

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BİTKİSEL ATIKLARDAN BİYOHİDROJEN GAZI ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**NURTEN DİLARA KAPLAN**

**DENİZLİ, TEMMUZ- 2022**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**BİTKİSEL ATIKLARDAN BİYOHİDROJEN GAZI ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**NURTEN DİLARA KAPLAN**

**DENİZLİ, TEMMUZ - 2022**

**Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.**

NURTEN DİLARA KAPLAN



## ÖZET

**BİTKİSEL ATIKLARDAN BİYOHİDROJEN GAZI ÜRETİMİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
NURTEN DİLARA KAPLAN  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. HİDAYET ARGUN)**

**DENİZLİ, TEMMUZ- 2022**

Fosil yakıt kullanımı, çağımızın en önemli sorunları olarak kabul edilen küresel ısınma ve iklim değişikliğinin tetikleyici faktörlerinden biri olan sera gazlarının kontrolsüz salınımına sebep olmaktadır. Bu sebeple, yenilenebilir enerji kaynaklarının önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışma kapsamında, ayırık otu kökü ve meyan kökünün karanlık fermantasyon yöntemi ile biyohidrojen üretim potansiyeli değerlendirilmiş ve deneysel çalışmalarda kullanılacak olan bitkisel atığa karar verilmiştir. Buna göre ayırık otu kökünün daha verimli biyohidrojen üretim potansiyeline sahip olduğu görülmüş ve çalışmalara ayırık otu kökü ile devam edilmiştir. Aşı kültürü olarak orman atıkları ve evsel atıklardan oluşturulan kompost kullanılmıştır. Biyohidrojen üretimi için en uygun substrat konsantrasyonları karışım değerleri, Box-Wilson istatistiksel deneysel tasarım modeli kullanılarak belirlenmiş ve hesaplamalar IBM SPSS (deneme sürümü) ile yapılmıştır. Bu kapsamda en uygun hidrojen üretim koşullarını sağlamak için amonyum klorür ve ayırık otu yaprağının ayırık otu kökü ile harmanlanması gereken konsantrasyon karışım değerleri belirlenmiştir. 125 g/L ayırık otu kökü ve 14,875 g/L ayırık otu yaprağı kullanılmasının en uygun hidrojen üretimini sağladığı sonucuna varılmış ve bu nokta için üç tekrarlı verifikasyon deneyleri yapılmıştır. Verifikasyon deney sonuçları ile modelin tahmin ettiği sonuçlar sırasıyla H<sub>2</sub> verimi, H<sub>2</sub> üretim hızı ve toplam uçucu yağ asidi üretim verimi için %92,3, %67,7 ve %92 oranında benzer çıkmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Ayırık otu kökü, biyohidrojen, Box-Wilson, karanlık fermantasyon, meyan kökü.

## **ABSTRACT**

### **BIOHYDROGEN GAS PRODUCTION FROM PLANT WASTES**

**MSC THESIS**

**NURTEN DİLARA KAPLAN**

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE**

**ENVIRONMENTAL ENGINEERING**

**(SUPERVISOR: PROF. DR. HIDAYET ARGUN)**

**DENİZLİ, JULY 2022**

The use of fossil fuels causes the uncontrolled release of greenhouse gases, which are one of the triggering factors of global warming and climate change, which are considered to be one of the most important problems of our age. For this reason, the importance of renewable energy sources is increasing day to day. Within the scope of this study, biohydrogen production potential from couch grass and licorice rhizomes was evaluated by dark fermentation and the substrate to be used was determined. As a result of the experimental studies, it was seen that hydrogen production from couch grass rhizome was more efficient and therefore studies were continued with this biomass. A compost of domestic and forest wastes was used as inoculum culture. Most convenient substrate concentration blends for biohydrogen production were determined using the Box-Wilson statistical experiment design and calculations were done with IBM SPSS (trial version). In this context, concentrations of ammonium chloride and couch grass leaf to be blended with couch grass rhizome resulting most suitable hydrogen gas production were determined, accordingly. It was found that the use of 125 g/L couch grass rhizome and 14,875 g/L couch grass leaf provided the most convenient hydrogen production, and for this point triplicate verification experiments were performed. The results of the verification experiments and the results predicted by the model for H<sub>2</sub> yield, H<sub>2</sub> production rate, and total volatile fatty acid production yield had a similarity of 92.3%, 67.7%, and 92%, respectively.

