(y^{t-1}, u^{t-1}, \varepsilon^{t-1}) + \varepsilon(t) \quad (4.60)$$

Burada t ($t=1,2,3,4,\dots,n$) zaman indeksidir ve çıkış değişkeni, giriş değişkeni ve hata değerlerinde oluşan vektörler Eşitlik 4.61'de verilmiştir.

$$\begin{aligned}
y^{t-1} &= [y(t-1), \dots, y(t-n)] \\
u^{t-1} &= [u(t-1), \dots, u(t-n)] \\
\varepsilon^{t-1} &= [\varepsilon(t-1), \dots, \varepsilon(t-n)]
\end{aligned} \tag{4.61}$$

$f_1(\cdot)$ süperpozisyon (Eşitlik 4.62) ve homojenlik (Eşitlik 4.63) teoremine uyan bir doğrusal fonksiyondur.

$$f_1(y^{t-1} + y^{t-2}, u^{t-1} + u^{t-2}, \varepsilon^{t-1} + \varepsilon^{t-2}) = f_1(y^{t-1}, u^{t-1}, \varepsilon^{t-1}) + f_1(y^{t-2}, u^{t-2}, \varepsilon^{t-2}) \tag{4.62}$$

$$f_1(\alpha y^{t-1}, \alpha u^{t-1}, \alpha \varepsilon^{t-1}) = \alpha f_1(y^{t-1}, u^{t-1}, \varepsilon^{t-1}) \tag{4.63}$$

ARMAX doğrusal modeli ele alınırsa;

$$y(t) = [\alpha_j y(t-j) + \beta_j u(t-j) + \lambda_j \varepsilon(t-j)] + \varepsilon(t) \tag{4.64}$$

Korelasyon temelli geçerlilik testleri $\varepsilon(t) \approx \bar{\varepsilon}(t)$ kriterini göz önünde bulundurur. Eğer $\varepsilon(t) \approx \bar{\varepsilon}(t)$ doğru ise otokorelasyon ve çaprazkorelasyon testleri Eşitlik 4.65 ve 4.66'daki gibi yazılabilir.

$$\phi_{\varepsilon\varepsilon}(\tau) = \frac{\sum_{t=1}^{N-\tau} (\varepsilon(t) - \bar{\varepsilon})(\varepsilon(t-\tau) - \bar{\varepsilon})}{\sum_{t=1}^N (\varepsilon(t) - \bar{\varepsilon})^2} \tag{4.65}$$

$$= \begin{cases} 1, & \tau=0 \\ 0, & \tau \neq 0 \end{cases}$$

$$\phi_{u\varepsilon}(\tau) = \frac{\sum_{t=1}^{N-\tau} (u(t) - \bar{u})(\varepsilon(t-\tau) - \bar{\varepsilon})}{[(\sum_{t=1}^N (u(t) - \bar{u})^2)(\sum_{t=1}^N (\varepsilon(t) - \bar{\varepsilon})^2)]} = 0 \quad \forall \tau \tag{4.66}$$

Bu denklemlerde yer alan $\phi_{\varepsilon\varepsilon}(\tau)$ ve $\phi_{u\varepsilon}(\tau)$ ifadeleri sırasıyla normalize edilmiş otokorelasyon (fark-fark) ve çaprazkorelasyon (girdi-fark) fonksiyonudur. Burada N iterasyon sayısını göstermek üzere

$$\bar{\varepsilon} = \frac{1}{N} \sum_{t=1}^N \varepsilon(t) \quad (4.67)$$

$$\bar{u} = \frac{1}{N} \sum_{t=1}^N u(t)$$

olarak verilmiştir. N için, standart sapma $\frac{1}{\sqrt{N}}$ ve %96 limit ile birlikte Eşitlik 4.68 denklemi ile ifade edilir.

$$\pm \frac{1.96}{\sqrt{N}} \quad (4.68)$$

4.6 Kontrol Parametrelerinin Hesaplanması

C.butyricum mikroorganizması kullanılarak farklı substratların varlığında (peyniraltı suyu, melas, patates) H₂ üretimi prosesinde pH kontrolü geleneksel kontrol yöntemlerinden geri beslemeli PID kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol edici parametreleri hesabı için reaksiyon eğrisi, kontrol parametrelerinin hesaplanmasında kullanılmaktadır.

Kontrol parametrelerinin optimum değerini hesaplamak üzere birçok yöntem kullanılabilmektedir. Bu çalışmada ampirik ayarlama metotlarından biri olan Cohen-Coon parametre ayarlama yöntemi kullanılmıştır (Stephanopoulos 1984).

Birçok proseste bir girdiye verilen etkinin cevabı gecikmeli olarak etki etmektedir. Bu gecikme zamanına ölü zaman adı verilir. Eşitlik 4.67 ile ölü zamanlı birinci mertebe iletim fonksiyonu verilmektedir.

$$Gp(s) = \frac{K_p e^{-\theta s}}{\tau s + 1} \quad (4.67)$$

Burada; K_p statik kazanç, θ ölü zaman ve τ zaman sabitidir. Birinci mertebeden ölü zamanlı bir prosesin Eşitlik 4.67' de görülen parametrelerinin bulunması amacıyla sistemin dinamik davranışını temsil eden proses reaksiyon eğrisi kullanılır (Marlin 2000). Proses reaksiyon eğrisi sistemin giriş değişkenine verilen basamak etki sonucunda ölü zamanlı birinci mertebeden sistemin çıkış değişkenin zamanla değişiminin kaydedilmesi ile oluşur.

Proses reaksiyon eğrisi elde edildikten sonra, sistem parametrelerinin hesaplanması amacıyla kullanılabilecek farklı metotlar uygulanmaktadır. Yapılan çalışmada, elde edilen proses reaksiyon eğrisi için üç yöntemle parametre hesabı yapılmıştır. Farklı yöntemlerin birbirleriyle kıyaslanabilmesi amacıyla, farklı koşullarda (mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız) işletilen proseslere farklı büyüklükte

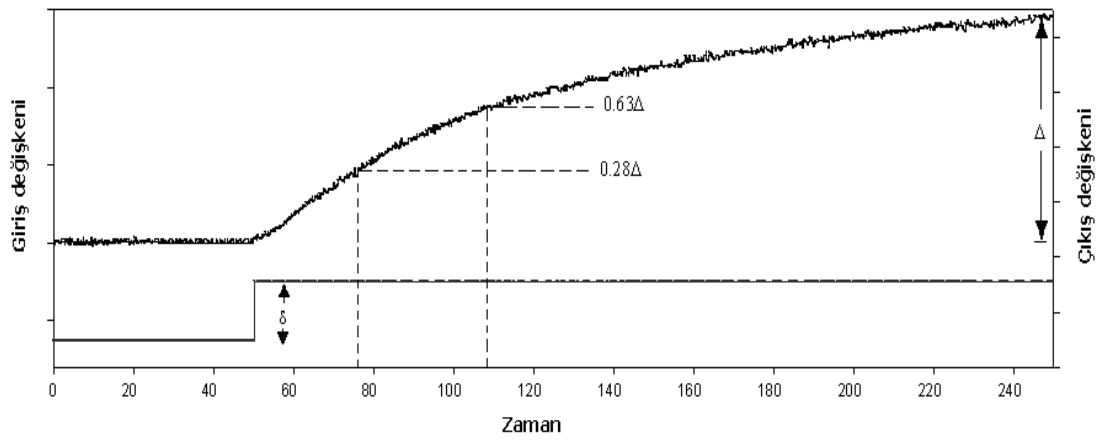
$$K_p = \Delta / \delta$$

$$t_{\%28} = \theta + \frac{\tau}{3}$$

$$t_{\%63} = \theta + \tau$$

$$\tau = 1.5(t_{\%63} - t_{\%28}) \quad (4.68)$$

$$\theta = t_{\%63} - \tau$$



Şekil 4.7 Smith (1972) tarafından önerilen parametre hesaplama yöntemi (Marlin 2000)

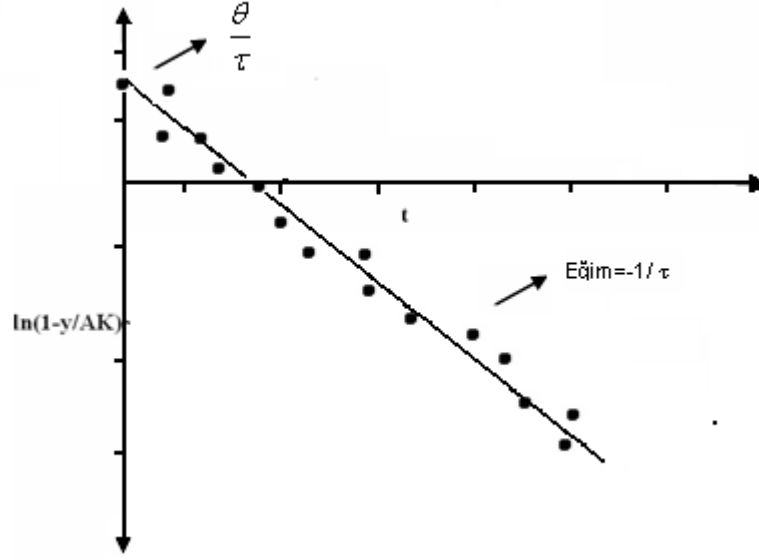
2. Doğrusal regresyon: Deneysel olarak elde edilen çıkış değişkeni verileri kullanılarak Eşitlik 4.67’de verilen birinci mertbe ölü zamanlı prosesin A genliğindeki basamak etkiye yanıtımı aşağıdaki Eşitlik 4.69’da verilmiştir.

$$y(t) = AK(1 - e^{(\theta-t)/\tau}) \quad (4.69)$$

Eşitlik 4.69’da verilen denklem doğrusallaştırılırsa aşağıdaki verilen Eşitlik 4.70’deki forma dönüşür.

$$\ln(1 - \frac{y}{AK}) = -\frac{t}{\tau} + \frac{\theta}{\tau} \quad (4.70)$$

Burada $-\frac{1}{\tau}$ denklemin eğimini , $\frac{\theta}{\tau}$ ise kaymayı ifade etmektedir. Şekil 4.8 grafiği üzerinde hesaplamalar gösterilmektedir.



Şekil 4.8 Doğrusal regresyon parametre hesaplama yöntemi

Bu yöntemlerden elde edilen parametreler ile PID kontrol parametrelerinin bulunması için Cohen-Coon yöntemi tarafından sunulan eşitlikler kullanılmıştır (Stephanopoulos 1984).

$$K_c = \frac{1}{K} \frac{\tau}{\theta} \left[\frac{4}{3} + \frac{\theta}{4\tau} \right] \quad (4.69)$$

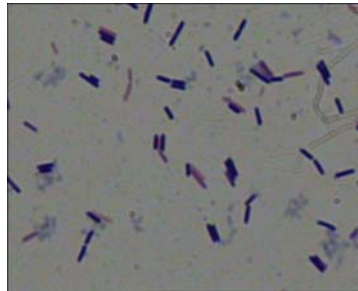
$$\tau_I = t_d \left[\frac{32 + 6\theta/\tau}{13 + 8\theta/\tau} \right] \quad (4.70)$$

$$\tau_D = t_d \left[\frac{4}{11 + 2\theta/\tau} \right] \quad (4.71)$$

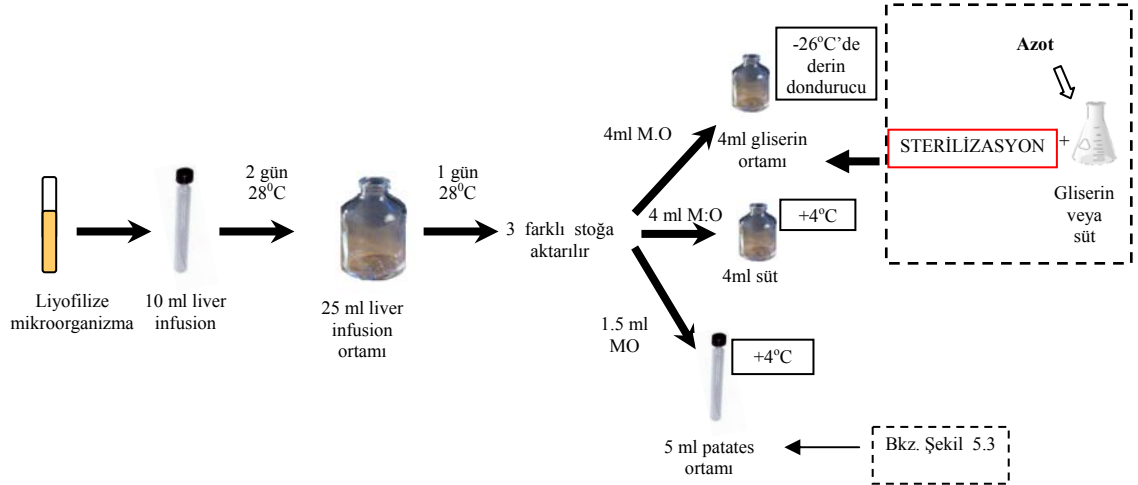
5. MATERİYAL VE YÖNTEM

5.1. Mikroorganizma Çoğaltılması

Bu çalışmada liyofilize halde “Agricultural Research Service Culture Collection, USA” den alınan NRRL B-1024 *Clostridium butyricum* ve Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden alınan NRRL B-527 (ATCC 824) *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizmaları kullanılmıştır. Deneysel çalışmalara ilk olarak *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizmasıyla başlanmıştır. Bu mikroorganizmayla ön denemeler ve sistem tanımlama çalışmaları yapılarak başlanmıştır. *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizmasının mikroskop altındaki görüntüsü Şekil 5.1’de verilmiştir. Anaerobik mikroorganizma çalışmaları tam olarak öğrenildikten sonra liyofilize halde -30 °C’de derin dondurucuda saklanan *Clostridium butyricum* Liver Infusion ortamında canlandırılmıştır. Çoğalma ortamı, 35 g liver infusion, 1L bidistile saf su eklenerek hazırlanmıştır. İçerisinden azot geçirilerek tamamen oksijensiz koşullar sağlanmış ve önce tıpa, sonra alüminyum kapak ile sıkıştırılarak hava girişi engellenmiştir. Ortam 121°C sıcaklık ve 1.2 atm basınçta 20 dakika sterilize edilmiştir. Mikroorganizma steril kabinde 10 ml’lik canlandırma ortamına aktarılacak 28 °C inkübatörde 2 gün süreyle inkübe edilmiştir. Bulanık hale gelen ortam 2 günün sonunda 25 ml ortama aktarılacak ikinci ölçek büyütme adımı gerçekleştirilmiştir. Daha sonraki aşama mikroorganizmanın saklanması için stok hazırlanmıştır. Bu amaçla, 25 ml’lik ortamda 1 gün 28 °C inkübe edilen mikroorganizma üç farklı stoğa aktarılmıştır. Bu ortamlar, gliserin ortamı (Bölüm 5.2.2), süt ortamı ve patates ortamıdır. Yapılan çalışmaların akış diyagramı Şekil 5.2 de verilmiştir.



Şekil 5.1 *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizmasının mikroskop altındaki görüntüsü



Şekil 5.2 Bakterinin çoğaltılması aşamaları

5.2 Besi Ortamı

5.2.1 Sıvı besi ortamı

Mikroorganizmalar bileşimi Çizelge 5.1’de verilen patates ortamında iki aşamada çoğaltılarak sistem tanımlama ve hidrojen üretiminin gerçekleştirildiği 5 L sıvı hacimli reaktöre aktarılmıştır. Patates ortamı hazırlanırken, öncelikle patatesler soyulmuş ve katı meyve sıkacağından geçirilerek suyu çıkarılmıştır. Oluşan patates sularına bidistile saf su eklenerek 30 dk kaynatılmıştır. Yapılan denemelerde mono distile saf su ile hazırlanan ortamlarda bakterinin üremediği ya da çok az ürediği gözlemlendiği için bidistile saf su kullanılmıştır. Sıvı besi ortamı hungate tüplerine veya penisilin şişelerine alınarak içerisinden 2 dakika azot geçirilmiş ve ortamdaki oksijen uzaklaştırılarak şişe tıpa ile kapatılıp, alüminyum kapak ile kapatılmıştır. Besi ortamı 121°C sıcaklık ve 1.2 atm basınçta 20 dakika sterilize edilmiştir. Besiyerine eklenen resazurin maddesi ortamda oksijen kalıp kalmadığını belirlemek için kullanılmıştır. Resazurin maddesi ile pembeleşen besi ortamı sterilizasyondan sonra sarı renge dönüşmüş ise ortamda oksijen olmadığı sonucuna varılarak aktarımlar gerçekleştirilir.

Çizelge 5.1 Sıvı besi ortamı bileşimi

MADDE	DERİŞİM
Patates	400 g
Resazurin	1 mg
Bidistile su	1 L

5.2.2 Saklama ortamı

Patates besi ortamında çoğaltılan *Clostridium butyricum* ve *Clostridium acetobutylicum* gliserin ile 1:1 oranında aktararak -26°C’de muhafaza edilmiştir. Gliserin, penisilin şişelerine 10 ml alınarak içerisinden 1-2 dk azot geçirilerek ortamdaki oksijen uzaklaştırılmış ve plastik tıpa kapatılarak alüminyum kapakla sıkıştırılmıştır. Gliserin ortam 121°C sıcaklık ve 1.2 atm basınçta 20 dakika sterilize edilerek gliserin hacmi kadar mikroorganizma aktararak -26°C’de saklanmıştır.

Diğer bir mikroorganizma saklama yöntemi ise süte aktarmaktır. Süt ortamı gliserinde olduğu gibi penisilin şişelerinden azot geçirilerek havasız koşullar sağlanır ve ağzı kapatılarak steril edilir. Eklenen süt hacmi kadar mikroorganizma eklenerek 1 gün süreyle 28 °C inkübe edildikten sonra +4 °C de buzdolabında saklanır.

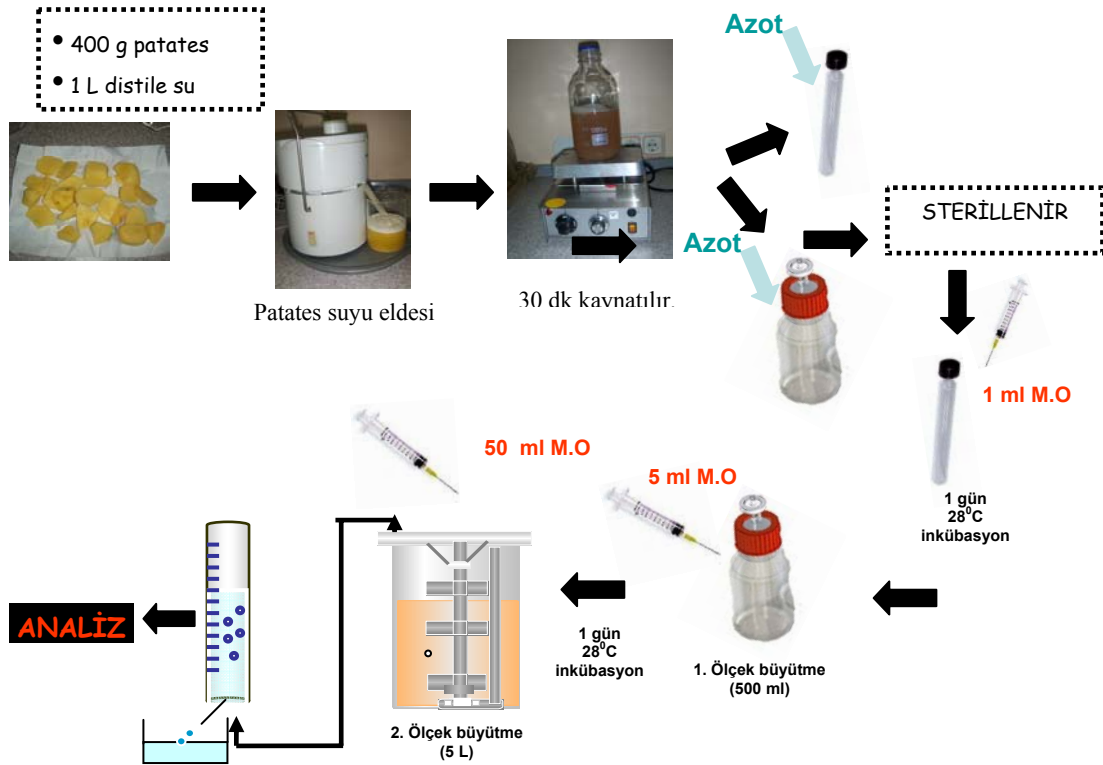
5.3 Ölçek Büyütme ve Biyohidrojen Üretim Aşamaları

Anaerobik koşulların sağlandığı hungate tüplerinde ve penisilin şişelerinde mikroorganizma birkaç aşamda çoğaltılarak ölçek büyütme yapılmıştır. Ölçek büyütme 1:100 oranında aşılama ile gerçekleştirilmiştir. Aşılama gliserin ortamında -26 °C’de saklanan mikroorganizmanın 5 ml besi ortamı bulunan hungate tüplerine şırınga ile 1.5 ml aktarılması ve 28°C sıcaklıkta inkübatörde 24 saat süreyle çoğaltılması ile başlanmıştır. İkinci basamakta 500 ml ortam içeren 1 L havasız biyoteknik kaplarına hungate tüplerinden 5 ml mikroorganizma alınarak aktarma yapılmış ve 28°C’ de 150 devir/dk hıza sahip hava çalkalamalı inkübatörde 24 saat boyunca çoğaltılmıştır. Üçüncü ve son basamakta 50 ml mikroorganizma 7.5 L’lik on-line bilgisayar kontrollu biyoreaktörde bulunan 5 L çoğalma ortamına aktarılmıştır. Optimum çalışma

koşullarında hidrojen üretimi ve pH kontrolü için dinamik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler sırasında, besi ortamlarındaki oksijen tamamen uzaklaştırılmış ve steril koşullar sağlanmıştır. Sistemin akış şeması Şekil 5.3’de verilmiştir.

Reaktör çalışma koşulları aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- Kullanılan mikroorganizmalar: anaerobik bakteriler (*Clostridium butyricum* ve *Clostridium acetobutylicum*)
- Sıcaklık : 28 °C (*Clostridium butyricum*), 37 °C (*Clostridium acetobutylicum*)
- Biyoreaktör işletimi: Kesikli, karanlık
- Karıştırma hızı: 600 devir/dk



Şekil 5.3 Besi ortamı hazırlık ve ölçek büyütme aşamaları

5.3.1 Aşılama

Mikroorganizma çoğalma ortamı, 10 ml'lik plastik tıpalı penisilin şişelerinde ağızları alüminyum kapak ile kreplenerek ya da hungate tüplerinde hazırlanmıştır. Bölüm 5.2.1'de belirtildiği gibi hazırlanan ortamdan 3-4 dakika azot gazı geçirilerek oksijen uzaklaştırılır. Reaktör de üretimden önce anaerobik koşulların sağlanması için hava püskürtme sistemine verilen azot gazı ile reaktörün çözünmüş oksijen probundan sıfır değeri okununcaya kadar azot geçirilmiştir.

Aktarımlar steril şırınga yardımıyla yapılmıştır. İlk aşama olan 5 ml'lik ortama 1.5 ml aktif mikroorganizma enjekte edilmiş ve 1 gün süreyle 28°C inkübe edilmiştir. Daha sonraki aktarımlarda 1:100 ölçek büyütme ile 500 ml'lik ortama 5 ml ve 5 L'lik ortama 50 ml mikroorganizma aşılanmıştır.

5.3.2 Reaktörün sterilizasyonu

Hazırlanan 5 ve 500 ml'lik besi ortamları 121°C sıcaklık ve 1.2 atm basınçta 20 dakika sterilize edilmiştir. Ölçek büyütmenin son aşaması olan 5 L'lik patates ortamı ise reaktör içerisinde, reaktörün sterilizasyon programı ile sterillenmiştir.

5.3.3 Hidrojen toplama sistemi

Bakterilerin fermantasyonu süresince oluşan gazları toplamak için 2 L'lik su ile dolu şişeler tıpa ile kapatılarak ters çevrilmiştir. Reaktörün gaz çıkış hattı ile bağlantı yapılarak çıkan gazın şişede toplanması sağlanmıştır. Çıkan gaz ile birlikte şişenin içindeki suyun boşalması için ters çevrilmiş şişeye iğne batırılmıştır. Azalan su hacmi takip edilerek oluşan gaz hacmi hesaplanmıştır (Bkz. Bölüm 6.5.1.3) .

5.4 Biyoreaktör ve On-line pH Kontrolü

Biyoreaktör

Ölçek büyütmenin son basamağı olan 5 L'lik ortamda hidrojen üretiminde, *Clostridium butyricum* suşunun çoğaltılması için 7.5 L hacimli Techfors S biyoreaktör kullanılmıştır (Şekil 5.4). Reaktörün elemanlarından olan pH, sıvı faz oksijen probu ve termočiftten okunan değerler reaktörün yazılımı olan IRIS V 5.2 paket programı ile bilgisayara iletilerek veriler on-line olarak kaydedilmiştir. Reaktör içerisinde on-line olarak CO₂ gazı ölçümü yapmak için, CO₂ probu kullanılmıştır. Probdan alınan sinyaller Orbisphere Multisensor analiz cihazı aracılığı ile bilgisayara aktararak ölçüm yapılmıştır.

Deneyler esnasında *Clostridium butyricum* mikroorganizmasının oksijene karşı çok hassas olmasından dolayı anaerobik koşulların sağlanması büyük önem taşımaktadır. Sisteme besi ortamı eklendikten sonra püskürtücü ile ortamdaki oksijen tamamen uzaklaşana dek azot gazı (%99 saflıkta) gönderilmiştir.

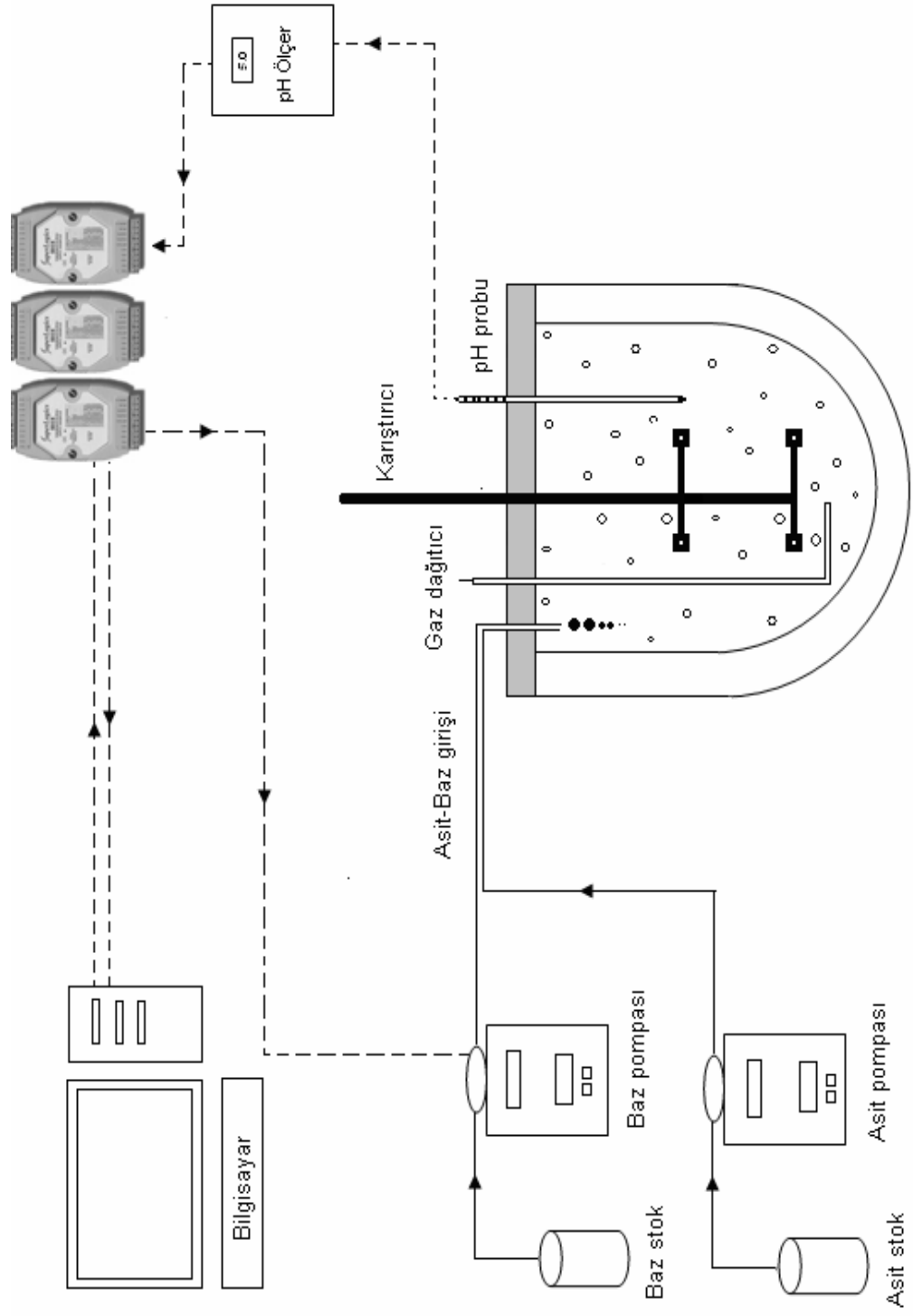
Mikroorganizmanın çoğaltılması sırasında steril koşullarda çalışmak çok önemli olduğu için biyoreaktör ve probalar (pH ve sıvı faz oksijen) besi ortamıyla birlikte reaktörün sterilizasyon komutuyla sterillenmiştir.



Şekil 5.4 Techfors S biyoreaktör ve Multisensor analiz deney düzeneği

On-line pH Kontrolü

Yapılan çalışmada sistem tanımlama ve on-line pH kontrolü amacıyla kullanılan sistem Şekil 5.5’ de gösterilmiştir. Buna göre; biyoreaktör içine daldırılmış olan pH probu ile ölçülen pH değeri, taşıyıcı arayüz modülleri ile bilgisayara iletilmiş, bilgisayara ulaşan sinyaller, MATLAB programında yazılmış olan algoritma tarafından yorumlanarak ayar değişkeni olan baz pompasına iletilmek üzere sinyal üretilmiştir. Baz pompası, gelen sinyal değerine göre biyoreaktör içine baz pompalayarak pH değişimini sağlamaktadır.



Şekil 5.5 On-line pH kontrolu sistemi

5.5 Deney Yöntemi

Anaerobik bir bakteri olan *Clostridium butyricum* suşu ile hidrojen üretimi ve pH'ın optimum değerinde kontrolün amaçlandığı bu çalışmada gerçekleştirilen çalışmalar bu bölümde anlatılmıştır.

Çalışmalara ilk olarak dinamik deneyler ile başlanılmış ve sistem tanımlama çalışmaları ile devam edilmiştir.

5.5.1 Dinamik deneyler

Sistemin dinamiğinin incelenmesiyle için asit akış hızı sabit tutularak, sistemin giriş değişkeni olan baz akış hızına çeşitli etkiler (kare, rastgele ve ternary) verilerek sistem tanımlama çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

5.5.1.1 Kalibrasyon çalışmaları

Deneyler esnasında kullanılan ekipmanların çalışma doğrularının belirlenmesi amacıyla kalibrasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak dinamik deneylerde kullanılacak olan pH probu, asit ve baz pompaları kalibrasyonu daha sonra fermantasyon deneylerinde on-line gaz analizi için kullanılacak olan CO₂ probunun kalibrasyonu yapılmıştır.

5.5.1.2 Yatışkın koşulun belirlenmesi

Mikroorganizma çoğalmasının belirlenen optimum pH değerinde kontrol edilebilmesi ve pH prosesinin yatışkın koşula gelebilmesi için asit-baz akış hızlarının belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla, sabit asit akış hızında, farklı baz akış hızları denenerek en uygun akış hızları belirlenmiştir.

5.5.1.3 Baz akış hızına negatif ve pozitif etki verilmesi deneyleri

Sistemin giriş değişkenine verilen etkiler, sıvı besi ortamı olan patates ortamında mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız olmak üzere iki farklı koşulda incelenmiştir. Reaktöre 2 L besi ortamı beslenerek steril koşullar sağlanmış ve sistem yatışkın koşula getirilmiştir. Mikroorganizmalı ortamda pozitif etki için sabit asit akış hızında baz akış hızına 0.285 ml/dk'dan 0.5737 ml/dk'ya, negatif etki de ise 1.3 ml/dk'dan 0.081 ml/dk'ya basamak etki verilmiştir. Sistemin giriş değişkenine verilen etkiler deneyinde MATLAB programında hazırlanan Simulink işletimi kullanılmıştır. Bu çalışmalar ile ilgili bilgi Bölüm 6.2.4'de ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

5.5.1.4 Sistem tanımlama deneyleri

Prosesin modelinin bulunabilmesi amacıyla sistem tanımlama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Biyoreaktörü tanımlayan en uygun modelin bulunabilmesi için kare, ternary ve rastgele olmak üzere üç farklı sinyal, mikroorganizmasız ve mikroorganizmalı besi ortamına sabit akış hızında uygulanmıştır. Deneyler mikroorganizma çoğalma sıcaklığı olan 37°C yapılmıştır.

Sistem tanımlama ile parametrelerin hesaplanması amacıyla Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi kullanılmıştır. Gerçekleştirilen teorik hesaplamalar MATLAB programlama dilinde yazılan program ile gerçekleştirilmiştir.

5.5.2 Hidrojen üretimi deneyleri

Hidrojen üretimi çalışmalarına ilk olarak deney sisteminin kurulması ile başlanmıştır. Bu amaçla, biyoreaktör işleme alınmış, on-line gaz analizi için kullanılacak olan multisensör cihazı sisteme monte edilmiş ve anaerobik koşulların tam olarak sağlanması için gaz püskürtme sistemi düzenlenmiştir. Hidrojen üretimi için pH'ın uygun değerde kontrol edilmesinin önemli olması nedeni ile çalışmaları pH kontrolsüz koşullarda başlanarak mikroorganizmanın çoğalması sırasındaki pH değerindeki düşüş takip edilmiştir. Daha sonra çalışmaları farklı başlangıç pH'larında mikroorganizmanın hidrojen üretim verimleri incelenerek en uygun mikroorganizma çoğalma pH'ı tespit

edilmiştir. Uygun pH değerinin belirlenmesi çalışmalarından sonra uygun besi ortamının saptanması çalışmalarına başlanmıştır. Bu amaçla, farklı besi ortamlarında (peyniraltı suyu, patates, kimyasallı patates ve melas) denemeler yapılmıştır. Ayrıca farklı koşullarda depolanan mikroorganizmaların (süt, gliserin ve patates ortamı), hem uygun besi ortamı hem de uygun saklama koşulu tespit edilmiştir.

5.5.3 Analizler

5.5.3.1 Gaz bileşiminin belirlenmesi

Toplanan gazın bileşimi gaz kromatografi cihazı ile belirlenmiştir. Bunun için analizler GC-2014 Shimadzu gaz kromatografi cihazında TCD (ısı iletkenlik dedektörü) ve FID (alev iyonizasyon dedektörü) dedektörleriyle gerçekleştirilmiştir. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 50°C'dir. Taşıyıcı gaz olarak azot kullanılmış akış hızı 20 mL/dk'ya ayarlanmıştır. Örnekler sabit akış hızında 50 saniye boyunca cihaza gönderilmiştir. TCD1 dedektörü ve moleküler eleme kolonu (molecular sieve column) (Porapak-Q 80/100, 3.2 mm X 2.1mm X 1m) ile karbondioksit ve metan, TCD2 dedektörü ve moleküler eleme kolonu (Molecular sieve 5A 80/100, 3.2 mm X 2.1mm X 2m) ile de hidrojen sonuçları elde edilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen kromatogramlar EK 1'de verilmiştir.

5.5.3.2 Organik asit analizi

Sıvı fazda bulunan çeşitli çözücülerin konsantrasyonları (etanol, metanol, propanol, aseton) ve organik asitler (asetik asit, butirik asit) analizi için gaz kromatografi cihazında (GC-2014 Shimadzu) belirlenmiştir. Sıvı fazdan alınan örnekler 4000 devir/dk de 20 dk santrifüjlenerek süpernatant kısmı ayrılarak cihaza enjekte edilmiştir. GC'de FID dedektör ile 250°C sıcaklıkta çalışılmıştır. Azot taşıyıcı gaz olarak kullanılarak 20 ml/dk akış hızında gönderilmiştir. Yapılan sıcaklık programlamasında; 60 °C'de 2 dk, 5°C/dk ile 140°C'ye sıcaklık artırılmış ve 140°C sabit sıcaklıkta 6 dk bekletilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen kromatogramlar EK 2'da verilmiştir.

5.5.3.3 On-line gaz analizi

Fermantasyon sırasında oluşan gazların on-line olarak analizlenmesi için Orbisphere Multisensor cihazı kullanılmıştır. Cihaza bağlanan CO₂ probu, reaktöre monte edilerek gaz oranları belirlenmiştir.

5.5.3.4 pH ve çözünmüş oksijen derişimi analizi

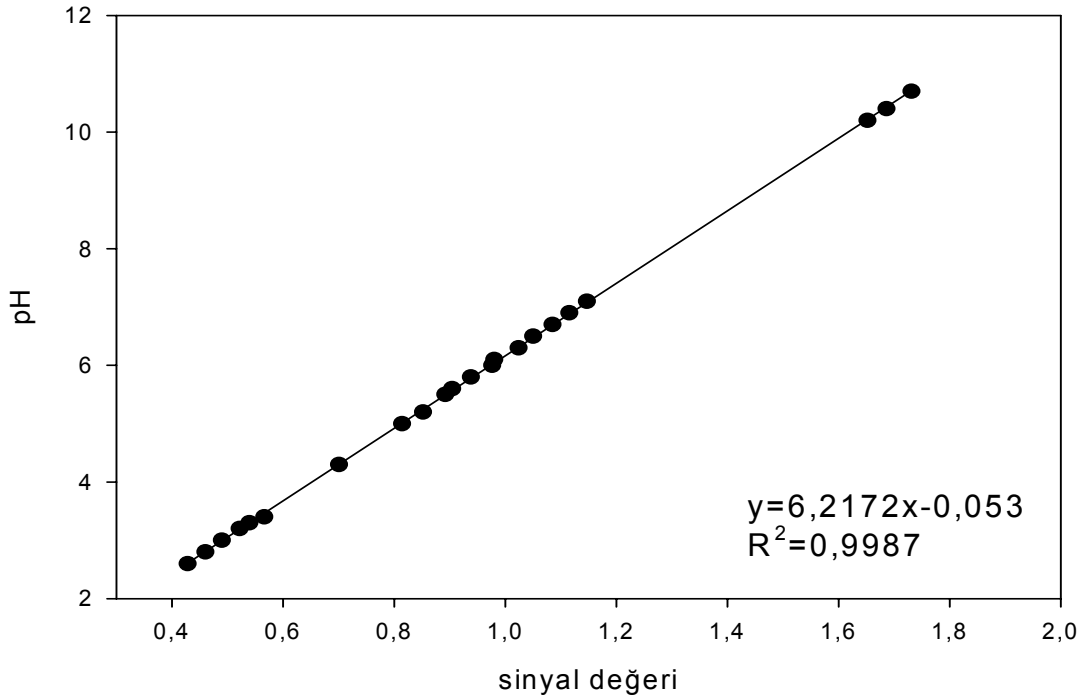
Fermantasyon ortamının pH ölçümlerinin yapılması amacıyla Metler Toledo 30981 pH elektrodu kullanılmıştır. Kültür ortamının içerisindeki çözünmüş oksijen miktarının tayini için Metler Toledo 30967 çözünmüş oksijen probu kullanılmıştır. Problar biyoreaktöre yerleştirilerek, veriler on-line olarak reaktör ekranından ve bilgisayardan takip edilmiştir.

6. ARAŞTIRMA BULGULARI

6.1 Kalibrasyon Çalışmaları

6.1.1 pH probu kalibrasyonu

Deneylerde kullanılacak olan pH probunun gösterge değeri ve bilgisayar sinyali değerleri arasındaki bağıntıyı bulmak amacıyla kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve pH probu için oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 6.1’de verilmiştir.

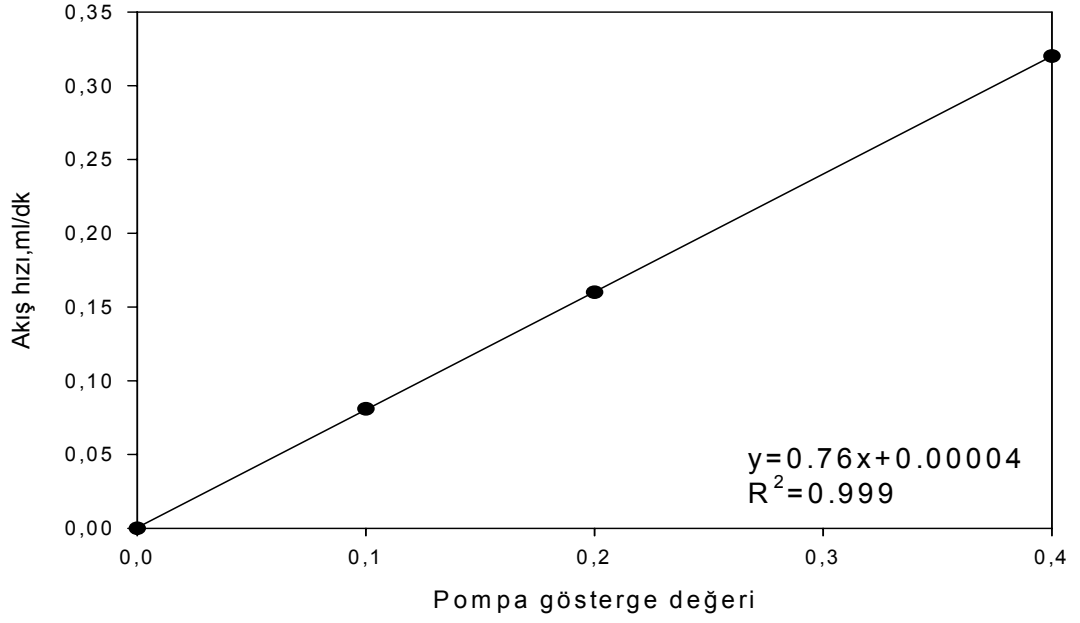


Şekil 6.1 pH değerine karşı bilgisayar sinyali değişimi

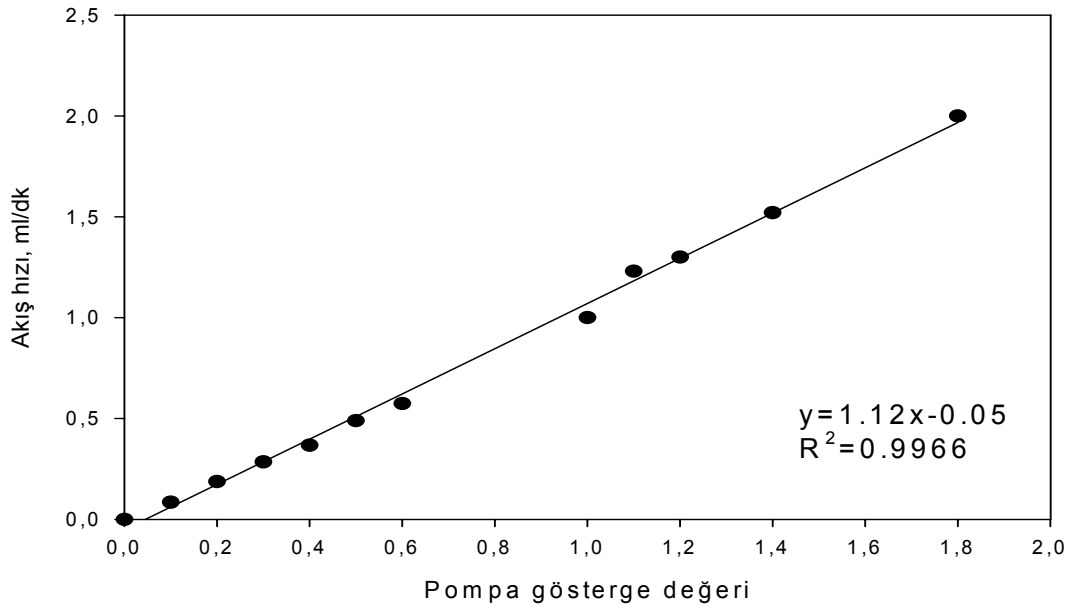
6.1.2 Pompa kalibrasyonları

Dinamik ve kontrol deneylerinde kullanılacak olan asit ve baz pompalarının gösterge değeri ve bilgisayar sinyali değerlerine karşılık ortaya koyduğu akış hızı değerlerinin bulunması amacıyla kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

Asit ve baz pompaları için oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 6.2 ve Şekil 6.3’de verilmiştir.