**KEYWORDS:** Biohydrogen, Box-Wilson, couch grass root, dark fermentation, licorice root.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
SEMBOL LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Tezin Amacı .....	1
1.2 Tezin Konusu ve Literatür Bilgisi .....	3
1.2.1 Genel Bilgiler.....	3
1.2.2 Hidrojen.....	4
1.2.3 Biyohidrojen Üretim Prosesleri .....	5
1.2.3.1 Biyofotoliz Yöntemi .....	5
1.2.3.2 Foto-fermantasyon Yöntemi.....	6
1.2.3.3 Karanlık Fermantasyon Yöntemi.....	7
1.2.4 Literatürde Yapılmış Olan Çalışmalar.....	9
<b>2.YÖNTEM.....</b>	<b>13</b>
2.1 Atık Türüne Karar Verilmesi .....	13
2.2 Aşı Kültürüne Karar Verilmesi .....	14
2.2.1 Bidonda Kompost Yapım Aşamaları .....	14
2.2.2 Tenekede Kompost Yapım Aşamaları.....	16
2.3 H <sub>2</sub> Üretimi İçin Uygun Substrat Kompozisyonunun Belirlenmesi ....	18
2.4 Analitik Metotlar .....	19
<b>3. BULGULAR VE TARTIŞMALAR.....</b>	<b>21</b>
3.1 Atık Türüne Karar Verilmesi .....	21
3.2 Aşı Kültürüne Karar Verilmesi .....	22
3.3 H <sub>2</sub> Üretimi İçin Uygun Substrat Kompozisyonunun Belirlenmesi ....	24
3.3.1 Ayrık Otu Kökü ile Amonyum Klorür Box-Wilson Deneyleri ...	24
3.3.2 Ayrık Otu Kökü ile Ayrık Otu Yaprağı Box-Wilson Deneyleri..	31
<b>4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>38</b>
<b>5. KAYNAKLAR .....</b>	<b>42</b>
<b>6. EKLER .....</b>	<b>47</b>
EK A: Ayrık Otu Kökü ve Amonyum Klorür Karışımı için IBM SPSS Anova Tabloları.....	47
EK B: Ayrık Otu Kökü ve Ayrık Otu Yaprağı Karışımı için IBM SPSS Anova Tabloları.....	49
<b>7. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>50</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Bidon kompost düzeneği.....	15
Şekil 2.2: Bidon kompostunda ölçülen sıcaklık (♦) ve pH (o) değerlerinin zamana göre değişimi. ....	16
Şekil 2.3: Tenekede kompost düzeneği.....	17
Şekil 2.4: Tenekede kompostunda ölçülen sıcaklık (♦) ve pH (o) değerlerinin zamana göre değişimi. ....	17
Şekil 3.1: Ayrık kökü (■) ve meyan kökünden (♦) karanlık fermantasyon ile hidrojen üretiminin kıyaslanması. ....	21
Şekil 3.2: Farklı kompostlardan üretilen aşuların kümülatif hidrojen üretimlerinin zamana göre değişimi. (X: BKE37, ■: TKK55, o: BKK37, ♦: TKE55).....	23
Şekil 3.3: Sabit NH <sub>4</sub> Cl derişiminde H <sub>2</sub> veriminin ayrık otu kökü derişimiyle değişimi.....	26
Şekil 3.4: Sabit ayrık otu kökü derişiminde H <sub>2</sub> veriminin NH <sub>4</sub> Cl derişimiyle değişimi.....	27
Şekil 3.5: Sabit NH <sub>4</sub> Cl derişiminde H <sub>2</sub> üretim hızının ayrık otu kökü derişimiyle değişimi.....	28
Şekil 3.6: Sabit ayrık otu kökü derişiminde H <sub>2</sub> üretim hızının NH <sub>4</sub> Cl derişimiyle değişimi.....	29
Şekil 3.7: Sabit NH <sub>4</sub> Cl derişiminde TUYA veriminin ayrık otu kökü derişimiyle değişimi. ....	30
Şekil 3.8: Sabit ayrık otu kökü derişiminde H <sub>2</sub> veriminin NH <sub>4</sub> Cl derişimiyle değişimi.....	30
Şekil 3.9: Sabit ayrık otu yaprağı derişiminde H <sub>2</sub> veriminin ayrık otu kökü derişimiyle değişimi. ....	33
Şekil 3.10: Sabit ayrık otu kökü derişiminde H <sub>2</sub> veriminin ayrık otu yaprağı derişimiyle değişimi. ....	34
Şekil 3.11: Sabit ayrık otu yaprağı derişiminde H <sub>2</sub> üretim hızının ayrık otu kökü derişimiyle değişimi. ....	35
Şekil 3.12: Sabit ayrık otu kökü derişiminde H <sub>2</sub> üretim hızının ayrık otu yaprağı derişimiyle değişimi. ....	36
Şekil 3.13: Sabit ayrık otu yaprağı derişiminde TUYA veriminin ayrık otu kökü derişimiyle değişimi. ....	36
Şekil 3.14: Sabit ayrık otu kökü derişiminde H <sub>2</sub> veriminin ayrık otu yaprağı derişimiyle değişimi.....	37

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1:</b> Bitkisel atık karakteristikleri.....	13
<b>Tablo 3.1:</b> Ayrık otu kökü ve meyan kökü ile hidrojen üretim çalışmalarına ait Gompertz eşitliği. ....	18
<b>Tablo 3.2:</b> Farklı aşı kültürlerinden hidrojen üretim deneylerine ait Gompertz eşitlikleri.....	24
<b>Tablo 3.3:</b> BW deney sonuçları (Ayrık otu kökü-NH <sub>4</sub> Cl). ....	25
<b>Tablo 3.4:</b> BW amaç fonksiyonu sabitleri (Ayrık otu kökü-NH <sub>4</sub> Cl). ....	26
<b>Tablo 3.5:</b> Ayrık kök ve ayrık otu karışımı verifikasyon deney sonuçları.....	31
<b>Tablo 3.6:</b> BW deney sonuçları (Ayrık otu kökü-ayrık otu yaprağı).....	32
<b>Tablo 3.7:</b> BW amaç fonksiyonu sabitleri (Ayrık otu kökü-ayrık otu yaprağı).....	33
<b>Tablo 3.8:</b> Ayrık otu kök ve ayrık otu yaprağı karışımı verifikasyon deney sonuçları. ....	37

## SEMBOL LİSTESİ

- BW** : Box-Wilson  
**KOİ** : Kimyasal oksijen ihtiyacı  
**TUYA** : Toplam uçucu yağ asitleri  
**TOK** : Toplam organik karbon  
**TOK<sub>0</sub>** : Başlangıç toplam organik karbon



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans sürecim boyunca bilgisini ve deneyimini esirgemeyerek bu tezin hazırlanmasına destek veren değerli tez danışmanım Prof. Dr. Hidayet ARGUN başta olmak üzere, tez sürecinde pozitif destekleriyle motivasyon kazanmamı sağlayan sevgili arkadaşlarım Abdullah DURAN, Neriman BAYLAN ve İkbal ÖREN'e, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan sevgili dönem arkadaşım İkbal ÖREN'e tekrar olmak üzere, Araş. Gör. Ebru ÖZKAN ve Araş. Gör. Alime ŞENOCAK'a, son olarak tüm öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteği ile bugünlere gelmemi sağlayan annem Figen SİPAHİOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# 1. GİRİŞ

## 1.1 Tezin Amacı

Bu tezin üç aşamada gerçekleştirilmesi öngörülmüştür.