Şekil 6.2 Asit pompası için gösterge değerine karşı akış hızının değişimi kalibrasyonu

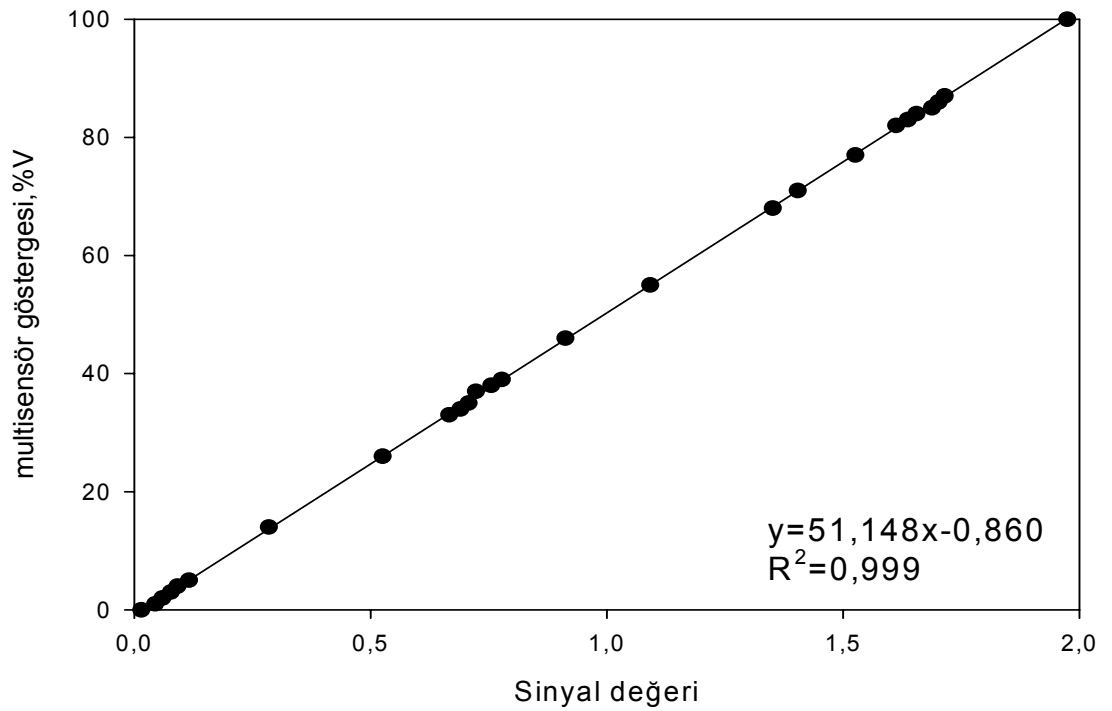


Şekil 6.3 Baz pompası için gösterge değerine karşı akış hızının değişimi kalibrasyonu

6.1.3 CO₂ probu kalibrasyonu

Clostridium butyricum suşunun kullanıldığı fermantasyon sonucunda oluşan gaz karışımındaki CO₂ ve H₂ miktarlarının ölçülmesinde multisensor analiz cihazı kullanılmıştır. Fermantasyon esnasında reaktöre bağlanan prob ile multisensor cihazı aracılığıyla modüllere sinyal gönderilmiş ve bilgisayarda Matlab programı aracılığıyla veriler kaydedilmiştir. Multisensörün gösterge değeri ile bilgisayar sinyali değerlerine karşılık ortaya koyduğu gaz yüzdesinin bulunması amacıyla kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

CO₂ probu için oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 6.4' de verilmiştir.

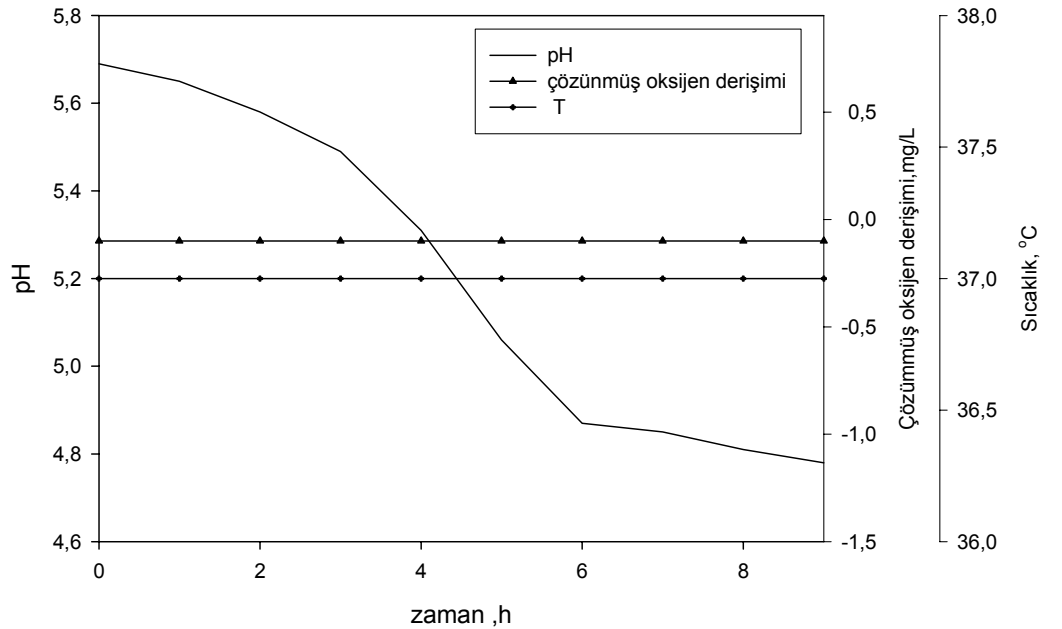


Şekil 6.4 CO₂ probu için multisensör gösterge değerine karşı bilgisayar sinyali değişimi kalibrasyonu

6.2 Dinamik Çalışmalar

6.2.1 Açık –hat biyoreaktör işletimi

Açık-hat biyoreaktör işletimi esnasında prosesin dokuz saatlik fermantasyon süresi boyunca pH değişimini belirlemek için bir çalışma gerçekleştirilmiş ve bu çalışmada dinamik deneylerde *Clostridium acetobutylicum* suşu kullanılmıştır. Kontrol edilen değişken olarak seçilen pH'nın herhangi bir kontrol yöntemiyle denetlenmediği durumda zamanla değişimini incelemek amacıyla gerçekleştirilen dinamik deneylerde diğer tüm biyoreaktör işletim parametreleri sabit tutularak hidrojen üretimi gerçekleştirilmiştir. İşletme koşulları, 37°C sıcaklık ve 600 devir/dk karıştırma hızına ayarlanarak reaktörün kontrol algoritması ile sabit tutulmuştur. Ölçek büyütme aşamasının son adımı olan biyoreaktöre aktarılan mikroorganizmanın, patates ortamında havasız koşullarda fermantasyon süresince pH değişimi incelenerek IRIS V.2 programı yardımıyla kaydedilmiştir. Dokuz saatlik fermantasyon sonunda pH 5.7 den 4.7 değerine düşmüştür (Şekil 6.5).



Şekil 6.5 Biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca pH değişimi

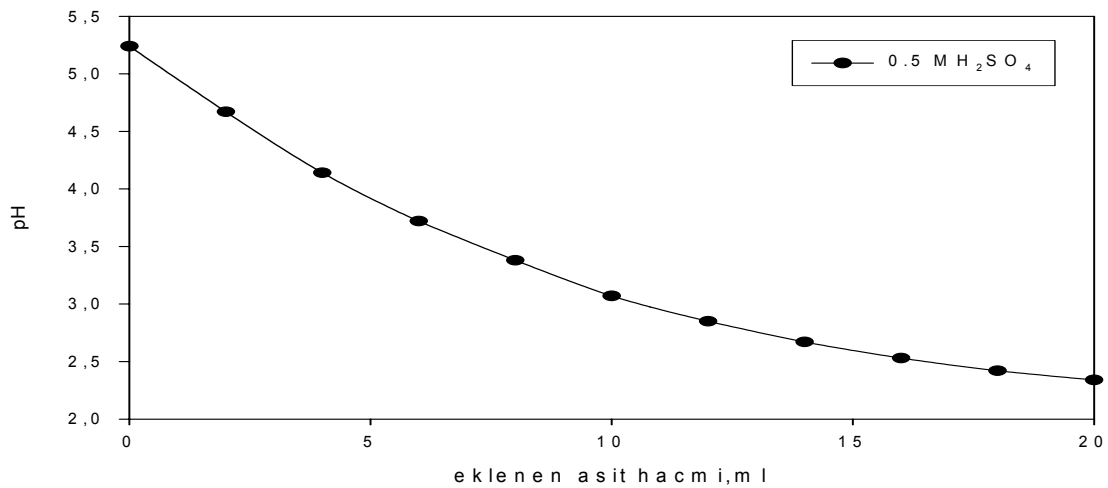
6.2.2 Ayar değişkeni seçimi

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda, pH ayarlamada asit olarak H_2SO_4 veya HCl , baz olarak $NaOH$ veya KOH kullanıldığı görülmüş ve bu çalışmada, H_2SO_4 - $NaOH$ asit-baz çiftinin kullanılmasına karar verilmiştir.

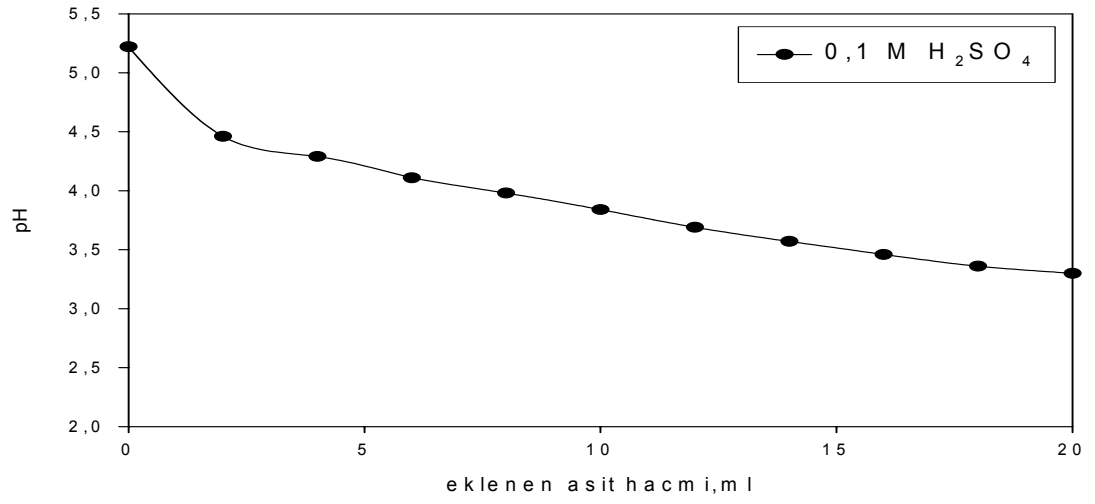
6.2.3 Asit-baz çifti derişiminin belirlenmesi

Asit – baz derişimi belirleme çalışmaları, kullanılacak asit – baz hacminin, toplam reaksiyon hacminin %10'unu aşmamasına dikkat edilmiştir. Buna göre, 5 L'lik çalışma hacminde, eklenecek asit ve baz hacimleri en fazla 250 ml olacak şekilde belirlenmiştir.

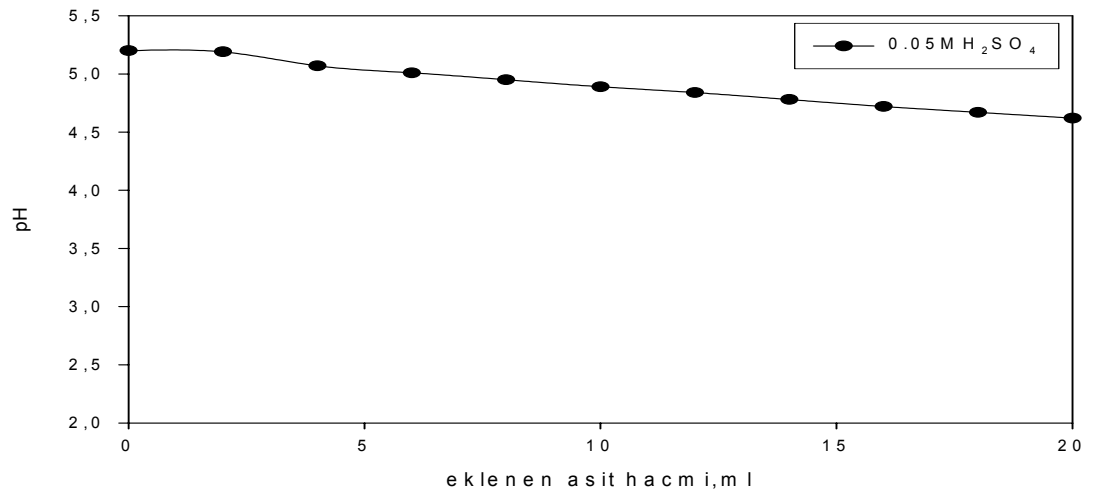
Kontrol deneylerinde kullanılacak asit derişiminin belirlenmesi için, 500 ml besi ortamına 0.5 M, 0.1 M, 0.05 M ve 0.01 M' lik sülfürik asit çözeltileri küçük hacim adımları halinde eklenmiştir. Eklenen asit hacmine karşılık pH değerindeki değişimler grafiğe geçirilerek, pH düşüş eğrisinin açık – hat biyoreaktör işletimi deneylerindeki düşüşe benzer olan eğri belirlenmiştir. Yapılan çalışmaların grafiksel gösterimi aşağıda verilen şekillerde sunulmuştur (Şekil 6.6–6.9).



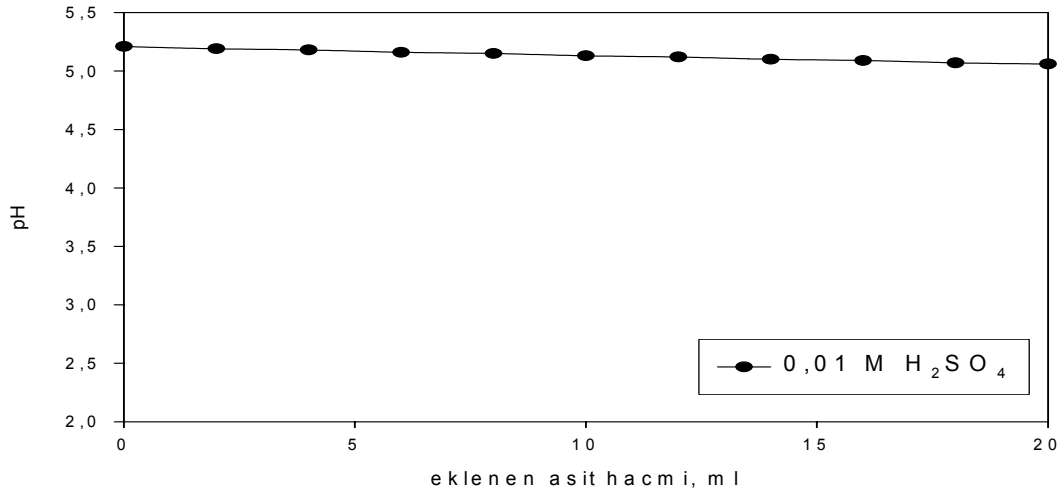
Şekil 6.6 0.5 M asit çözeltilisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi



Şekil 6.7 0.1 M asit çözeltisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi



Şekil 6.8 0.05 M asit çözeltisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi



Şekil 6.9 0.01 M asit çözeltisi deneyinde eklenen asit hacmi ile pH değişimi

Yapılan çalışmalarda, mikroorganizmalı biyoreaktör işletimi deneylerindeki pH düşüşüne benzer olan grafiği veren sülfürik asitin derişiminin 0.1 M olduğu belirlenmiştir.

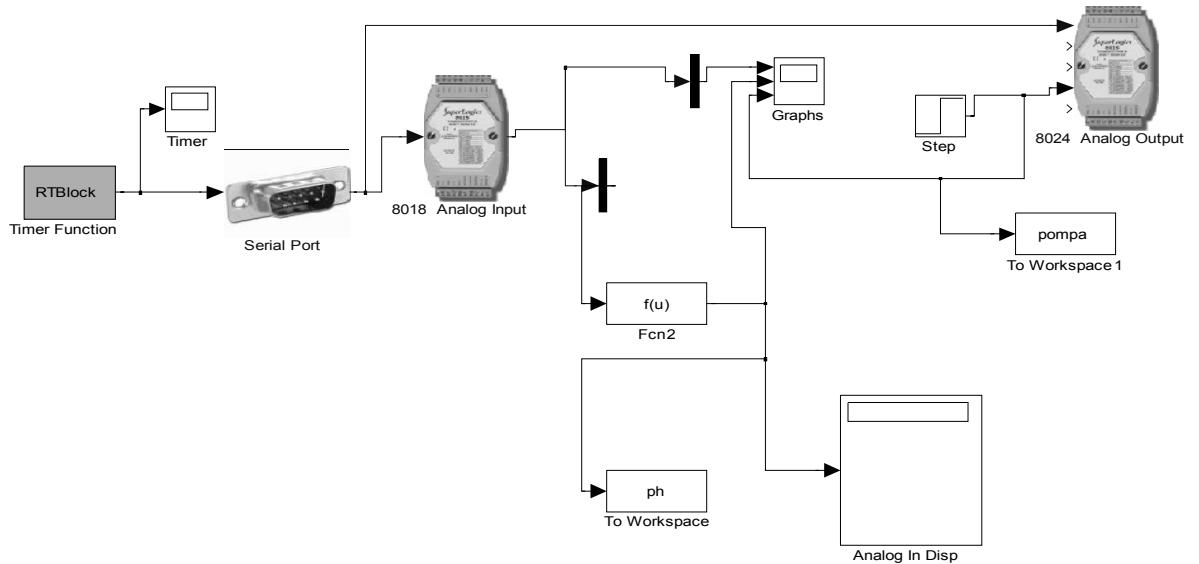
Baz olarak kullanılacak olan sodyum hidroksitin derişim değerinin ise, en az 0.1 M' lik sülfürik asidin ortama verdiği H^+ iyonlarını nötrleştirebilecek derişimde OH^- iyonu derişimi sağlaması gerektiğinden ve mikroorganizma çoğalmasının üstel fazında gözlenen pH düşmesini karşılayabilecek derişimde olması gerektiğinden 0.3 M olarak seçilmiştir.

6.2.4 Biyoreaktörün dinamik analiz sonuçları

Mikroorganizmaların çoğalma performanslarını etkileyen faktörlerin başında gelen pH'ın, fermentasyon ile hidrojen üretimi süresince optimum değerinde tutulması gerekmektedir. Bu yüzden ilk olarak pH'ın kontrolü için bir ayarlanabilen değişkenin seçilmesi gerekmektedir. Bu amaçla fermentasyon prosesi boyunca sürekli olarak pH'ın düşmesinden dolayı baz akış hızı ayarlanabilen değişken olarak seçilmiştir. Etkin bir kontrol gerçekleştirebilmek için baz akış hızının pH'ın üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Bu amaçla baz akış hızına pozitif ve negatif etkiler verilerek pH değişimi incelenmiştir. Oluşturulan etkiler mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız besi ortamında farklı koşullarda incelenmiştir.

Dinamik çalışmalar, Matlab programında simulinkte hazırlanan model ile pompaya farklı basamak etkilerin manuel olarak verilmesi ile gerçekleştirilmiştir. pH probunun kalibrasyon denkleminde bulunan denklem modeldeki fonksiyon kutucuğuna yazılarak ekranda değişen pH değerleri grafik halinde gözlenip, kaydedilmiştir. Kullanılan simulink işletim modeli Şekil 6.10'da verilmiştir.



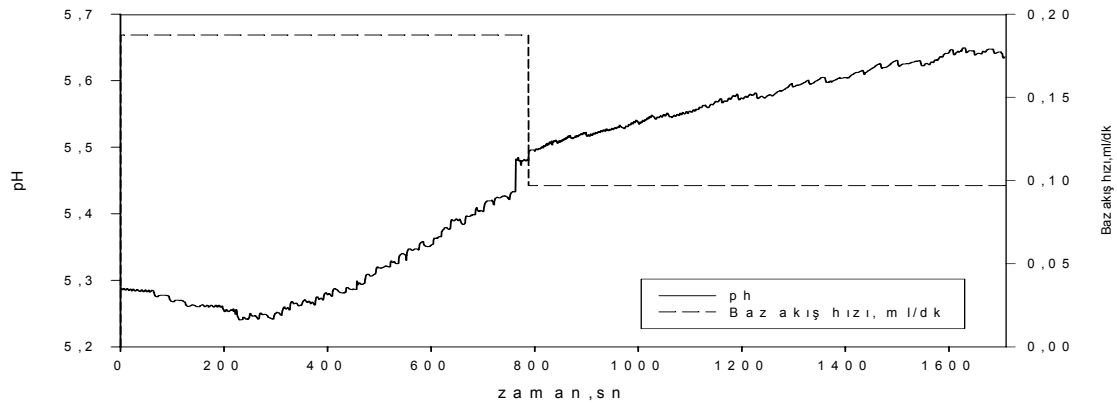
Şekil 6.10 Dinamik çalışmalarda kullanılan simulink işletim modeli

6.2.4.1 Yatışkın koşulun belirlenmesi

Dinamik modellerin tanımlanmasında kullanılan yöntemlerden biri olan Proses Reaksiyon Eğrisi yönteminin birinci basamağı prosesin yatışkın koşulda işletilmesidir (Marlin 2000). Bu amaçla, öncelikle prosesin yatışkın koşul değerleri incelenmiştir. Bu çalışma ile mikroorganizmalı deneylerde pH'ın optimum değerinde kontrol edilmesi için asit ve baz akış hızlarının yatışkın koşul değerlerinin bulunması amaçlanmıştır.

Yatışkın koşul değerlerinin belirlenmesi amacıyla 0.081ml/dk sabit asit akış hızında, farklı baz akış hızları denemeleri gerçekleştirilmiştir. Belirlenen bu sabit asit akış hızı değeri, ortamın pH' ını, mikroorganizmalı deneylerde gözlenen pH düşüşüne çok benzer şekilde simüle eden 0.1 M H₂SO₄'in akış hızı değeridir. 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, yatışkın koşula ulaşılması için gerekli olan baz akış hızının bulunması için çeşitli denemeler yapılmıştır.

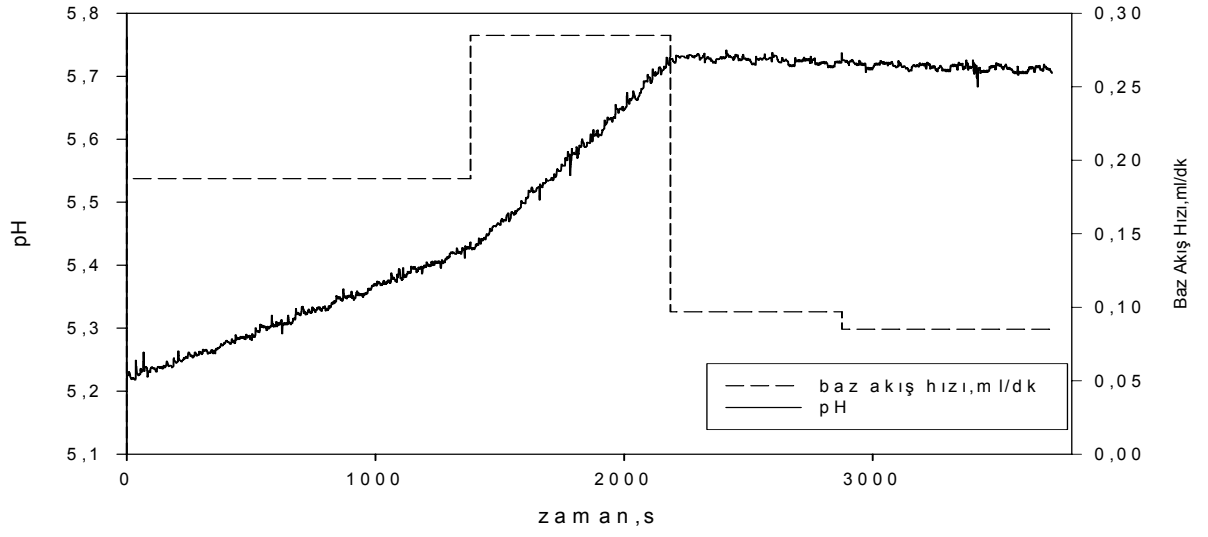
Deneme çalışmalarında ilk olarak 0.5 M'lık NaOH çözeltisi ile 0.1875 ve 0.085 ml/ dk akış hızlarında pH değişimi incelenmiştir. pH değişiminin grafiksel gösterimi Şekil 6.11' de verilmiştir.



Şekil 6.11 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi

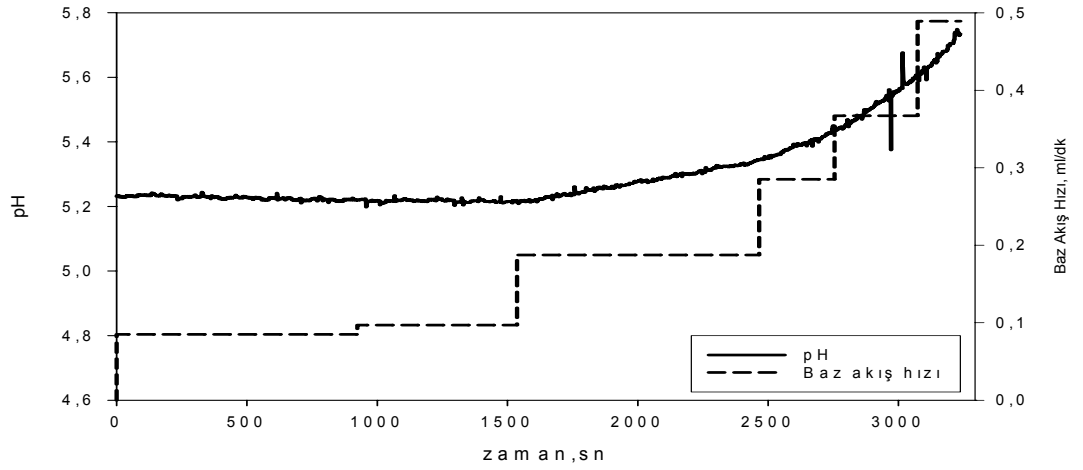
Bu deneme sonucunda sistemin pH değeri en düşük baz akış hızında bile sabitlenememiştir. Bu durumun seçilen baz derişimin yüksek seçilmesinden kaynaklandığı düşünülerek diğer çalışmalarda daha düşük baz derişimlerinde çalışılmasına karar verilmiştir.

Daha sonra çalışmalara farklı baz akış hızları için bir yatışkın koşul belirlenmesi ile devam edilmiş ve baz derişimi düşürülerek 0.3 M NaOH derişimi seçilmiştir. Sistemin pH'ın sabitlenmesi için gereken farklı baz akış hızları denenmiş ve 0.085 ml/dk değerinde pH değerinin sabitlendiği bulunmuştur. Yapılan çalışmanın grafiksel gösterimi Şekil 6.12' de görüldüğü gibidir.



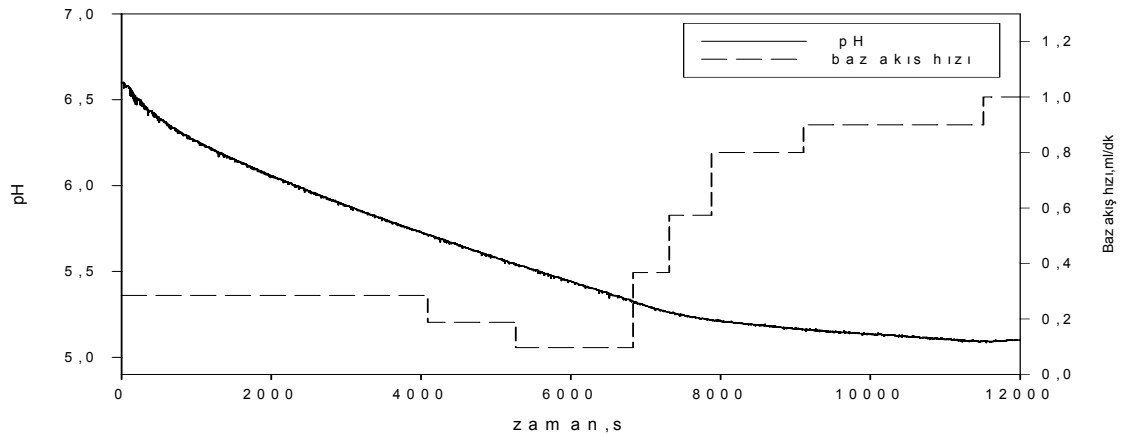
Şekil 6.12 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi

Biyoreaktörün işletiminde uygun pH değerinde belirlenen 0.085 ml/dk baz akış hızının uygunluğunu tespit edebilmek için ortam pH'ı istenen değere getirilmiş ve pH değişimi gözlenmiştir. Yapılan çalışmanın grafiksel gösterimi Şekil 6.13' de gösterilmiştir. Grafikten elde edilen sonuçlara göre baz akış hızının 0.085 ml/dk değerinde, sistem pH'ı istenen değerde sabit tutulmuştur.



Şekil 6.13 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi

Sistemin dinamik davranışı üzerinde farklı koşullar için yeni yatışkın koşul değerleri bulunması amacıyla çalışmalara devam edilmiştir. Bu amaçla, dinamik inceleme altındaki ikinci bir yatışkın koşul belirleme çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu incelemede, baz çözeltilerinin derişimi değiştirilerek baz akış hızı için yeni bir yatışkın koşul değeri bulunmuştur. Burada kullanılan asit 0.1M H_2SO_4 ve baz 0.02 M NaOH çözeltisidir. Yapılan çalışmanın grafiksel gösterimi Şekil 6.14'de verilmiştir.



Şekil 6.14 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında, 0.02 M baz akış hızının farklı değerlerine karşılık pH değerlerinin değişimi

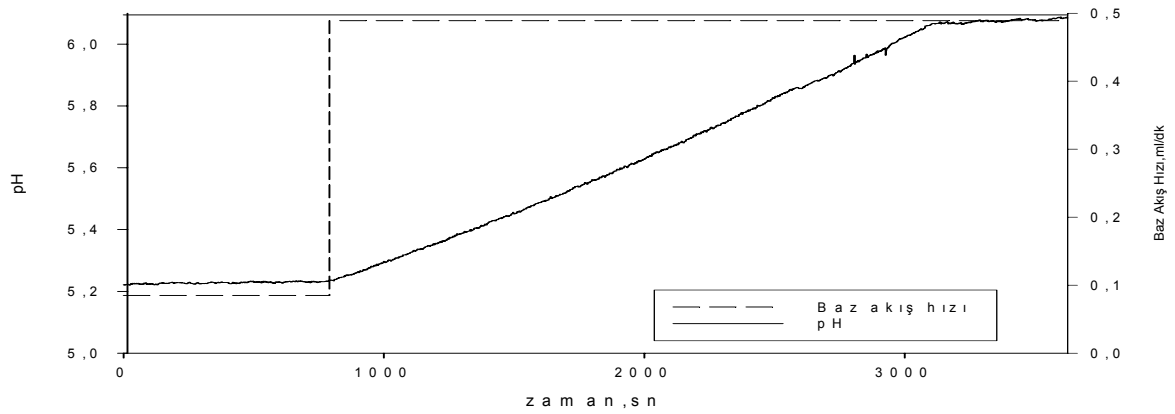
Baz çözeltisinin derişiminin 10 kat azaltılması sonucunda elde edilen verilerde baz akış hızının 1 ml/dk değerine kadar asit akışının yarattığı azalmayı karşılayamayarak sürekli azaldığı gözlenmiştir. Ancak baz akış hızı 1 ml/dk değerinde yatışkın koşul değerine ulaştığı bulunmuştur.

6.2.5 Girdi – Çıktı ilişkisi

6.2.5.1 Pozitif basamak etki

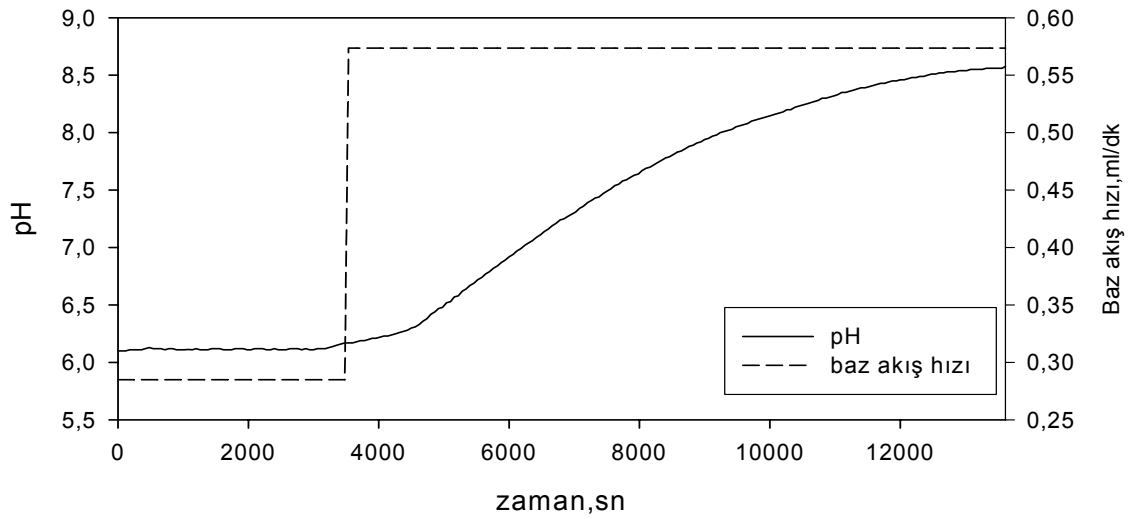
Kontrol parametrelerinin bulunması için farklı koşullarda işletilen proseslere farklı büyüklükte basamak etkiler verilmiştir. Elde edilen her bir proses reaksiyon eğrisi için farklı metodlarla parametre hesabı yapılmıştır.

İlk olarak, pH 5.2 değerinde yatışkın koşulda işletilen sistemde 0.3 M NaOH akış hızında pozitif basamak etki verilmesiyle elde edilmiştir. Verilen basamak etkinin büyüklüğü 0.087 ml/dk'dan 0.4581 ml/dk'ya karşılık gelmektedir. Sistemin verilen etkiye cevabı Şekil 6.15'de gösterilmiştir.



Şekil 6.15 pH 5.2 değerinde 0.081 ml/dk sabit asit akış hızında yatışkın koşulda işletilen sistemde baz pompasına 0.087 ml/dk' dan 0.4581 ml/dk' ya basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı

Çalışmalara, farklı koşullarda işletilen bir proses ile devam edilmiştir. Bu çalışmada reaktörde 2 L hacimde steril ve tamamen havasız koşullarda 37 °C besi ortamı ile işletilen sistem pH 6.1 değerinde yatışkın koşula getirilmiş ve mikroorganizma aktarılmıştır. Mikroorganizmanın adapte olması ve sistemin tekrar yatışkın koşula gelmesi beklenip farklı etkiler denenmiştir. Baz derişimi 0.3 M seçilmiştir ve baz akış hızına 0.285 ml/dk' dan 0.5737 ml/dk' ya basamak etki verilmiştir. Sistemde asit akış hızı, 0.32 ml/dk değerinde sabit tutulmaktadır. Yapılan çalışmanın grafiksel gösterimi Şekil 6.16 ' da verilmiştir.



Şekil 6.16 pH 6.1 değerinde 0.32 ml/dk sabit asit akış hızında yatışkın koşulda işletilen sistemde baz akış hızına 0.285 ml/dk'dan 0.5737 ml/dk'ya basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı

Elde edilmiş olan iki farklı proses reaksiyon eğrisi kullanılarak yapılan parametre hesaplamalarının sonuçları Çizelge 6.1'de gösterilmiştir. Parametre hesaplamalarında eğri geçirme, Smith ve doğrusal regresyon yöntemi gibi üç farklı yöntem kullanılmıştır. Çizelge 6.1'de 1. ve 2. proses reaksiyon eğrisi olarak adlandırılan eğriler, yukarıda açıklanan çalışmaların sırasına göre numaralanmıştır.

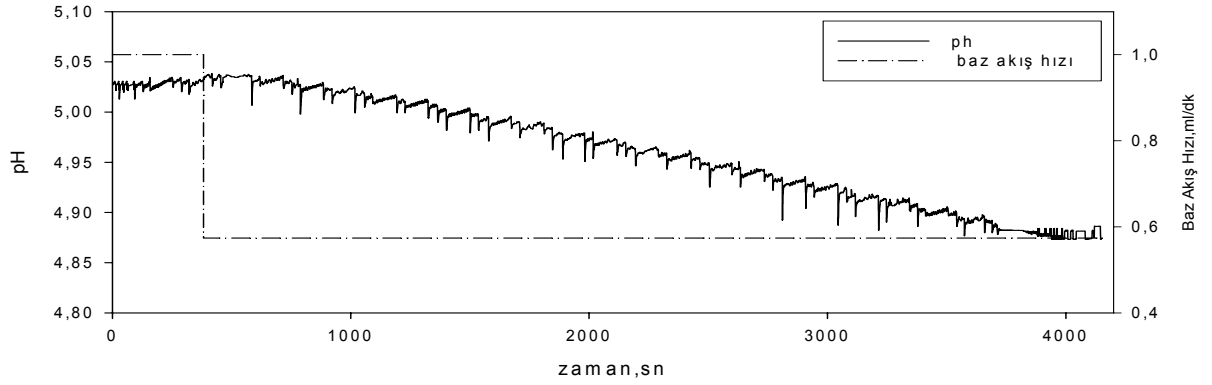
Çizelge 6.1 Farklı proses reaksiyon eğrileri için farklı yöntemlerle hesaplanan parametre değerleri

Hesaplama Yöntemi	1. Proses Reaksiyon Eğrisi			2. Proses Reaksiyon Eğrisi		
	K_p	θ (sn)	τ (sn)	K_p	θ (sn)	τ (sn)
Eğri Geçirme	0.351	468	2886	8.318	520	6300
Smith (1972)	0.351	1077	2172	8.318	4590	3330
Doğrusal Regrasyon	0.351	905	2813	8.318	3072	3280

Bu bölüme kadar anlatılan yöntemlerden elde edilen parametre değerlerinden görüldüğü (Çizelge 6.1) hesaplanan değerler arasında tutarsızlıklar görülmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda uygun proses parametrelerinin tespit edilebilmesi amacıyla mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız besi ortamlarında farklı etki deneyleri gerçekleştirilerek YEKK yöntemi ile uygun parametreler bulunmuş ve model sınaama testleri ile doğrulukları tespit edilmiştir (Bölüm 6.3).

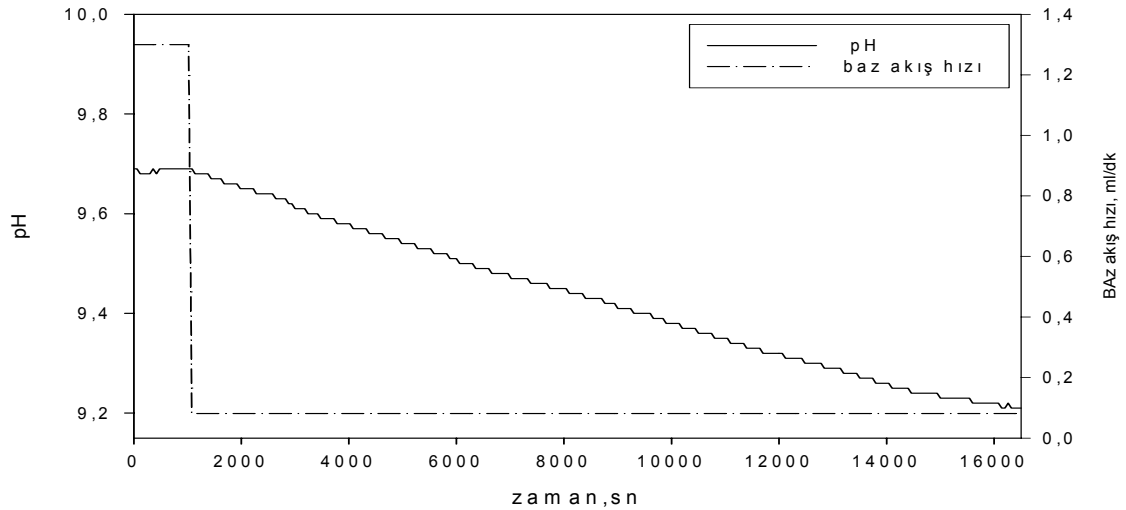
6.2.5.2 Negatif basamak etki

Sistemin pozitif etkilere verdiği cevaplar incelenip gerekli parametreler hesaplandıktan sonra, negatif basamak etki durumunda sistem yanıtının durumu incelenmiştir. Bu amaçla, 0.081 ml/dk 0.1 M H_2SO_4 akış hızında pH 5.03 değerinde yatışkın koşulda işletilmekte olan sistemde, 0.02 M NaOH akış hızına 1 ml/dk' dan 0.5737 ml/dk' ya negatif basamak etki verilmiş ve Şekil 6.17 'de verilen grafik elde edilmiştir.



Şekil 6.17 Baz akış hızına 1 ml/dk' dan 0.5737 ml/dk negatif basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı

Negatif etki deneylerine, mikroorganizmalı besi ortamında işletilen reaktörde devam edilmiştir. pH 9.7 değerinde yatışkın koşula getirilen mikroorganizmalı besi ortamı içeren 2 L hacimde işletilen reaktörde, 0.3 M olan, baz akış hızına 1.3 ml/dk'dan 0.081 ml/dk'ya negatif basamak etki verilmiştir. Sistemde asit akış hızı, 0.32 ml/dk değerinde sabit tutulmuştur. Yapılan çalışmanın grafiksel gösterimi Şekil 6.18'de verilmiştir.



Şekil 6.18 Baz akış hızına 1.3 ml/dk' dan 0.081 ml/dk negatif basamak etki verilmesi durumunda sistemin cevabı

6.3 Sistem Tanımlama Deney Sonuçları

Hidrojen üretim veriminin yüksek olması için daha önceki bölümlerde söz edildiği gibi pH'ın optimum değerlerde kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla sistemin modelinin belirlenmesi için parametrelerin doğru olarak elde edilmesi gerekmektedir. Bunun için ayarlanabilen değişken olan baz akış hızına kare, ternary ve rastgele olmak üzere üç farklı etki verilmiştir. Verilen etkiler sonucunda sistemin pH'ındaki değişimler tespit edilmiş, Matlab programlama dilinde yazılan Yinelemeli En Küçük Kareler (YEKK) programı kullanılarak model parametreleri hesaplanmıştır.

Biyoreaktörde mikroorganizma bulunduğu ve bulunmadığı durumda yapılan deneylerde yapılan model parametrelerin bulunması için ARMAX model kullanılmıştır.

$$y(t) = \frac{B(q^{-1})}{A(q^{-1})}u(t) + e(t) \quad (6.1)$$

Model parametrelerinin bulunması için ilk olarak mikroorganizmasız 500 ml'lik besi ortamına kare, ternary ve rastgele etkiler verilmesi ile başlanmıştır. Daha sonra aynı üç etki mikroorganizmalı ortamda 5 L'lik reaktörde verilerek gerçekleştirilmiştir.

6.3.1 Mikroorganizmasız ortamda etki deneyleri

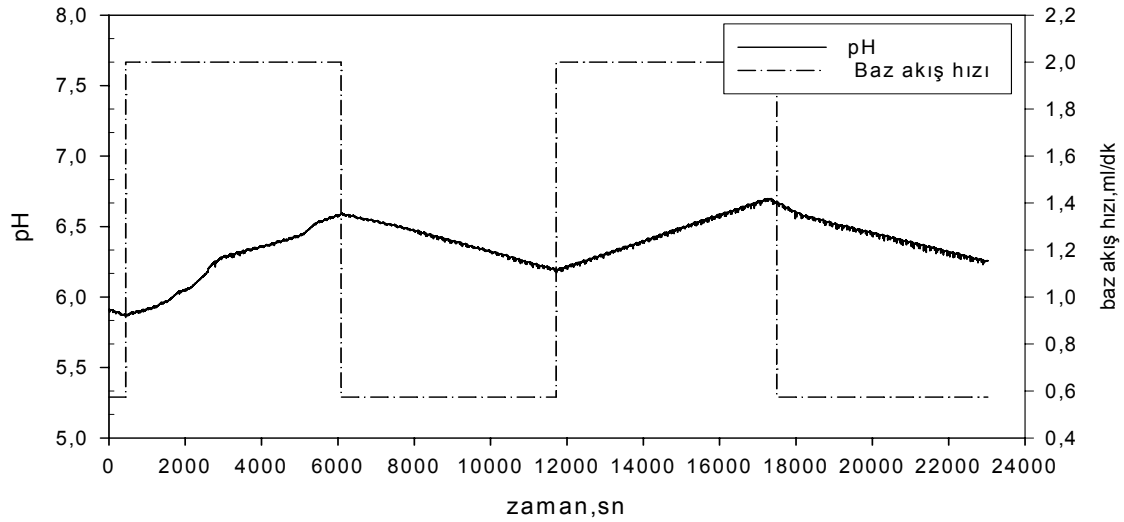
Eşitlik 6.1'de verilen modelin parametreleri biyoreaktör sadece sıvı besi ortamı ile doluyken baz akış hızına verilen iki farklı etki altında hesaplanmıştır. Sistem tanımlama deneylerinde Şekil 6.10 verilen Matlab dilinde yazılan Simulink modeli kullanılmıştır.