İlk aşama atık türüne karar verilmesidir ve aşamanın amacı hidrojen üretimi için en uygun atık türünün tespit edilebilmesi olmuştur. Bunun için iki adet bitkisel atık belirlenmiş, her iki atık 1 saat kaynatma işlemine tabi tutulan anaerobik kültür ile aşılanmış ve hidrojen üretim deneyleri yapılmıştır. Bu deneyler sonucunda hidrojen üretim performansının daha iyi olduğu atık belirlenerek çalışmalara bu atık üzerinden devam edilmiştir. Söz konusu potansiyel atıklar laboratuvara getirildikten sonra üzerindeki yabancı maddeler uzaklaştırılmış ve 40-55°C sıcaklıktaki etüvde kurutulduktan sonra değirmende toz haline getirilmiştir. Tüm deneylerde aynı özellikteki atığın kullanılabilmesi için yeterli miktarda atık temin edilip öğütülmüş ve bu homojen, kuru toz atık buzdolabında kavanozlarda saklanmıştır.

İkinci aşama aşı kültürüne karar verilmesi olmuştur. İlk aşamada belirlenen bitkisel atık, farklı anaerobik aşı kültürü ile aşılanarak en uygun konsorsiyuma karar verilmiştir. Bunun için hidrojen üretim potansiyeli olduğunu düşündüğümüz farklı anaerobik karışık aşı kültürleri kullanılmıştır. Hidrojen üretme kabiliyetindeki bu tür mikroorganizmaların temini kolay olmakla birlikte, karışık kültür içerisinde hidrojen tüketimine neden olabilecek metanojenik aktivitenin bertaraf edilmesi amacıyla kültür aşılama öncesinde 1 saat kaynatma işlemine tabi tutulmuş ve melas üzerinde 37°C'de yaklaşık 20 saat büyütüldükten sonra bitkisel atık karışımına çalışma hacminin yüzde 5-10'u mertebesinde ilave edilmiştir. Büyütme ortamına melas dışında C/N/P oranını 100/2/0.5 oranına ayarlayabilmek için amonyum sülfat ve potasyum hidrojen fosfat ilave edilmiştir. Tüm fermantasyon deneyleri, sızdırmaz boro-silikat cam şişelerde yapılmış ve anaerobik koşulların sağlanabilmesi için gaz fazından Argon gazı geçirilirken, sıvı faza 100 mg/L L-cysteine.HCl ilave edilmiştir.

Takip eden deneyler, hidrojen üretim performansı en yüksek olan aşı kültürü üzerinden yapılmıştır.

Son aşama H<sub>2</sub> üretimi için uygun substrat kompozisyonunun belirlenmesi olmuştur. Bunun için iki değişkenli Box-Wilson istatistiksel deney tasarımının kullanılması düşünülmüştür. Değişkenlerden ilki başlangıç substrat konsantrasyonu olurken diğeri atık kompozisyonuna bağlı olarak ilave edilmesi kimyasal veya potansiyel atık konsantrasyonu (azot veya fosfor içeren potansiyel bir atık) olmuştur. Bu aşamadaki esas amaç seçilen bitkisel atık konsantrasyonunu hangi atık veya tuz ile harmanlayayım ki H<sub>2</sub> üretimi için uygun nütrient şartları sağlanmış olsun. Örneğin değişkenlerden birisi başlangıç substrat konsantrasyonu iken, diğeri amonyum klorür (NH<sub>4</sub>Cl) konsantrasyonu veya değişkenlerden ilki başlangıç substrat konsantrasyonu iken diğeri ilave edilmesi gereken potansiyel atık konsantrasyonunu oluşturmuştur. Amaç fonksiyonu olarak H<sub>2</sub> üretim verimi, H<sub>2</sub> üretim hızı ve TUYA verimleri deney performansının takip edilmesinde kullanılmış ve en ideal H<sub>2</sub> üretim performansının olduğu koşullar tespit edilmiştir. İki parametrelili Box-Wilson deney tasarımında dört faktöriyel ve dört aksiyal deney noktası olmasının yanında üç tekrarlı merkez nokta bulunmakta ve toplam deney sayısı 11 olmaktadır. Box-Wilson deney noktalarında incelenen değişkenlerin haricindeki tüm koşullar (ilave edilen aşı miktarı, başlangıç deney hacmi, başlangıç pH değeri vb.) aynı tutulmuştur. Tüm deneyler aşı büyütülmesi konusunda belirtildiği gibi borosilikat cam şişelerde anaerobik koşullarda gerçekleştirilmiştir. Bu sayede ilgili atıktan ideal H<sub>2</sub> üretim koşullarından iki tanesinin daha belirlenmesi işlemi gerçekleştirilmiştir.

Özetle bu tez çalışmasında karanlık fermantasyon için en uygun bitkisel atık, aşı kültürü ve biyohidrojen gazı üretim veriminin en uygun olduğu substrat konsantrasyonları belirlenmiştir. Tez çalışmasında seçilen bitkisel atıkların, literatürde daha önce biyohidrojen üretiminde kullanılmamış bitkisel atıklar olması tercih edilmiştir.

## 1.2 Tezin Konusu ve Literatür Bilgisi

### 1.2.1 Genel Bilgiler

İnsanoğlunun neolitik çağ ile yerleşik düzene geçmesinden bu yana enerjiye olan gereksinim gün geçtikçe artış göstermektedir. Tarımsal devrim sonrasında insanların yerleşik düzene geçmesi insanlığın yaşadığı çevreyi değiştirebilmesine ve doğa üzerinde belirli bir hakimiyet gücünün oluşmasına imkân sağlamıştır. İnsan topluluklarının yaşam düzeylerinin yükselmesi, nüfusun hızlı bir şekilde artması ve artan nüfusun artan gereksinimlerini karşılayabilmesi, sanayi devrimini beraberinde getirmiş ve bu devrim ile tüm dünyada enerjiye olan gereksinim devasa bir boyuta ulaşmıştır (Praptyana ve Budiyo, 2022).

İçerisinde bulunduğumuz bilişim çağında insan nüfusu yaklaşık olarak 8 milyara ulaşmışken enerji kaynağı olarak hala büyük oranda fosil yakıtlar kullanılmaktadır (2022 World Population by Country, n.d.; Cheng ve diğ. 2022). Fosil yakıtlar temelde ölü organizmaların oksijensiz koşullarda milyonlarca yıl boyunca dönüşümü sonucunda oluşmaktadır. Dolayısıyla oluşumu milyonlarca yıl alan fosil yakıtların yenilenemeyen bir enerji kaynağı olduğu söylenebilir (Cheng ve diğ. 2022). Yüksek oranda karbon ve organik madde içeriği nedeniyle fosil yakıtların enerji üretimi amacıyla kullanımı, günümüzün en önemli küresel sorunlarından biri olan küresel ısınma ve iklim değişikliğinin tetikleyici faktörleri olan sera gazlarının kontrolsüz salınımlarına sebep olmaktadır (Cheng ve diğ. 2022; Soares ve diğ. 2020)

Küresel ısınma, dünyanın iklim sisteminde değişikliklere sebep olarak hava olaylarının ve doğal afetlerin şiddetinin, sıklığının ve etki süresinin artmasına neden olmaktadır (Zhao ve diğ. 2022). Bu durum kısa ve uzun vadede tüm canlı yaşamını olumsuz yönde etkilemektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), iklim değişikliğinin yılda en az ek 150.000 ölüme neden olduğunu söylemektedir. 2030 ile 2050 yılları arasında, aşırı hava olayları nedeniyle tarımsal verimliliğin günden güne azalacağı, doğal afetlerin neden olduğu erken ölümlerin sayısında artış gözlemleneceği, patojenlerin aşırı çoğalması sonucu bulaşıcı hastalık faktörlerinin artacağı ve tüm bu etkiler sonucunda bu sayının ek 250.000'lere varacağı tahmin edilmektedir (Kasotia, 2007). Aynı zamanda atmosfer sıcaklığının kontrolsüz artışı dünya üzerinde yaşayan

milyonlarca canlı türünün yaşamını tehdit etmektedir. Günümüzde kutuplardaki buzulların erimesinden dolayı daha şimdiden birçok canlı, nesli tükenme tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır. Tüm bu durumlar değerlendirildiğinde sera gazı emisyonlarını arttıran yakıtların acilen terk edilip yeşil enerji olarak adlandırılan yenilenebilir enerji kaynaklarına yönelmesi gerekmektedir (Cheng ve diğ. 2022).

### 1.2.2 Hidrojen

Hidrojen, yeryüzünde bolca bulunan bir elementtir. 122 kJ/g'lık enerji içeriğine sahip olan hidrojen gazı geleceğin yakıtı olarak kabul edilmektedir. (Argun ve diğ. 2009). 1 numaralı eşitlikte görüleceği üzere hidrojenin yakılmasıyla yalnızca enerji ve su buharı açığa çıkar. Sera gazı emisyonlarını oluşturmaması sebebiyle insan ve çevre sağlığına karşı herhangi bir tehdit oluşturmaz. Bu nedenle fosil yakıtların yerini alabilecek temiz ve yenilenebilir bir enerjidir (Argun ve diğ. 2009).



Hidrojen kömür, doğal gaz vb. fosil yakıtlardan termokimyasal ve elektrokimyasal yöntemlerle elde edilebileceği gibi biyokütle, rüzgâr, güneş, su vb. gibi yenilenebilir kaynaklardan da elde edilmektedir. Dünya hidrojen üretiminin %50'si buhar metan reformu ile doğal gazdan, %30'u petrol ürünlerinden, %18'i kömürün gazlaştırılmasından ve geri kalan %2'si ise suyun elektroliziyle elde edilmektedir (Soares ve diğ. 2020). Fosil yakıt bazlı ürünler ile üretilen hidrojen yenilenebilir bir enerji kaynağı olmaktan çıkar ve atmosfere sera gazlarının salınımına sebep olur. Suyun elektrolizi yöntemi ile hidrojen üretimi tüm teknolojiler arasında en temiz olsa da yüksek miktarda enerji sarfiyatı gerektirdiğinden ticari uygulaması sınırlıdır (Cheng ve diğ. 2022). Görüldüğü üzere hidrojen günümüzde yüksek enerji sarfiyatı gerektiren ve doğa dostu olmayan fosil yakıtlardan elde edilmektedir (Soares ve diğ. 2020). Hidrojenin biyolojik prosesler ile üretimi ise, düşük sıcaklık ve atmosferik basınçta meydana gelmesi ve doğa dostu yöntemler olmaları nedeniyle diğer hidrojen üretim yöntemlerine göre önemli avantajlara sahiptir (Soares ve diğ. 2020). Zirai atıklar, yeme-içme endüstrisi atıkları, kanalizasyon çamuru ve atık sular gibi organik atıklar, biyohidrojen üretimi için oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bu biyoatıkların enerji üretimi

amacıyla kullanılması, çevre kirliliğinin önüne geçilmesi ve sürdürülebilirliğin sağlanabilmesinde önemli bir rol oynar. Diğer hidrojen üretim yöntemlerinde olduğu gibi enerji elde edilebilmesi için yüksek enerji sarfiyatına sebep olmaması, doğaya ve insan sağlığına zararlı emisyonlar oluşturmaması ve tüm bunlar ile birlikte bir atığın yararlı bir biçimde kullanılması hem çevresel kirliliğin önlenmesinde hem de sürdürülebilir ekonomik kalkınmanın sağlanmasında kilit bir rol oynar. Dolayısıyla biyohidrojen üretim proseslerinin küresel ısınma ve iklim değişikliği başta olmak üzere, atıkların doğru yönetimi, çevresel kirliliğin azaltılması ve temiz yenilenebilir enerji eldesi sorunlarına çözüm niteliği taşıyan bir strateji olduğu söylenebilir (Cheng ve diğ. 2022; Sharma ve diğ. 2020).

### **1.2.3 Biyohidrojen Üretim Prosesleri**

Literatürde yer alan biyolojik hidrojen üretim prosesleri, biyofotoliz, fotofermantasyon, hibrit sistem ve karanlık fermantasyon olarak sınıflandırılabilir.