Çizelge 6.2 Model parametrelerinin hesaplandığı deney koşulları

Asit Akış Hızı, mL/dk	Sıcaklık, °C	Baz derişimi	Asit derişimi	Reaktör hacmi,ml
0.081	37	0.02 M	0.1 M	500

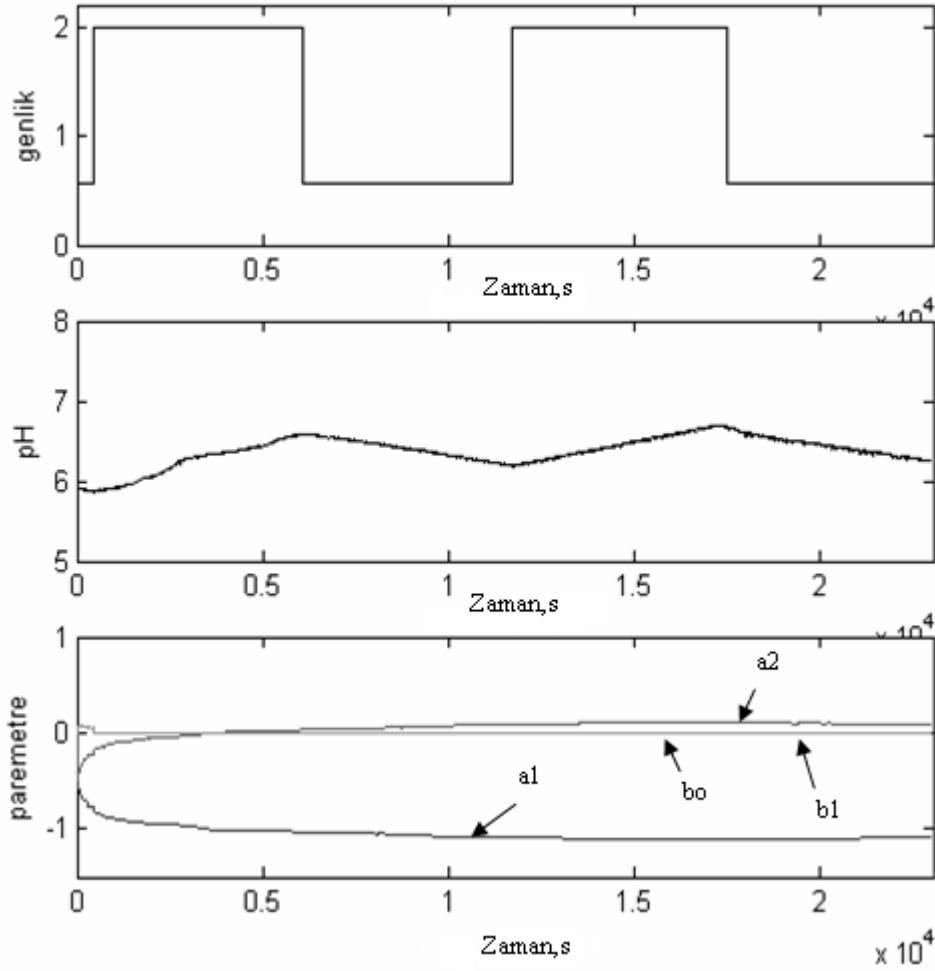
6.3.1.1 Kare dalga etkisi

Model parametrelerinin bulunması için yapılan ilk deney baz akış hızına kare dalga etki verilerek gerçekleştirilmiştir. Sadece sıvı besi ortamı ile dolu olan biyoreaktör Çizelge 6.2’de verilen işletim şartlarında yatışkın hale getirilmiştir. 0.081 ml/dk sabit 0.1M H_2SO_4 akış hızında pH 5.9 değerinde yatışkın koşulda ilerlemekte olan sistemde 0.02 M NaOH çözeltisi akış hızına aynı süreler boyunca aynı büyüklükte basamak etkiler verilerek sistemin yanıtını incelenmiştir. Yapılan çalışmada baz akış hızı 0.5737 ml/dk ile 2 ml/dk arasında pozitif ve negatif olarak değiştirilmiştir. Çalışmanın sonuçları Şekil 6.19’ de gösterilmiştir.



Şekil 6.19 Baz akış hızına kare dalga etki verilmesi durumunda sistemin cevabı

Zaman aralıkları olarak 5640 saniye alınarak pH değişimleri elde edilmiştir. Biyoreaktörün bu etkiler için giriş ve çıkış değerleri kullanılarak YEKK Yöntemi ile 1. Mertebeden ifade edilen modelin katsayıları hesaplanmıştır. YEKK Yöntemi ile sistem tanımlama çalışmaları teorik olarak MATLAB programlama dili kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneysel veriler ile elde edilen baz akış hızına verilen kare dalga etkiye karşılık elde edilen teorik sonuçlar Şekil 6.20’de gösterilmiştir. Model parametrelerinin bulunması için kullanılan YEKK programı Ek 3’de verilmiştir.

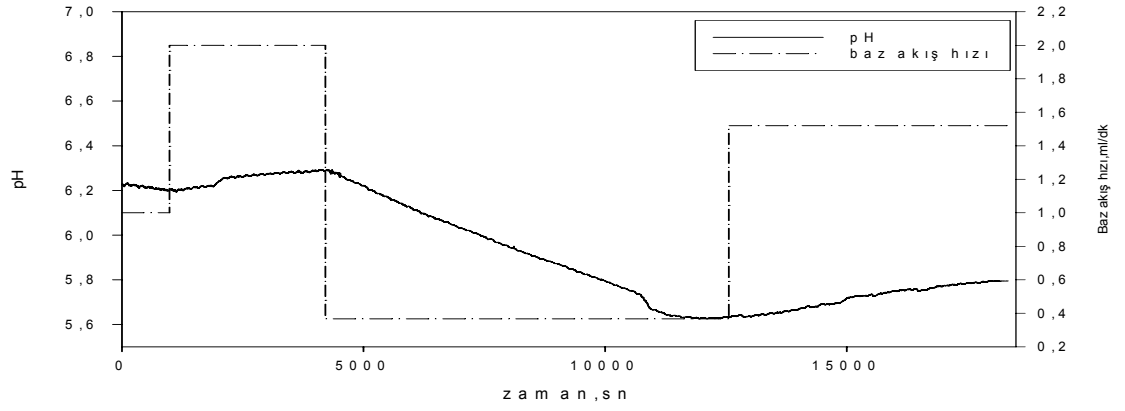


Şekil 6.20 Deneysel sistem tanımlamada kare dalga etkisi

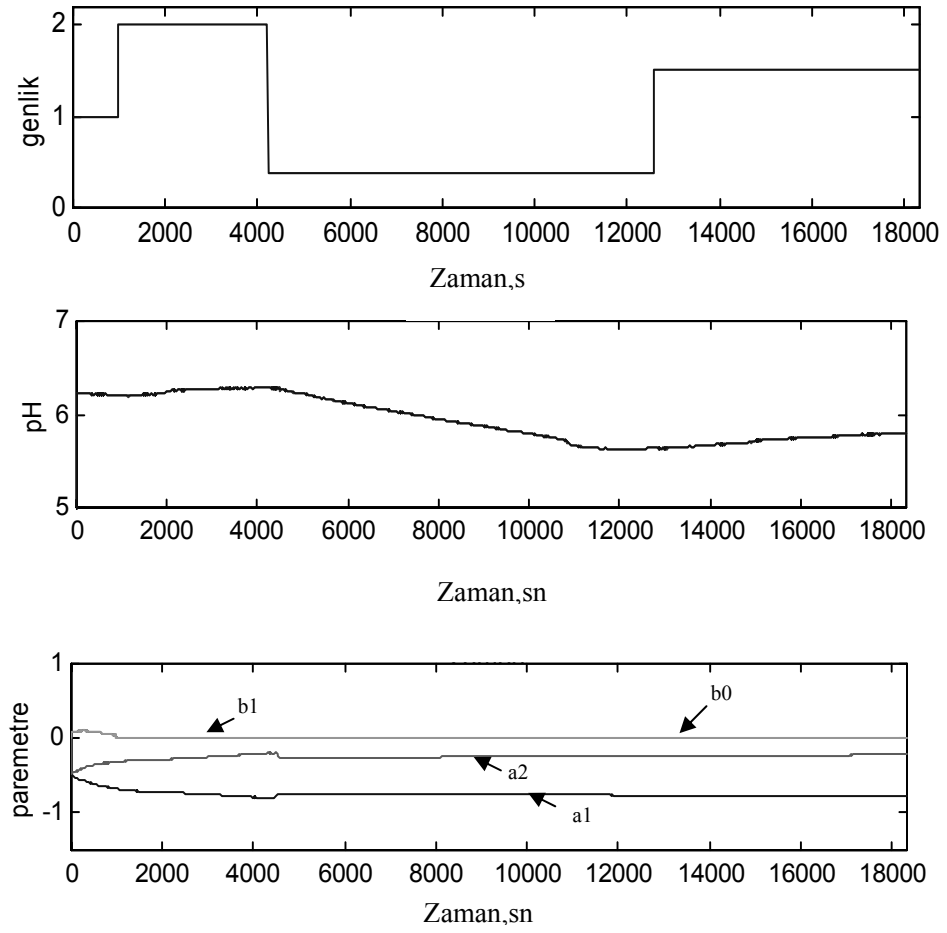
6.3.1.2 Rastgele etki

Çalışmanın ikinci bölümünde ise biyoreaktör, sıvı besi ortamını içerecek şekilde Çizelge 6.2’de verilen işletim şartlarında yatışkın hale getirilmiştir. Biyoreaktör ilgili yatışkın hal şartlarında işletimde iken zaman aralıkları ve genliği rastgele değişen baz akış hızı değişimine tabi tutulmuştur. Baz akış hızı 1 ml/dk değerinde iken sistem 1. yatışkın koşula getirilmiştir ve daha sonra 2 ml/dk değerinde pozitif etki verilmiştir. Verilen rastgele etkilere 0.36 ml/dk negatif etki ve 1.52 ml/dk pozitif etki verilmesi ile devam edilmiştir. Bu etkiler altında pH değerinin zamanla değişimi gözlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen grafik Şekil 6.21’de gösterilmiştir. Yine YEKK Yöntemi ile biyoreaktörün giriş ve çıkış değişkenleri yardımıyla ARMAX Modelin

parametrelerinin zamanla değişimi hesaplanmıştır. Yapılan bu çalışma ile ilgili sonuçlar Şekil 6.22’de gösterilmiştir.



Şekil 6.21 Baz akış hızına rastgele etki verilmesi durumunda sistemin cevabı



Şekil 6.22 DeneySEL sistem tanımlamada rastgele etki

6.3.2 Mikroorganizmalı ortamda etki deneyleri

Model parametreleri bulunması için yapılan çalışmalara, mikroorganizmalı ortamda biyoreaktör sıvı besi ortamı ile doluyken baz akış hızına verilen üç farklı etki ile devam edilmiştir. Bu çalışmada mikroorganizmanın yaratacağı pH düşmesi ile birlikte gerçek deney koşullarının daha iyi simule edileceği düşünülmüştür. Mikroorganizmasız besi ortamında verilen etkiler ile karşılaştırma yapılarak daha doğru parametrelerin seçilmesi için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneylerde anaerobik bakteri olan *Clostridium acetobutylicum* kullanılmıştır. Sistem tanımlama deneylerinde Şekil 6.10'da verilen Matlab dilinde yazılan Simulink benzetim programı kullanılarak baz akış hızına etkiler verilmiştir. Verilerin kaydedilmesi için örnekleme zaman aralığı olarak 1 dakika seçilmiştir. Biyoreaktörde 2 L'lik çalışma hacminde mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen deney koşulları Çizelge 6.3'de verilmiştir.

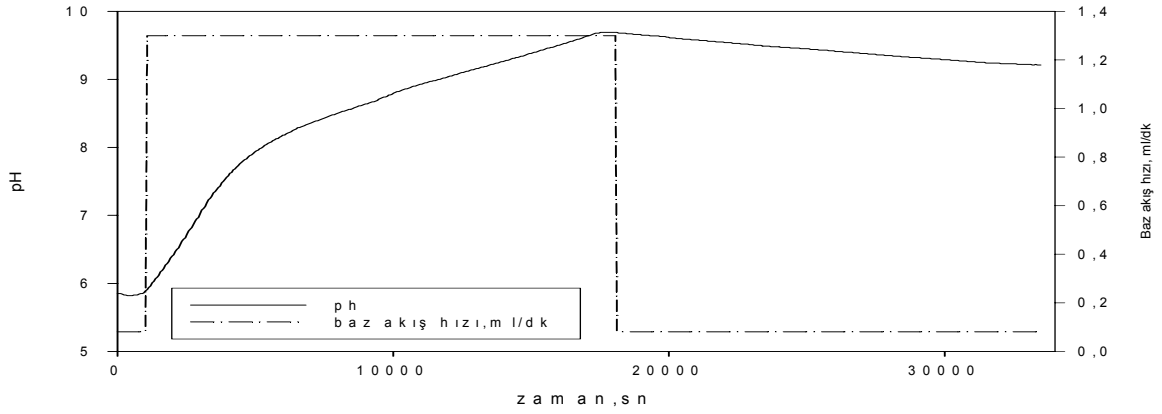
Çizelge 6.3 Mikroorganizmalı ortamda model parametrelerinin hesaplandığı deney koşulları

Asit Akış Hızı, mL/dk	Sıcaklık, °C	Baz derişimi	Asit derişimi	Reaktör hacmi,ml	Karıştırma hızı, devir/dk
0.32	37	0.3 M	0.1 M	2000	600

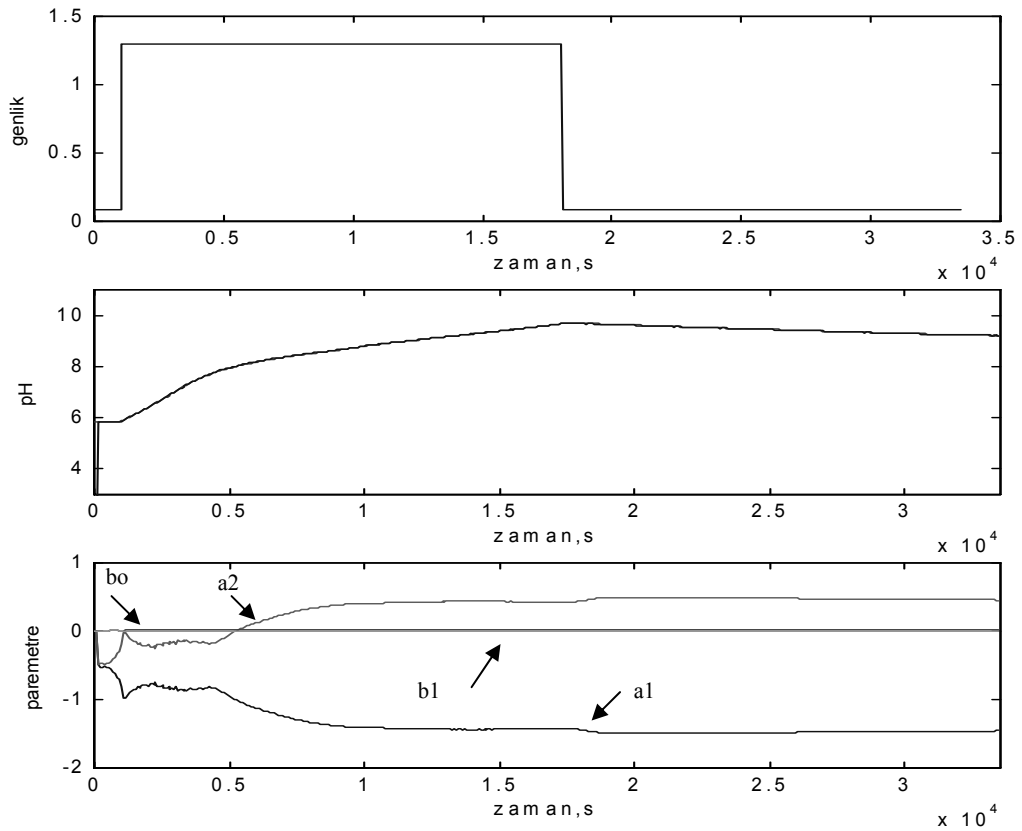
6.3.2.1 Kare dalga etkisi

Biyoreaktör Çizelge 6.3'de verilen işletim şartlarında ve sabit 0.32 mL/dk asit akış hızında sistem yatışkın hale getirilmiş daha sonra *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizması ölçek büyütmenin son basamağı olan biyoreaktöre aktarılmıştır. Mikroorganizmanın biyoreaktöre adapte olması ve sistemin tekrar yatışkın hale gelmesi için bir süre beklendikten sonra ayar değişkenine kare dalga etki verilmiştir. Biyoreaktör 0.097 ml/dk baz kış hızında yatışkın hale getirildikten sonra, baz akış hızına pozitif basamak etki verilmiş ve hızı 1.3 ml/dk'ya çıkarılmıştır. Sistem 2. yatışkın koşula

geldikten sonra negatif basamak etki verilerek ilk baz akış hızına ulaştırılmıştır. Bu etkiler verilirken pH değişimi on-line olarak kaydedilmiştir (Şekil 6.23). Elde edilen veriler kullanılarak YEKK Yöntemi ile ARMAX Modelin parametrelerinin zamanla değişimi hesaplanmıştır. Yapılan bu çalışma ile ilgili sonuçlar Şekil 6.24'te gösterilmiştir.



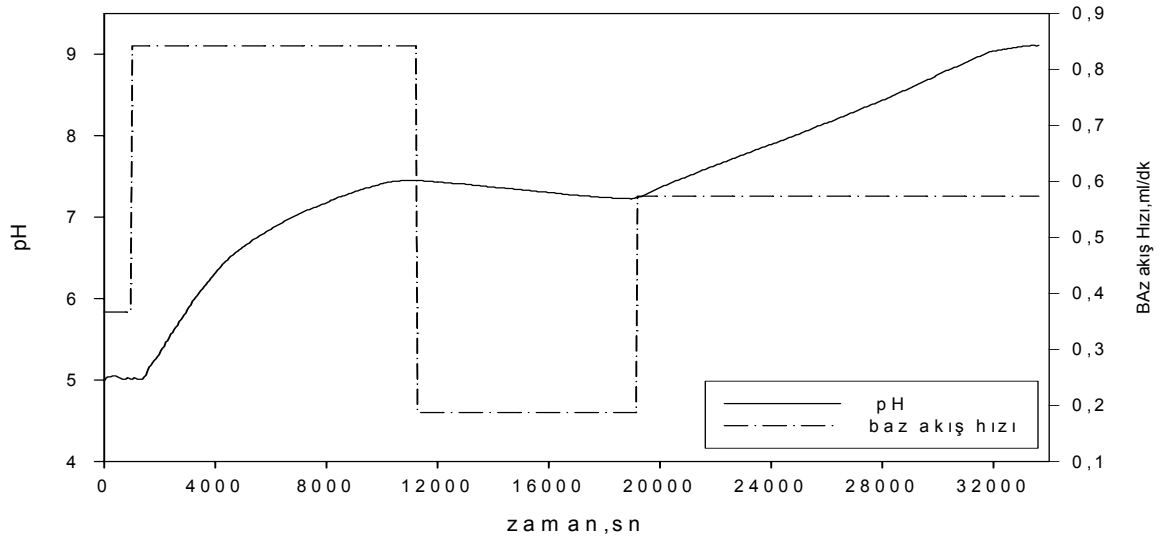
Şekil 6.23 Mikroorganizmalı ortamda baz akış hızına kare dalga etki verilmesi durumunda sistemin cevabı



Şekil 6.24 Mikroorganizmalı deneysel sistem tanımlamada kare dalga etki

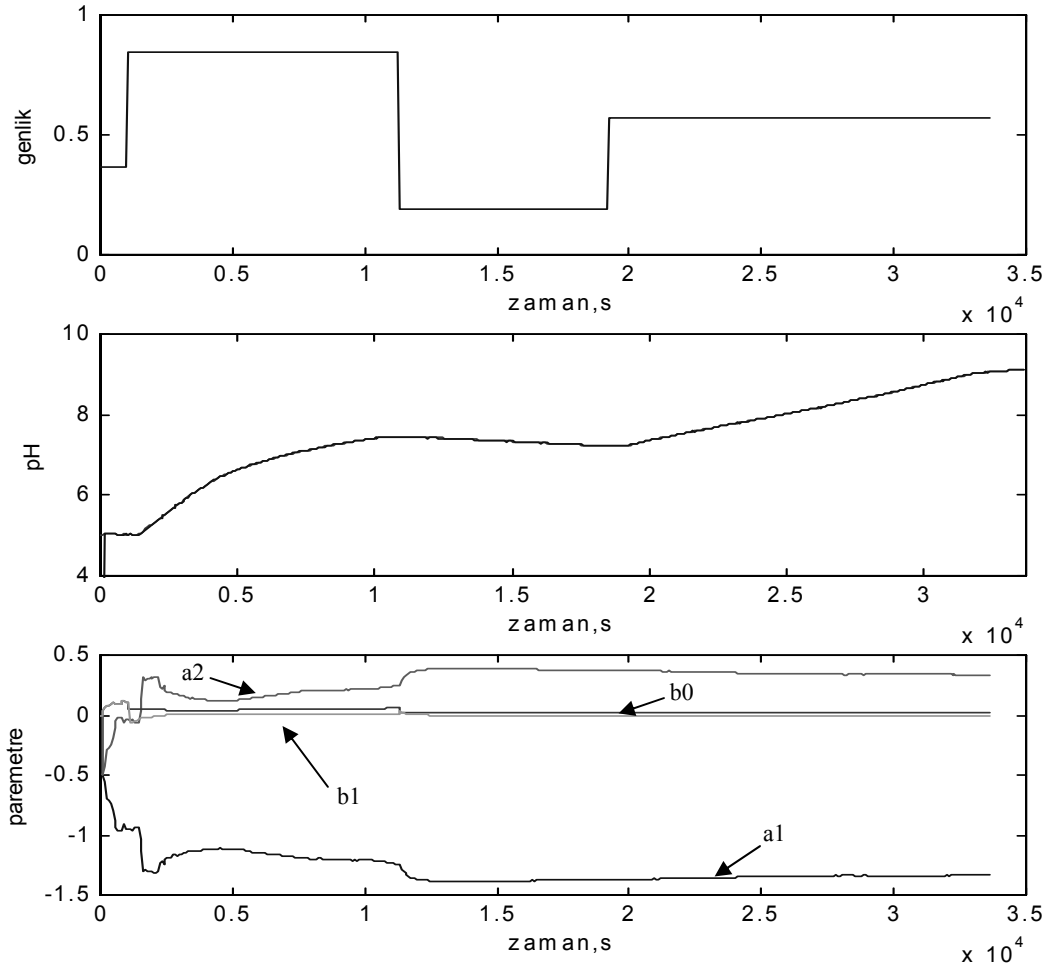
6.3.2.2 Rastgele etki

İkinci olarak zaman aralıkları ve genliği rastgele değişen aralıklarla baz akış hızına etkiler verilmiştir. Bu denemede de kare dalga etkide olduğu gibi Çizelge 6.3'te verilen koşullarda deney gerçekleştirilmiştir. Baz akış hızı 0.367 ml/dk değerinde yatışkın hale getirilen sisteme sırayla farklı zaman aralıklarında 0.85, 0.1875 ve 0.5737 ml/dk değerinde etkiler verilmiştir. Bu etkiler altında sistemin pH'ındaki değişim Şekil 6.25'de verilmiştir.



Şekil 6.25 Mikroorganizmalı ortamda baz akış hızına rastgele etki verilmesi durumunda sistemin cevabı

Deney sonucunda elde edilen giriş değişkeni (u) ve çıkış değişkeni (y) verileri kullanılarak YEKK Yöntemi ile model parametrelerinin zamanla değişimi hesaplanmıştır (Şekil 6.26).

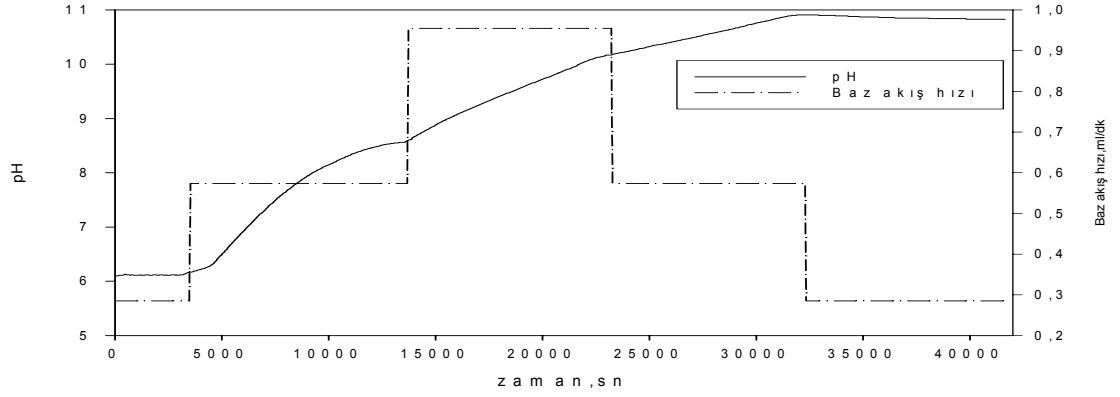


Şekil 6.26 Mikroorganizmalı deneysel sistem tanımlamada rastgele etki

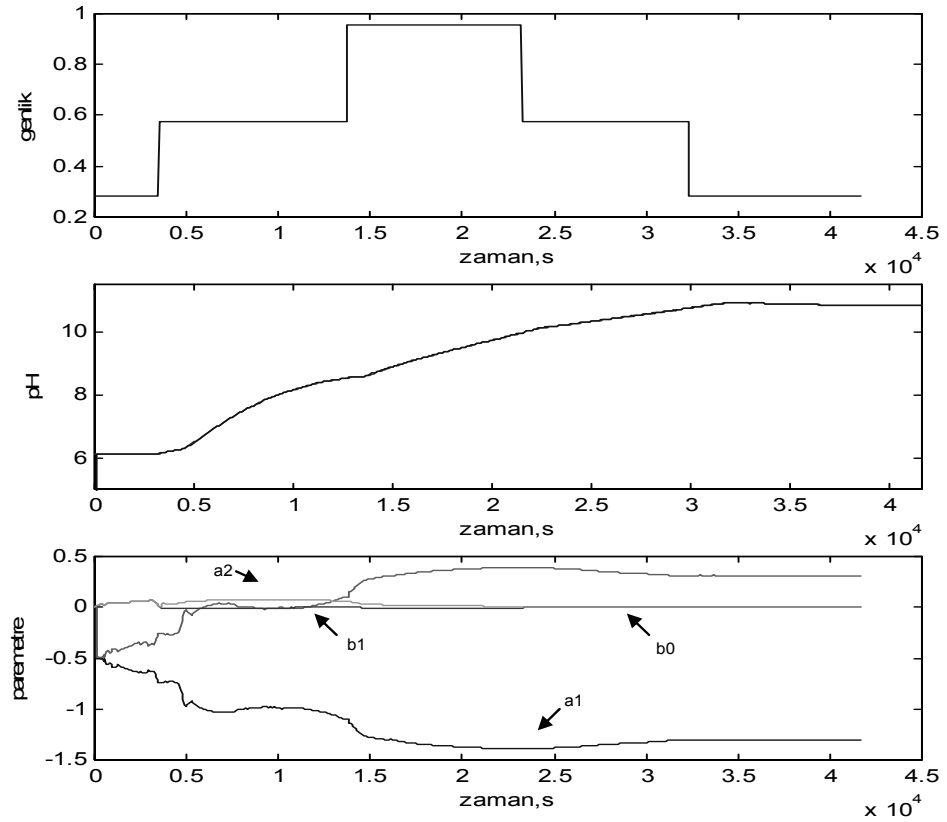
6.3.2.3 Ternary etki

Çalışmanın son bölümünde mikroorganizmalı ortama zaman aralıkları eşit olan ancak genlikleri üç farklı adımda değişen, ternary etki verilmiştir. Diğer etkilerde olduğu gibi bu çalışmada Çizelge 6.3'te verilen koşullarda gerçekleştirilmiştir. Deneyde üç farklı etki olarak 0.285, 0.57 ve 0.95 ml/dk baz akış hızları uygulanmıştır. Sistem ilk yatışkın koşula 0.285 ml/dk'da getirildikten sonra ikinci ve üçüncü etkiden sonra tekrar baz akış hızı düşürülmüştür. Ancak 0.95 baz akış hızında ilerleyen proses 0.57 ml/dk baz akış hızına düşürüldüğünde pH değeri düşmemiş ve yükselmeye devam etmiştir. Bunun nedeni asidin ortama verdiği H^+ iyonlarını nötrleştirebilecek derişimde olan OH^- iyonu derişiminin fazla olmasından kaynaklanmaktadır. pH değerinin düşmesi ancak baz akış

hızının 0.285 ml/dk değerine altına düşmesi ile gerçekleşeceğinden dolayı pH değeri yükselmeye devam etmiştir. Deney sonuçları ve hesaplanan parametreler Şekil 6.27-6.28’de verilmiştir.



Şekil 6.27 Mikroorganizmalı ortamda baz akış hızına ternary etki verilmesi durumunda sistemin cevabı



Şekil 6.28 Mikroorganizmalı deneysel sistem tanımlamada ternary etki

Bu çalışmalarda mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız deneylerde elde edilen ARMAX Model parametrelerinin son değerleri Çizelge 6.4’de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 6.4 Sistemin girdi değişkenine verilen etkiler sonucunda hesaplanan ARMAX Model parametreleri

MİKROORGANİZMALI ETKİ DENEYLERİ (lamda=1,P=1000)					MİKROORGANİZMASIZ ETKİ DENEYLERİ (lamda=1,P=1000)			
ETKİ	a1	a2	b0	b1	a1	a2	b0	b1
KARE DALGA	-1.4541	0.45433	0.01582	-0.0088	-1.08039	0.08041	0.00003	0.000022
RANDOM	-1.3342	0.33484	0.02312	-0.0065	-0.7799	-0.2200	0.00014	0.000046
TERNARY	-1.3088	0.30924	0.00517	0.00817				

Elde edilen sonuçlardan görüldüğü gibi mikroorganizmalı ortamda yapılan deneylerden bulunan parametrelerden üç farklı etkide de birbirine benzer sonuçlar hesaplanmıştır. Bu da mikroorganizmalı ortamda yapılan deneylerin sistemin model tanımlanmasında daha doğru sonuç verdiğini göstermiştir. Bu yüzden mikroorganizmalı ortamda kare, rastgele ve ternary etkiler ile elde edilen giriş ve çıkış değerleri kullanılarak hesaplanan parametrelere model geçerlilik testleri uygulanarak doğrulukları tespit edilmiştir. Ayrıca farklı unutma çarpanı, kovaryans matris ve model mertebeleri denenerek sistemi en iyi tanımlayan parametreler belirlenmiştir.

6.3.3 MATLAB programlama dilinde yazılan YEKK programı ile hesaplanan parametrelerin sınanması

Yazılan yinelemeli parametre kestirim yöntemi programı ile hesaplanan parametrelerin yeterli performans ile çalışıp çalışmadığını kontrol amacıyla gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları bu bölümde verilmiştir. Çalışmalar ilk olarak bölüm 6.3.2 de verilen mikroorganizmalı ortamda gerçekleşen üç etkidenden sistemi tanımlayan en doğru etkiyi ve parametreyi bularak başlanmıştır. Bu amaçla üç farklı etkinin her birinde model mertebesi, kovaryans matris ve başlangıç parametre etkisi denenerek model sınaması testleri uygulanmış en doğru üç farklı model parametreleri bulunmuştur.

Gerçek parametrelerin yer aldığı modelden elde edilen çıktı arasındaki farkın incelendiği korelasyon testleri (Ek 4) sonuçlarına göre parametre hesabının doğru yapıldığı yapılmadığını göstermektedir.

Çalışmada korelasyon testleri için gerekli bant aralığı 0.082 seçilmiştir. Bu değer Eşitlik 6.2’de verilen denklem ile hesaplanmıştır. Bu denklemdeki N değeri kaydedilen veri sayısını göstermektedir.

$$\text{Bant Aralığı} = \pm \frac{1.96}{\sqrt{N}} \quad (6.2)$$

En iyi model parametrelerinin hesaplandığı sistemde, ölçülen sistem çıkış değişkeni ile modelden hesaplanan çıkış değişkeni arasındaki farkın karelerinin toplamı azalacaktır. Hesap hata terimi Eşitlik 6.3 verilen denklem ile hesaplanmaktadır.

$$\varepsilon(t) = \hat{A}(q^{-1})y(t) - \hat{B}(q^{-1})u(t) \quad (6.3)$$

Hesap hatalarının kareleri toplamı ise maliyet fonksiyonu olarak aşağıdaki gibi verilir.

$$V_n = \sum_{t=1}^N |\varepsilon(t)|^2 \quad (6.4)$$

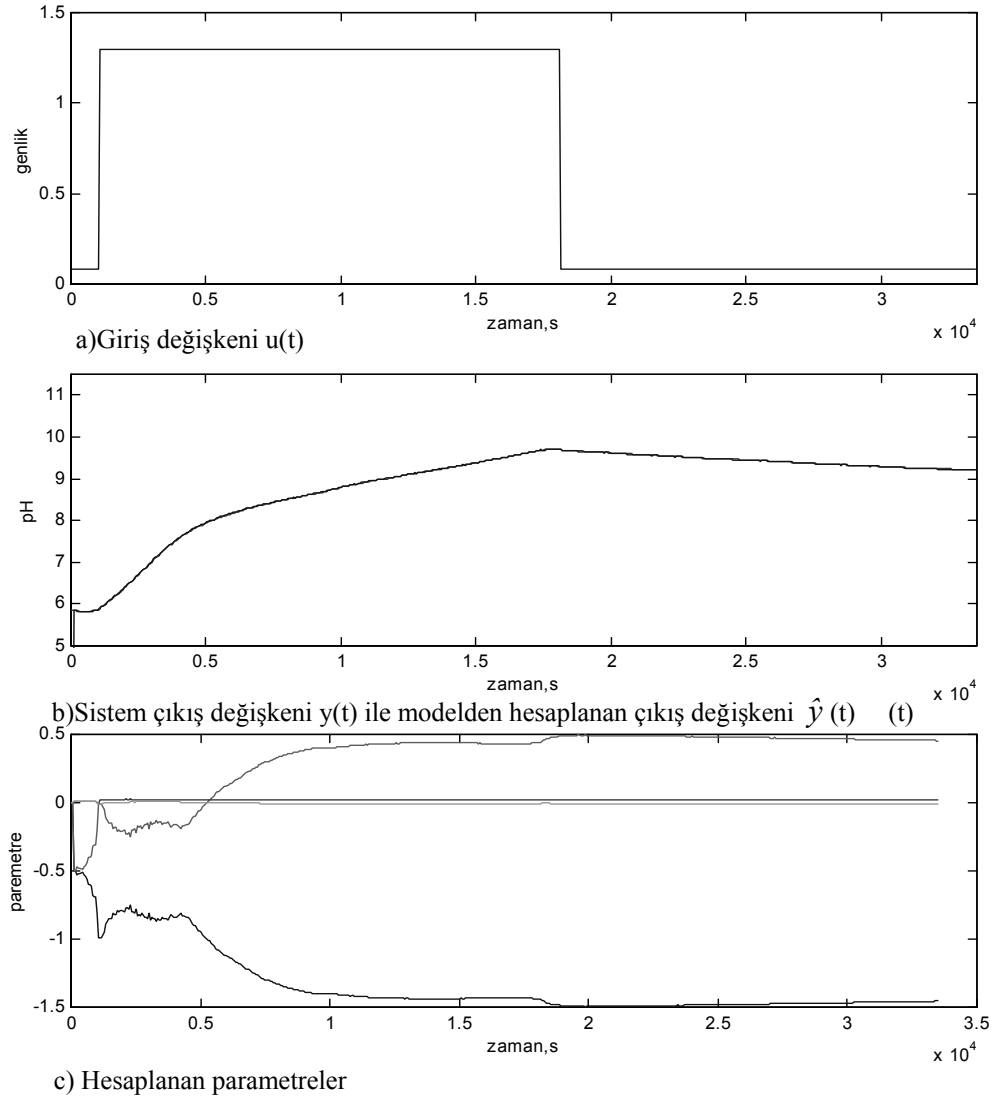
Üç farklı etkinin her birinde model mertebesi, kovaryans matris ve başlangıç parametre etkisi denemeleri maliyet fonksiyonuna karşı grafiğe geçirilerek eğrinin eğimin azaldığı noktada en uygun değerler belirlenir.

6.3.3.1 Girdi sinyali olan kare dalga etkisi için uygun parametrelerin bulunması

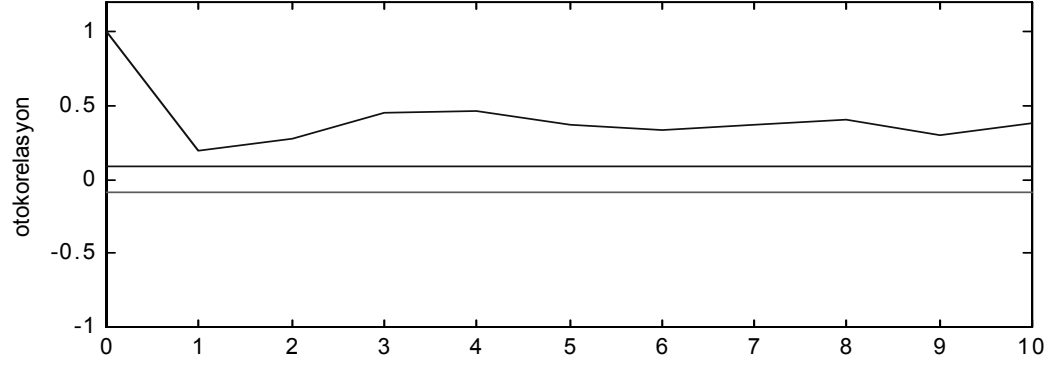
a) Unutma çarpanı etkisi

Farklı unutma çarpanı etkisi incelemelerinde, kovaryans matris (P)=1000 ve model mertebesi=2 seçilerek denemeler gerçekleştirilmiştir. Yapılan denemeler Şekil 3.29-3.33'de gösterilmiştir.