#### **1.2.3.1 Biyofotoliz Yöntemi**

Biyofotoliz, doğrudan biyofotoliz ve dolaylı biyofotoliz olarak ikiye ayrılmıştır (Javed ve diğ. 2022). Doğrudan biyofotolizde su molekülleri, fotosentetik mikroalg türler ve bazı spesifik tek hücreli siyanobakteriler tarafından ışık enerjisinin varlığında fotosentez sırasında doğal olarak ayrıştırılır (Hallenbeck ve Benemann, 2002; Javed ve diğ. 2022). Doğrudan biyofotolizi gerçekleştiren mikroorganizmalar fotosentez sırasında gelişen O<sub>2</sub>'ye duyarlı olduğundan, H<sub>2</sub> üretimi sınırlı bir süre için gerçekleşmektedir (Javed ve diğ. 2022). Dolaylı biyofotoliz ise aydınlık ve karanlık döngü olmak üzere iki aşamada gerçekleşir. Temel olarak ilk aşama olan ışık döngüsünde mikroalgler ve siyanobakteriler farklı enzimleri kullanarak benzer şekilde fotosentez yoluyla karbonhidrat ve oksijen üretirler. İkinci aşama olan karanlık döngüde ise bu organik maddeleri hidrojenaz enzimi katalizinde çözümler metabolitlere, H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub>'ye dönüştürürler. Biyofotoliz yöntemlerinde oksijenin hidrojenaz enzimi üzerinde inhibisyona neden olması prosesi olumsuz etkilemektedir (Genç, 2009; Hallenbeck ve Benemann, 2002; Javed ve diğ. 2022).

### 1.2.3.2 Foto-fermantasyon Yöntemi

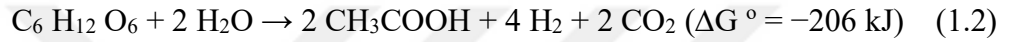
Foto-fermantasyon yönteminde, fakültatif mor kükürtsüz bakteriler, nitrojenaz enzimlerinin yardımıyla atık organikleri CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>'ye dönüştürler (Argun ve Kargı, 2011; Cheng ve diğ. 2022). Gibbs serbest enerjisinin pozitif olmasından dolayı foto-fermantasyon prosesi kendiliğinden gerçekleşmez ve gerçekleşebilmesi için güneş enerjisine veya başka bir ışık kaynağına ihtiyaç vardır (Argun ve Kargı, 2010, 2011; Chen ve diğ. 2010). Bu yöntemde substrat olarak uçucu yağ asitleri (UYA) bakımından zengin karanlık fermentasyon atık suları, çeşitli organik atıklar, gıda işleme ve tarımsal atıklar kullanılabilir (Argun ve diğ. 2008; Cheng ve diğ. 2022). Teorik olarak, organik bileşikler foto-fermantasyon yöntemiyle neredeyse tamamen biyohidrojene dönüştürülebilmektedir. Ancak bu tahminler genellikle organik substratın enerji içeriğini göz ardı eder (Bharathiraja ve diğ. 2016; Hallenbeck ve Benemann, 2002). Bu nedenle karanlık fermentasyona göre daha yüksek substrat dönüşüm verimliliği ve dolayısıyla daha verimli bir biyohidrojen üretiminin söz konusu olduğu ileri sürülse de ideal ışık koşullarında elde edilen fotosentetik verimler daha düşüktür. (Cheng ve diğ. 2022; Hallenbeck ve Benemann, 2002). Organik asitlerin kullanılabilirliği, nitrojenaz enziminin proses için yavaşlatıcı olması, prosesin yüksek kalitede enerji gerektirmesi, hidrojenin oksidasyonunun gerekli olması ve pH, sıcaklık, hidrolik alıkonma süresi gibi işletim şartlarına karşı çok hassas olması foto-fermantasyon yöntemini işletilmesi zor ve maliyetli bir proses hâline getirmektedir (Argun ve diğ. 2008; Cheng ve diğ. 2022; Özmihçı ve Kargı, 2010).

### 1.2.3.3 Karanlık Fermantasyon Yöntemi

Karanlık fermentasyon temel olarak herhangi bir ışık kaynağına ihtiyaç duyulmaksızın, karbonhidratça zengin substratların zorunlu veya fakültatif anaerobik fermentatif bakteriler tarafından H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, bütirat, asetat ve etanol gibi UYA'lara dönüştürüldüğü bir prosestir. Biyohidrojen gazının üretimi anaerobik metabolizmanın asidojenik aşamasında gerçekleşmektedir (Argun ve Kargı, 2011; Ren ve diğ. 2022). Karanlık fermentasyonda yaygın olarak kullanılan kültürler; spor oluşturan *Clostridium* türleri, fakültatif *Enterobacter* sp, *Bacillus* sp, bazı termofilik

bakteriler ve anaerobik asidojenik çamur olarak sıralanabilir (Argun ve Kargı, 2011). Karanlık fermantasyonda moleküler H<sub>2</sub> üretimini katalizleyen başlıca enzim hidrojenaz enzimidir (Argun ve Kargı, 2011). Fermantasyon reaksiyonları, kullanılan bakteriye bağlı olarak mezofilik (25–40 °C), termofilik (40–65 °C), veya hipertermofilik (>80 °C) sıcaklıklarda çalıştırılabilmekle birlikte genel olarak daha az enerji gerektirdiği için mezofilik sıcaklıklar tercih edilmektedir (Argun ve Kargı, 2011; Bharathiraja ve diğ. 2016).

Teorik olarak 1 mol glikozun karanlık fermantasyonundan 4 mol H<sub>2</sub> açığa çıkmaktadır. Burada oluşan tek UYA'nın asetik asit olduğu göz ardı edilmemelidir (Argun ve Kargı, 2011). (Eş. (1.2)).



Bu reaksiyonda serbest Gibbs enerjisinin negatif olması ( $\Delta G^\circ = -206 \text{ kJ}$ ) reaksiyonun herhangi bir dış enerjiye ihtiyaç duymaksızın kendiliğinden gerçekleştiğinin bir göstergesidir (Argun ve Kargı, 2011).

Bütirat son ürün olduğunda teorik olarak mol glikoz başına 2 mol H<sub>2</sub> açığa çıkmaktadır (Argun ve Kargı, 2011; Bharathiraja ve diğ. 2016). Son ürün olarak hem asetik asitler hem de bütirik asitler oluştuğunda ise teorik olarak mol glikoz başına 2,5 mol H<sub>2</sub> açığa çıktığı bilinmektedir (Argun ve Kargı, 2011). Bu proseste biyohidrojen üretimi için kullanılan organizmalar substrat kaynağı, aşı kaynağı ve pH, sıcaklık, hidrolik alıkonma süresi, gaz kısmi basıncı gibi işletim parametrelerine karşı hassas olduklarından oluşan son ürünler ve dolayısıyla elde edilen verim büyük oranda gelişim gösterdikleri çevresel koşullara göre şekillenir (Bharathiraja ve diğ., 2016; Soares ve diğ., 2020).