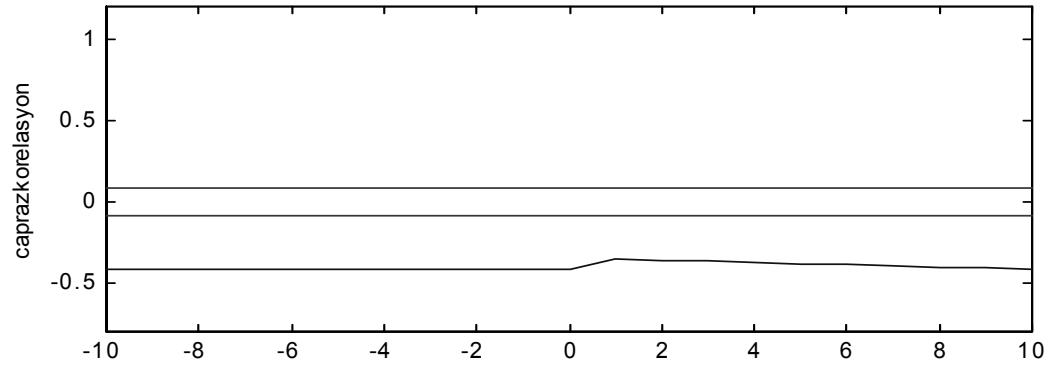
1) $\lambda=1$ için;



Şekil 6.29 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 1 değerinde etkisi



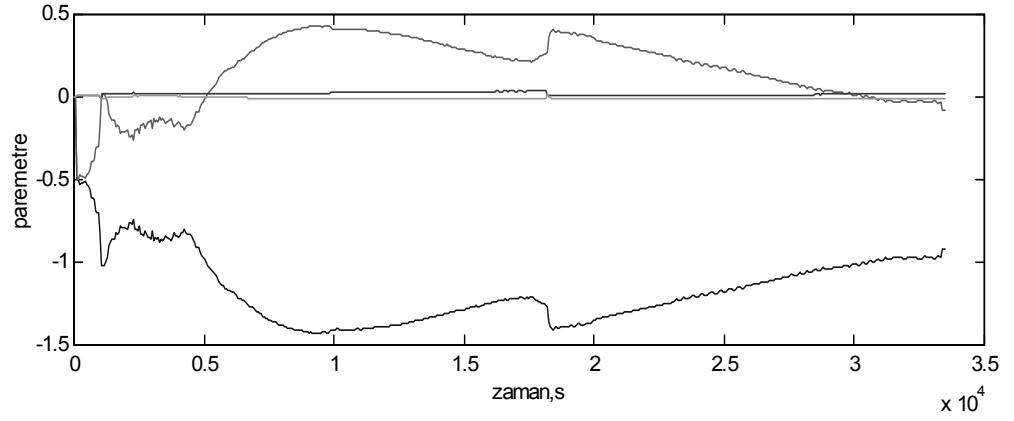
a) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)



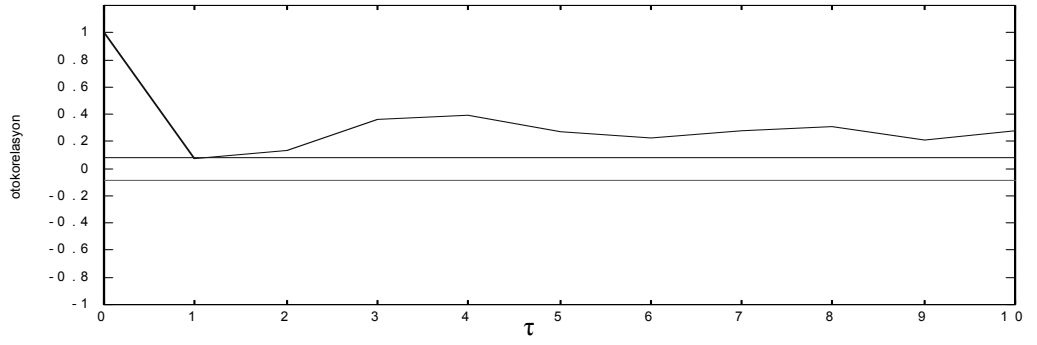
b) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

Şekil 6.30 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 1 değerinde model
sınama testleri ile sınanması

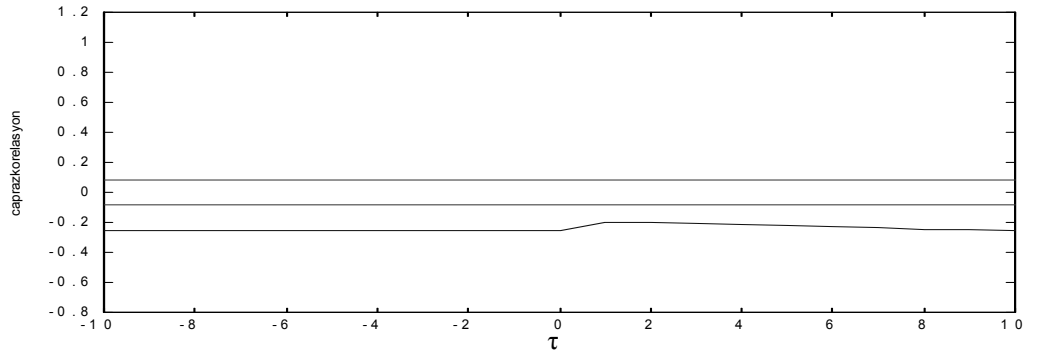
2) $\lambda=0.99$ için;



a) Hesaplanan parametreler



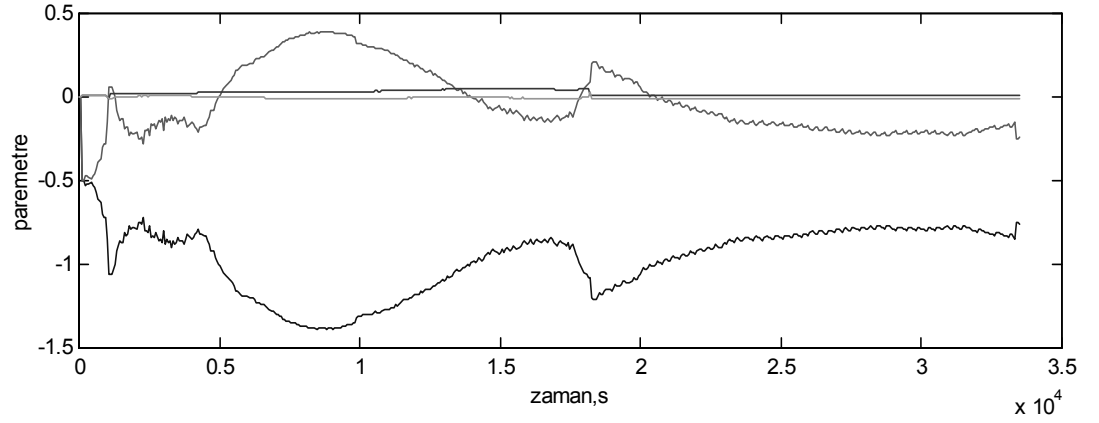
b) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)



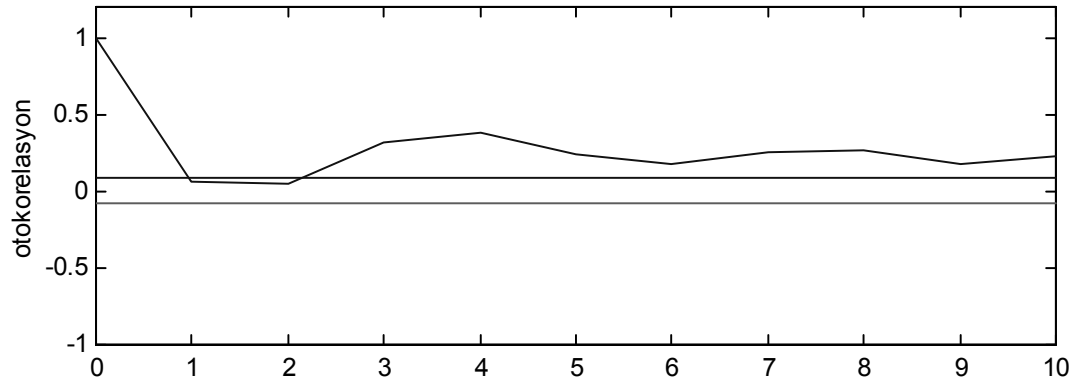
c) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

Şekil 6.31 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 0.99 değerinde parametre hesabına etkisi

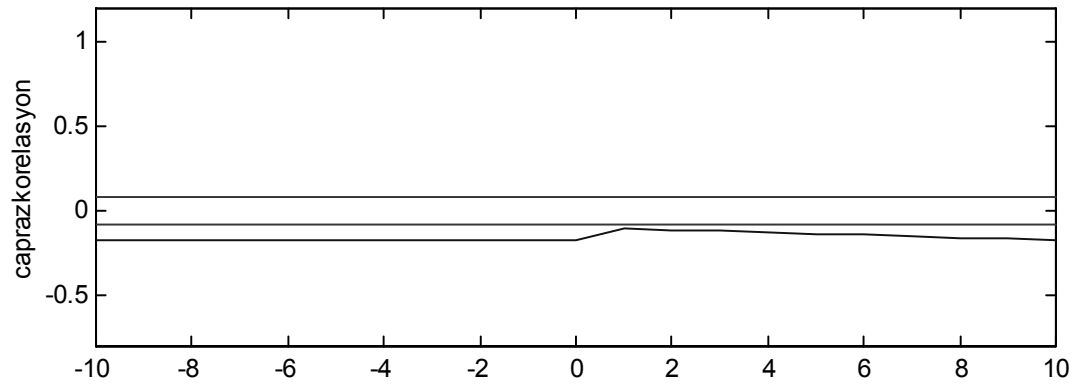
3) $\lambda=0.98$ için;



a) Hesaplanan parametreler



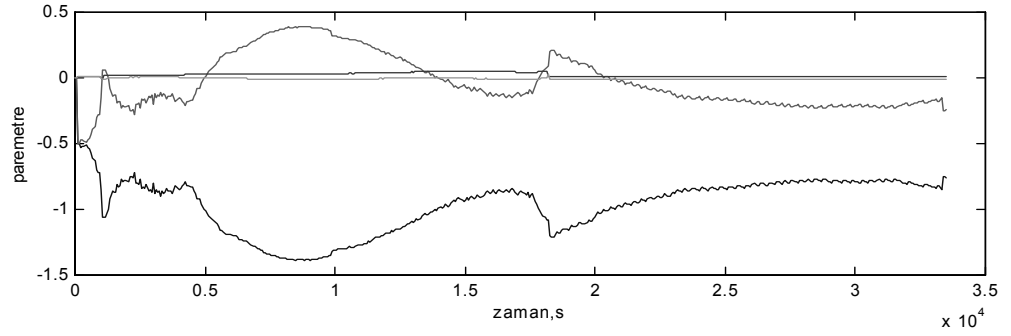
b) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)



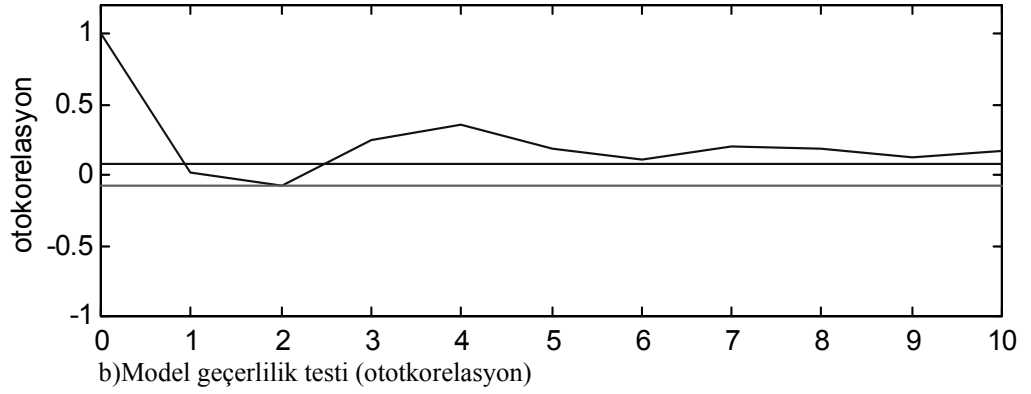
c) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

Şekil 6.32 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 0.98 değerinde parametre hesabına etkisi

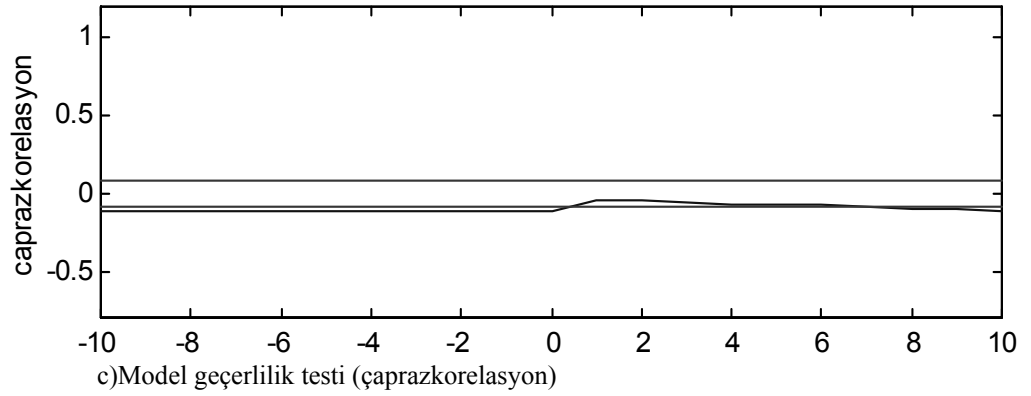
3) $\lambda=0.96$ için;



a) Hesaplanan parametreler



b) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)

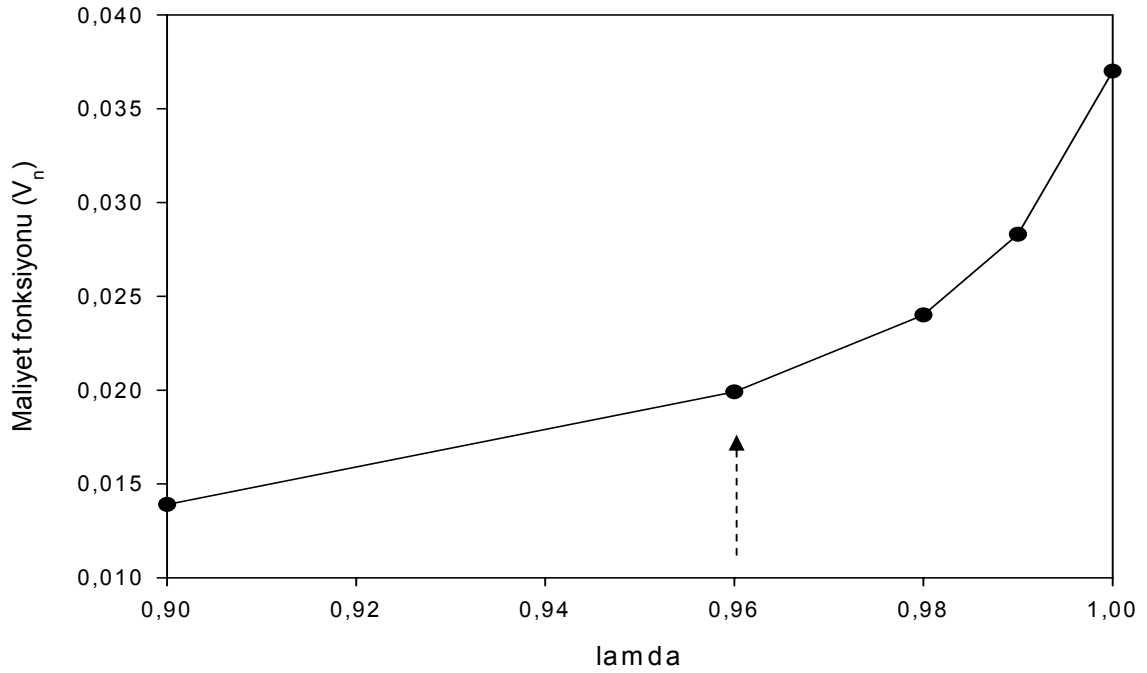


c) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

Şekil 6.33 Kare dalga etki uygulandığında unutma çarpanının 0.96 değerinde parametre hesabına etkisi

Yapılan çalışmalar doğrultusunda biyoreaktörü tanımlayan model Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi ile bulunmuştur. Maliyet fonksiyonları ve model sınama testleri bant aralığı değerleri içerisine girebilen değerler bakımından karşılaştırıldığında en uygun

unutma çarpanı değeri 0.96 bulunmuştur. Eşitlik 6.4 denklemi kullanılarak hesaplanan maliyet fonksiyonu değerleri, farklı lamda değerlerine karşı grafiğe geçirilmiş ve en düşük maliyet fonksiyonu değerine sahip olan lamda değeri 0.96 seçilmiştir (Şekil 6.34). Lamda 0.90 değerinin maliyet fonksiyonu düşük olmasına rağmen hesaplanan parametrelerin çok fazla salınım göstermesinden dolayı uygun görülmemiştir.

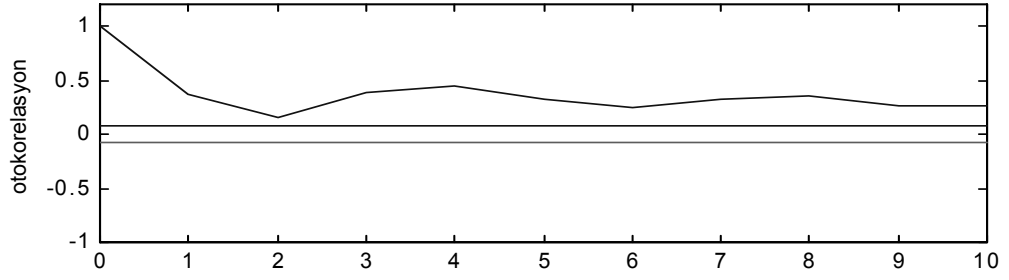


Şekil 6.34 En iyi unutma çarpanının seçimi

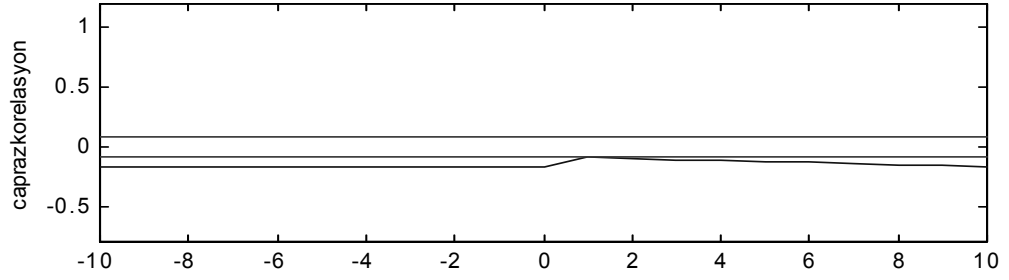
b) Kovaryans matris etkisi

Kovaryans matris etkisi denemelerinde YEKK programda denemeler sonucu en uygun değer olarak bulunan unutma çarpanı (λ)=0.96 değeri kullanılmış ve model mertebesi değeri iki seçilmiştir. Yapılan denemeler aşağıdaki Şekil 6.35–6.36’da gösterilmiştir.

1) $P=1$ için;

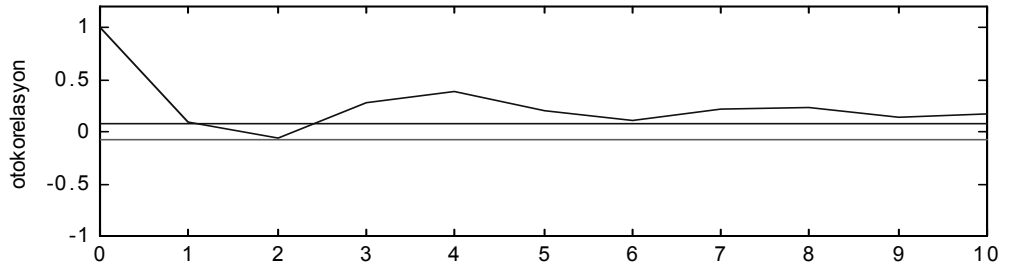


a) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)

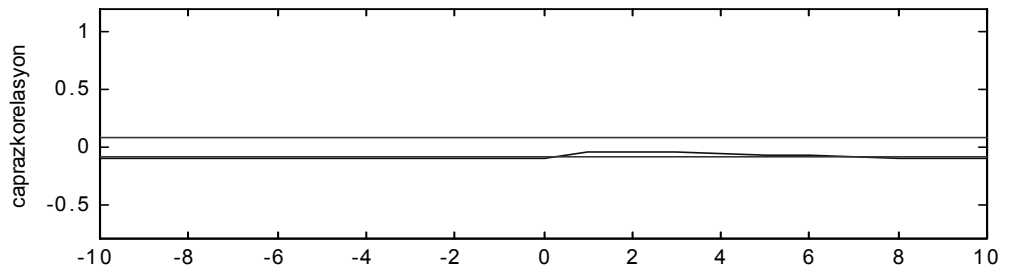


b) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

2) $P=100$;



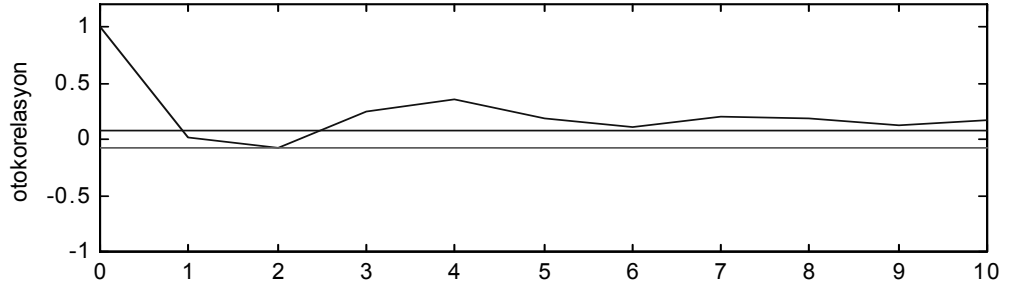
a) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)



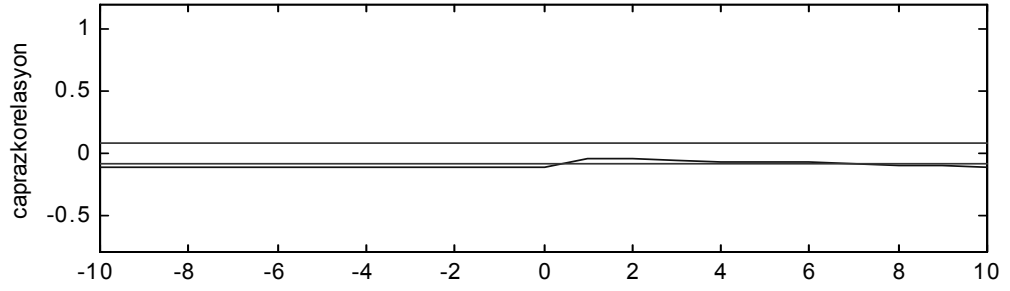
b) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

Şekil 6.35 Kare dalga etki uygulandığında kovaryans matrisin model sına testlerine uygulanması

3) $P=1000$;

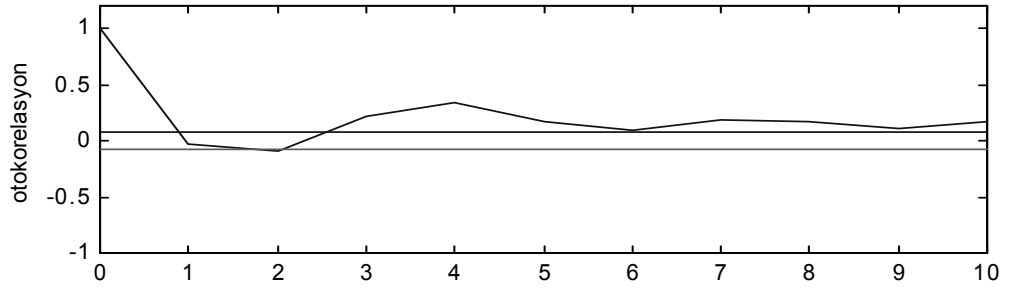


a) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)

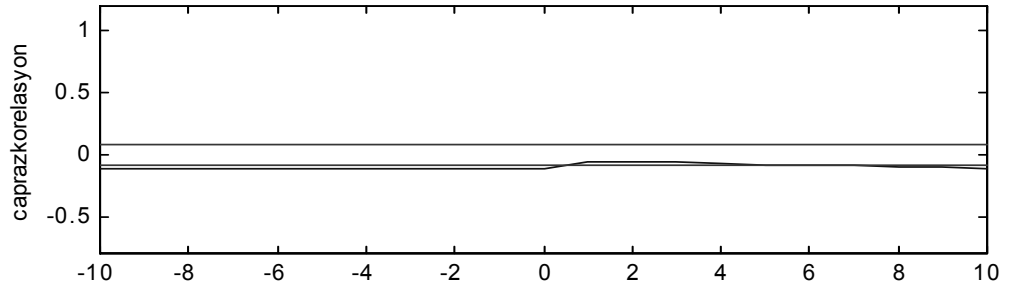


b) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

4) $P=10000$;



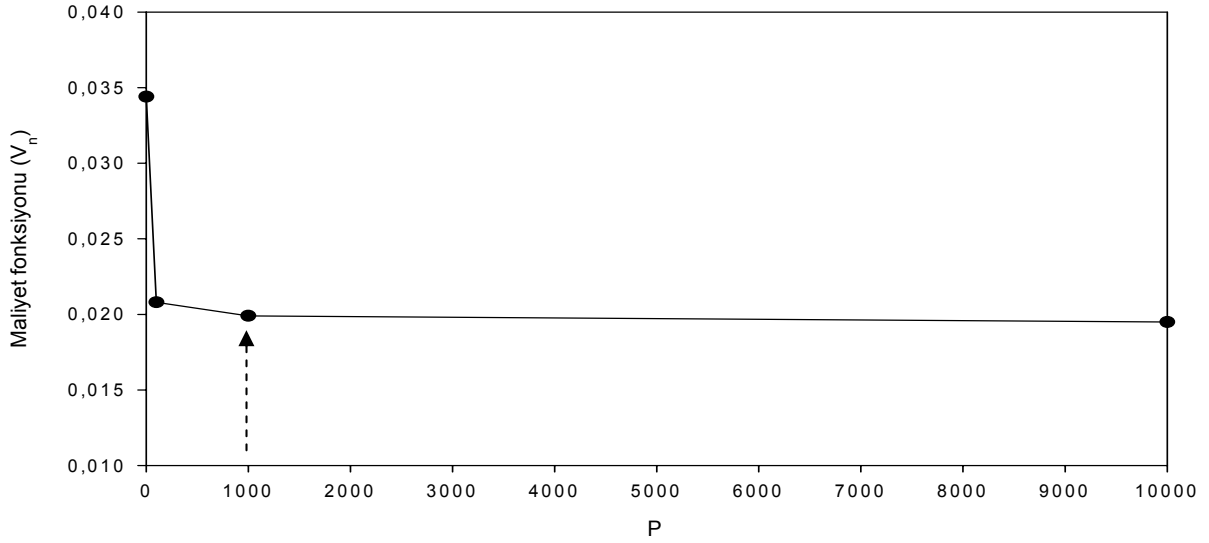
a) Model geçerlilik testi (otokorelasyon)



b) Model geçerlilik testi (çaprazkorelasyon)

Şekil 6.36 Kare dalga etki uygulandığında kovaryans matrisin model sına testlerine uygulanması

Yapılan denemelerden elde edilen maliyet fonksiyonuna karşı kovaryans matris değişimi Şekil 6.37’de verilmiştir. Elde edilen verilerde anlaşılabacağı gibi kovaryans matrisin değişimi parametreler ve hata değerlerinde büyük değişimler yaratmamıştır. Bu doğrultuda kovaryans matris değeri daha önceki denemelerde kullanılan 1000 değeri seçilmiştir.

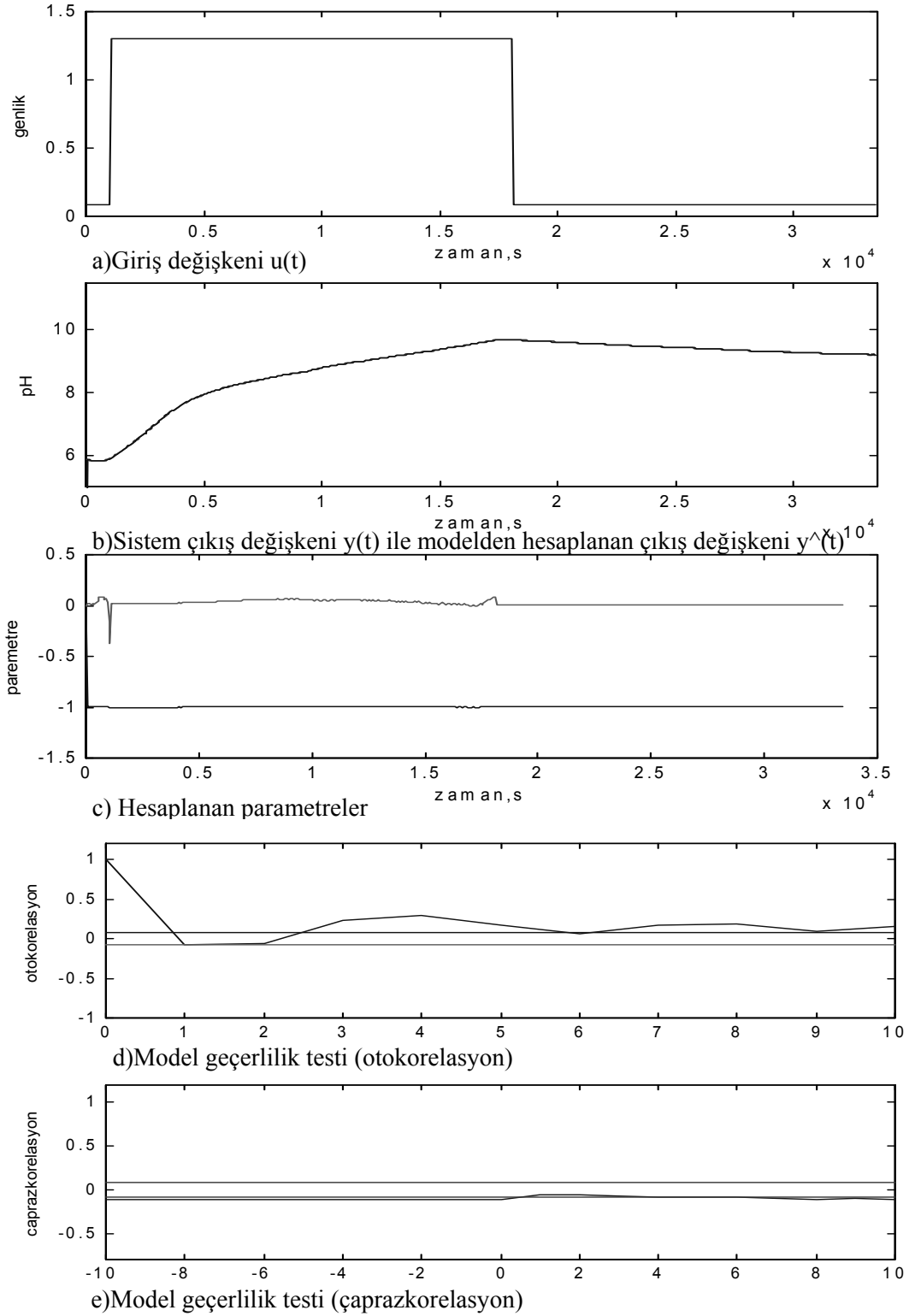


Şekil 6.37 En iyi kovaryans matris seçimi

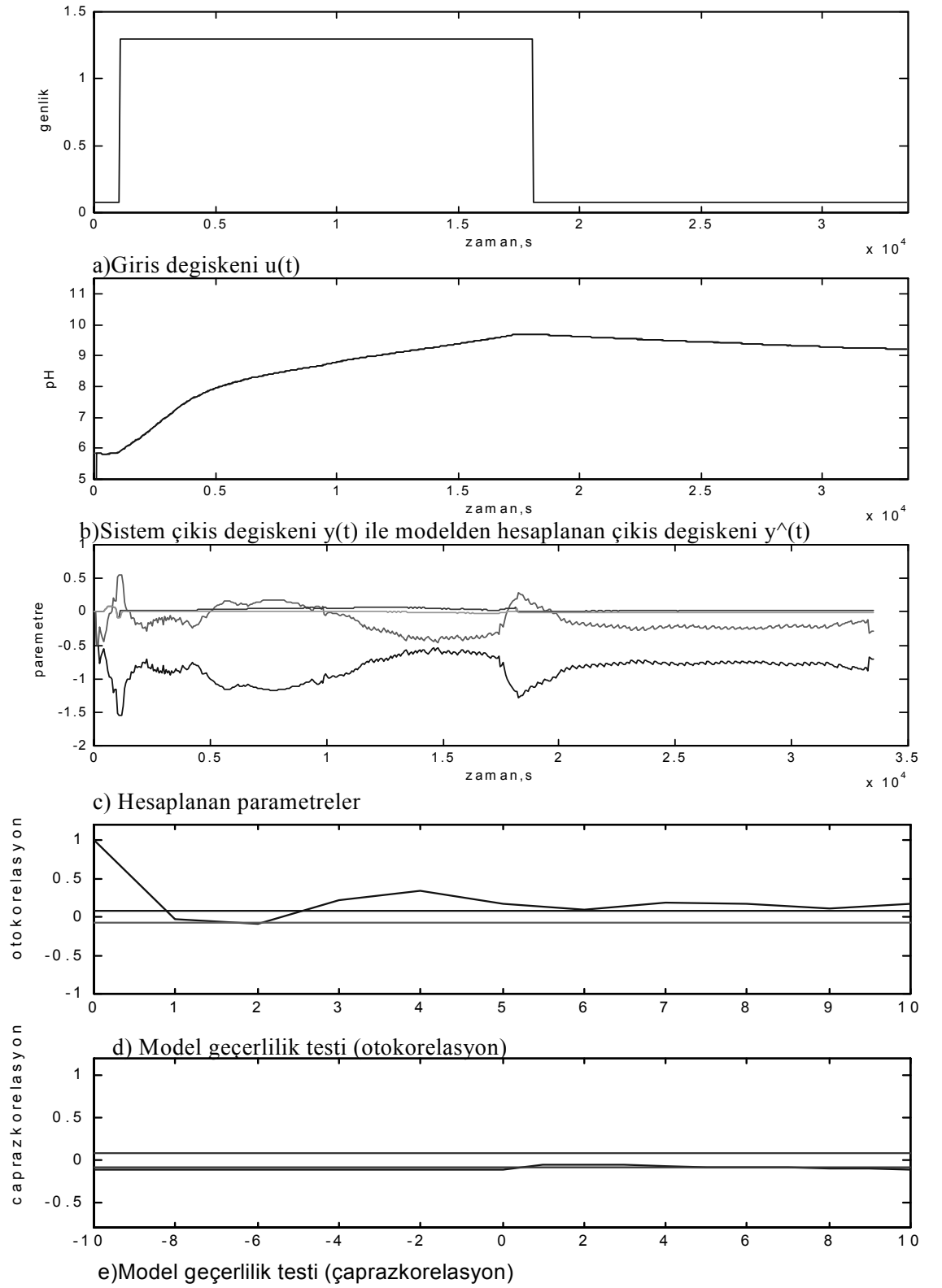
c) Model mertebesi etkisi

Sistem tanımlama için kullanılan verilere farklı mertebelerde modellerin uyumu da mümkündür. Yanlış model mertebesi seçimi büyük hatalara neden olabilir. Bu yüzden model geçerlilik testleri ile en iyi model mertebesinin bulunması gerekmektedir. Yapılan hesaplamalarda model mertebesine karşı maliyet fonksiyonu grafiğe geçirilmiş ve eğrinin azaldığı noktada en uygun model mertebesi elde edilmiştir.

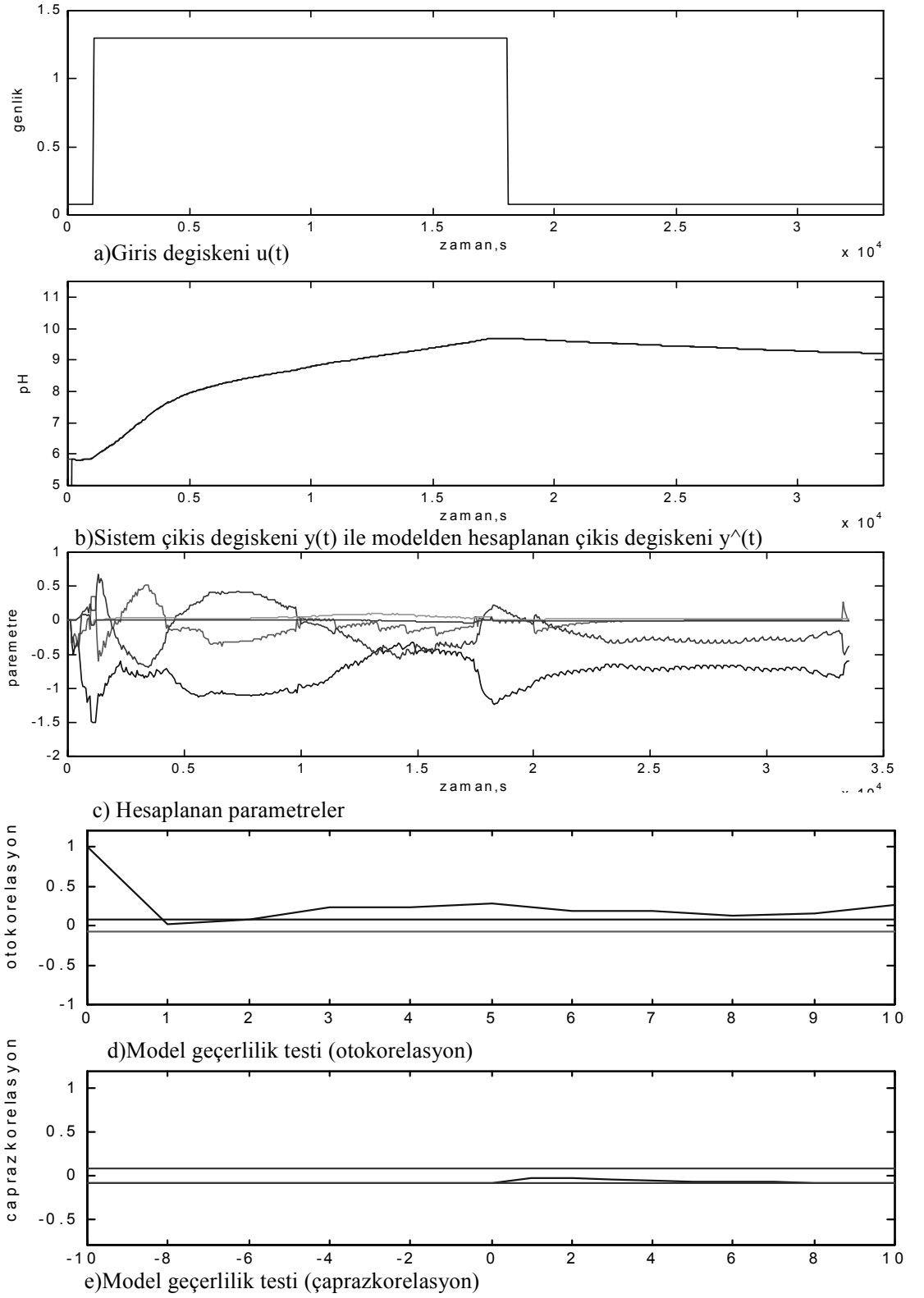
Biyoreaktörün tanımlanması için seçilen birinci, ikinci, üçüncü mertebe sistemler ve parametrelerin hesabı sonucu elde edilen modeller aşağıda verilmiştir. Yapılan denemeler seçilen $P=1000$ ve $\lambda=0.96$ değerlerinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 6.38 Kare dalga etkisi altında, birinci mertbe dinamik için model parametrelerinin hesaplanması

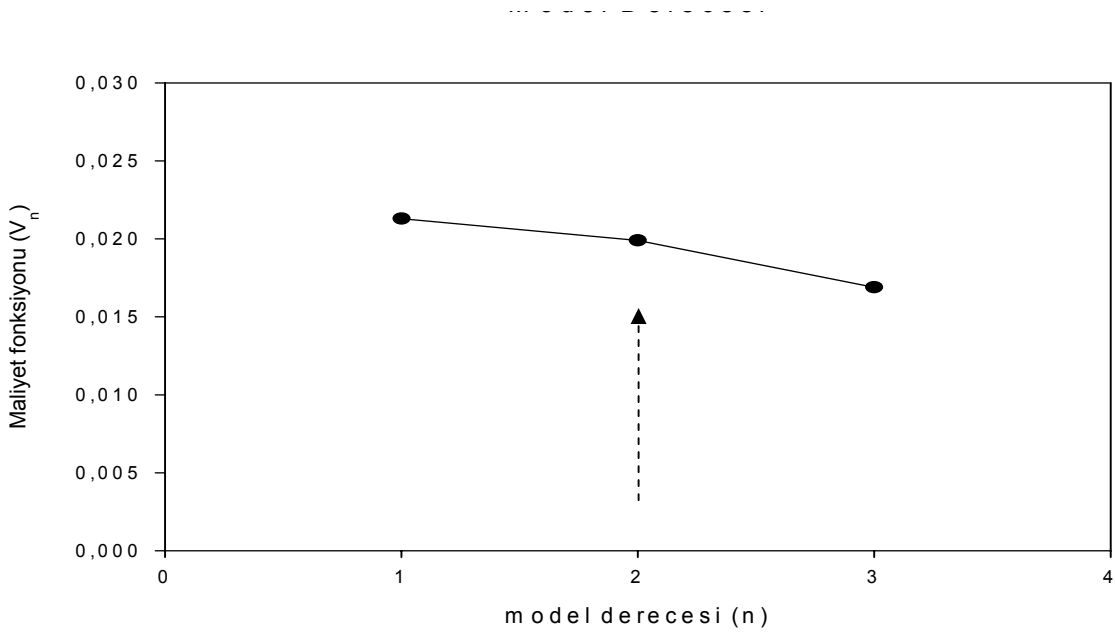


Şekil 6.39 Kare dalga etkisi altında, ikinci mertbe dinamik için model parametrelerinin hesaplanması



Şekil 6.40 Kare dalga etkisi altında, üçüncü mertbe dinamik için model parametrelerinin hesaplanması

Yapılan denemelerden elde edilen maliyet fonksiyonuna karşı kovaryans matris değişimi Şekil 6.41’de verilmiştir. Model derecesi arttıkça, ölçülen sistem çıkış değişkeni ile modelden hesaplanan çıkış değişkeni arasındaki farkın kareleri yani maliyet fonksiyonu azalmıştır. Ancak üçüncü mertebe sistemde maliyet fonksiyonu en küçük değere sahip olmasına rağmen, hesaplanan parametreler diğer mertebelere göre çok fazla salınım göstermiştir. Bu doğrultuda en uygun modelin ikinci mertebe olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 6.41 En iyi model derecesi seçimi

Yapılan denemeler sonucunda en uygun katsayılar kovaryans matris (P)=1000, unutma çarpanı (λ)=0.96 ve model mertebesi (n)=2 seçilmiştir. Bu doğrultuda YEKK programı ile hesaplanan model parametreleri aşağıda verilmiştir.

$$a1=-0.7157$$

$$a2= -0.2841$$

$$b0=0.0172$$

$$b1=-0.0068$$

Kare dalga için yapılan en uygun parametre bulmak yapılan model sınaama testleri rastgele ve ternary etki için tekrarlanmıştır. Yapılan çalışmalar için seçilen en uygun katsayılar ve hesaplanan model parametreleri toplu olarak Çizelge 6.5 verilmiştir.

Çizelge 6.5 Sistemin girdi değişkenine verilen etkiler sonucunda en uygun katsayılarla hesaplanan ARMAX model parametreleri

MİKROORGANİZMALI ETKİ DENEYLERİ (en uygun parametreler ile)					
ETKİ	Seçilen katsayılar	a1	a2	b0	b1
KARE DALGA	$\lambda=0.96$ N=2 P=1000	-0.7157	-0.2841	0.0172	-0.0068
RANDOM	$\lambda=0.98$ N=2 P=1000	-1.1837	0.1860	0.0440	-0.0011
TERNARY	$\lambda=0.96$ N=2 P=1000	-0.9720	-0.0276	0.0131	0.0008

Üç farklı etki için bulunan parametrelerden prosesi en iyi tanımlayan modelin belirlenmesi için yapılan çalışmalar Bölüm 6.4.2’de anlatılacaktır.

6.4 PID Kontrol Çalışmaları

6.4.1 PID parametrelerinin hesaplanması

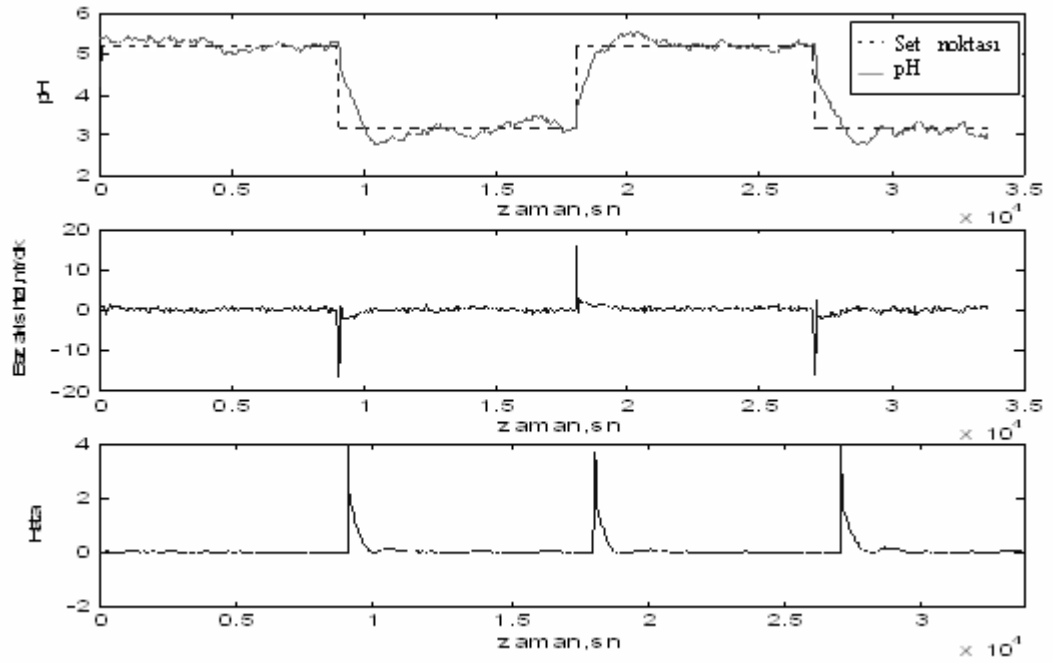
Biyoreaktörün PID kontrolünde, kontrol parametrelerinin bulunması büyük önem taşımaktadır. Parametreleri bulmak için kullanılan yöntemlerden en önemlileri Ziegler Nichols ve Cohen-Coon parametre ayar yöntemleridir. Tez kapsamında PID kontrol programında yer alması gereken parametreler Cohen Coon metodu ile hesaplanmıştır (Rao and Qiu 1993).

PID parametrelerinin hesaplanması için Çizelge 6.1’de sisteme verilen pozitif etkiler sonucu elde edilen transfer fonksiyonu parametreleri olan K , τ , θ değerleri kullanılmıştır. Hesaplamalarda üç farklı metod ile hesaplanmış parametrelerden mikroorganizmalı ortamda yapılan 2. proses eğrisinin değerleri kullanılmıştır (Çizelge 6.1). Yapılan hesaplamalar sonucunda elde edilen parametreler Çizelge 6.6’da verilmiştir.

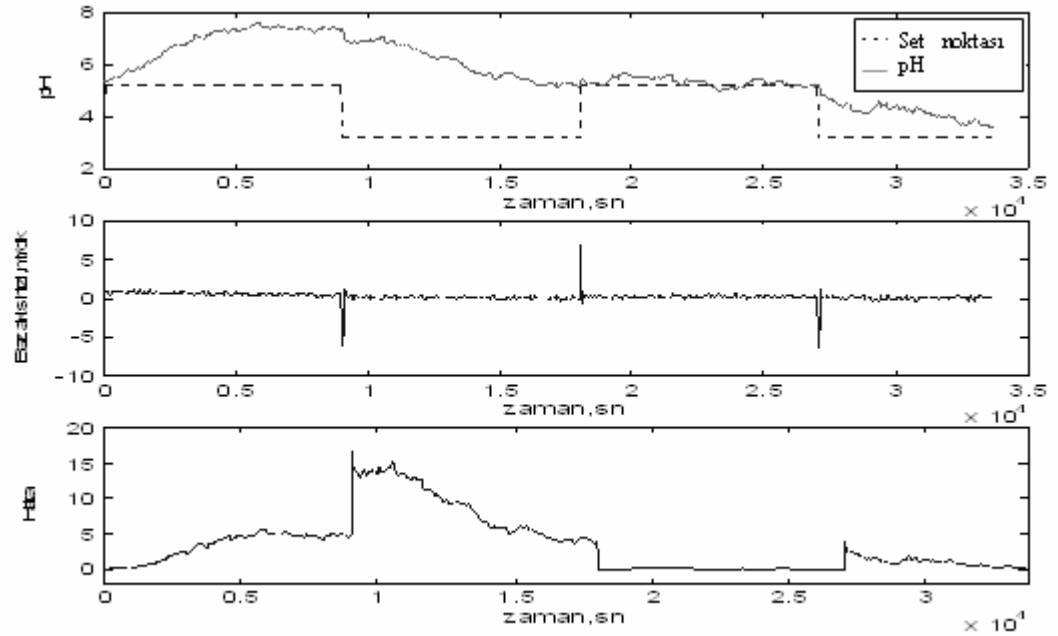
Çizelge 6.6 Cohen-Coon yöntemi ile hesaplanan PID parametreleri

Hesaplama Yöntemi	2. Proses Reaksiyon Eğrisi			Cohen-Coon yöntemi ile hesaplanan PID parametreleri		
	K_p	θ (sn)	τ (sn)	K_c	τ_I (sn)	τ_D (sn)
Eğri Geçirme	8.318	520	6300	1.995	1258.1	189.4
Smith (1972)	8.318	4590	3330	0.146	7952.1	1345.8
Doğrusal Regrasyon	8.318	3072	3280	0.202	5804	965.08

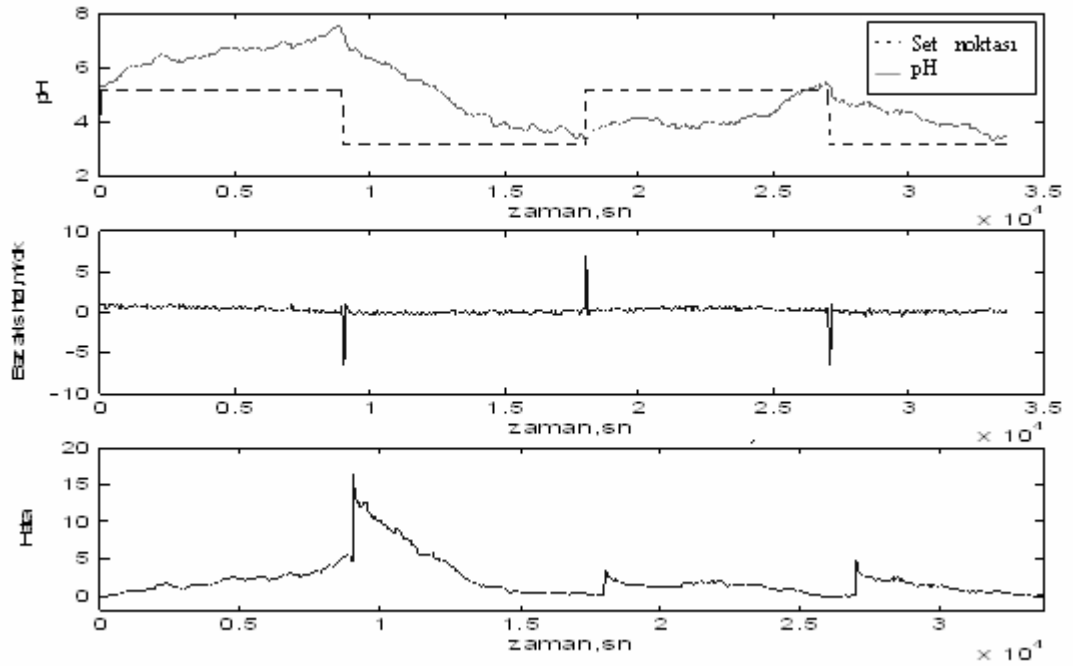
Bulunan farklı PID parametrelerinden en uygun olanı bulabilmek için EK 5’te verilen MATLAB dilinde yazılan Teorik PID Programı kullanılarak katsayılar denenmiş ve ISE (hataların kareleri toplamı) kriterlerine bakılmıştır. Bu denemeleri yapabilmek için Çizelge 6.5’te verilen etkilerden rastgele etkinin katsayıları kullanılmıştır.



Şekil 6.42 $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1$, $\tau_D = 189.4$ değerlerinde kare dalga set noktası değişimli teroik PID kontrol sonuçları ($a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = -0.0011$)



Şekil 6.43 $K_c = 0.146$, $\tau_I = 7952.1$, $\tau_D = 1345.8$ değerlerinde kare dalga set noktası değişimli teroik PID kontrol sonuçları ($a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = -0.0011$)



Şekil 6.44 $K_c = 0.202$, $\tau_I = 5804$, $\tau_D = 965.08$ değerlerinde kare dalga set noktası değişimli teroik PID kontrol sonuçları ($a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = -0.0011$)

Yukarıdaki 6.42, 6.43 ve 6.44 şekillerinde değişken set noktalı teorik PID kontrol çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada iki farklı set noktası değişimi bilgisayarda oluşturulmuş ve pH değişiminin bu set noktasını takibi gözlenmiştir. Ayrıca program sonucunda ISE kriteri değerleri hesaplanmıştır. Bulunan değerler Çizelge 6.7’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlardan set noktasını en iyi takip eden ve ISE değeri en küçük bulunan PID parametre değerleri $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1$, $\tau_D = 189.4$ olarak belirlenmiştir.

Çizelge 6.7 Terorik PID programında işletilen parametrelerden elde edilen ISE değerleri

ISE	K_c	τ_I	τ_D
50.8206	1.995	1258.1	189.4
1.9237e+003	0.146	7952.1	1345.8
1.1772e+003	0.202	5804	965.08

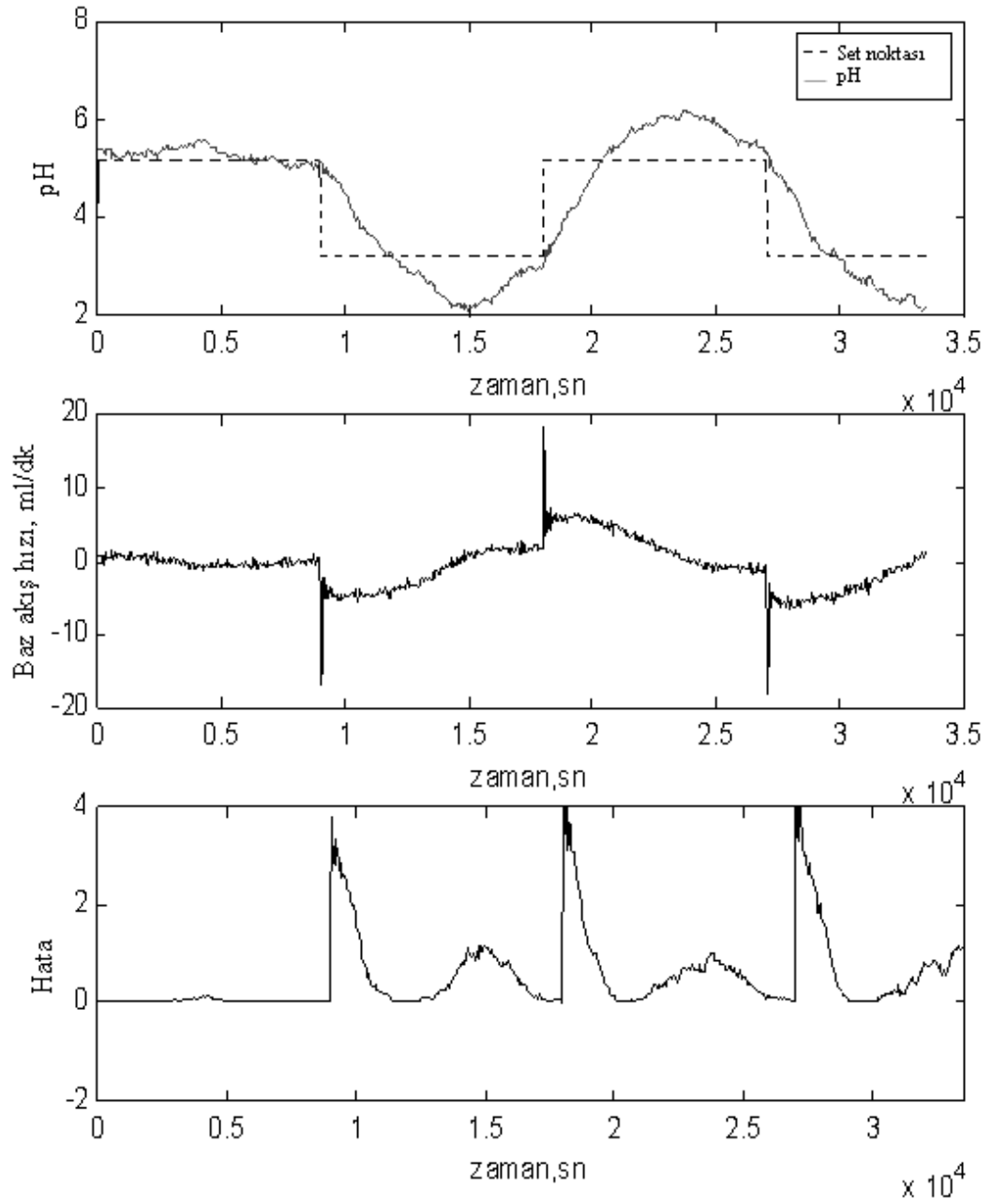
6.4.2 En Uygun Model Parametrelerinin Seçilmesi

Mikroorganizmalı besi ortamında yapılan üç farklı etki (kare, rastgele, ternary) için yapılan en uygun model parametrelerinin bulunması için model sına testleri ile yapılan çalışmalar Bölüm 6.3.3'te ayrıntılı olarak anlatılmıştı. Çizelge 6.5 verilen mikroorganizma ortamında gerçekleştirilen etki deneyleri sonuçları arasından hidrojen üretim prosesini en iyi modelleyen parametrelerin bulunması için gerekli çalışmalar bu bölümde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla bulunan teorik PID programında (EK 5) en küçük ISE değeri veren ve en iyi set noktasını takibinin sağlandığı $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1$ s, $\tau_D = 189.4$ s PID parametreleri kullanılarak en uygun model parametresi tespit edilmiştir. Bu çalışmada iki farklı set noktası değişimi bilgisayarda oluşturulmuş ve pH değişiminin bu set noktasını takibi gözlenmiştir. Bunun için Çizelge 6.5'de verilen her bir etki için hesaplanan parametreler teorik PID programında işletilerek en düşük ISE değeri veren etkinin parametreleri bulunmuş ve hidrojen üretimi prosesi için sistemi en iyi tanımlayan model parametreleri seçilmiştir.

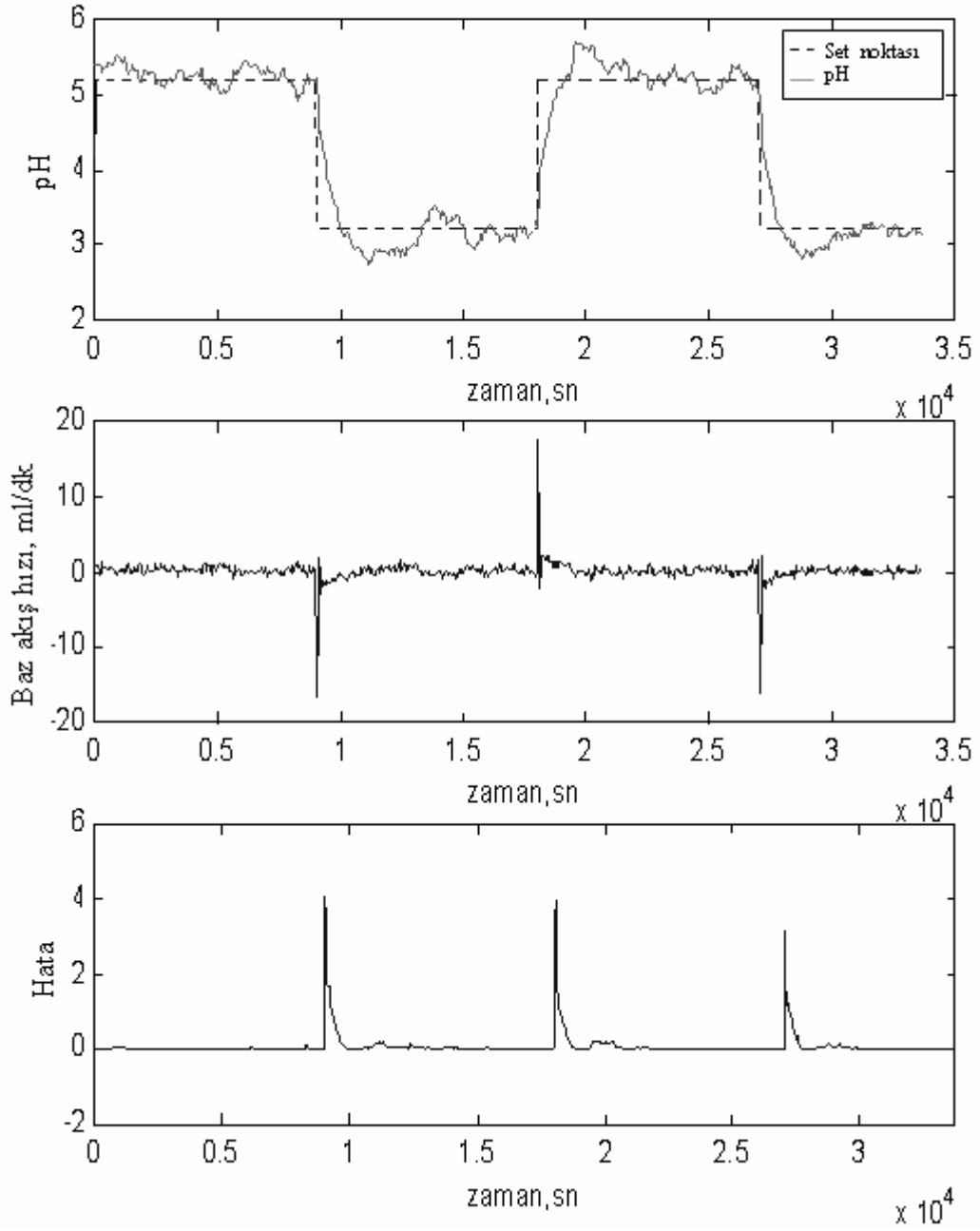
Üç farklı etki için elde edilen PID kontrol sonuçları Şekil 6.45, 6.46 ve 6.47'de verilmiştir. ISE kriteri değerleri program sonucunda hesaplanmış ve elde edilen sonuçlardan sistemi en iyi tanımlayan ve kontrol eden model parametrelerinin Rastgele etki ile elde edilen $a_1 = -1.1837$ $a_2 = 0.1860$; $b_0 = 0.044$ $b_1 = -0.0011$ değerler olduğu bulunmuştur. Farklı etkiler için elde edilen ISE değerleri Çizelge 6.8'de sunulmuştur.

Çizelge 6.8 Farklı etki değerlerine karşı elde edilen ISE kriterlerinin kıyaslanması

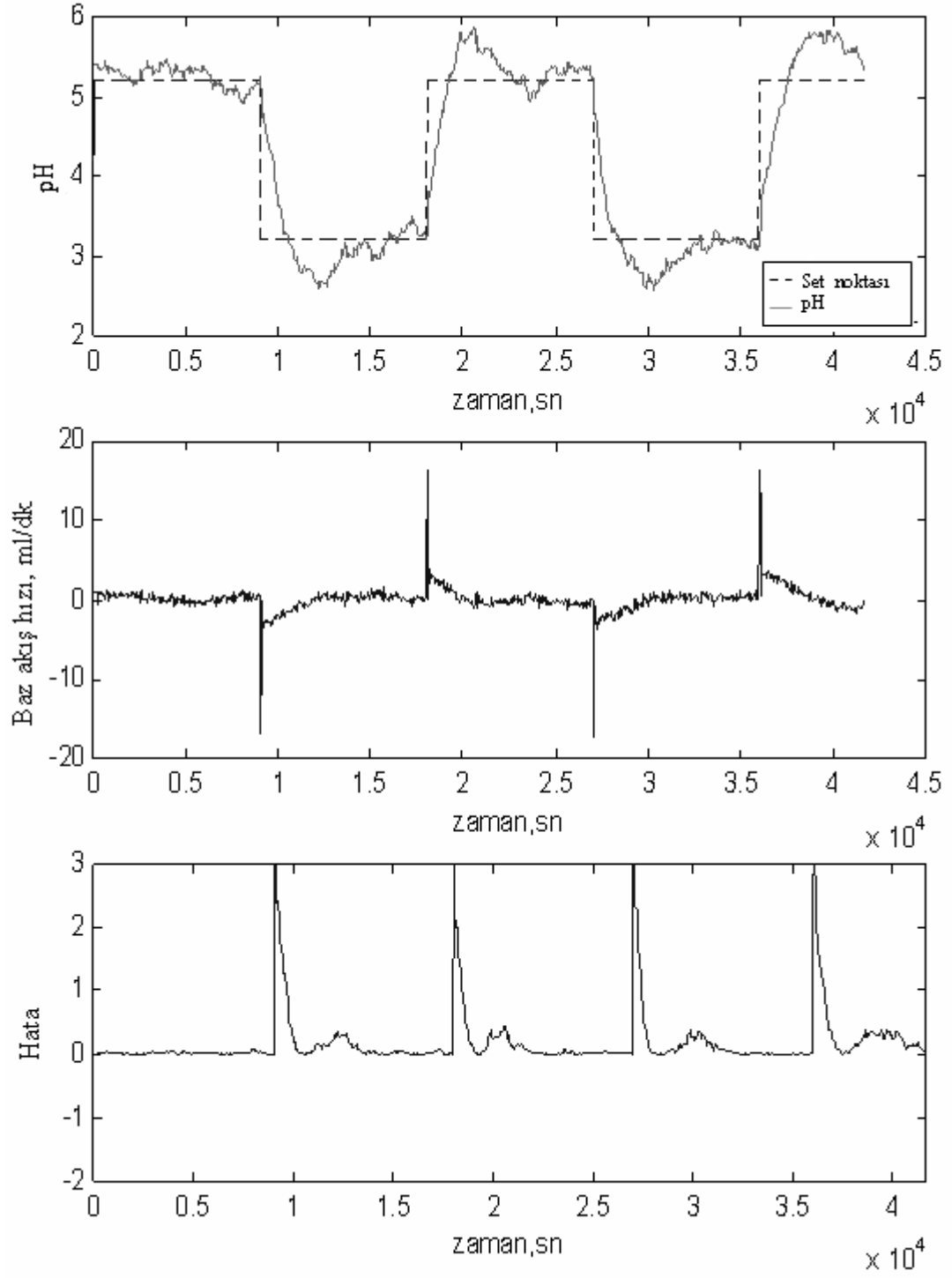
Sinyal	ISE
KARE	293.2066
RASTGELE	47.2691
TERNARY	126.6264



Şekil 6.45 Kare dalga etki parametrelerinin $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1s$, $\tau_D = 189.4s$ değerlerinde Teroik PID programı sonuçları ($a_1 = -0.7157$, $a_2 = -0.2841$, $b_0 = 0.0172$, $b_1 = -0.0068$)



Şekil 6.46 Rastgele etki parametrelerinin $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1s$, $\tau_D = 189.4s$ değerlerinde teroik PID programı sonuçları ($a_1 = -1.1837$, $a_2 = 0.1860$, $b_0 = 0.044$, $b_1 = -0.0011$)



Şekil 6.47 Ternary etki parametrelerinin $K_c = 1.995$, $\tau_i = 1258.1$ s, $\tau_D = 189.4$ s değerlerinde teroik PID programı sonuçları ($a_1 = -0.9720$, $a_2 = -0.0276$, $b_0 = 0.0131$, $b_1 = -0.0008$)

6.5 Hidrojen Üretim Deneyleri

C. butyricum ve *C. acetobutylicum* anaerobik suşları kullanılarak karanlık fermentasyon yöntemi ile gerçekleştirilen deneysel çalışmalar sonucunda hidrojen üretimi ile ilgili elde edilen bulgular bu bölümde verilmiştir.

Çalışmalara ilk olarak karanlık fermentasyonun uygulanması için biyoreaktörün işleme alınması ile başlanmıştır. Clostridium türleri zorunlu anaerob olup oksijene karşı hassas olmalarından dolayı biyoreaktör içerisinde anaerobik koşulların sağlanması büyük önem taşımaktadır. Bu koşulları sağlamak için, reaktörden sürekli olarak azot gazı geçirilerek oksijenin ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Ortamdaki oksijenin giderildiğinden emin olmak için biyoreaktörde bulunan çözünmüş oksijen probu ile reaktörün yazılım programı olan IRIS V 5.2 sayesinde, on-line olarak ortamdaki çözünmüş oksijen miktarı gözlenmiştir.

Hidrojen üretimini ve karanlık fermentasyonu etkileyen en önemli parametrelerden biri pH'dır. Bu amaçla *C. butyricum* suşu ile farklı başlangıç pH değerlerinde denemeler gerçekleştirilmiş ve hidrojen üretim verimi en uygun pH değeri saptanmıştır.

Hidrojen üretimi deneylerinde en uygun ve ekonomik substrat türünü belirlemek amacıyla farklı besi ortamları ile denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmalara ilk olarak patatesli ortamda yapılan denemeler ile başlanmıştır. Daha önceki bölümlerde anlatıldığı gibi sistem tanımlama deneyleri ve farklı başlangıç pH etkileri patates ortamında gerçekleştirilmiştir. Daha sonra çalışmalarda farklı besi ortamları (peyniraltı suyu, melas) denenerek en uygun besi ortamı belirlenmeye çalışılmıştır.

6.5.1 *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizması ile hidrojen üretim çalışmaları

Deneyisel çalışmalara *C.butyricum* mikroorganizması canlandırılmadan önce *C.acetobutylicum* ile reaktör işletimi ve anaerobik koşulların sağlanması için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak 500 ml’lik patates ortamlarında mikroorganizma aktarımı ve üretilen gazı toplamak için denemeler yapılmıştır. Daha sonra çalışmalara reaktörün işleme alınması ve bir adım daha ölçek büyütme ile reaktörde yapılan hidrojen üretim deneyleri ile devam edilmiştir. Yapılan çalışmalar aşağıdaki bölümlerde açıklanmıştır.

6.5.1.1 Mikroorganizma aktarımı

Bölüm 5.2.1’de anlatıldığı gibi havasız koşullarda hazırlanmış olan patates ortamına daha önceden hazırlanıp derin dondurucuda saklanan gliserin ortamından alınan mikroorganizma aktive edilmiştir. Daha sonra 1:100 ölçek büyütme aşamasıyla aktarımlar yapılmıştır. Bu oranın seçilmesinin nedeni, *Clostridium* türlerinin çoğalma hızlarının yüksek olması ve reaktöre yapılacak aktarımlarda havasız koşullarda ikinci ölçek büyütme aşaması olan 500 ml ortamın tamamının anerobik olarak reaktöre aktarılmasının zorluğundan dolayıdır.

6.5.1.2 Mikroorganizma derişiminin ölçülmesi

Yapılan literatür araştırmalarında mikroorganizma çoğalma kinetiğinin incelenmesi amacıyla 600 nm’de optik yoğunluk (OD) ölçümleri UV spektrofotometresinde yapılmıştır. Ancak bu çalışmalarda atık maddeler yerine kimyasallı ortamlar kullanılmıştır ve sabit bir dalga boyu gözlenebilmiştir. Bu tez kapsamında, patates ortamında gerçekleştirilen deneylerde patates ortamının kollodial yapıda olması sabit bir spektrum elde edilememesine, ölçümlerde hatalara ve absorbansın ölçülememesine neden olmuştur.

Bu sorunları ortadan kaldırmak patates ortamının partiküllerini ortamdan uzaklaştırıp şeffaf bir ortam elde etmek amacıyla 2 farklı yöntem uygulanmıştır. Bu yöntemler,

santrifüjleme (500, 1000, 2000 devir/dk) ve süzgeç kâğıdından geçirilmez. Dört saatlik inkübasyon sonucunda alınan örneklerde yapılan denemelerde, anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Farklı hızlarda santrifüjlenen örneklerde, patates partikülleri ile birlikte mikroorganizmada çöktüğü için absorbans değerlerinde 0'a yakın değerler elde edilmiştir. Süzgeç kâğıdından geçirilen örnekler de ise sürekli değişen absorbans değerleri ölçülmüştür. Bu sebeplerden dolayı mikroorganizma derişimine bakılamamıştır. Mikroorganizma çoğalma kinetiği toplanan gaz miktarından elde edilen sonuçlardan oluşan eğri ile takip edilmiştir.

6.5.1.3 Gaz toplama sistemi

Karanlık fermentasyon yöntemi ile yapılan deneylerde açığa çıkan gazın toplanması için gaz toplama sistemi tasarlanmıştır. Reaksiyon esnasında oluşan gaz karışımı ters çevrilmiş içi su dolu bir şişeye ucunda şırınga olan hortumla verilmiş ve çıkan gaz ile birlikte şişenin içindeki suyun çıkan hacmine göre oluşan gaz miktarına ulaşılmıştır. Kullanılan sistem Şekil 6.48'da verilmiştir. Şişede toplanan gaz, içerisinde bulunan gaz yüzdelерinin tespit edilebilmesi için gaz kromatografisi ile analizlenmiştir. Bu aşamada toplanan gaz karışımında bulunan CO₂ gazının tutulup, geri kalan gazın analizlenmesinin hidrojen miktarının tespitinde daha doğru sonuçlar vereceği düşünülmüştür. Bu amaçla reaksiyon esnasında çıkan gaz ilk olarak %37'lik potasyum hidroksit (KOH) çözeltisinden geçirilmiştir (Şekil 6.49). Deney 37°C'de inkübatörde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 6.48 Oluşan gazın direk olarak toplanması



Şekil 6.49 Oluşan gazın %37'lik KOH çözeltisinden geçirilerek toplanması

500 ml'lik reaksiyon kaplarında yapılan deneylerde oluşan gaz karışımının direk toplanmasıyla ve KOH çözeltisinden geçirilerek toplanmasını kıyaslamak amacıyla denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ölçek büyütme aşamaları uygulanarak son aşama olan 500 ml'lik ortama aktarılan mikroorganizma ortamı hazırlanmıştır. Reaksiyon süresinde şişeden iki çıkış alınmıştır. Bunlardan ilki direk olarak gazın toplanacağı ters çevrilmiş şişeye, ikincisi ise %37'lik KOH çözeltisinden geçirilmiş ve daha sonra gaz toplanmıştır (Şekil 6.50) .



Şekil 6.50 KOH çözeltisinden geçirilerek ve geçirilmeden yapılan ikili gaz toplama sistemi

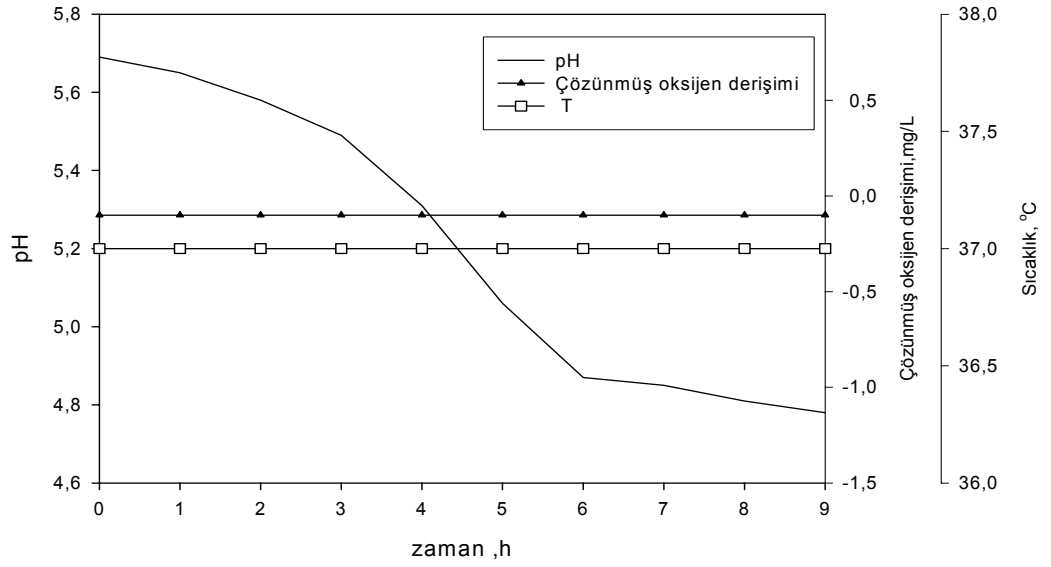
Yapılan deney sonucunda 28 saat sonra her iki sistemden toplanan gazlar gaz kromatografi cihazı ile analizlenmiştir. Analizler sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 6.9’da verilmiştir. Sonuçlarda karbondioksit yüzdesinin çok az olduğu ve KOH çözeltisinden geçirmenin karbondioksit yüzdesinde çok önemli bir değişim yaratmadığı görülmüştür. Bundan sonraki çalışmalarda KOH çözeltisinden geçirmeye gerek olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 6.9 Direk toplanan ve KOH’den geçirilerek toplanan örneklerin GC analizi sonucunda elde edilen CO₂-H₂ miktarları

Gaz cinsi	KOH’den geçirilen örnek (%mol)	Direk toplanan örnek (%mol)
CO ₂	0.0185	0.0435
H ₂	11.77	11.03

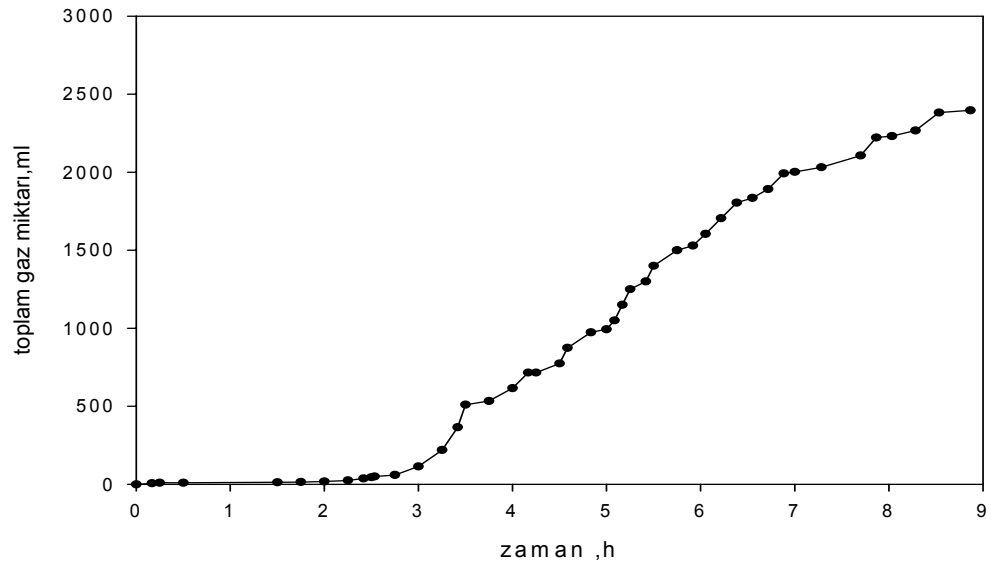
6.5.1.4 pH değişiminin incelenmesi

Karanlık fermentasyon ile prosesinin 9 saatlik işletim süresi boyunca pH değişimini belirlemek amacıyla bir çalışma gerçekleştirilmiştir. *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizması ile 5 L’lik biyoreaktörde gerçekleştirilen deneyde pH’ın herhangi bir kontrol yöntemiyle denetlenmediği durumda zamanla değişimini incelemiş ve hidrojen üretimi gerçekleştirilmiştir. İşletme koşulları, 37°C sıcaklık ve 600 devir/dk karıştırma hızına ayarlanarak reaktörün kontrol algoritması ile sabit tutulmuştur. Ölçek büyütme aşamasının son adımı olan biyoreaktöre aktarılan mikroorganizmanın, patates ortamında havasız koşullarda fermentasyon süresince pH değişimi incelenerek IRIS V.2 programı yardımıyla kaydedilmiştir. 9 saatlik fermentasyon boyunca pH, 5.7 den 4.7 değerine düşüş göstermiştir (Şekil 6.51).



Şekil 6.51 Biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca pH değişimi sonuçları

Biyotepkime sonucunda oluşan gaz miktarı KOH çözeltisinden geçirilmeden direk olarak toplanmış ve zamanla kaydedilen sonuçlar Şekil 6.52'de verilmiştir. Deney esnasında % H₂ miktarlarına bakılamamıştır. Grafiklerde görüldüğü gibi pH düşmesinin arttığı zaman aralığında oluşan gaz miktarı da artış göstermiştir.



Şekil 6.52 Biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca toplanan gaz hacmi sonuçları

6.5.2 *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile hidrojen üretim çalışmaları

C.acetobutylicum anaerobik mikroorganizması ile yapılan hidrojen üretim çalışmalarında elde edilen tecrübelerle “Agricultural Research Service Culture Collection, USA” den alınan NRRL B-1024 *Clostridium butyricum* mikroorganizması canlandırılarak çalışmalara başlanmıştır. Bu amaçla ilk olarak prosesin fermentasyon boyunca pH değerindeki düşüşünü incelemek amacıyla pH kontrolsüz deney gerçekleştirilmiştir. Yapılan deney sonucunda zamanla pH değerinde değişimler ve üretilen gaz miktarı verileri kaydedilmiştir. Toplanan sıvı ve gaz örneklerinde yapılan GC analizleri sonucunda, oluşan organik asit ve % hidrojen miktarı değerleri tespit edilmiştir.

6.5.2.1 Fermentasyon süresince pH değişiminin incelenmesi

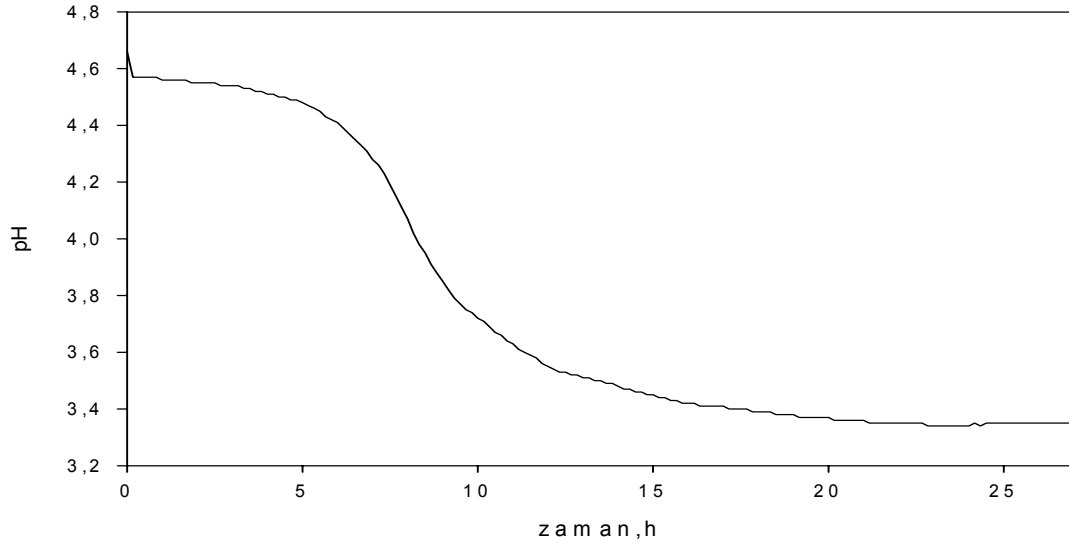
Sıvı besi yeri olarak patates ortamında gerçekleştirilen deneyde biyoreaktör işletim koşulları Çizelge 6.10’da verilmiştir. Mikroorganizma aktarımı 1:100 oranında ölçek büyütme adımları ile Bölüm 5.3’ de ayrıntılı olarak anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Biyoreaktöre bağlı pH probu ile fermentasyon esnasında değişen pH değerleri reaktörün yazılımı olan IRIS V.2 programı yardımıyla kaydedilmiştir. Sıcaklık ve karıştırma hızı biyoreaktörün kontrol algoritması ile sabit değerlerde tutulmuştur. Fermentasyon esnasında oluşan gaz karışımı ölçülerek şişelerde toplanmış ve analizlenmiştir.

Çizelge 6.10 *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile pH kontrolsüz deney işletim koşulları

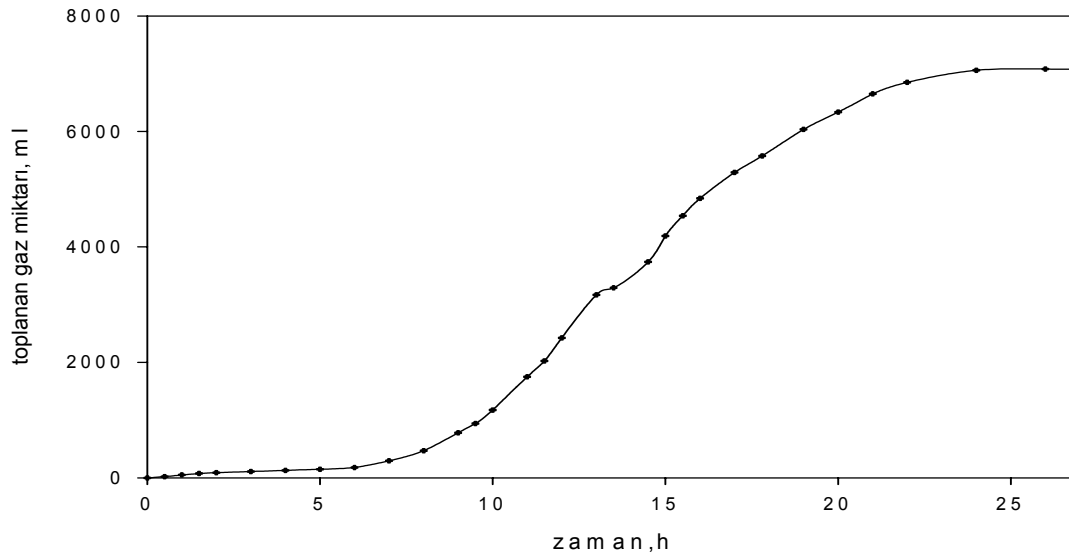
Sıcaklık, °C	Reaktör hacmi,ml	Karıştırma hızı, devir/dk
28	5000	600

Sonuçlarda beklendiği gibi pH değeri 27 saatlik fermentasyon sonucunda 1–1.5 değerinde azalış göstererek 4.66 değerinden 3.35 değerine düşmüştür (Şekil 6.53). Buna

bağlı olarak düşük pH değerlerinde hidrogenaz aktivitesinin azalmasından dolayı pH'ın düşmesi ile birlikte belli bir süre sonra oluşan gaz miktarı da azalarak sabitlenmiştir. Elde edilen deney sonuçları Şekil 6.54'de verilmiştir.

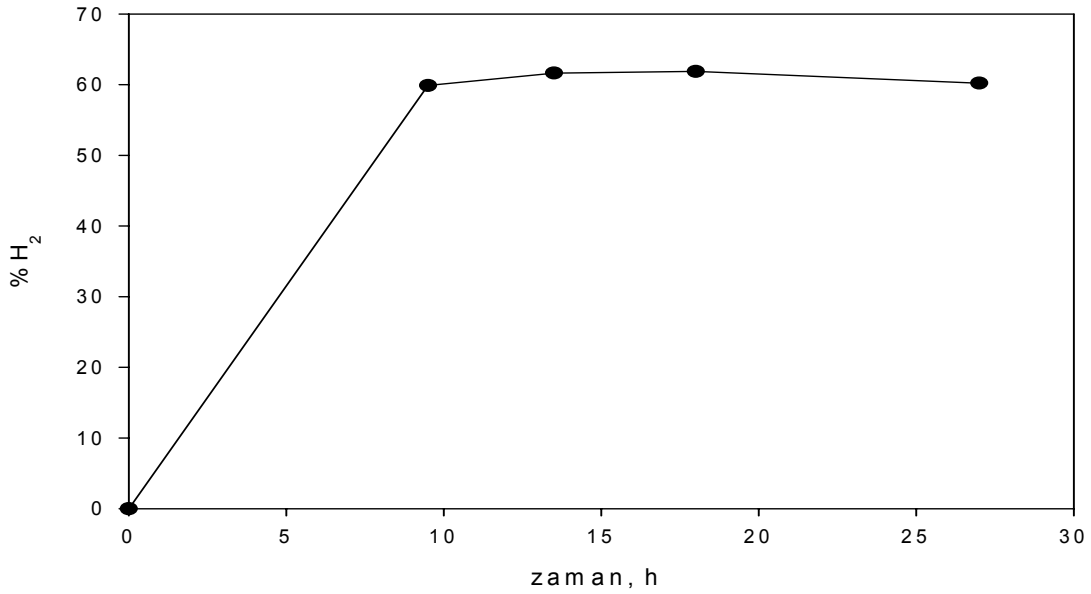


Şekil 6.53 *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca pH değişimi sonuçları



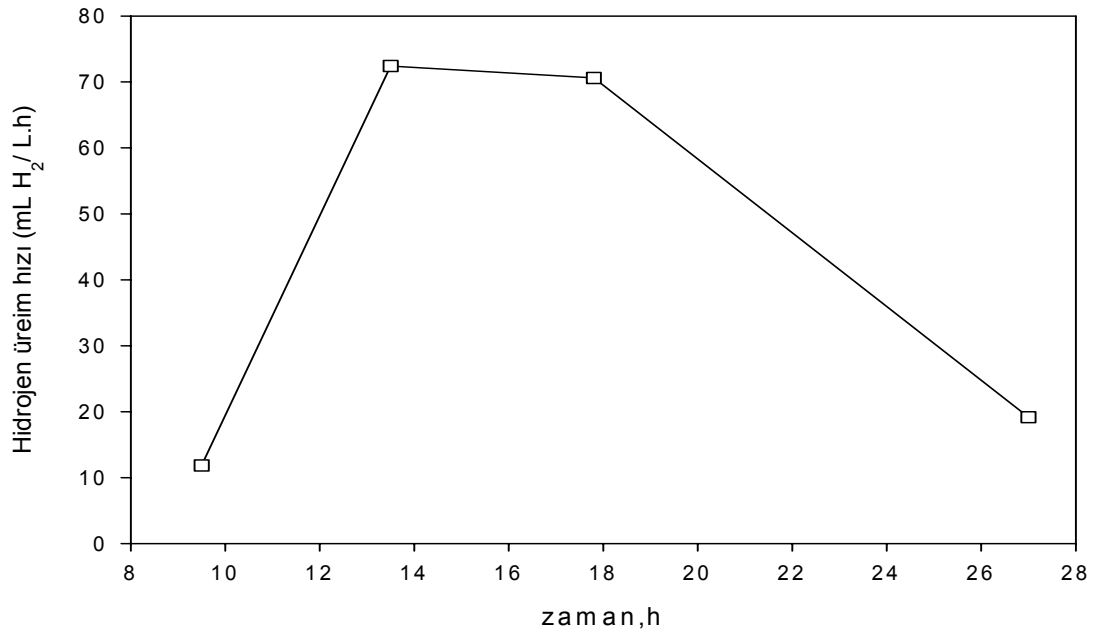
Şekil 6.54 *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile biyoreaktörde fermantasyon süresi boyunca toplanan gaz hacmi sonuçları

Yapılan analizler sonucunda hidrojen gaz faz derişimi maksimum %59–61 değerine ulaşmıştır (Şekil 6.55). 23 saatlik fermantasyon süresince hidrojen derişimi artarken bu saatten sonra 27.saate kadar mikroorganizmaların ölü faza geçmeleri ve pH düşüşü ile birlikte hidrogenaz aktivitesinin azalmasından dolayı hidrojen derişimi azalışa geçmiştir. Logan *et al.* 2003, ısı etki uyguladıkları besi ortamlarında yaptıkları çalışmada fermantasyonun 30. saatinin sonunda hidrojen derişiminin azaldığını, 80 saatin sonunda ise hidrojen derişiminin sıfıra düştüğünü gözlemlemişlerdir. Hidrojen derişimindeki düşmeye asetgenesizin neden olduğunu, hidrojenin tüketilerek asetik asit üretildiğini ve besi ortamına 100 °C’de 1 saat ısı etki uygulanarak asetogenesisin engellenemediği sonucuna varmışlardır.



Şekil 6.55 *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile biyoreaktörde zamanla yüzde hidrojen gazı derişimi değerleri

Elde edilen analiz sonuçlarından yararlanılarak zamanla hidrojen üretim hızındaki derişimler hesaplanmıştır. Toplam gaz miktarı ile elde edilen sonuçlar desteklenerek ilk 18 saat karanlık fermantasyon süresi boyunca hidrojen üretim hızı sürekli artış göstermiş ancak bu saatten itibaren azalışa geçmiştir (Şekil 6.56).