Fermantasyon işleminde substrat seçimi çok önemlidir. Substrat seçimi fermantasyon maliyetinin %60'ına karşılık gelebilmektedir. Fermantasyon işleminde saf kimyasallar yerine biyolojik olarak bozulabilir atıklar değerlendirilebilmektedir (Argun ve Kargı, 2011; Güler Şentürk ve Büyükgüngör, 2010). Saf şekerlere (glikoz, ksiloz, laktoz, galaktoz, sükroz) ek olarak, odunsu selülozik biyokütle, gıda atıkları, evsel katı atık, endüstriyel atık su ve gliserol, karanlık fermantasyonda kullanılan bazı hammaddelerdir (Argun ve Kargı, 2011). Bunların arasında, lignoselülozik biyoküteller doğada en bol üretilen biyopolimerlerdir ve yüksek karbonhidrat içeriği

ile biyohidrojen üretiminde büyük bir potansiyel sunar. 2014 yılında yapılan çalışmada tahmini yıllık lignoselülozik biyokütle üretiminin dünyada 200 milyar tonun üzerinde olduğu belirtilmiştir. Bu özelliklerinin yanı sıra yenilenebilir ve düşük fiyatta mevcut olması nedeniyle de ilgi çekici bir kaynaktır (Nasirian ve diğ. 2011). Bitki biyokütlesinin ana bileşeni lignoselülozdur. Lignoselülozik biyokütle, %1-46 selüloz, %6-42 hemiselüloz ve %1-40 lignin içerir (Muharja ve diğ. 2018). Lignin; karmaşık, hidrofobik bir polimerdir ve çapraz bağlı fenolik monomerlerden oluşur. Karmaşık yapısı nedeniyle bu biyopolimerlerin anaerobik mikroorganizmalar tarafından fermente edilmesi zordur. Bu nedenle biyohidrojen üretimi için, lignini çıkarmak ve karma karbonhidratları monomerlerine hidrolize etmek gerekir (Sawatdeenarunat ve diğ. 2015). Bu nedenle literatür çalışmalarında genel olarak lignini çıkarmak ve karma karbonhidratları monomerlerine ayırmak için öğütme, kesme, asit ve alkali ile muamele, oksidatif ön işlem, mikrodalga uygulaması, karbondioksit patlaması gibi fiziksel, kimyasal ve termo-kimyasal ön işlemler uygulandığı bilinmektedir.

Karanlık fermantasyonda substrat seçimi kadar önemli bir diğer unsur işe aş kültürünün seçimidir. Eğer karanlık fermantasyonda kullanılacak olan aş kültürü saf değil ise hidrojen tüketen organizmalar biyohidrojen verimlerini olumsuz yönde etkileyecektir. Bu nedenle metanojen, homoasetojen gibi hidrojen tüketen organizmalar aş kültüründen uzaklaştırılmalıdır. Literatürde homoasetojen ve metanojen gibi hidrojen tüketen organizmalar genel olarak düşük pH koşullarında kaynatma, aş ortamına kloroform ilavesi gibi yöntemlerden faydalanılarak ortamdan elimine edilmektedir (Argun ve Kargı, 2011).

#### **1.2.4 Literatürde Yapılmış Olan Çalışmalar**

Aşağıda farklı bitkisel atıkların karanlık fermantasyon yöntemi ile biyohidrojen üretim verilerini gösteren bazı literatür çalışmaları özetlenmiştir.

Wang ve diğ. (2010) yaptıkları çalışmada, lignoselülozik substrat olarak mısır sapı kullanılmış ve bu bitkisel atık fiziksel (öğütme), kimyasal (ağırlıkça %0,2 – 1,2 HCl) ve biyolojik (enzimatik hidroliz) ön işlemlerine tabi tutulmuştur. Aş kültürü olarak doğal bir nehirden alınan anaerobik çamur kullanılmış olup, metanojenler ile

patojenlerin biyoaktivitesini engellemek ve anaerobik spor oluşturan hidrojen üreten bakterilerin ortamda baskın hale gelebilmesi için 100°C'de kaynatılmıştır. Daha sonra 36°C'de karanlık fermantasyon yöntemi gerçekleştirilerek 126,22 mL H<sub>2</sub> / g biyokütle kümülatif biyohidrojen verimi elde edilmiştir (Wang ve diğ. 2010).

Zhang ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada, lignoselülozik substrat olarak mısır kepeği kalıntısı kullanılmış olup, fiziksel (öğütme) ve kimyasal (55°C'de 48 saat 10 g/L Kireç çamuru) ön işlemlere tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak kentsel atık su arıtma tesisinden çıkan çamur kullanılmıştır. Termofilik karanlık fermantasyon işlemi sonucunda maksimum hidrojen verimi 338,91 ml H<sub>2</sub> / g uçucu katı olarak bulunmuştur (Zhang ve diğ. 2015).

Azman ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada, lignoselülozik substrat olarak yağdan arındırılmış pirinç kepeği kullanılmış ve kimyasal asit hidrolizi (18 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> %1 h/h) ön işlemine tabi tutulmuştur. Aşı olarak *Clostridium acetobutylicum* kullanılmış olup belirlenen optimum koşullarda (35,2°C, pH=5,5 İnokulum miktarı = %11,2) karanlık fermantasyon yöntemi ile 572,5 mL kümülatif hidrojen hacmi elde edilmiştir (Azman ve diğ. 2016).

Sen ve diğ. (2016) yılında yaptıkları çalışmada, lignoselülozik substrat olarak pirinç samanı kullanılmış olup, fiziksel (öğütme), kimyasal (asit hidrolizi (HCl) 121°C'de) ve biyolojik (enzimatik hidroliz) ön işlemlere tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak bambu parkından toplanan çamur kullanılmış ve hidrojen tüketen bakterilerin eliminasyonunu sağlamak amacıyla bir saat boyunca 95-100°C sıcaklıklarında kaynatılmıştır. Çamurdan elde edilen karışık kültür aşısı olarak kullanılmadan önce anaerobik koşullar altında *Clostridia* ortamında 24 saat boyunca 37°C'de güçlendirilmiştir. 20 g/L pirinç samanının 37°C'de karanlık fermantasyonuyla maksimum hidrojen üretimi 771 mL H<sub>2</sub> / L olarak bulunmuştur (Sen ve diğ. 2016).