Şekil 6.56 Zamanla hidrojen üretim hızının değişimi

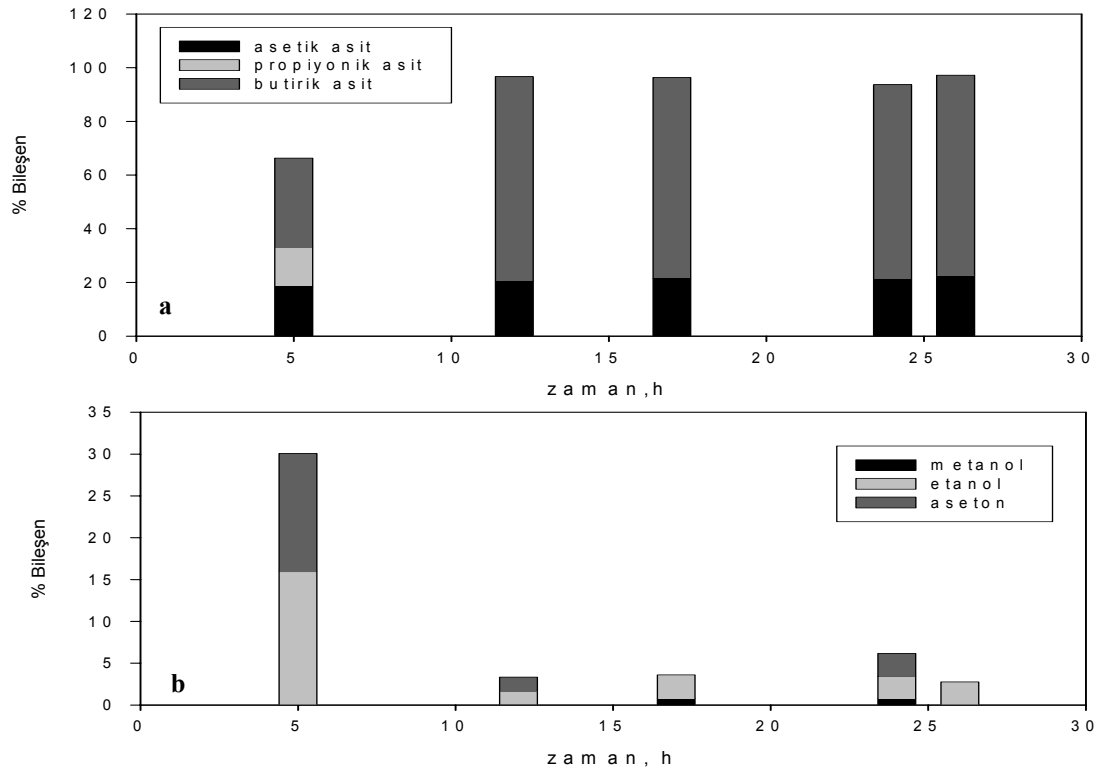
Fermantasyon süresince sıvı fazdan belli zamanlarda örnekler alınarak gaz kromatografi cihazında FID (flame ionization dedector) dedektör ile organik asit ve alkol analizleri yapılmıştır. Beşinci saatten itibaren alınan örneklerde, asit ve alkollerin üretilmeye başlandığı gözlenmiştir. Beşinci saatte alınan ilk örnekte karanlık fermantasyon prosesinde istenmeyen ve hidrojen miktarını azaltıcı yönde etki eden etanol ve metanol gözlenirken, 12. saatten itibaren alkol yüzdeleri azalmış üretilen asetik asit ve bütirik asit yüzdeleri artış göstermiştir. Çizelge 6.11’de görüldüğü gibi bütirik asit değeri 5. saatten itibaren hızlı bir artış göstermiştir. Şekil 6.53’de verilen pH değişimi grafiğinden 5. saatten itibaren pH değeri hızlı bir düşüş gösterdiği ve 17. saatten itibaren ise pH’ın sabitlenmeye başladığı görülmektedir. Bu da yapılan analiz sonucu ile pH değişiminin örtüştüğünü göstermektedir. Çünkü pH düşmesine neden olan, üretilen asit yüzdeleri (asetik ve bütirik asit) 17. saatten itibaren çok az değişim göstermiştir. B/ A (bütirik asit/asetik asit) oranı çoğunlukla hidrojen üretiminin etkisini belirlemek için kullanılan bir kriterdir. Çizelge 6.11’den görüldüğü üzere 12. saatte en yüksek B/A (3.7) oranına ulaşılmıştır ve sonraki zamanlarda hidrojen üretiminin azalmasını takiben üretilen asitlerin miktarları azalarak B/A oranı düşüş göstermiştir. Elde edilen sonuçların grafiksel gösterimi Şekil 6.57’te verilmiştir. Kim *et al.* 2006, *clostridium* türleri ile sukroz ortamında yaptıkları çalışmada %36 bütirik asit ve %24.6 asetik asit değerlerine

ulaşarak B/A=1.47 bulmuşlardır. CO₂ püskürtmesi uygulayarak bu oranı 8.32'ye çıkarmışlardır. Tez kapsamında yapılan bu çalışmada saf patates ortamı kullanılarak ve gaz püskürtülmesi yapılmadan B/A=3.7 oranına ulaşılması çalışmanın başarılı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 6.11 Sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri

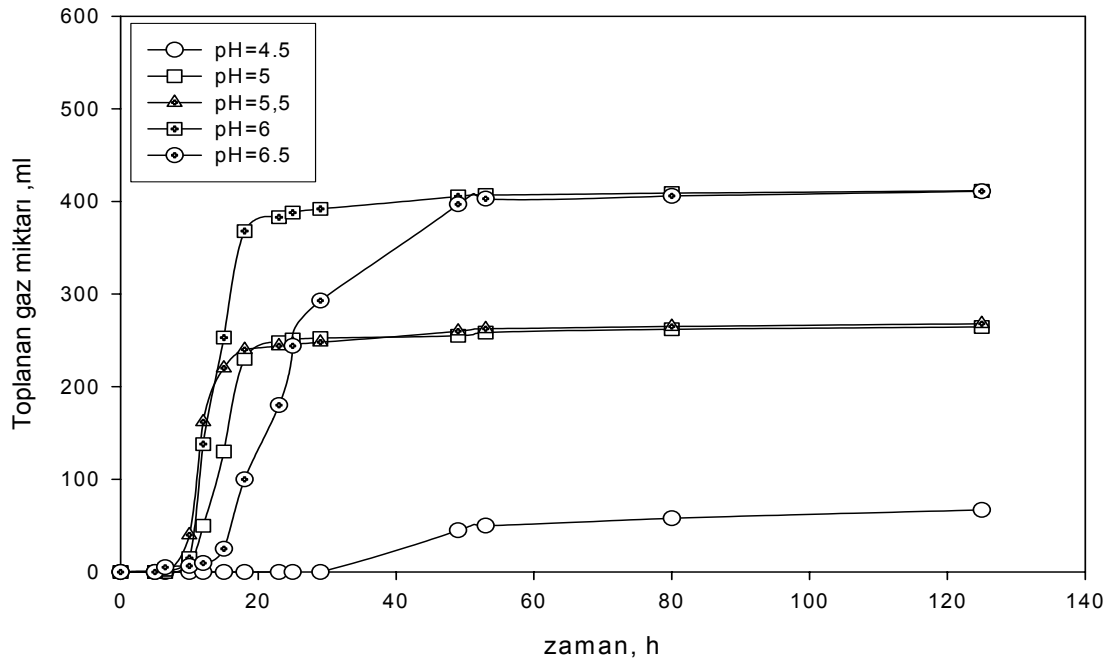
Zaman, h	Metanol %	Etanol %	Aseton %	Asetik asit %	Propiyonik asit %	Bütirik asit %	B/A *
5	0	15,9376	14,1445	18,5000	14,5194	33,2754	1,7987
12	0	1,6273	1,6984	20,5180	0	76,1562	3,7117
17	0,7547	2,8518	0	21,5401	0	74,8534	3,4751
24	0,7575	2,7000	2,7000	21,1979	0	72,5157	3,4209
26	0	2,7541	0	22,6108	0	74,6350	3,3009

* B/A = %Bütirik asit / %Asetik asit



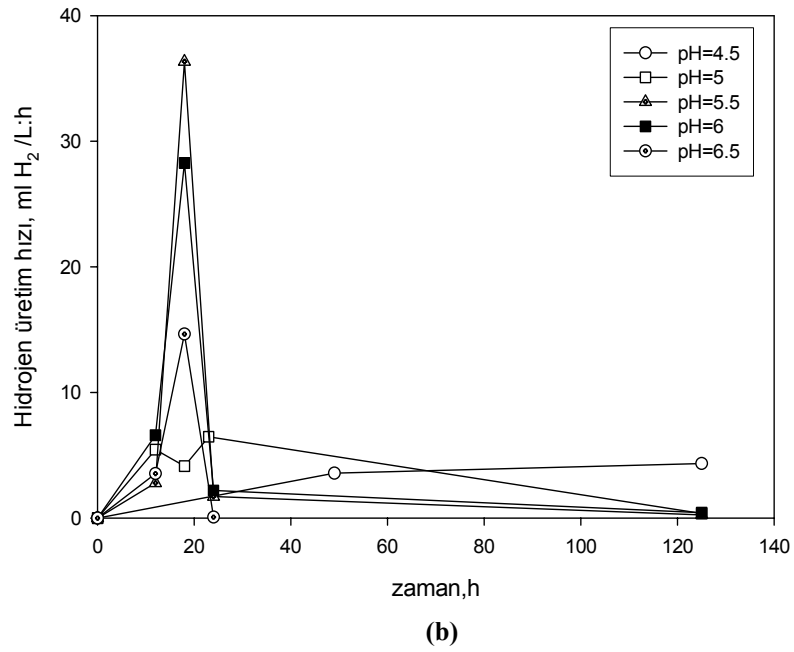
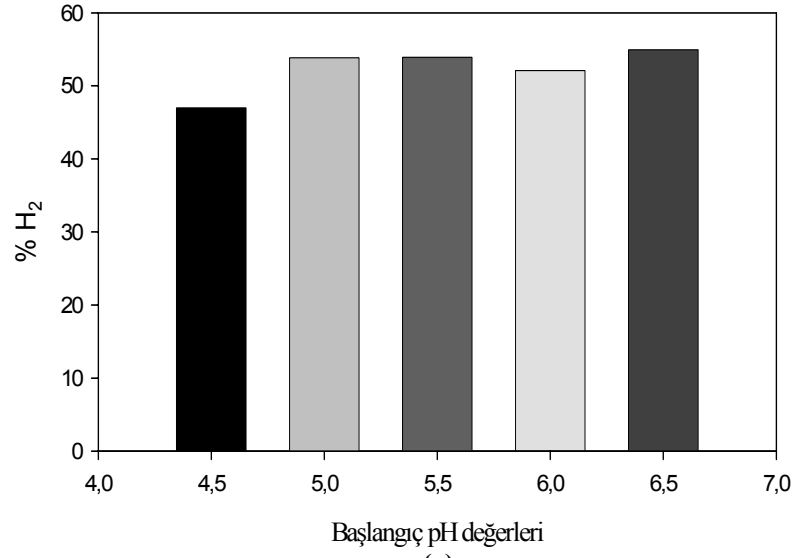
pH anaerobik prosesler için kontrol edilmesi gereken en önemli faktörlerden biridir ve optimum değerinde kontrol edilmesi gerekmektedir. Ginkel *et al.* (2005), başlangıç pH'ının hidrojen üretim hızını çok fazla etki etmediği ancak hidrojen üretim potansiyelinde büyük değişimlere yol açtığını belirtmiştir. Bu etkiyi incelemek ve *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile karanlık fermantasyon prosesinin uygun pH değerini bulmak amacıyla kesikli deneyler gerçekleştirilmiştir. 500 ml'lik beş farklı reaksiyon kabında gerçekleştirilen deneylerde patates ortamının başlangıç pH değerleri 4.5, 5, 5.5, 6 ve 6.5 değerlerine ayarlanmıştır. Besi ortamlarının pH değerleri 1 M NaOH ve 1 M HCl çözeltileri ile istenen değerlere getirilmiştir. İlk olarak içerisinde azot geçirilerek havasız koşullarda hazırlanmış olan 5ml'lik patates ortamına aktarılan mikroorganizma 24 saat 28 °C'de inkübe edilerek 2. ölçek büyütme basamağı olan 500 ml'lik besi ortamlarına aktararak aynı şekilde 24 saat inkübe edilmiştir. Beş farklı tepkime kabında farklı pH değerlerinde hazırlanan besi ortamlarına, çoğaltılan 500 ml'lik mikroorganizmalı kaynaktan aynı miktarlarda alınarak (5 ml) aktarım yapılmıştır. Deneyler 28°C'de inkübatörde 150 devir/dk karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Deney süresince belli aralıklarla deney kaplarındaki gaz miktarları ölçülerek şişelere toplanmıştır (Şekil 6.58).

Deney sonunda pH değerlerindeki değişimleri gözlemek amacıyla tüm deney kaplarından 15 ml örnek alınarak son pH değerleri ölçülmüş ve ilk değerler ile arasındaki fark belirlenmiştir. Deney esnasında anaerobik koşulların sağlanması gerektiğinden dolayı pH probu reaksiyon kaplarına yerleştirilememiştir. Sıvı ortamdan alınan örnekler santrifüjlenerek organik asit analizi gerçekleştirmek üzere örnekler +4 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 6.58 Farklı başlangıç pH değerlerinde toplanan gaz hacmi sonuçları

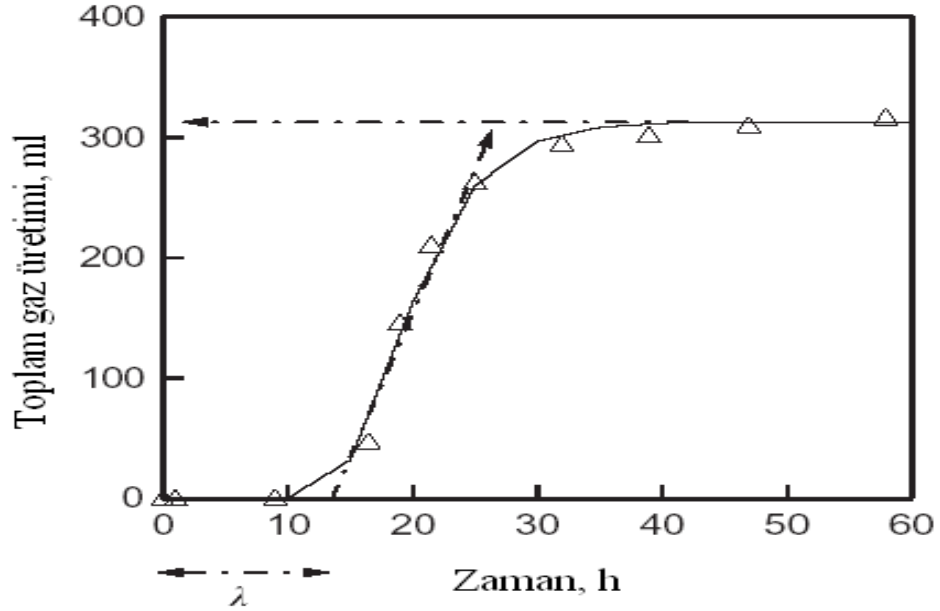
Şekil 6.58'de verilen grafikte görüldüğü gibi başlangıç pH değerleri hidrojen üretim potansiyeline ve üretim hızına etki etmektedir. Düşük pH değerlerinde üretilen gaz miktarı yüksek pH değerlerine göre azalış göstermektedir. En yüksek üretilen toplam gaz miktarı pH 6 değerinde elde edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda oluşan gaz karışımındaki yüzde hidrojen değerleri ve hidrojen üretim hızları hesaplanmıştır (Şekil 6.59). Elde edilen sonuçlardan tüm pH değerleri için yaklaşık olarak % 40–55 arasında hidrojen derişimine ulaşılmıştır (Şekil 6.59.a). pH değeri yükseldikçe % hidrojen miktarının arttığı gözlenmiştir. pH 4.5 değerinde % 47 hidrojen oluşurken pH 6.5 değerinde bu değer %55'e çıkmaktadır. Li *et al.* (2008), karışım kültür ile hidrojen üretim prosesinde uygun pH değeri 6 olarak belirlenmiş ve 7.5 g glikoz /L ortamında %63 H₂ elde etmiştir. Bu çalışma kapsamında saf besi ortamları (melas, patates, peyniraltı suyu) kullanılarak ve 6 g glikoz /L eklenen patates ortamında (kimyasallı patates) bu yüzde değerlerine ulaşılması, bu çalışmayı daha ekonomik kılmaktadır. Hidrojen yüzdeleri birbirine benzer sonuçlar vermesine rağmen en yüksek hidrojen üretim hızına pH 6 değerinde ulaşılmıştır (Şekil 6.59.b). Böylece başlangıç pH'ının hem hidrojen üretim hızını hem de hidrojen üretim potansiyelini etkilediği sonucuna varılmıştır.



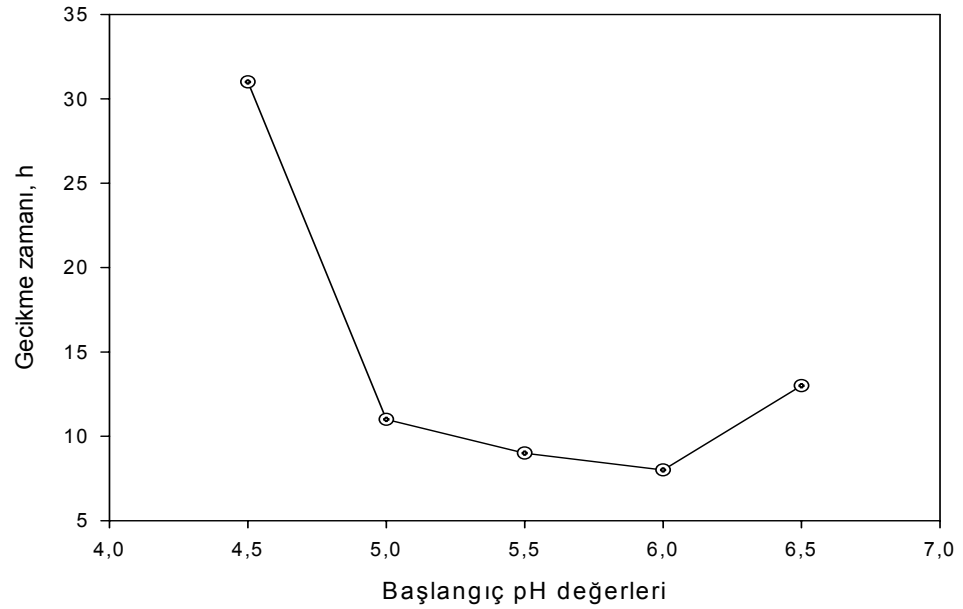
Şekil 6.59 Farklı başlangıç pH değerlerinde: **a.** Gaz karışımındaki yüzde hidrojen değerleri, **b.** Hidrojen üretim hızları

Farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan denemelerde prosesin gecikme zamanının bulunması amacıyla, toplam gaz üretim eğrisinin dönüm noktasından uygun teğet geçirilerek değerler hesaplanmıştır (Şekil 6.60). Yapılan hesaplamalarda en yüksek gecikme süresi pH 4.5 değerinde gözlenmiştir (Şekil 6.61). Diğer pH değerleri birbirine yakın değerlerde olup 8-13 saat arasında değişmektedir. Yapılan pH denemelerinde en düşük gecikme zamanı pH 6 değerinde elde edilmiştir. Khanal *et al.* (2004), farklı

başlangıç pH değerlerinde yaptıkları denemelerde nişasta ve sukroz ortamında optimum pH olarak 5.5–6 değerini belirleyerek gecikme zamanını, 14-18 saat olarak bulmuşlardır. Bu bakımdan bulunan sonuçlar literatür ile uygunluk göstermektedir.



Şekil 6.60 Tipik gaz oluşum eğrisi (Khanal *et al.* 2004)



Şekil 6.61 Farklı başlangıç pH değerlerinde gecikme zamanı değerleri

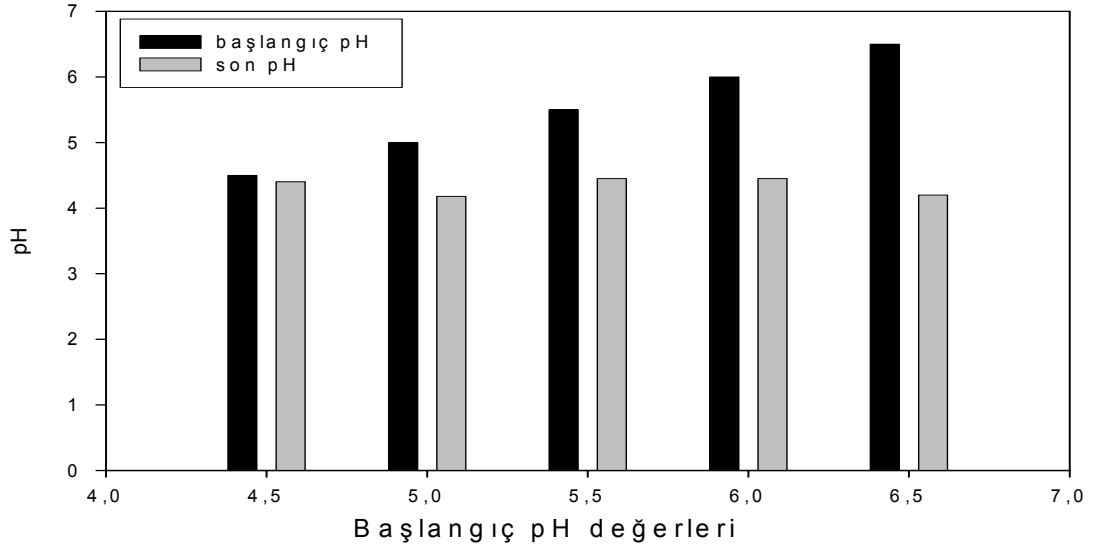
Gecikme süresi ve hidrojen üretim hızları bakımından karşılaştırıldığında optimum pH 6 değerinde en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Çizelge 6.12’de farklı literatür çalışmalarında bulunan pH değerleri verilmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda da görülmektedir ki pH 5.5–6 arası optimum çoğalma pH’ı olarak belirlenmiştir.

Çizelge 6.12 Farklı çalışmalarda elde edilen pH değerlerinin karşılaştırılması

Mikroorganizma	pH	Kaynak
<i>C. butyricum</i> LMG1213tl	5.8	Heyndrickx <i>et al.</i> (1986)
<i>C. butyricum</i>	6.7	Kataoka <i>et al.</i> (1997)
<i>C. butyricum</i> IFO13949+ <i>E. aerogenes</i> H-39	5.2	Yokoi <i>et al.</i> (1998)
<i>Enterobacter cloace</i>	5-6	Kumar and Das (2000)
Karışım kültür	5.5	Liu <i>et al.</i> (2002)
Karışım kültür	5.5-5.7	Khanal <i>et al.</i> (2004)
Karışım kültür	6	Li <i>et al.</i> (2008)
<i>Clostridium</i> <i>saccharoperbutylaceticum</i>	6	Alalayah <i>et al.</i> (2008)

125 saatlik fermantasyon sonucunda, şişelerden alınan örneklerin son pH değerleri ölçülerek başlangıç pH değerlerinden değişimleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 6.62). Yüksek derişimlerdeki asitlerin oluşması ile birlikte pH değerleri yüksek başlangıç pH değerlerinde (6–6.5) % 25, düşük pH değerlerinde ise yaklaşık %16 azalış göstermiştir. Kim *et al.* (1999) yaptıkları

çalışmada, *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile pH kontrolsüz olarak gerçekleştirildiği deneylerde ilk 12-16 saat sonunda pH 6.8 değerinden 4.2-4.5 değerine düştüğünü gözlemlemişlerdir. Farklı başlangıç pH'larının denendiği bu çalışmada da pH 6.5 değerinde başlanan fermentasyon, deney sonunda 4.18 değerine düşmüştür.



Şekil 6.62 Örneklerin başlangıç ve bitiş pH değerleri

Farklı başlangıç pH değerlerine ayarlanmış reaksiyon kaplarından 125 saatlik fermentasyon sonunda sıvı ortamdan örnekler alınarak oluşan yan ürünler analizlenmiştir. Analizlenen örneklerde propiyonik asit ve aseton oluşumu gözlenmemiştir. Propiyonik asit, ortamdaki hidrojeni tüketerek üretildiği için fermentasyon sonucunda oluşmaması olumlu bir sonuçtur (Eşitlik 3.18). Uygulamada, yüksek hidrojen verimi bütirik asit oluşumu ile ilişkilendirilmektedir (Hawkes *et al.* 2002). Elde edilen sonuçlarda B/A oranı en yüksek değeri pH 6.5 değerinde (4.33) elde edilmiştir. Bu durum Şekil 6.60'da verilen grafikte pH 6.5 değerinde en yüksek pH düşüşünün nedeni ortaya koymaktadır. Oluşan asit yüzdelerinin (bütirik asit % 79.55, asetik asit % 18.35) diğer pH değerlerine göre yüksek olması ortamın pH değerinin yüksek oranda düşmesine neden olmuştur (Çizelge 6.13). Yapılan çalışmada pH değeri arttıkça üretilen bütirik asit yüzdesi de artış göstermiştir. Fang and Liu (2002), farklı pH değerlerinde organik asit değerlerini incelemiş ve pH değeri arttıkça buterat değeri azalırken asetik asit değerinin arttığını gözlemlemişlerdir. En yüksek bütirik asit

değerine pH 4 değerinde % 41.4 olarak belirlemişlerdir. Bu durumun kullanılan mikroorganizma türlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

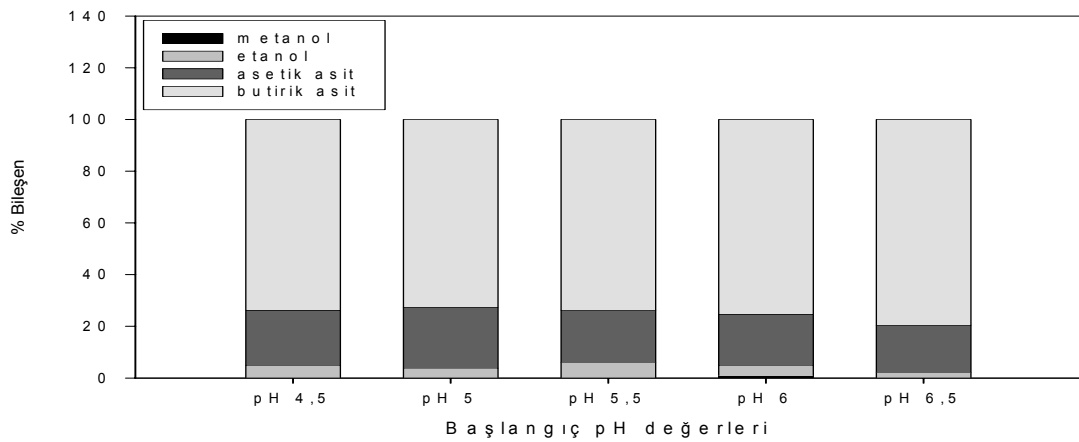
Yapılan farklı başlangıç pH denemelerinde pH 6.5 değerinde, oluşan yan ürünlerin yüzdesi ve B/A oranının yüksek olmasına rağmen hidrojen üretim hızı, üretilen gaz miktarı ve reaksiyonun gecikme süresi göz önüne alındığında en uygun pH değeri olarak pH 6 seçilmiştir.

Çizelge 6.13 Farklı pH örnekleri için sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri

Başlangıç pH değerleri	Metanol %	Etanol %	Aseton %	Asetik asit %	Propiyonik asit %	Bütirik asit %	B/A*
pH 4.5	0	5.0085	0	21.1750	0	73.8165	3.4860
pH 5	0	3.9117	0	23.4583	0	72.6299	3.0961
pH 5.5	0	5.9644	0	20.3091	0	73.7264	3.6302
pH 6	0.9173	4.0946	0	19.5905	0	75.3976	3.8487
pH 6.5	0	2.0950	0	18.3516	0	79.5534	4.3350

* B/A= %Bütirik asit / %Asetik asit

Çizelge 6.13’de verilen organik asit ve alkol yüzde değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 6.63’de verilmiştir.



Şekil 6.63 Farklı pH değerlerinde sıvı ortamdaki organik asit ve alkol derişimleri

6.5.2.3 Mikroorganizma saklama koşullarının ve farklı besi ortamlarının hidrojen üretimine etkisi

Bu tez kapsamında şimdiye kadar yapılan çalışmalarda sadece patates ortamı besi yeri olarak kullanılmıştır. Bu bölümde farklı atık maddeler besi ortamı olarak kullanılıp *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile hidrojen üretim verimleri ve hızları incelenmiştir. Deneylerde kullanılmak üzere farklı besi ortamları olarak peyniraltı suyu, melas ve patates ortamları seçilmiştir.

Mikroorganizma saklama koşulları, uzun periyotta çoğalma ve hidrojen üretim performansının değişmemesi için önemlidir. Bu amaçla kullanılan üç farklı saklama yöntemi Bölüm 5.2.2’de anlatılmıştı. İlk olarak canlandırma ortamından patates ortamına aktararak +4°C’de saklanan kaynaktan mikroorganizma alınarak ölçek büyütme aşamaları gerçekleştirilmiştir. İkinci olarak havasız koşullarda steril edilen gliserin ortamına aktarılan kaynaktan alınmış ve son olarak da süte aktararak +4 °C’de saklanan kaynaktan alınan mikroorganizmanın farklı besi ortamlarında performansları incelenmiştir.

Farklı besi ortamlarında hava çalkalamalı inkübatörde, yapılan seri kesikli deneyler Çizelge 6.14’de verilen koşullarda gerçekleştirilmiştir.

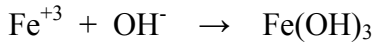
Çizelge 6.14 *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile farklı kaynak ve farklı besi ortamı deneyleri işletim koşulları

Sıcaklık, °C	Reaktör hacmi,ml	Karıştırma hızı, devir/dk
28	500	150

6.5.2.3.1 Besi ortamlarının hazırlanması

Mikroorganizma aktarılmasından önce atık maddelere bazı ön işlemlerin uygulanması gerekmektedir. Besi ortamlarının hazırlanmasında uygulanan işlemler aşağıda açıklanmıştır:

Melasa uygulanan ön işlemler: Deneylerde kullanılan melas Ankara Şeker fabrikasından temin edilmiştir. 250 gram melas tartılarak üzerine 290 ml damıtık su eklenmiş ve melasın su içerisinde tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Bu sırada melas içerisinde bulunan Fe^{+3} iyonlarının $\text{Fe}(\text{OH})_3$ halinde çökmesi sağlanmıştır.



Seyreltilen çözelti 6000 devir/dk'da 20 dk santrifüjlenerak, melas içerisinde bulunan ve suda çözünmeyen safsızlıklar, şeker üretim prosesi sırasında oluşan köpük ve melasın suda çözünmesi ile oluşan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ çökeleği uzaklaştırılmıştır.

Melasın içeriği sakkarozu glikoz ve fruktoza dönüştürmek için çözeltinin pH'ı 6M H_2SO_4 ile oda sıcaklığında 3'e ayarlanmıştır. Daha sonra 60 °C sıcaklıktaki inkübatörde 40 devir/dk karıştırma hızında 1 saat hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. Çözelti oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra çökmenin tamamlanması için +4 °C'de 3 gün bekletilmiştir.

Peyniraltı suyu: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesinden temin edilen peyniraltı suyu, deneylerde kullanılmadan önce ilk olarak proteinlerinin çöktürülmesi amacıyla 15 dk 121°C'de otoklavlanmıştır. Daha sonra ortam süzgeç kâğıdından geçirilerek çökeleğinden ayrıştırılmıştır. Reaksiyon şişelerine anerobik koşullarda eklenen ortam, tekrar otoklavlanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Kimyasallı patates ortamı: Daha önceki deneylerde kullanılan patates ortamından farklı olarak uygulanan ortam, DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell

Cultures) besi ortamı kataloğundan 411 numaralı besi ortamıdır. Kullanılan patates ortamının içeriği Çizelge 6.15’de verilmiştir.

Çizelge 6.15 Kimyasallı patates ortamı içeriği

Madde	Miktar
Taze patates, soyulur ve küçük parçalara ayrılır.	200 g
Glikoz	6 g
CaCO ₃	2
Resazurin	1
Saf su	1000 ml

Hazırlanan patatesler ve CaCO₃ 1000 ml saf su ile karıştırılarak 30 dk 121 °C’ de otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıkartılan karışım süzülerek diğer maddeler eklenmiş ve azot geçirilerek ortamdaki oksijen uzaklaştırılmıştır. Daha sonra ortam tekrar 20 dk 121°C’de otoklavlanarak kullanıma hazır hale gelmiştir.

Patates ortamı: Kullanılan patates besi ortamının hazırlanışı Bölüm 5.2.1’ de anlatılmıştır.

6.5.2.3.2 Kaynak olarak patates ortamı kullanıldığı durumda farklı besi ortamlarında hidrojen üretimi

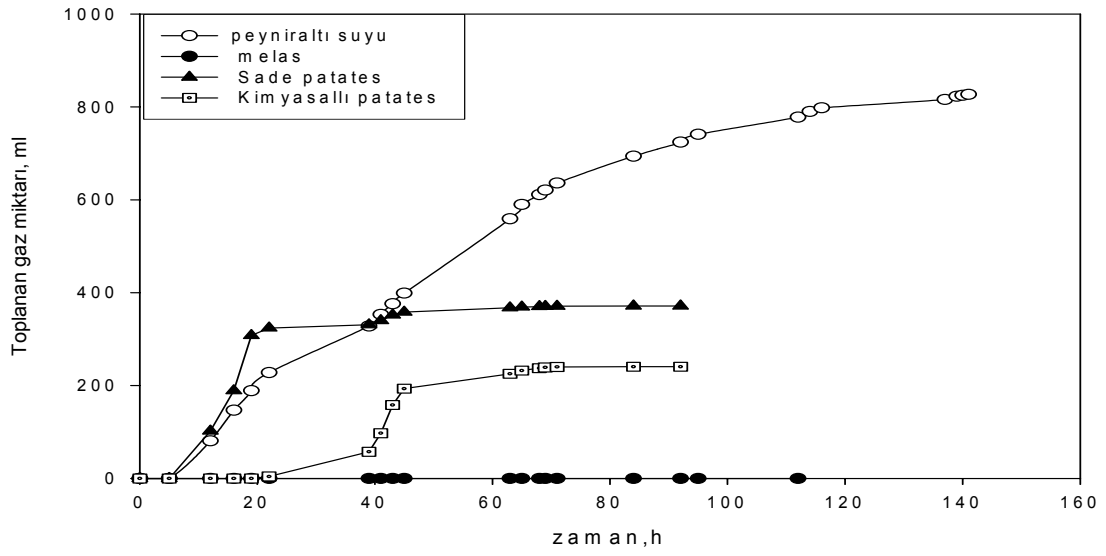
İlk olarak patates kaynağından alınarak dört farklı besi ortamına yapılan aktarımlarda hidrojen üretim verimleri incelenmiştir. Bu amaçla üç haftalık *Clostridium butyricum* mikroorganizması aktararak 4 °C’de saklanan patates ortamı kullanılmıştır. Kaynaktan 1.5 ml alınarak ilk ölçek büyütme basamağı olan 5 ml’lik patates ortamına aktarılmış ve 24 saat 28 °C’de inkübe edilmiştir. Daha sonra ikinci ölçek büyütme basamağı olan 50 ml’lik patates ortamına aktarım yapılmış ve aynı şekilde 24 saat 28 °C’de inkübe edilmiştir. Dört farklı ortamdan pH ayarı yapılmaksızın azot geçirilmiş ve tıpa ile

kapatılarak anaerobik koşullar sağlanmıştır. Tüm ortamlara 50 ml'lik kaynaktan 5 ml aktarım yapılarak sıcaklığı 28 °C'ye ayarlanmış inkübatörde 150 devir/dk karıştırma hızında deneyler gerçekleştirilmiştir. Aktarım yapılmış besi ortamları Şekil 6.64'de gösterilmiştir.

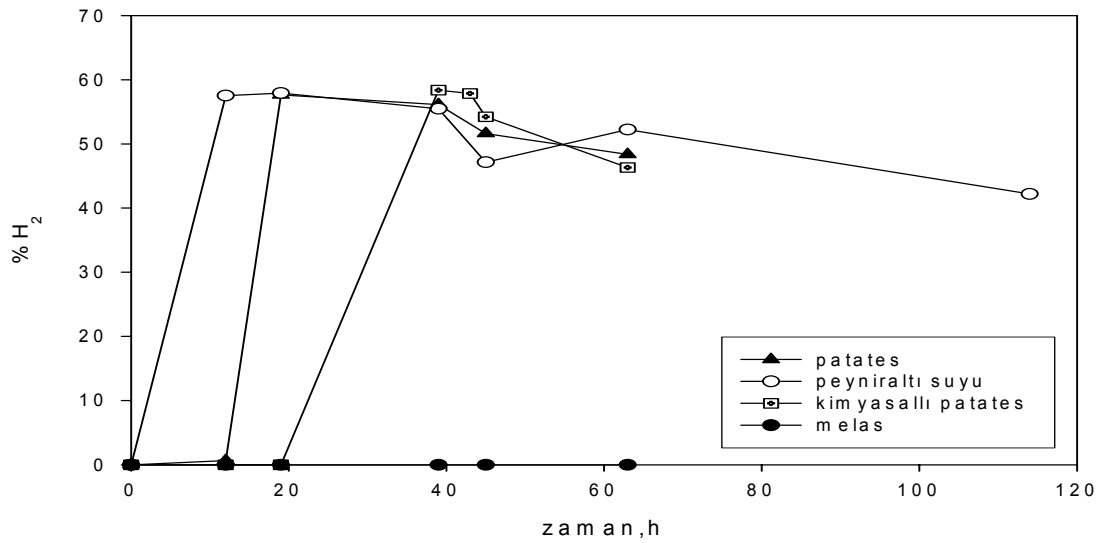


Şekil 6.64 Farklı besi ortamları: **a.** Patates ortamı **b.** Kimyasallı patates ortamı **c.** Melas **d.** Peyniraltı suyu

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde peyniraltı suyu ile üretilen gaz miktarı diğer ortamlara göre 2.5 kat daha fazladır. Diğer ortamlar da 69–92 saat sonunda gaz üretimi dururken, peyniraltı suyu ile yapılan çalışma da ancak 141 saat sonunda gaz üretimi sona ermiştir. Melas ortamı ile yapılan çalışmada hiçbir gaz çıkışı gözlenmemiştir. Bunun nedeni olarak melasın pH değerinin çok düşük (~3) olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Patates ortamlarında ise hiçbir kimyasal eklenmemiş patates ortamında, kimyasallı patates ortamına göre %30 daha fazla gaz miktarı elde edilmiştir (Şekil 6.65). Bu da patates ortamı ile yapılan çalışmayı, daha ekonomik hale getirmektedir. Yapılan analizler sonucunda tüm besi ortamlarının % H₂ değerleri birbirine yakın değerler arasındadır (Şekil 6.66). Ancak kimyasallı patates ortamında üretilen gaz miktarı düşük olmasına rağmen hidrojen yüzdesi diğer ortamlara göre en yüksek değer olan % 60 değerine ulaşmıştır.



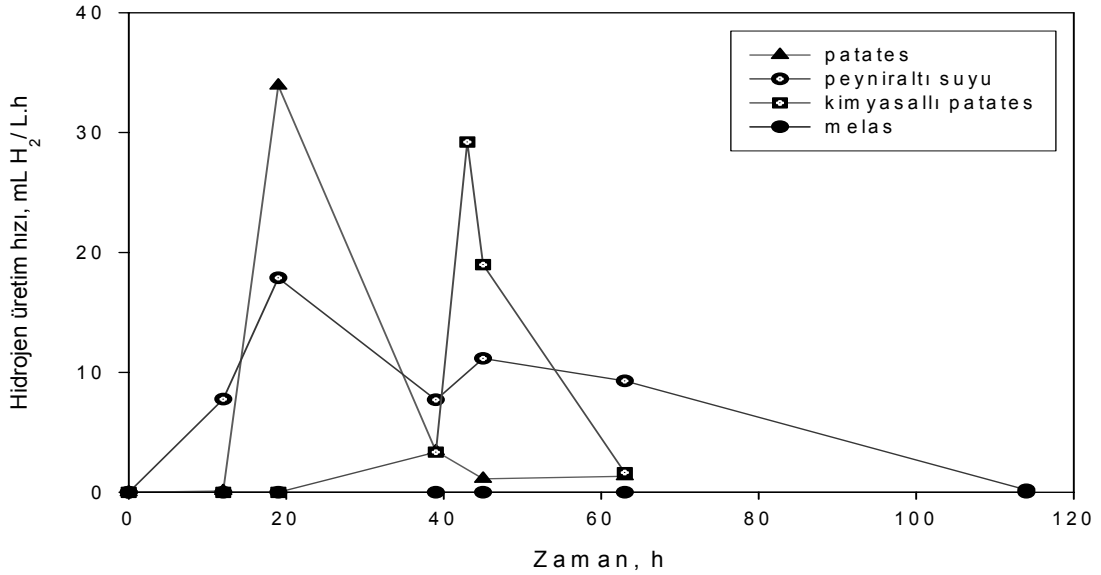
Şekil 6.65 Farklı besi ortamlarında patates kaynağının ile oluşan gaz miktarı sonuçları



Şekil 6.66 Farklı besi ortamlarının toplam gaz miktarındaki yüzde H₂ değerleri

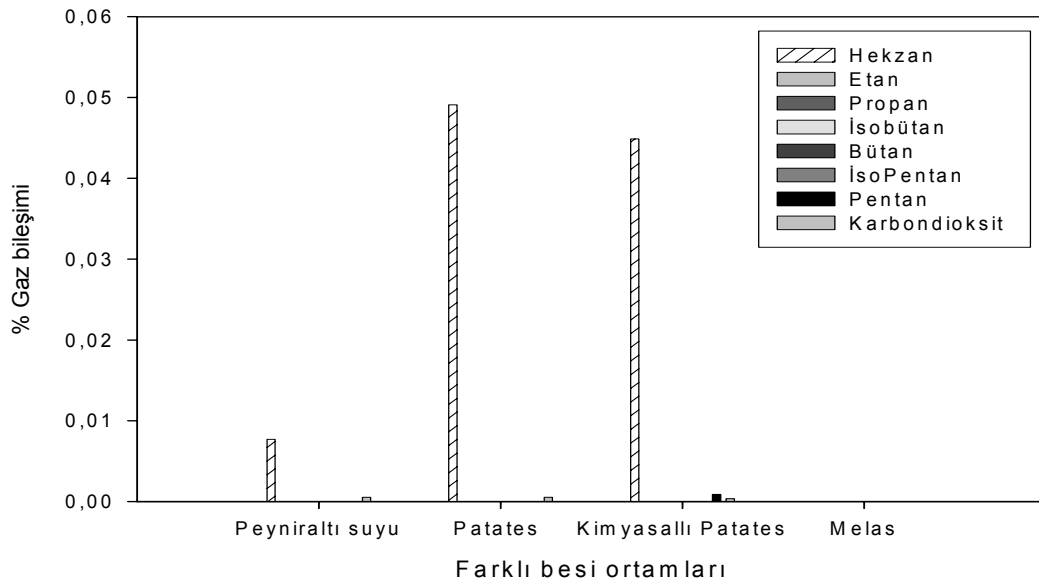
Farklı besi ortamlarında yapılan denemelerde hidrojen üretim hızları karşılaştırıldığında en yüksek değer patates ortamı ile yapılan çalışmada bulunmuştur (Şekil 6.67). En fazla gaz oluşumu gözlenen peyniraltı suyunda ise hidrojen üretim hızı patates ortamına göre 2 kat daha azdır. Bunun nedeni patates ortamında daha az hidrojen üretilmesine rağmen, ilk 20 saatlik fermantasyon süresinde patates ortamında daha yüksek miktarlarda gaz üretilmesi, prosesin gecikme süresinin daha az olması ve gaz karışımı içerisindeki hidrojen yüzdesinin peyniraltı suyundaki ile hemen hemen aynı olmasından

kaynaklanmıştır. Kimyasallı patates ortamının içerisine eklenen glikoz miktarından dolayı % H_2 değerleri ve doğal olarak hidrojen üretim hızı değerleri iyi sonuç vermektedir. Ancak hiçbir ek madde eklememiş patates ortamında gaz üretim hızının daha fazla olması patates ortamını avantajlı hale getirmektedir. Ayrıca kimyasallı patates ortamı gaz üretiminin en fazla olduğu peyniraltı suyu ile karşılaştırılacak olunursa hidrojen üretim hızı daha yüksek görünse de kimyasallı patates ortamında, gazın üretilmeye başlama süresinin daha uzun olması (~22 h) ve 40 saat sonra gaz üretim hızının artması bakımından peyniraltı suyunun daha verimli olduğu düşünülmüştür.



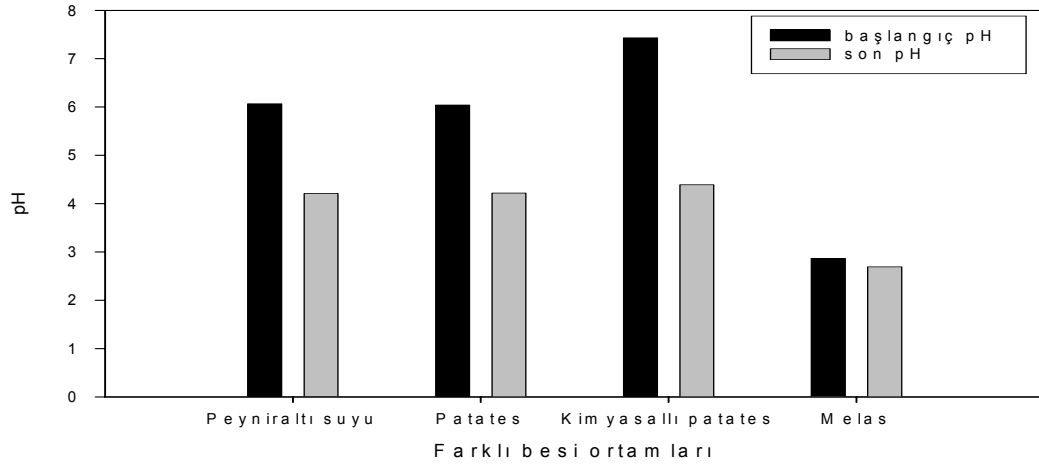
Şekil 6.67 Farklı besi ortamlarında patates kaynağı ile zamanla hidrojen üretim hızları değişimi

Farklı besi ortamlarında toplanan gazlarda yapılan GC analizlerinde FID dedektörü kullanıldığı için diğer organik bileşimlerin de bileşimleri hesaplanmıştır (Şekil 6.68). Yapılan sonuçlarda metan ve diğer bileşiklerin yüzdeleri eser miktarda tespit edilmiştir. Özellikle metan oluşumunun gözlenmemesi metogenlerin oluşarak hidrojen üretimini engellemediğini göstermesi bakımından olumlu bir sonuçtur. Sang *et al.* (2003), ısı etkisi uygulamadıkları örneklerde % 70 metan üretimi gözlemişlerdir. Bu da hidrojen üretiminin engellenmesine neden olmuştur.



Şekil 6.68 Patates kaynağından aktarılan farklı besi ortamlarında oluşan diğer gaz yüzdeleri

Ortamlara aktarım yapılmadan önce 5 ml örnek alınarak ilk pH değerleri tespit edilmiştir. Fermantasyon sonunda yine ortamlardan örnekler alınarak pH değişimini görmek amacıyla son pH değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlardan ilk değerine göre pH'ı en fazla düşen ortam kimyasallı patates ortamı olmuştur. Bu beklenen bir sonuçtur. Çünkü kimyasallı ortama eklenen glikoz ile mikroorganizmaların daha iyi çoğalmasına olanak sağlanmış ve % H_2 değeri en yüksek değerlere ulaşmıştır. Bu doğrultuda 92 saatlik fermantasyon sonunda pH'ı 3.04 değer düşmüştür. Peyniraltı suyu ve patates ortamının fermantasyon süreleri farklı olmasına rağmen pH düşüşleri aynı değerdedir (Şekil 6.69). Çizelge 6.16'da fermantasyon sonucunda farklı besi ortamlarından alınan sıvı örnekler ile yapılan analiz sonuçları verilmiştir. Analiz sonuçlarından da görüldüğü gibi patates ve peyniraltı suyu ortamlarında pH değerlerindeki benzer orandaki düşüşler, üretilen bütirik asit ve asetik asit değerlerinin birbirine yakın değerlerde olmasından kaynaklanmıştır.



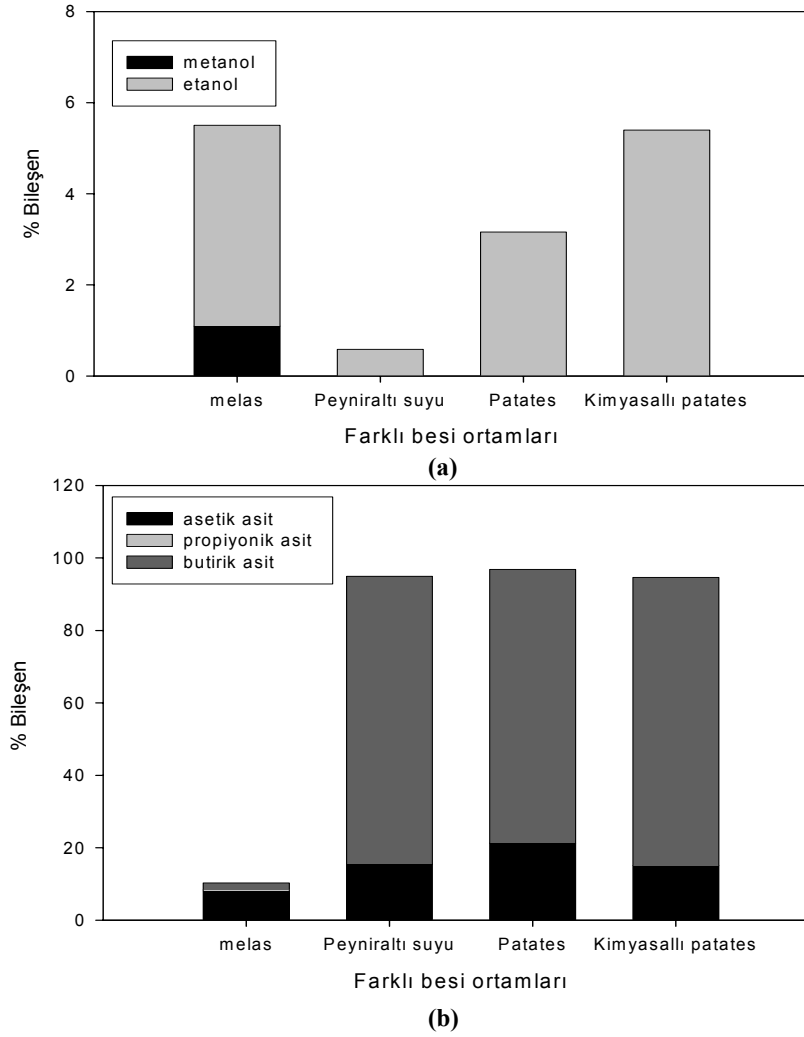
Şekil 6.69 Farklı besi ortamlarının başlangıç ve son pH değerleri

Sıvı ortamda yapılan organik asit ve alkol analizlerinde en yüksek B/A oranı kimyasallı patates (5.284) ve peyniraltı suyu (5.145) ortamlarında elde edilmiştir. Kimyasallı patates ortamında meydana gelen yüksek miktardaki pH düşüşüne % 79.54 bütirik asit üretiminin neden olduğu düşünülmektedir. Ancak kimyasallı patates ortamında oluşan etanol miktarı diğer ortamlarda elde edilen değerlerden daha yüksektir (% 5.4). Etanol oluşumu sırasında, asetik asit hidrojen ile tepkimeye girerek üretilen hidrojenin tüketilmesine neden olmasından dolayı Şekil 6.65'te görüldüğü gibi gaz oluşumu patates ve peyniraltı suyuna göre daha az miktarlara ulaşmıştır. En yüksek gaz üretimi gözlenen peyniraltı suyunda (827 ml) ise üretilen etanol miktarı diğer ortamlara göre çok düşüktür. Bu sonuca paralel olarak üretilen bütirik ve asetik asit değerleri yüksek miktarlarda (%79.5 Bütirik asit, %15.45 Asetik asit) elde edilmiştir. Melas ortamında ise hiçbir gaz çıkışı ve çoğalma gerçekleşmediği için üretilen organik asit değerleri de düşük seviyelerdedir. Elde edilen sonuçların grafiksel gösterimi Şekil 6.70'de verilmiştir.

Çizelge 6.16 Patates kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri

Besi ortamları	Metanol %	Etanol %	Aseton %	Asetik asit %	Propiyonik asit %	Bütirik asit %	B/A *
Melas	1.0923	4.4132	0	8.0613	0.3908	1.8170	0.2254
Peyniraltı suyu	0	0.5838	0	15.4545	0	79.5134	5.1450
Patates	0	3.1596	0	21.2850	0	75.5554	3.5497
Kimyasallı patates	0	5.4001	0	15.0523	0	79.5476	5.2847

B/A= %Butirik asit / %Asetik asit

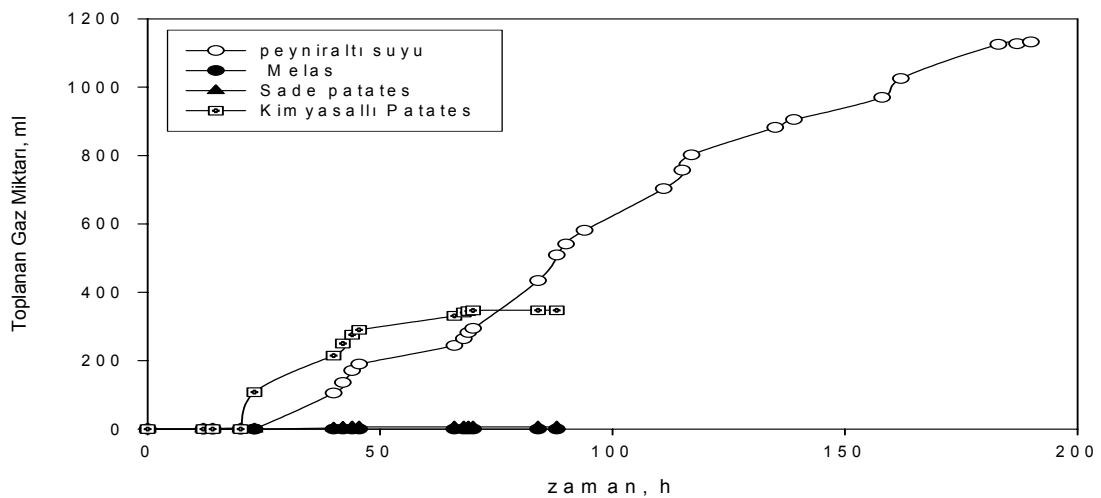


Şekil 6.70.a. Patates kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki alkol
b. organik asit yüzde değerleri

6.5.2.3.3 Kaynak olarak gliserin ortamı kullanıldığı durumda farklı besi ortamlarında hidrojen üretimi

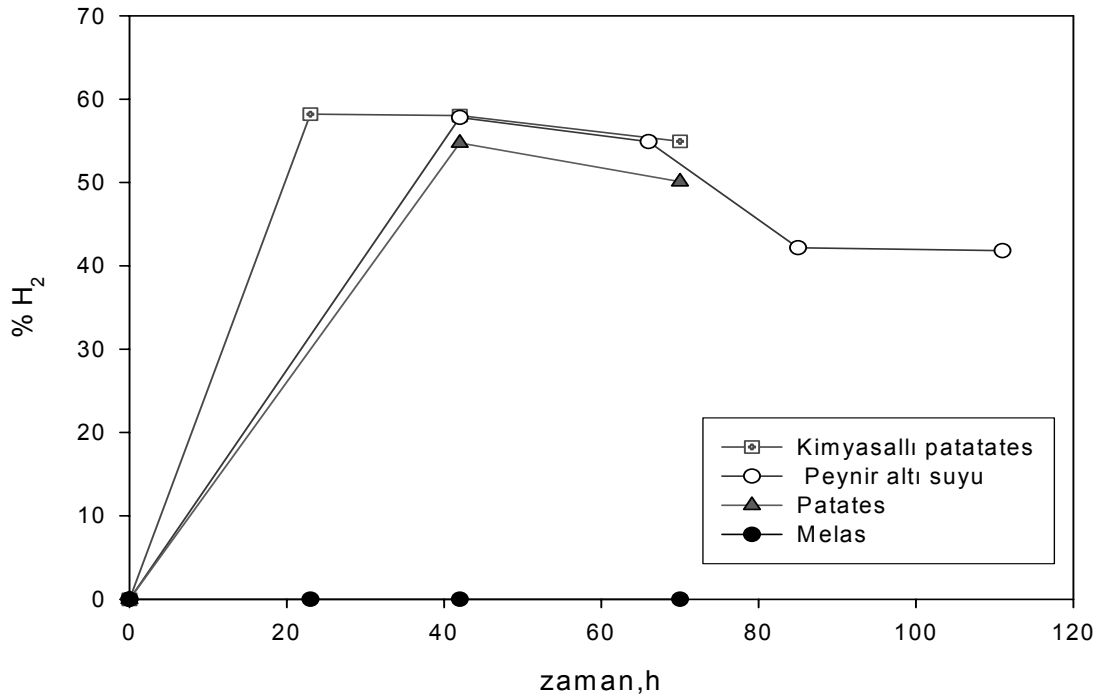
İlk olarak patates kaynağından alınarak yapılan aktarımlarda ikinci deneme olarak gliserin kaynağından alınan mikroorganizmanın dört farklı besi ortamında hidrojen üretim performansı incelenmiştir. Bu amaçla havasız olarak hazırlan ve 1:1 oranında *Clostridium butyricum* mikroorganizması aktarılarak -26 °C’de saklanan gliserin ortamı kullanılmıştır. Kaynaktan 1.5 ml alınarak ilk ölçek büyütme basamağı olan 5 ml’lik patates ortamına aktarılmış ve 24 saat 28 °C’de inkübe edilmiştir. Daha sonra ikinci ölçek büyütme basamağı olan 50 ml’lik patates ortamına aktarım yapılmış ve aynı şekilde 24 saat 28 °C’de inkübe edilmiştir. Tüm ortamlara 50 ml’lik kaynaktan 5 ml aktarım yapılarak sıcaklığı 28 °C’ye ayarlanmış inkübatörde 150 devir/dk karıştırma hızında deneyler gerçekleştirilmiştir.

Gliserin ortamından alınarak yapılan bu deneyde patates ortamında olduğu gibi toplam gaz üretimi bakımından en yüksek değere peyniraltı suyu ile ulaşılmıştır. Patates kaynaklı yapılan aktarımda patates besi ortamı ile 380 mL gaz üretilirken, bu çalışmada sadece 6.4 mL gaz toplanabilmiştir. Kimyasallı patates ortamı ise kaynağa daha kolay adapte olarak diğer deneye göre daha yüksek miktarda gaz üretimi gerçekleştirmiştir. Melas ortamında ise 70 saat boyunca gaz çıkışı gözlenememiştir (Şekil 6.71).

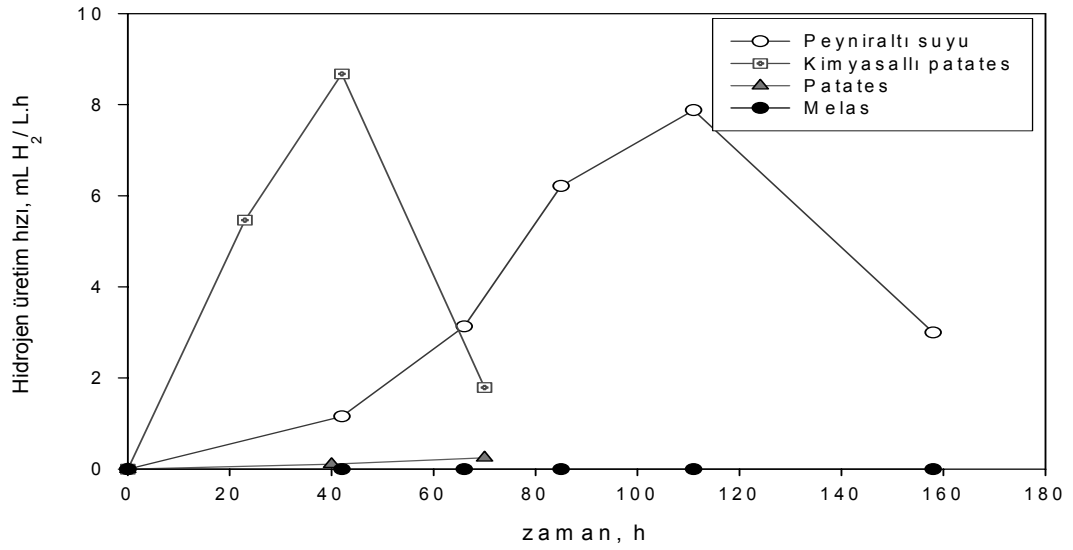


Şekil 6.71 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarındaki toplanan gaz miktarları

Belli zamanlarda toplanan örneklerde yapılan analizlerde maksimum hidrojen yüzdesi % 58 olarak peyniraltı suyu ve kimyasallı patates ortamında elde edilmiştir (Şekil 6.72). Hidrojen üretim hızları kıyaslandığında ise yine en yüksek hidrojen üretim hızı bu iki ortamda elde edilerek kimyasallı patates ortamı için 8.6 mL H₂/L.h ve peyniraltı suyu için 7.8 mL H₂/L.h bulunmuştur (Şekil 6.73). Üretilen toplam gaz miktarları göz önüne alındığında bu sonuçların çıkması doğaldır. Ancak peynir altı suyu hiçbir işlem görmemiş saf atık olarak kullanıldığından dolayı kimyasallı patates ortamına göre daha avantajlı ve ekonomik olmaktadır. Gliserin kaynağından alınarak yapılan bu deneylerde elde edilen veriler patates kaynağına göre kıyaslandığında, patates kaynağında üretim hızları maksimum 38 mL H₂/L.h değerine kadar ulaşırken gliserin ortamında bu değer en yüksek 8.6 mL H₂ /L.h olmuştur. Bu verilerden patates kaynağı ile hidrojen üretiminin daha verimli olduğu görülmektedir.

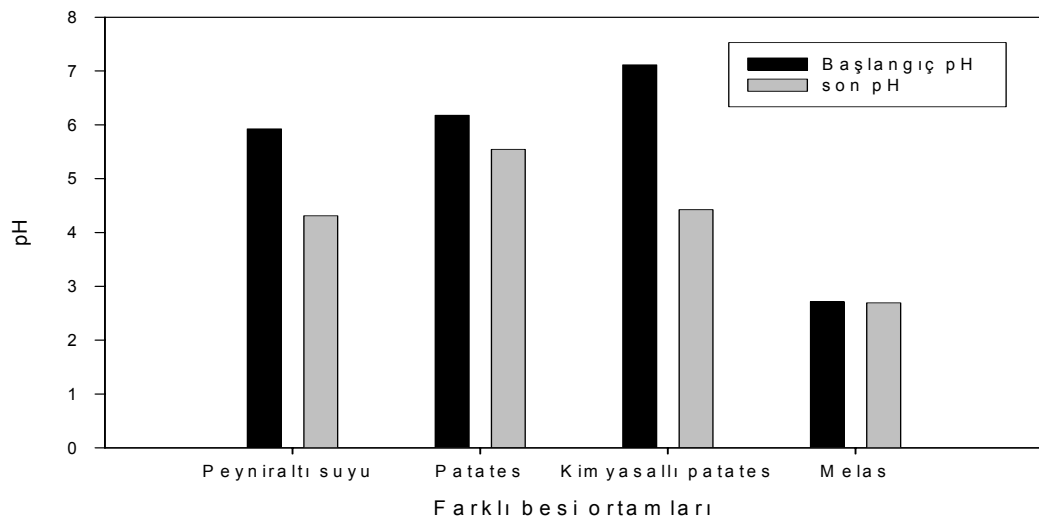


Şekil 6.72 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının toplam gaz miktarındaki yüzde H₂ değerleri



Şekil 6.73 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının H_2 üretim hızlarının kıyaslanması

Fermantasyon sonunda yine ortamlardan örnekler alınarak pH değişimini incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan anlaşılmıştır ki, ilk değerine göre pH'daki en fazla düşme, kimyasallı patates ortamında gözlenmiştir. Peyniraltı suyu ile üretilen hidrojen miktarı diğerlerine göre daha fazla olmasına rağmen 188 saatlik fermantasyon sonunda pH değerinde 1.6 değer düşüş gözlenmiştir (Şekil 6.74). Melas ortamında ise hiçbir gaz çıkışı gözlenemediğinden ve organik asitlerin üretimi gerçekleşemediğinden dolayı pH değerinde önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir.



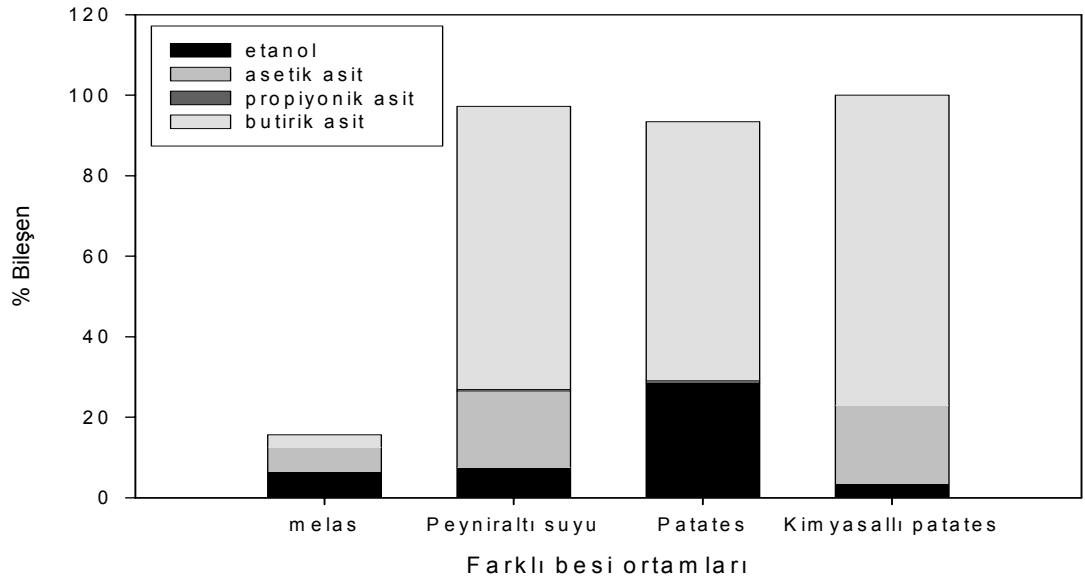
Şekil 6.74 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının başlangıç ve son pH değerleri

Sıvı ortamda yapılan organik asit ve alkol analizlerinde, patates kaynağında olduğu gibi en yüksek B/A oranı kimyasallı patates (3.96) ve peyniraltı suyu (3.71) ortamlarında elde edilmiştir (Çizelge 6.17). Ancak patates kaynağı ile yapılan çalışmada kimyasallı patates ve peyniraltı suyu ortamlarında B/A oranı 5.4–5.7 arasında iken gliserin ortamında daha düşüktür. Bu durum gliserin ortamında hidrojen ve organik asit oluşumunun patates kaynağına göre daha düşük olduğunu göstermektedir. Patates ve melas ortamında pH düşmesinin çok az olması, asetik ve bütirik asitin, çoğalma gerçekleşmediği için üretilmemesinden kaynaklanmıştır. Ayrıca patates ortamında elde edilen % 28 etanol miktarından dolayı hidrojen üretiminin gerçekleşmediği düşünülmektedir. Kimyasallı patates ortamında % 77 bütirik asit ve % 19.44 asetik asitin oluşması gerçekleşen yüksek orandaki pH düşüşünü açıklamaktadır. Ancak patates ortamında olduğu gibi en fazla gaz üretiminin gerçekleştiği peyniraltı suyu % 70 bütirik asit üretimi ile saf bir atık olduğu için, benzer sonuçlar elde edilen kimyasallı patates ortamına göre daha avantajlı olduğu düşünülmüştür. Feramantasyon sonunda dört ortamda da aseton ve metanol üretimi olmamıştır. Elde edilen sonuçların grafiksel gösterimi Şekil 6.75’de verilmiştir.

Çizelge 6.17 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri

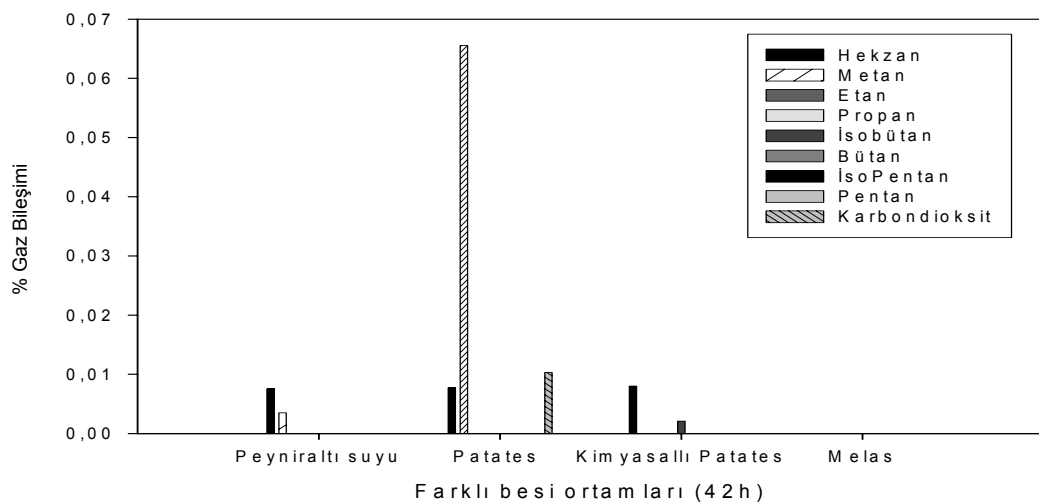
Besi ortamları	Metanol %	Etanol %	Aseton %	Asetik asit %	Propiyonik asit %	Bütirik asit %	B/A *
Melas	0	6.3740	0	6.1640	0	3.0861	0.5007
Peyniraltı suyu	0	7.5925	0	18.9315	0.3764	70.3163	3.7142
Patates	0	28.4570	0	0	0.8690	64.0558	-
Kimyasallı patates	0	3.5200	0	19.4489	0	77.0311	3.9607

* B/A= %Butirik asit / %Asetik asit



Şekil 6.75 Gliserin kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri

Gliserin kaynaklı farklı besi ortamlarında toplanan gazlarda yapılan GC cihazı ile FID dedektöründe yapılan analizlerinde, hesaplanan organik bileşiklerin bileşimleri Şekil 6.76'da verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda, gaz karışımı içerisinde metan, karbondioksit ve hekzan bileşikleri saptanmıştır. Diğer bileşenlerin yüzde değerleri 0'a yakın değerler olduğu için grafikte gözlenememiştir.



Şekil 6.76 Gliserin kaynağından aktarılan farklı besi ortamlarında oluşan diğer gaz yüzdeleri

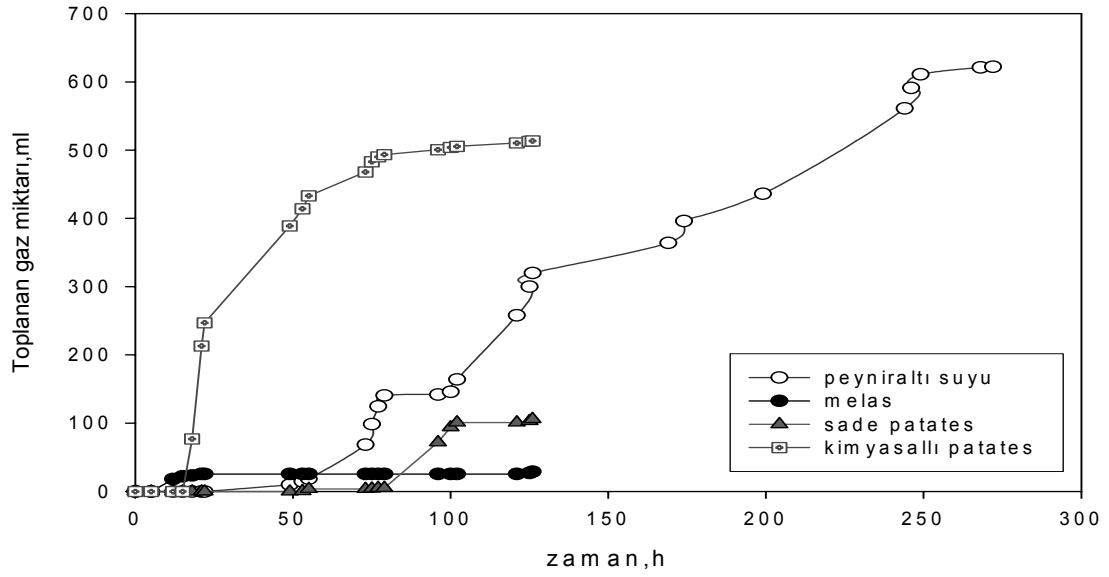
6.5.2.3.4 Kaynak olarak süt ortamı kullanıldığı durumda farklı besi ortamlarında hidrojen retimi

Daha nceki bölümlerde farklı besi ortamlarında patates ve gliserin kaynaklarının hidrojen üretimine etkisi araştırılmıştı. Bu bölümde bu seri deneylerin son adımı olan süt kaynağından aktarım incelenmiştir. Bu amaçla patates ortamında çoğaltılan *Clostridium butyricum* mikroorganizması serum şişelerinde anaerobik koşullar sağlanarak hazırlanmış süt ortamına aktarılmıştır. Süt ortamına aktarılan mikroorganizma iki hafta +4°C’de buzdolabında saklanmıştır. Ölçek büyütme adımlarına geçmeden bir gece önce, süt kaynağı buzdolabından çıkartılarak 28 °C’ de 24 saat inkübe edilerek mikroorganizma canlandırılmıştır. Daha sonra diğer deneylerde gerçekleştirilen şekilde ölçek büyütme aşamaları gerçekleştirilerek son olarak 500 ml’lik reaksiyon şişelerinde deneyler yapılmıştır.

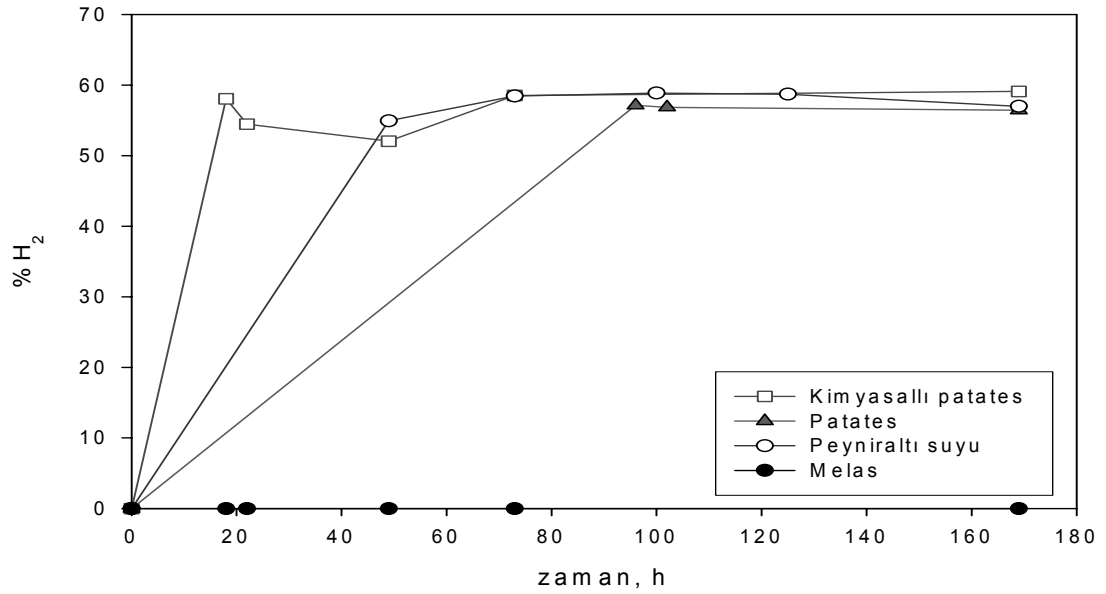
Süt ortamından alınarak yapılan bu deneyde patates ve gliserin ortamında elde edilen sonuçların kıyaslanması amacıyla toplam gaz üretimi değerleri elde edilmiştir (şekil 6.77). Diğer çalışmalarda olduğu gibi süt kaynağından aktarımda da en yüksek toplam gaz miktarına peyniraltı suyu ortamında ulaşılmıştır. Ancak diğer denemelere göre peyniraltı suyu ile üretilen gaz miktarının daha düşük olduğu saptanmıştır. Kimyasallı patates ortamı ile gaz çıkışı 18. saatten itibaren çıkmaya başlarken, peyniraltı suyu ile ilk gaz çıkışı ancak 49 saat sonra grlmştır. Oysa patates kaynaklı deneyde peyniraltı suyu ile 12. saatten itibaren gaz oluşumu gözlenmeye başlanmıştı. Buradan süt kaynaklı aktarımlarda prosesin gecikme zamanının (λ) arttığı söylenebilir. Patates ortamı ile elde edilen sonuçlarda, gliserin kaynağında olduğu gibi gaz çıkışı patates kaynağına göre çok az miktarda (101 ml) oluşmuştur. Buradan patates besi ortamının, patates kaynağında alınan mikroorganizmanın ortam koşullarına daha kolay adapte olup oğalabildiği sonucuna varılmaktadır.

Yapılan analizler sonucunda diğer deneylerdeki sonuçlarla benzer değerlere ulaşılmıştır. Bu deneyde de peyniraltı suyu ve kimyasallı patates ortamında en yüksek hidrojen

yüzdeleri hesaplanmıştır. Kimyasallı patates ortamında % 59 H_2 değeri elde edilirken bu değer peyniraltı suyu için %58.8 ve patates ortamı için ise % 57 'dir (Şekil 6.78).

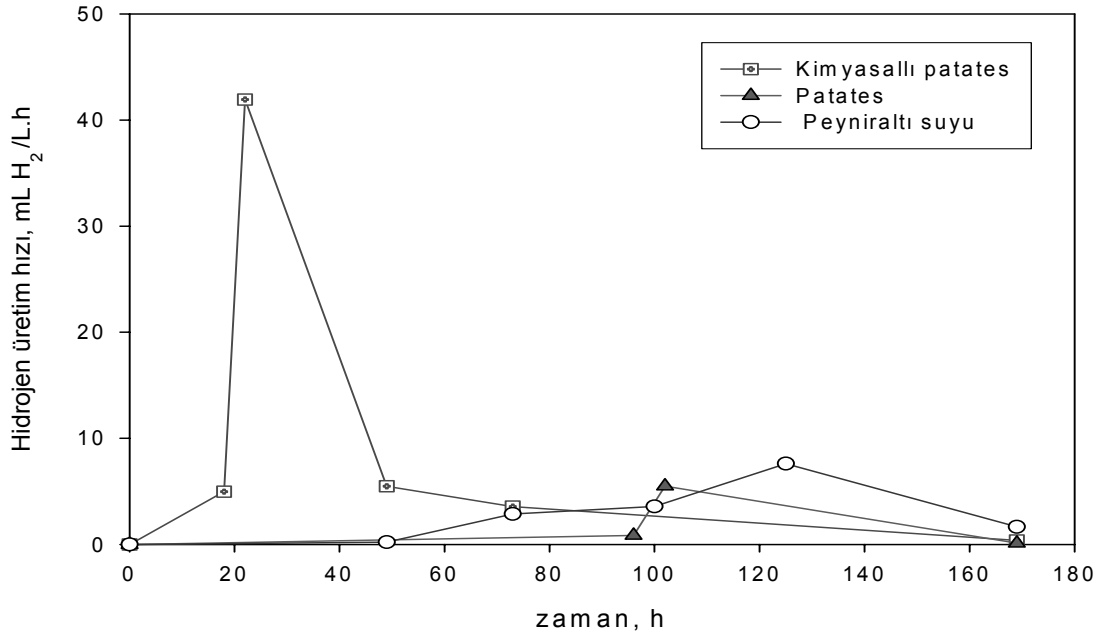


Şekil 6.77 Süt kaynağı kullanıldığı durumda farklı besi ortamlarındaki toplanan gaz miktarları



Şekil 6.78 Süt kaynağı kullanıldığı durumda farklı besi ortamlarının toplam gaz miktarındaki yüzde H_2 değerleri

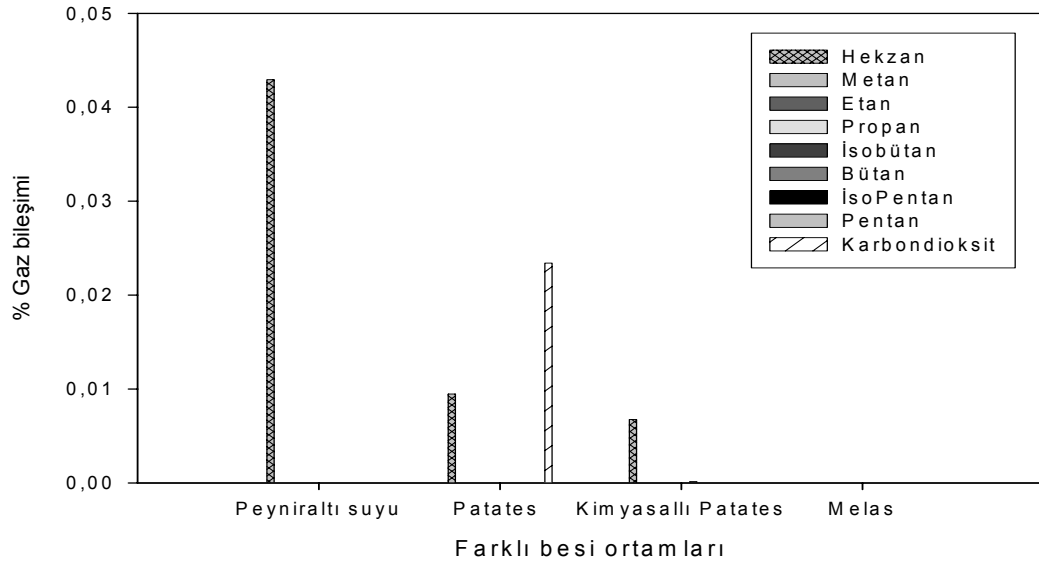
Analizler sonucunda hidrojen yüzde değerlerinin benzer olmasından dolayı uygun besi ortamının tespiti için hidrojen üretim hızlarına bakılmıştır (Şekil 6.79). Sonuçlar yorumlandığında yine diğer denemelerde elde edilen sonuçlarla benzer olarak kimyasallı patates ortamında en yüksek hidrojen üretim hızına ulaşılmıştır. Peyniraltı suyu ortamı ile üç farklı kaynaktan yapılan deneylerde hidrojen üretim hızları yaklaşık olarak aynı olup 8-10 mL H₂/ L.h değerleri arasındadır. Bu da peyniraltı suyunun çoğaltılan kaynaktan çok fazla etkilenmediği sonucuna ulaştırmaktadır. Patates ortamı ise patates kaynağı kullanılarak yapılan aktarımlarda hidrojen üretim hızı en yüksek değer olan 36 mL H₂/ L.h iken bu değer gliserin ve süt kaynağı ile yapılan aktarımlarda 1-5 mL H₂/ L.h değerine kadar düşmüştür.



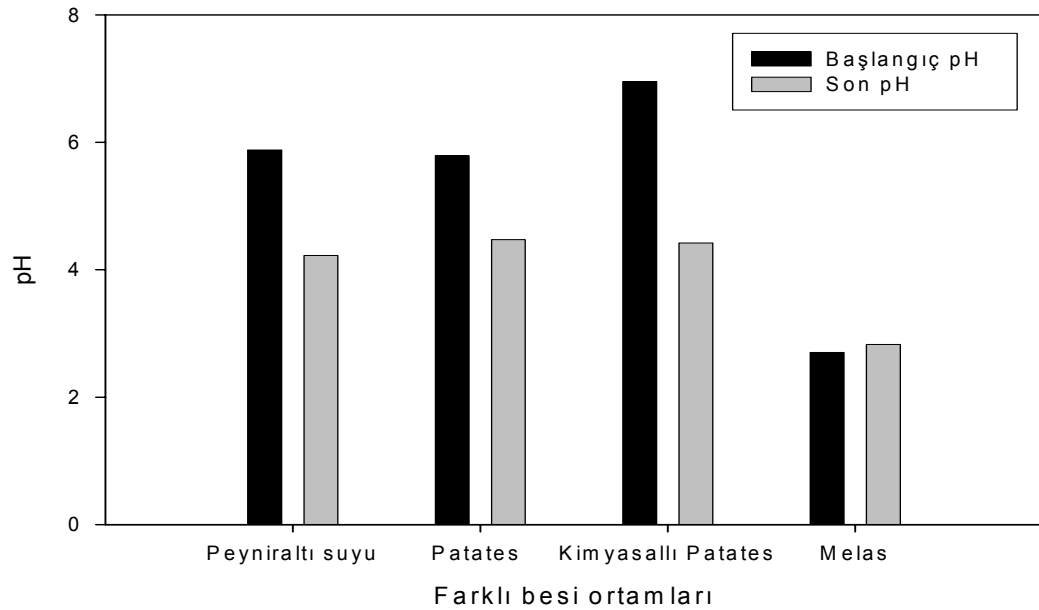
Şekil 6.79 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının H₂ üretim hızlarının kıyaslanması

Yapılan GC analizi sonucunda elde edilen diğer gazların yüzde değerleri Şekil 6.80’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlarda karbondioksit ve hekzan gazları eser miktarlarda gözlenirken, diğer bileşenlere rastlanamamıştır. Fermantasyon sonucunda örneklerin

son pH değerleri 4.47–4.22 değerlerine düşmüştür. Ancak melas ortamında mikroorganizma çoğalması gerçekleşemediği için pH değerinde önemli bir değişim olmamıştır. Diğer kaynaklardan aktarımlarda görüldüğü gibi kimyasallı patates ortamında en yüksek pH düşüşü gözlenmiştir. 126 saatlik fermentasyon sonucunda pH 6.95 değerinden 4.42 değerine kadar düşmüştür (Şekil 6.81).



Şekil 6.80 Süt kaynağından aktarılan farklı besi ortamlarında oluşan diğer gaz yüzdeleri



Şekil 6.81 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarının başlangıç ve son pH değerleri

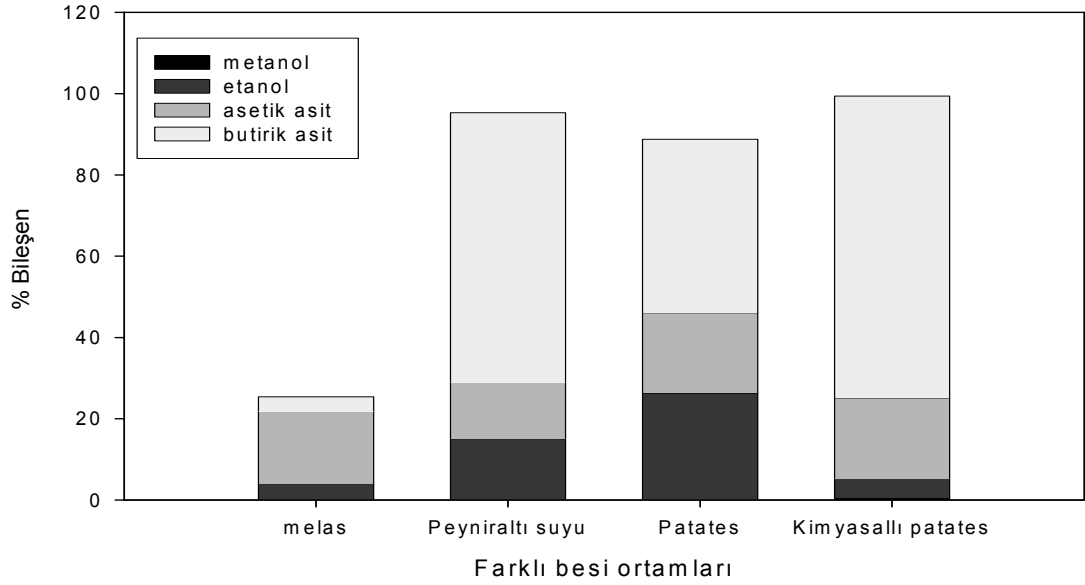
Sıvı ortamdan alınan örneklerde yapılan organik asit ve alkol analizlerinde, diğer iki kaynaktan aktarımdan farklı olarak en yüksek B/A oranına peyniraltı suyu (4.79) ile yapılan çalışmada ulaşılmıştır (Çizelge 6.18). Ancak diğer iki kaynak (patates ve gliserin) ile yapılan çalışmalarda elde edilen değerlerden daha düşük sonuçlar süt kaynağında kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde ulaşılmıştır. Gliserin kaynağında gözlendiği gibi patates ortamı ile yapılan hidrojen üretim çalışmasında elde edilen %26 etanol miktarından dolayı hidrojen üretiminin gerçekleşmediği düşünülmektedir. Kimyasallı patates ortamında % 74.27 bütirik asit ve % 19.82 asetik asitin oluşması, diğer kaynaklarda elde edilen sonuçları destekleyerek yüksek orandaki pH düşüşüne neden olmaktadır.

Farklı kaynak ve farklı besi ortamlarında gerçekleştirilen bu deneylerde üretilen organik asit değerleri kıyaslandığında patates kaynağı kullanılarak yapılan çalışmalarda B/A=5.2 ve %79 butirik asit ile en yüksek değerlere ulaşılmıştır. Bu doğrultuda patates kaynağını kullanarak hidrojen ve organik asit üretimi açısından daha verimli bir çalışma olacağı düşünülmüştür. Elde edilen sonuçların grafiksel gösterimi Şekil 6.82’de verilmiştir.