Eker ve Sarp (2017) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik substrat olarak atık kâğıt kullanılmış olup, fiziksel (öğütme) ve kimyasal (asit hidrolizi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 121°C'de 90 dakika boyunca) ön işlemlere tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak ekmek mayası üreten bir şirketin arıtma tesisinden çıkan anaerobik çamur kullanılmış ve metanojen bakterilerin eliminasyonunu sağlamak amacıyla aşısı 100°C'de 2 saat boyunca pH=5,9 koşullarında kaynatılmıştır. Karanlık fermantasyon

sonrasında elde edilen en yüksek biyohidrojen verimi 139,97 mL H<sub>2</sub> / g şeker olarak bulunmuştur (Eker ve Sarp, 2017).

Lopez ve diğ. (2017) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik substrat olarak buğday samanı kullanılmış olup, fiziksel (öğütme), kimyasal (asit hidrolizi) ön işlemlerine tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak *Escherichia coli* kullanılmıştır. Karanlık fermantasyon ile maksimum hidrojen üretimi 269,2 mL H<sub>2</sub> / g toplam indirgen şeker olarak bulunmuştur (Lopez-Hidalgo ve diğ. 2017).

Qi ve diğ. (2018) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik substrat olarak yerfıstığı kabuğu kullanılmış olup, fiziksel (öğütme) ön işleme tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak *Clostridium guangxiense* kullanılmıştır. Kültür ortamı 121°C'de 15 dakika boyunca sterilize edilmiştir. Karbon kaynağı olarak glikoz ve yerfıstığı kabuğu kullanılan çalışmada 35°C'de karanlık fermantasyon sonrasında elde edilen maksimum hidrojen üretimi pH = 6,5 %4 aşı oranı koşullarında, 39,9 ml H<sub>2</sub> / g substrat (glikoz + yerfıstığı kabuğu) olarak bulunmuştur (Qi ve diğ. 2018).

Silva ve diğ. (2018) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik substrat olarak kaju elma küspesi kullanılmış olup, alkalın hidrojen peroksit ile ön işleme tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak *Clostridium roseum* kullanılmıştır. 37°C'de karanlık fermantasyon sonrasında 0,08-1,89 mL H<sub>2</sub>/ g biyokütle aralığında biyohidrojen gazı üretim verimi elde edilmiştir(Silva ve diğ. 2018).

Karaosmanoğlu Gorgeç ve Karapınar (2019) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik substrat olarak buğday tozu kullanılmış olup fiziksel (öğütme) ve kimyasal (asit hidrolizi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 90°C'de 15 dakika) ön işleme tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak Pakmaya şirketinin arıtma tesisinden alınan anaerobik çamur kullanılmıştır. Konsantre aşı kültürü damıtılmış su ile yarı yarıya seyreltilerek içeriğindeki hidrojen tüketen organizmaların eliminasyonu için 5 saat boyunca 100°C'de kaynatılmıştır. 20 g/L buğday tozunun 37°C'deki karanlık fermantasyonundan elde edilen maksimum hidrojen üretim verimi 646 mL H<sub>2</sub> / g toplam katı madde olarak bulunmuştur (Karaosmanoğlu Gorgeç ve Karapınar, 2019).

Tosuner ve diğ. (2019) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik substrat olarak pirinç kabuğu kullanılmış olup fiziksel (öğütme) ön işleme tabi tutulmuştur.

Aşı olarak *Clostridium termitidis* ATCC-21846 ve *Clostridium intestinale* ATCC-BAA 1027 kullanılmıştır. Fermantasyon işleminden önce aşı kültürleri 37°C’de 1-7 gün süreyle besi ortamında yetiştirilmiş, ardından 5:1 ortak kültür oranında olacak şekilde aşılanmıştır. 37°C’de karanlık fermantasyondan sonra elde edilen hidrojen üretim verimi 5,59 mL H<sub>2</sub> / g pirinç kabuğu olarak bulunmuştur (Tosuner ve diğ. 2019).

Praptyana ve Budiyono (2022) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik substrat olarak maun ağacından elde edilen odun tozu kullanılmış olup fiziksel (öğütme), ozon ile ön işlem ve kimyasal asit hidrolizi (0,35 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 121°C, 2 atm basınçta 20 dakika boyunca) ön işlemlerine tabi tutulmuştur. Aşı kültürü olarak *Enterobacter aerogenes* suşu ATCC 13.048 kullanılmıştır. Aşı kültürü oda sıcaklığında 24 saat boyunca koyun kanlı agar plakalarında inkübe edilmiştir. Daha sonra bir besi ortamı hazırlanmış 37°C’de 17 mL ön kültür içeren ortam 9 saat boyunca 120 devir/dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra maun ağacı hidrolizatı ve ön kültür ortamının 37°C’de karanlık fermantasyonu sonucunda elde edilen maksimum hidrojen üretimi pH 11’de 45 dakika boyunca ozon ile ön işleme tabi tutulan koşullarda gerçekleşmiş olup 84 mL H<sub>2</sub> / g toplam katı olarak tespit edilmiştir (Praptyana ve Budiyono, 2022).

Yukarıda da belirtildiği üzere literatür araştırması kapsamında örnek olarak gösterilen pirinç, mısır, buğday, fıstık, odun tozu ve kâğıt gibi ürünlerin üretimi ülkemizde oldukça yaygın olarak yapılmakta ve oldukça da yaygın tüketilmektedir. Ülkemizde üretimi ve tüketimi yaygın olarak yapılan ürünlerden açığa çıkan bitkisel atıkların örneklerini arttırmak ve çeşitlendirmek mümkündür. Dolayısıyla da oldukça çeşitli bitkisel atığın biyohidrojen üretimi amacıyla kullanımı büyük bir potansiyel oluşturmaktadır.