Çizelge 6.18 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri

Besi ortamları	Metanol %	Etanol %	Aseton %	Asetik asit %	Propiyonik asit %	Bütirik asit %	B/A*
Melas	0	3.9984	0	17.8776	0	3.5541	0.1988
Peyniraltı suyu	0	15.0762	0	13.8571	0.3764	66.4053	4.7921
Patates	0	26.2920	0	19.7864	0.8690	42.6811	2.1571
Kimyasallı patates	0.6042	4.6835	0	19.8238	0	74.2766	3.7468

* B/A= %Butirik asit / %Asetik asit



Şekil 6.82 Süt kaynağı kullanılarak farklı besi ortamlarında sıvı fazdaki organik asit ve alkol yüzde değerleri

Yapılan farklı besi ortamlarında hidrojen üretimi çalışmalarında elde edilen sonuçlardan peyniraltı suyu ile yapılan denemelerde üretilen gaz miktarları diğer ortamlara göre 3–4 kat daha fazladır ve hidrojen verimi % 60 değerlerine ulaşılmaktadır. Litratür çalışması sonucunda farklı besi ortamları ile yapılan çalışmalarda elde edilen % hidrojen ve hidrojen üretim hızları değerleri Çizelge 6.19’da verilmiştir. *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile glikoz ortamında gerçekleştirilen çalışmalarda diğer ortamlara göre daha yüksek değerler elde edilmiştir. Ancak atık maddeler ile hidrojen üretim çalışmaları daha ekonomik ve çevre dostu olmasından dolayı tercih edilirler. Verilen literatür sonuçlarından görüldüğü gibi peyniraltı ve melas ortamlarında, glikozun substrat olarak kullanıldığı deneylere yakın değerlerde hidrojen üretim hızı değerlerine ulaşılmıştır. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda kullanılan melas ortamında hidrojen üretimi gözlenememiştir. Bunun, melas ortamının pH değerinin çok düşük olmasından ve pH ayarı yapılmaksızın deneylerin gerçekleştirilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Peynir altı suyu ile yapılan çalışmalarda ise patates kaynağı ile en yüksek hidrojen üretim hızı 17 mL H₂/L.h olarak bulunmuştur. Bu değer Çizelge 6.19’da verilen değerlerden düşük gibi görülmektedir. Bu nedenle kullanılan atık maddelere hiçbir ek kimyasal madde (glikoz, tuz ya da vitamin çözeltisi vb.) katılmaksızın deneylerin gerçekleştirildiği düşünüldüğünde sonuçların başarılı olduğu değerlendirilmektedir.

Çizelge 6.19 Farklı mikroorganizma ve besi ortamlarında hidrojen verimi

Mikroorganizma	Substrat	Maksimum hidrojen üretim hızı, mL/L.h	% Hidrojen	Kaynak
<i>E. aerogenes</i>	Melas (2% sucrose)	138	60	Tanisho et al. (1994)
Karışım kültür	Şarap atık suyu	159	53–61	Yu et al. (2002)
<i>Thermoanaerobacterium</i>	Yiyecek atığı (6g VS/L)	-	55	Shin et al. (2004)
Karışım kültür	Evsel atıksu	-	23	Ginkel et al. (2005)
<i>Clostridium saccharoperbutylacetonicum</i>	Peynir altı suyu	141.5	-	Ferchichi et al. (2005)
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Glikoz	220	—	Zhang et al. (2006)
<i>Clostridium butyricum</i>	Glikoz	205	-	Fang et al. (2006)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> O.U.001	Zeytin karasuyu	11	-	Eroğlu et al. (2006)
Atıslardan elde edilen çamur	Melas	201.4	-	Ren et al. (2007)

7. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Karanlık fermantasyon yöntemi ile anaerobik bakteriler kullanılarak hidrojen üretim prosesi atık maddelerin değerlendirilmesi ve maliyetin düşürülmesi açısından önem taşımaktadır. Anaerobik bakteriler olan ve çalışmalarda kullanılan *Clostridium butyricum* ve *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizmalarının hidrojen üretimini etkileyen parametreler bulunmaktadır. Bunlar; pH, sıcaklık, karıştırma hızı, HRT, substrat derişimi vb. parametrelerdir. Hidrojen fermantasyonunu etkileyen bu parametrelerden en önemlisi pH'dır. *Clostridium butyricum* mikroorganizmasıyla yapılan pH kontrolsüz deneylerde, 27 saatlik fermantasyon sonunda pH'ın başlangıç pH değerinden 1–1.5 değer düştüğü gözlenmiştir. pH'ın düşmesinin sebebi üretilen organik asitlerdir. pH'ın hidrogenaz enziminin içerdiği Fe aktivitesini etkilemesinden dolayı pH'ın yüksek değerlerde azalması hidrojen üretimini düşürmektedir. Bu bilgiler ışığında pH'ın optimum değerinde kontrolünün gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan literatür araştırmasında, karanlık hidrojen fermantasyonu için uygun pH değeri 5–6 arasında belirlendiği görülmüştür.

Kontrol edilecek değişken ve pH kontrolünün gerekliliği belirlendikten sonra, sistemin dinamik davranışını incelemek amacıyla sistem tanımlama çalışmalarına geçilmiştir. Kontrol çalışmalarında ayarlanabilen değişken olarak baz akış hızı ve kontrol edilen değişken olarak pH seçilmiştir. Bu doğrultuda yapılan dinamik deneylerde, karanlık fermantasyon prosesinde gerçekleşen pH düşüşünü simule etmek için asit derişimi üzerinde denemeler gerçekleştirilmiş ve 0.1 M H₂SO₄'in uygun olduğu belirlenmiştir. Belirlenen asit derişiminde, farklı baz akış hızları ve derişimleri denenerek sistemi istenilen değerde sabit tutacak baz derişimi ve akış hızı değerleri, 0.3 M NaOH ve 0.085 ml/dk olarak bulunmuştur. Daha sonra kontrol parametrelerinin bulunması amacıyla sistemi tanımlayan parametrelerin bulunması gerektiğinden, patates besisi ortamında ve mikroorganizmalı besisi ortamında olmak üzere iki farklı işletim şartlarında deneyler gerçekleştirilmiştir. Her iki işletim şartlarında baz akış hızına pozitif ve negatif etkiler verilerek üç farklı yöntem (doğrusal regresyon, Smith ve eğri geçirme) ile parametreler hesaplanmıştır. Elde edilen parametrelerin birbiriyle uyuşmaması üzerine parametrelerin

Yinelemeli en küçük kareler (YEKK) yöntemi ile hesaplanmasına karar verilmiştir. Bu amaçla mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız patates ortamında gerçekleştirilen deneylerde, baz akış hızına kare dalga, rastgele ve ternary etkileri verilmiş ve bu etkilerin pH üzerine tepkileri incelenerek ARMAX tipi modelin parametreleri YEKK yöntemi ile hesaplanmıştır. Hesaplanan parametrelerden mikroorganizmalı ortamda elde edilen parametrelerin, prosesin dinamiğini daha iyi simule edeceği düşünülerek, bu doğrultuda kare dalga, rastgele ve ternary etkilere YEKK programında unutma çarpanı, kovaryans matris ve model mertebesine farklı değerler verilerek model sına testleri uygulanmıştır. YEKK yöntemi ile parametre kestiriminde en önemli unsurlardan biri unutma çarpanıdır. Geçmişteki girdi çıktı bilgilerinin kaç tanesinin parametre kestiriminde etkili olacağını belirleyen unutma çarpanı (λ) için $0.9 < \lambda < 1$ arasında değerler denenmiştir. Rastgele etki için $\lambda=0.98$, ternary ve kare dalga etki için $\lambda=0.96$ 'ın seçileceği sonucuna varılmıştır.

Daha önceki çalışmalarda üç farklı yöntem (Smith, doğrusal regresyon ve eğri geçirme) ile hesaplanan parametreler kullanılarak Cohen –Coon parametre hesaplama yöntemi ile PID parametreleri hesaplanmıştır. Sonuçlardan set noktasını en iyi takip eden ve ISE değeri en küçük bulunan PID parametre değerleri $K_c = 1.995$, $\tau_I = 1258.1$ s, $\tau_D = 189.4$ s olarak belirlenmiştir. Yapılan denemelerde seçilen en uygun üç farklı model ve kontrol parametreleri teorik PID programında işletilerek pH değişiminin verilen set noktasını takip etmesi gözlenmiştir ve ISE hata değerleri hesaplanmıştır. Program sonucunda hesaplanan ISE kriteri değerlerine bakılarak, sistemi en iyi tanımlayan ve kontrol eden model parametrelerinin Rastgele etki ($\lambda=0.98$, $n=2$, $P=1000$ koşullarında) ile elde edilen $a_1=-1.1837$, $a_2=0.1860$, $b_0=0.044$, $b_1=-0.0011$ değerleri olduğu bulunmuştur.

Hidrojen üretim çalışmalarında iki farklı mikroorganizma türü (*Clostridium butyricum* ve *Clostridium acetobutylicum*) ile kullanılmıştır. İlk olarak *Clostridium acetobutylicum* mikroorganizması ile mikroorganizma aktarımı, gaz toplama, reaktör işletimi ve sistem tanımlama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Hidrojen üretim sistemi tam olarak oturtulduktan sonra çalışmalara *Clostridium butyricum* mikroorganizması ile devam edilmiştir.

Clostridium butyricum mikroorganizması ile yapılan çalışmalarda ilk olarak, sistemin dinamik işletimi ile başlanmıştır. Sıcaklık, karıştırma hızı ve çözünmüş oksijen değerinin sabit tutulduğu 5 L'lik reaktörde kontrol yapılmaksızın pH değişimi incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda 27 saatlik fermantasyon sonucunda pH değerinin 4.6 değerinden 3.3 değerine düştüğü gözlenmiştir. Buna bağlı olarak düşük pH değerlerinde hidrogenaz aktivitesinin azalmasından dolayı pH'nın düşmesi ile birlikte belli bir süre sonra oluşan gaz miktarı da azalarak sabitlenmiştir. Yapılan gaz analizi sonucunda hidrojen gaz faz derişimi maksimum %59–61 değerine ulaşılmıştır. Fermantasyon boyunca sıvı fazda oluşan organik asitler pH düşüş eğrisine paralel doğrultuda ilerlemektedir. Beşinci saatten itibaren oluşmaya başlayan asetik ve butirik asit değerleri en yüksek derişime, 12. saatte ulaşarak butirik asit/asetik asit oranı 3.7 değerine ulaşmıştır ve 17. saatten itibaren hidrojen üretiminin azalmasıyla birlikte bu oran da düşerek sabitlenmiştir.

Çalışmaların ikinci adımında, patates ortamında hidrojen üretimi için en uygun pH değerinin bulunması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda farklı başlangıç pH değerlerinde denemeler gerçekleştirilmiştir. Beş farklı pH (4.5, 5, 5.5, 6, 6.5) değerinde yapılan denemelerde en yüksek gaz miktarı pH 6 değerinde gözlenmiştir. pH değeri düştükçe hidrojen üretim potansiyelinin ve gaz fazdaki hidrojen yüzdesinin azalış gösterdiği gözlenmiştir. En yüksek hidrojen yüzdesi pH 6.5 değerinde % 55 değerine ulaşmıştır. Diğer pH değerlerinde yüzde değerleri birbirine yakın değerler arasındadır (% 47–53). Hidrojen yüzdeleri birbirine benzer sonuçlar vermesine rağmen en yüksek hidrojen üretim hızına pH 6 değerinde ulaşılmıştır. Ancak üretilen organik asit değerlerine bakıldığında pH değeri yükseldikçe üretilen asitlerin yüzde değerleri de artış göstermiş ve en yüksek B/A oranı 4.3 değeri ile pH 6.5 da ulaşılmıştır. Yapılan farklı başlangıç pH denemelerinde pH 6.5 değerinde, oluşan yan ürünlerin yüzdesi ve B/A oranının yüksek olmasına rağmen hidrojen üretim hızı, üretilen gaz miktarı ve reaksiyonun gecikme süresi göz önüne alındığında en uygun pH değeri olarak pH 6 seçilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında pH aralığının 5.5–6 değerleri arasında olması yapılan çalışmanın başarılı olduğunu göstermektedir.

Çalışmaların üçünü aşamasında, farklı besi ortamlarında hidrojen üretim verimi incelenmiştir. Bu amaçla peyniraltı suyu, melas, patates ortamı ve 6 g glikoz /L eklenen patates ortamı (kimyasallı patates) kullanılmıştır. Farklı besi ortamları çalışmalarına ek olarak deneylerde farklı kaynaktan (patates, gliserin ve süt) aktarımlar ile hidrojen üretim verimleri incelenmiştir.

Patates kaynağından aktarım yapılarak yapılan ilk denemede farklı besi ortamlarının performanslarına bakılmıştır. Elde edilen sonuçlardan en fazla gaz miktarı 827 ml olarak peyniraltı suyu ortamında elde edilmiştir. Patates ortamı ile yapılan deneyde üretilen gaz miktarının ve hidrojen üretim hızının, kimyasallı patates ortamından daha fazla olması prosesi daha ekonomik hale getirmektedir. Melas ortamında ise mikroorganizma üremesi ve gaz çıkışı gözlenememiştir. Bunun nedeni olarak melas ortamının pH değerinin düşük değerlere olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Toplanan gaz örneklerinde yapılan analizlerde gaz fazdaki hidrojen yüzdeleri bütün örneklerde birbirine yakın sonuçlar elde edilerek yaklaşık % 57–60 arasında bulunmuştur. Hidrojen üretim hızları açısından kıyaslandığında ise patates ortamı ile 33 mL/L.h ile en yüksek değere ulaşmıştır.

Gliserin kaynağında -26 °C’de saklanan mikroorganizma ortamından alınarak yapılan ikinci denemede, patates kaynağında olduğu gibi toplam gaz üretimi bakımından en yüksek değere peyniraltı suyu ile ulaşılmıştır. Peyniraltı suyu (1132 ml) ve kimyasallı patates (347 ml) ortamında patates kaynağından aktarıma göre toplam gaz miktarları daha yüksek olmasına rağmen hidrojen üretim hızları daha düşük değerlerde elde edilmiştir. Elde edilen veriler patates kaynağına göre kıyaslandığında, patates kaynağında üretim hızları maksimum 38 mL H₂/L.h değerine kadar ulaşırken gliserin ortamında bu değer en yüksek 8.6 mL H₂ /L.h değeri ile kimyasallı patates ortamındadır. Patates ortamında 70 saatlik fermentasyon boyunca ise yalnızca 6.4 ml gaz toplanabilmiştir. % 58 H₂ değeri ile patates ve kimyasallı patates ortamları aynı değerlere ulaşmıştır. Bu bakımdan % hidrojen verileri patates kaynağı ile benzer sonuçlar göstermesine rağmen, hidrojen üretim hızları bakımından kıyaslandığında patates kaynağı daha verimli olmaktadır.

Süt ortamından alınarak yapılan üçüncü deneyde süt ortamına aktarılan mikroorganizma + 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Diğer çalışmalarda olduğu gibi süt kaynağından aktarımda da en yüksek toplam gaz miktarına peyniraltı suyu ortamında ulaşılmıştır. Ancak diğer denemelere göre peyniraltı suyu ile üretilen gaz miktarının (622 mL) daha düşük olduğu saptanmıştır. Aksi şekilde kimyasallı patates ortamında ise gliserin ve patates kaynağında elde edilen sonuçlara göre en yüksek toplam gaz miktarına (513 mL) ulaşılmıştır. Süt kaynaklı yapılan denemelerde, tüm ortamlara için prosesin gecikme süresi artmıştır. Patates kaynaklı aktarımlarada 12 saat ve gliserin kaynaklı aktarımlarda 18 saat süren gecikme süresi gözlenirken, bu değer süt kaynağı için 49 saate kadar çıkmıştır. Bu da olumsuz bir sonuç olarak ortaya çıkmaktadır. Süt kaynağında, kimyasallı patates ortamı hem üretilen toplam gaz miktarı hem de hidrojen üretim hızı açısından öne çıkmaktadır.

Farklı kaynak ve farklı besi ortamlarında gerçekleştirilen bu deneylerde üretilen organik asit değerleri kıyaslandığında patates kaynağı kullanılarak yapılan çalışmalarda B/A=5.4 ve %79 butirik asit ile en yüksek değerlere ulaşılmıştır. Bu doğrultuda patates kaynağını kullanarak hidrojen ve organik asit üretimi açısından daha verimli bir çalışma olacağı düşünülmüştür.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde hiçbir ek madde ilave edilmediği ve en yüksek gaz miktarlarına ulaşıldığı için peyniraltı suyu ortamı diğer ortamlara göre öne çıkmaktadır. Özellikle prosesin gecikme süresinin diğer kaynaklara göre çok daha az olması ve üretilen asit yüzdesi sonuçlarının yüksek olmasından dolayı patates kaynağından aktarımın uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Hidrojen üretim proseslerinin, mikroorganizma çoğalmasına etki eden parametrelerden pH, sıcaklık ve substrat derişimlerinin kontroluna yönelik çalışmalar literatürde yer almaktadır. Ancak bu çalışmaların çoğu sistemdeki ticari kontrol edicilerle sağlanmaktadır. Bu kontrol ediciler genellikle geleneksel sabit katsayılı PID ya da ON/OFF kontrol ediciler olup, sistemin değişen işletim koşullarında başarıları zayıftır. Bu tez kapsamında yapılan sistem tanımlama ve kontrol parametrelerinin hesaplanması

ile daha etkili bir kontrolün gerçekleştirilmesi için ileriki çalışmalara ışık tutulmuştur. Bu açıdan yapılan çalışmalarda sistem tanımlama çalışmalarının gerçekleştirilmesi ve mikroorganizma kaynağının hidrojen üretimine etkisinin incelenmesi literatüre yeni bir bakış açısı getirmektedir. Ayrıca besi ortamlarının tamamen saf olarak kullanılması çalışmaya zgn bir yön kazandırmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alalayah, W.M., Kalil, M.S., Kadhum, A.A., Jahim, J. M. And Alauj, N.M. 2008. Hydrogen production using *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564). Int. Journal of Hydrogen Energy, 33, 7392-7396.
- Akay, B. 1998. Karıştırmalı kesikli biyoreaktörde optimum sıcaklığın doğrusal olmayan model öngörmeli kontrolü, Doktora Tezi. AÜ, Ankara
- Benemann, J.R. and Hallenbeck P.C. 2002. Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. Int J Hydrogen Energy 27:1185–1193
- Bequette, B.W. 2003. Process Control, Modeling, Design and Simulation. Prentice-Hall, 245–283, New Delhi.
- Chenlin, L. and Fang, H. 2007. Fermentative Hydrogen Production From Wastewater and Solid Wastes by Mixed Cultures. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 37, 1–39.
- Crabbe, E., Ferchichi, M., Gil, G., Hintz, W. and Almadidy, A. 2005. Influence of initial pH on hydrogen production from cheese whey. Journal of Biotechnology, 120, 402–409.
- Das, D. and Nath, K. 2004. İmprovement of fermentaive hydrogen production: various approaches. Appl. Microbiol. Biotechnol, 65: 520–529.
- Das, D. and Veziroğlu, N. 2001. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. Int. Journal of Hydrogen Energy, 26, 13–28
- Das, D. and Veziroğlu, N. 2008. Advances in biological hydrogen production processes. Int J Hydrogen Energy, 33, 6046 – 6057.
- Dincer, I., 2002. "Technical, Environmental and Exergetic Aspects of Hydrogen Energy Systems", International Journal of Hydrogen Energy 27, pp.265-285.
- Eroğlu, E. 2006. Hydrogen productin from olive mill wastewater by *Rhodobacter sphaeroides* O.U. 001. MSc Thesis in Chemical Engineering, Middle East Technical University, Ankara.

- Eroglu, E., Eroglu, I., Gunduz, U., Turker, L. and Yucel, M. 2006. Biological hydrogen production from olive mill wastewater with twostage processes. *Int J Hydrogen Energy*; 31:1527–35.
- Fang, H. and Liu, H., 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Biosource Technology*, 82, 87–93.
- Fang, H.H.P., Zhu, H. and Zhang T. 2006. Phototrophic hydrogen production from glucose by pure and co-culture of *Clostridium butyricum* and *Rhodobacter sphaeroides*. *Int J Hydrogen Energy*; 31:2223–30.
- Ferchichi, M., Crabbe, E., Gil, G., Hintz, W. And Almadidy, A. 2005. Influence of initial pH on hydrogen production from cheese whey. *Journal of Biotech.* 120, 402–409.
- Ginkel, S.V., Oh, S.E. and Logan, B.E. 2005. Biohydrogen production from food processing and domestic wastewaters. *Int J Hydrogen Energy*; 30: 1535–42.
- Hawkes, F.R., Dinsdale, R., Hawkes, D. L. and Hussy, I. 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization, *International Journal of Hydrogen Energy*, 27:1339-1347.
- Heyndrickx, M., VanSteenbeeck, A., Vos, P.de and Ley, L.de. 1986. Hydrogen gas production from continuous fermentation of glucose in a minimal medium With *Clostridium butyricum* LMG 1213d. *Syst Appl Microbiol* 8, 239–244
- İder, S. 2008. ‘Hidrojen Enerji Sistemi’. Web sitesi: www.metalurji.org.tr/dergi/dergi134/d134_101105.pdf . Erişim Tarihi: 03.03.2008
- Kapdan, I. and Kargı, F. 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 569–582.
- Karaosmanoğlu, F. ve Çetinkaya, M. 2008. Web sitesi: <http://hidrojenenerji.blogspot.com/2007/11/hidrojenin-ozellikleri.html>. Erişim Tarihi: 15.03.2008
- Kataoka, N., Miya, K. and Kriyama, K. 1997. Studies on hydrogen production by continuous culture system of hydrogen-producing anaerobic bacteria. *Water Sci. Technol.*, 36, 41-47.
- Khanal, S.K., Chen, W.H., Li, L. and Sung, S. 2004. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. *Int J Hydrogen Energy*; 29: 1123–31.

- Kim, M., Moon, K., Lee, I., Lee, T. and Sung, C. 1999. Hydrogen gas production by fermentation from sugars using *Clostridium butyricum* NCIB 9576. 27, 62–69.
- Kim, D., Han, S., Kim, S. and Shin, H. 2006. Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production. *Int J. Hydrogen Energy*; 31, 2158-2169.
- Koku, H., Eroglu, I., Gunduz, U., Yucel M. and Turker L. 2002. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*, *International Journal of Hydrogen Energy* 27 1315.
- Kumar, N. and Das, D. 2000. Enhancement of hydrogen production by *Enterobacter cloace* Ilt-BT 08. *Process Biochem.*, 35,589-593.
- Leung, D., Leung, M., Sumathy, K. and Ni, D. 2006. An overview of hydrogen production from biomass. *Fuel Processing Technology*, 87, 451–472.
- Li, Z., Wang, H., Tang, Z., Wang, X. and BAI, J. 2008. Effects of pH value and substrate concentration on hydrogen production from the anaerobic fermentation of glucose. *Int. J. of Hydrogen Energy*, 33, 7413–7418.
- Liu, G. and Shen, J. 2004, Effect Of Culture and Medium Conditions on Hydrogen Production From Starch Using Anaerobic Bacteria , *Journal of Bioscience and Bioengineering* ,98(4),251-256 .
- Ljung, L. 1987. *System Identification: Theory for the User*. Edition: 2, Prentice-Hall.
- Logan, B., Sang, O. and Ginkel, S.V. 2003. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. *Environmental Science and Technology*, 37, 5186-5190.
- Marlin, E. T. 2000. *Process Control: Designing Processes and Control Systems for Dynamic Performance*, Mc Graw Hill, 1–1017, New York
- Melis A. 2002. Green Alga Hydrogen Production: Progress, Challenges and Prospects. *International Journal of Hydrogen Energy* 27, p.1217–1228.
- Meyer, J., Kelley, B.C. and Vignais, P.M. 1978. Effect of Light on Nitrogenase Function and Synthesis in *Rhodospseudomonas capsulata*. *J. Bacteriol.* 136(1):201–8.

- Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F., Hawkswes, D. and Noike, T. 2000. Enhancement Of Hydrogen Production From Glucose By Nitrogen Gas Sparging , Bioresource Technol., 73, 59-65.
- Nandi, R. and Sengupta, S. 1998. "Microbial Production of Hydrogen: An Overview". Critical Rev Microbiol; 24(1):61–84.
- Nath, K. and Das, D., 2004. Improvement of fermentative hydrogen productions: various approaches. Appl. Microbial Biotechnol., 65, 520-529.
- Ramachandran, R. and Menon, R.K. 1998. An overview of industrial uses of hydrogen. Int. J. Hydrogen Energy; 23: 593–598.
- Ren, N.Q., Chua, H., Chan, S.Y., Tsang, Y.F., Wang, Y.J. and Sin N. 2007. Assessing optimal fermentation type for biohydrogen production in continuous-flow acidogenic reactors. Bioresour Technol; 98:1774–80.
- Shin, H.S., Youn, J.H., Kim, S.H. 2004. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. Int J Hydrogen Energy; 29: 1355–63.
- Skulberg, O.M. 1991. Biophotolysis, Hydrogen Production and Algal Culture Technology", IEA, Hydrogen Programme, Progress Report, 1997. Ltd. London.
- Smith, G.D., Ewart, G.D. and Tucker, W. 2002 .Hydrogen Production by Cyanobacteria, J. Hydrogen Energy, 17 (9), 695-698.
- Stephanopoulos, G. 1984. Chemical Process Control: An Introduction to Theory and Practice, Prentice-Hall.
- Sung, S., Dennis, A., Bazylinski and Raskin, L. 2003. Biohydrogen Production from Renewable Organic Wastes. Hydrogen, Fuel Cells, and Infrastructure Technologies, Progress Report
- Söterström, T. and Stoica, P. 1989. System Identification. Prentice Hall Ltd., New York.
- Tanisho, S. and Ishiwata, Y. 1994. Continuous hydrogen production from molasses by bacterium *Enterobacter aerogenes*. Int J Hydrogen Energy; 19: 807–12.

- Thauer, R., Jungerman, K. and Decker, K. 1977. Energy conversion in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews* ; 41:100–180.
- Tao, Y., Chen, Y., Wu, Y. and Zhou, Z. 2007. High hydrogen yield from a two step process of dark-photo fermentation of sucrose. . *Int J Hydrogen Energy*; 32: 200–206.
- Turner , J., Sverdrup, G., Mann, M., Maness, P., Kroposki, B., Ghiardi, M., Evans, R. and Blake, D. 2007. Renewable hydrogen production. *Int. Journal of Energy Research*,
- Türe, E. 2007. Güneş Enerjisi ile Hidrojen Üretimi. Web sitesi: <http://hidrojenenerji.blogspot.com/search?q=biyolojik> Erişim Tarihi: 03.04.08
- Veziroğlu, T. Nejat and Barbir Frano, 1998. *Hydrogen Energy Technologies*, United Nations Industrial Development Organization (UNIDO), Viena.
- Wakayama, T. and Miyake, J., 2001. Hydrogen from biomass, In: Miyake, J., Matsunaga, T., San Pietro A., (Editors), *Biohydrogen II- An approach to Environmentally Acceptable Tecnology*, Elsevier Science Ltd., Uk, 41-51.
- Valdez-Vazquez, I. and Poggi- Varaldo, H. M. 2008. Hydrogen production by fermentative consortia. *Renewable and Sustainable Energy Rewiews*
- Van Ginkel, S., Sung, S. and Lay, J.J. 2001. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. *Environ Sci. Technol*; 35(24), 4726–30.
- Vavilin, V.A., Rytow, S.V. and Lokshina, L.Y. 1995. Modelling hydrogen partial pressure change as a result of competition between the butyric and propionic groups of acidogenic bacteria. *Bioresour. Technol.*, 54; 171-7.
- Yokoi, H., Tokushige, T., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y. 1998. H₂ production from starch by mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*. *Biotechnol Lett*; 20:143–7.
- Yu, H., Zhu, Z., Hu, W. and Zhang, H. 2002. Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by mixed anaerobic cultures. *Int. J. Hydrogen Energy*, 27; 1359-65.
- Zhang , H., Bruns, M.A. and Logan, B.,E. 2006. Biological hydrogen production by *Clostridium acetobutylicum* in an unsaturated flow reactor. *Water research*, 40, 728–734.

EKLER

EK 1 Gaz Kromatogramları

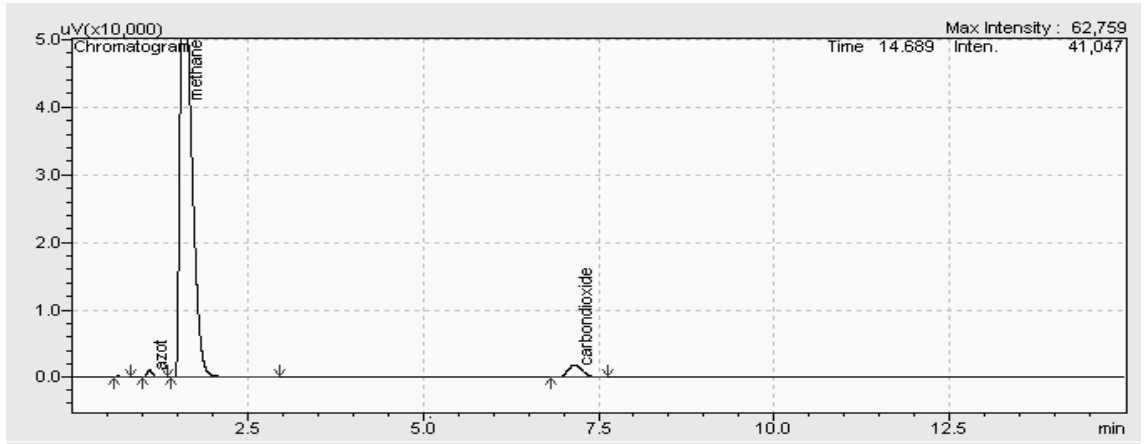
EK 2 Organik Asit Ve Alkol Analizi İçin Gaz Kromatogramı

EK 3 Yinelemeli En Küçük Kareler Yöntemi Matlab Programı

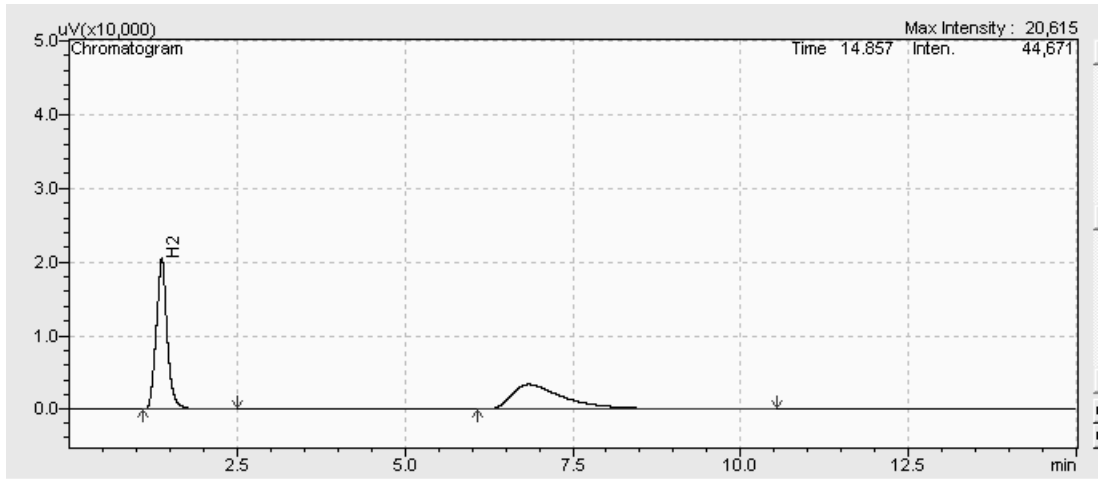
EK 4 Model Geçerlilik Sınama Testleri Matlab Programı

EK 5 Teorik PID Kontrol İçin Matlab ProgramıEK 6 Doğrusal Regresyon Yöntemi İçin Matlab Programı

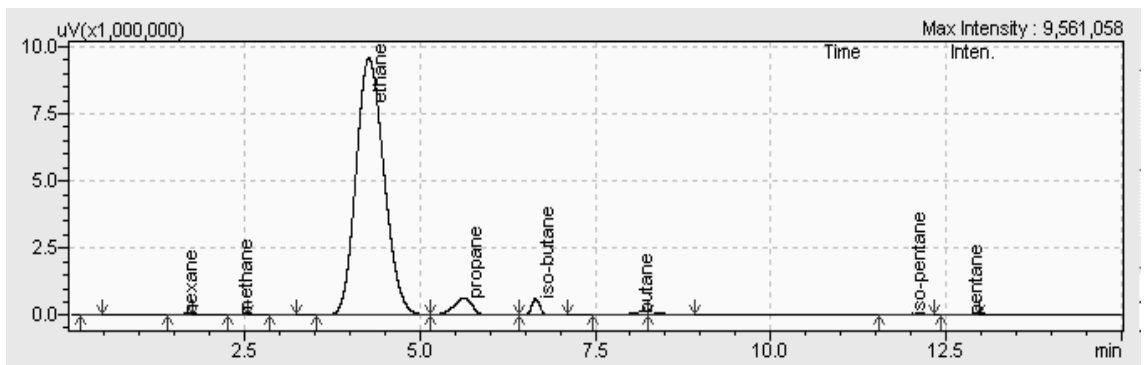
EK 1 GAZ KROMATOGRAMLARI



Şekil 1 TCD1 dedektör kromatogramı

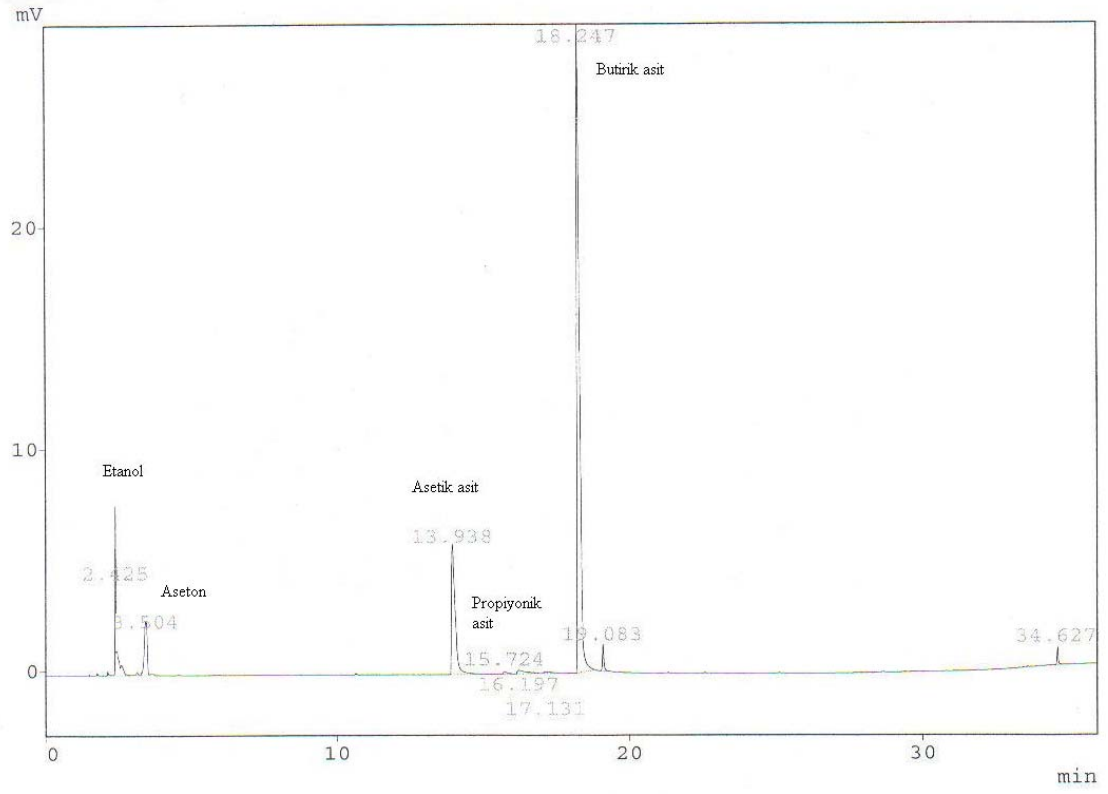


Şekil 2 TCD2 dedektör kromatogramı



Şekil 3 FID dedektör kromatogramı

EK 2 ORGANİK ASİT VE ALKOL ANALİZİ İÇİN GAZ KROMATOGRAMI



Şekil 1 Organik asit ve çözücü analizi GC kromatogramı

EK 3 YİNELEMELİ EN KÜÇÜK KARELER YÖNTEMİ MATLAB PROGRAMI

```
EN KÜÇÜK KARELER YÖNTEMİ *****

% ***** Recursive least square parameter estimation *****

% Sistem modeli :  $y(t)=B(q-1)/A(q-1)u(t-1) + e(t)$  (ARMAX)

clear
datakare;

for i=1:21902;
    r(i)=ph(i);
    w(i)=b(i);
end
y=r;
u=w;

teta=4;
L=teta;
nB=2;
nA=2;

% sp=0.5; % örnekleme aralığı
simutime=21901; % benzetim süresi

%t=0:sp:simutime;
itno=length(t);

%----- Başlangıç Koşulları -----

alfa=1000;
P=alfa*eye(L); % Kovaryans matrisi

for n=1:nA

    tetaest(:,n)=0.0*ones(L,1); % Parametre matrisi
    phi(:,n)=zeros(L,1); % Veri matrisi
    eps(n)=0; % Hata

end

% -----Parametre tahmini (Parameter estimation)-----

for n=nA+1:itno
    phi(:,n)=[-y(n-1:-1:n-nA) u(n-1:-1:n-nB)]';
    % y(n)=phi(:,n)'*teta
    eps(n)=y(n)-phi(:,n)'*tetaest(:,n-1);
    P=(P-(P*phi(:,n)*phi(:,n)')*P)/(1+phi(:,n)'*P*phi(:,n));

    tetaest(:,n)=tetaest(:,n-1)+P*phi(:,n)*eps(n);
    yk(n)=phi(:,n)'*tetaest(:,n);
end
```

```

    res(n)=y(n)-yk(n);
end

%-----Model geçerlilik sınaama testleri-----
%test

% ----- Grafikler-----

figure(1)

subplot(311)
plot(t,u)
axis([0 simutime 0 1])
%title('girdi sinyali (kare dalga)')
xlabel('zaman adımı')
ylabel('genlik')

subplot(312)
plot(t,y,'r',t,yk,'b')
axis([0 simutime 5 6])
%title('Gerçek ve kestirilen çıktı')
xlabel('zaman')
ylabel('pH')

subplot(313)
plot(t,tetaest)
axis([0 simutime -6 2])
%title('gercek parametrelre ve kestirilen parametreler')
xlabel('zaman adımı')
ylabel('paremetre')

```

EK 4 MODEL GEÇERLİLİK SINAMA TESTLERİ MATLAB PROGRAMI

```
%Model Geçerlilik Sınama Testleri (Model Validity Test)
%
%Sistem Modeli
%A(q-1)y(t)=B(q-1)u(t)+C(q-1)e(t)

%.....Maliyet fonksiyonu (loss function).....%

loss=(1/2)*sum(eps.^2);
Vn=sum(eps.^2)
M=mean(eps);
Co=cov(eps);

%.....Farkların (residual)korelasyonu .....%

Z=[];
resort= mean(res);
for TO=0:10
    for n=1:length(t)-TO
        C(n)=res(n+TO)-resort;
        R(n)=res(n)-resort;
        R2(n)=R(n)^2;
        H(n)=R(n)*C(n);
    end

    PD2=sum(R2);
    PAYDA=PD2;
    PAY=sum(H);
    z=PAY/PAYDA;
    Z=[Z z];
end

TAU1=0:10;

X=[];
P=zeros(1,10);
restop=sum(res);
utop=sum(u);
resort=restop/length(t);
uort=utop/length(t);

for TO=-10:-1
    C=[];
    for n=1:length(t)
        m=n+TO;
        if m<=0;
            c=P(m);
            C=[C c];
        else m>0;
            C(n)=res(n+TO)-resort;
        end
    end
end
```

```

        S(n)=u(n)-uort;
        S1(n)=S(n)^2;
        R(n)=res(n)-resort;
        R2(n)=R(n)^2;
        H(n)=S(n)*C(n);
    end

    PD1=sum(S1);
    PD2=sum(R2);
    PAYDA=(PD1*PD2)^0.5;
    PAY=sum(H);
    x=PAY/PAYDA;
    X=[X x];
end

for TO=0:10
    for n=1:length(t)-TO
        C(n)=eps(n+TO)-resort;
        S(n)=u(n)-uort;
        S1(n)=S(n)^2;
        R(n)=res(n)-resort;
        R2(n)=R(n)^2;
        H(n)=S(n)*C(n);

    end

    PD1=sum(S1);
    PD2=sum(R2);
    PAYDA=(PD1*PD2)^0.5;
    PAr=sum(H);
    x=PAY/PAYDA;
    X=[x X];

end

TAU2=-10:10;

figure(3)

subplot(311)
plot(TAU1,Z),hold on
J=length(TAU1);
plot(TAU1,0.0828*ones(J,1),TAU1,-0.0828*ones(J,1)),hold off

axis([0 10 -1 1.2])
xlabel('TO')
ylabel('correlation')
title('correlation function')

subplot(312)
plot(TAU2,X),hold on
K=length(TAU2);
plot(TAU2,0.0828*ones(K,1),'r',TAU2,-0.0828*ones(K,1),'r'),hold off

axis([-10 10 -0.8 1.2])
xlabel('TO')
ylabel('correlation')
title('correlation function')

```

EK 5 TEORİK PID KONTROL İÇİN MATLAB PROGRAMI

```
clear
mokare;

% actual system parameters

A=[-1.1837 0.1860];
B=[0.044 -0.0011];

C=[1];
nA=2;
nB=2;
nC=1;

%Cohen-coon parametreler
KC=1.995;
KI=1258;
KD=189;

% reference Input

sp=60;
simutime=559*60;
itno=length(t);

% for i=1:21902;
%     w(i)=b(i);
% end
% u=w;% baz akış hızı

w=4.2+sign(sin((2*pi/18000)*t)); %set point

%noise

e=0.05*randn(1,itno);

%paremeter and data vector

teta=[A B C]'; %true paremeters

% Algorithm

for m=1:4
    u(m)=1.0;
    er(m)=0.01;
    y(m)=5.3989;
    attm1(m)=1;
    attm2(m)=1;
    attm3(m)=1;
end

% Parametre Tahmini

for n=5:itno
```

```

        y(n)=[-y(n-1:-1:n-nA) u(n-1:-1:n-nB) e(n-1:-1:n-nC)]*teta;
        er(n)=w(n)-y(n);
        hata(n)=(w(n)-y(n))^2;
%       attm1(n)=( (KC)+sp/2*KI)+(KC*KD/sp))*er(n);
%       attm2(n)=(KC*KD/sp)*er(n-2);
%       attm3(n)=(att(n)-att1(n)+attm2(n));
att(n)=( (KC)+(KC*sp/KI)+(KC*KD/sp))*er(n);
attm1(n)=( (KC)+(2*KC*KD/sp))*er(n-1);
attm2(n)=(KC*KD/sp)*er(n-2);
attm3(n)=(att(n)-attm1(n)+attm2(n));

        u(n)=( (attm3(n))+u(n-1));
end

ISE=sum(hata)

figure(1)

subplot(311)
plot(t,w,t,y)
%axis([0 12000 2 6])
%title('set point')
xlabel('zaman')
ylabel('pH')

subplot(312)

plot(t,u)
%axis([0 simutime -1 6])
xlabel('zaman')
ylabel('Baz akis hizi,ml/dk')

subplot(313)
plot(t,hata)
axis([0 simutime -2 4])
xlabel('zaman')
ylabel('hata')

```

EK 6. DOĞRUSAL REGRESYON YÖNTEMİ İÇİN MATLAB PROGRAMI

```
datamoternarypozitif

y=ph-ph(1);
boyuty=size(y)
n=boyuty(1,1)
yson=y(n,1)
Y=log((yson-y)/yson);

Y=Y(1:n-18);
t=t(1:n-18);

tm=[t,ones(n-18,1)];
z=inv(tm'*tm)*tm'*Y;
tau=-1/z(1)
teta=tau*z(2)
```

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gamze FIRAT
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 24 .06.1984
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce, Almanca

Eğitim Durumu

Lise : Ankara Atatürk Anadolu Lisesi (1998 – 2002)
Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği
Bölümü (2002 – 2006)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği
Anabilim Dalı (Şubat 2007 – Nisan 2009)