Bilimsel adı *Elymus repens* olan ayırık otu buğdaygiller (Poaceae) familyasının üyesi olan çok yıllık bir bitkidir. Anavatanı Avrupa olarak belirtilmektedir. Çok hızlı yayılım göstermesi ve boğucu kökleri nedeniyle tarımsal alanda istilacı bir tür olarak görülmektedir. Genel olarak hayvan yemi ve erozyon kontrolü amacıyla kullanılmaktadır. Yüksek protein ve nişasta içeriği nedeniyle 2. Dünya savaşındaki kıtlıkta un haline getirilip besin olarak tüketildiği bilinmektedir (Petruzzello, 2022). Ayırık otu kökünün lignoselülozik yapısı ve içeriğinde yüksek oranda protein ve

nişasta bulundurması sebebiyle biyohidrojen üretiminde kullanımı bir potansiyel teşkil etmektedir.

Bilimsel adı *Glycyrrhiza glabra* olan meyan ise baklagiller (Fabaceae) familyasına ait olan çok yıllık bir bitkidir. Anavatanı Güney Avrupa olarak belirtilmektedir. Meyan bitkisinin kökü içeriğindeki glisirizin maddesinden dolayı tatlı bir tada sahiptir. Bu sebeple genellikle ilaç ve yiyecek-içecek endüstrisinde tatlandırıcı aromatik bir bitki olarak kullanılmaktadır. Tıp alanında da kullanıldığı bilinmektedir (Petruzello, 2022). Meyan kökünün lignoselülozik yapısı ve içeriğinde bulunan protein, vitamin, mineraller ve şeker grupları sebebiyle biyohidrojen üretiminde kullanımı bir potansiyel teşkil etmektedir.

Bu çalışmada meyan kökü ve ayrık otu kökü kullanılarak, bu bitkisel atıkların biyohidrojen üretimindeki verimleri değerlendirilecek ve kullanılacak olan bitkisel atık belirlenecektir. Bitkisel atık belirlendikten sonra yapılacak olan deneysel çalışmalar ile aşamalı olarak kullanılacak aşı kültürü ve biyohidrojen üretimi için en uygun substrat konsantrasyonları belirlenecek ve bu konsantrasyonların verifikasyonu gerçekleştirilecektir.

## 2. YÖNTEM

### 2.1 Atık Türüne Karar Verilmesi

Bu basamağın amacı hidrojen üretimi için en uygun atık türünün tespitidir. Çalışmada bitkisel atık olarak ayrık otu kökü ile meyan kökü kullanılmıştır. Bitkisel biyoküteller, bir saat kaynatma işlemine tabi tutulan anaerobik kültür ile aşılınmış ve hidrojen üretim deneyleri yapılmıştır. Bu deneyler sonucunda hidrojen üretim performansının daha iyi olduğu atık belirlenerek çalışmalara bu atık üzerinden devam edilmiştir. Söz konusu atıklar laboratuvara getirildikten sonra üzerlerindeki yabancı maddeler uzaklaştırılmış ve 50°C sıcaklıktaki etüvde kurutulduktan sonra değirmende toz haline getirilmiştir. Tüm deneylerde aynı özellikteki atığın kullanılabilmesi için yeterli miktarda atık temin edilip öğütülmüş (elek altı boyutu <1mm) ve bu homojen, kuru toz atık buzdolabında kavanozlarda saklanmıştır.

Tablo 2.1 kullanılan bitkisel biyokütellerin içerik analiz sonuçlarını özetlemektedir.

**Tablo 2.1:** Bitkisel atık karakteristikleri.

Parametre	Ayrık otu kökü	Meyan kökü
TOK (Toplam organik karbon) %	40,35	43,70
TKN (Toplam Kjeldahl Azotu) %	0,812	1,40
TP (Toplam fosfor) %	1,5	3,45

Bunların dışında ayrık kökünde, %30,70 lignin, %2 selüloz, %36,05 hemiselüloz belirlenmiştir. Meyan kökündeki bu içerikler atık içerisindeki kimyasalların analizlerde olumsuzluk yaratması nedeniyle belirlenememiştir.

Aşılı kültürü olarak Pakmaya atık su arıtma tesisinden getirilen anaerobik çamur kullanılmıştır. Bu amaçla anaerobik kültür laboratuvara getirildikten sonra bir saat kaynatılarak (pH=3-4) içerisindeki metanojenlerin bertarafı gerçekleştirilmiştir.

Isıl işlem sonrası bu kültür, melas üzerinde 37 °C, 55 devir/dakika 'da inkübatörde 16 saat büyütülmüştür. Büyütme ortamı başlangıç KOİ derişimi 20 g/L olacak şekilde ayarlanmıştır. Bunların dışında ortama 100 mg/L L-Cysteine ve 20 mM Demir Sülfat eklenmiştir. Ortamın KOİ/N/P oranı 100/2/0,5 değerine KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> kullanılarak ayarlanmıştır. Melas üzerinde büyütülen bu mikroorganizmalar ayırık kökü ve meyan kökünün substrat olarak kullanıldığı ortamlara %10 (v/v) oranında aşılantmıştır.

Ayrık ve meyan köklerinin kullanıldığı fermantasyon çalışmalarında bu atıklar başlangıç KOİ derişimi 20 g/L olacak şekilde ilave edilmiş, C/N oranı amonyum sülfat ile 20'ye ayarlanmıştır. Bunların dışında, ortama 100 mg/L L-Cysteine ve 2 damla bromtimol mavisi ilave edilmiştir. Sıvı üst boşluğundan argon gazı geçirilerek deneyler 250 mL'lik boro-silikat cam şişelerde yürütülmüştür.

## **2.2 Aşı Kültürüne Karar Verilmesi**

Ayrık kökü ile hidrojen üretiminin daha verimli olmasının tespit edilmesi sonrasında farklı aşı kültürlerinin performansları kıyaslanmıştır. Bu kapsamda aşı kültürü olarak üniversite yerleşkesinin yakınında bulunan Çamlık orman alanı ağaç diplerinde biriken organik bitkisel atıklar toplanarak iki farklı kompost yapılmış, bu kompostlar deneylerde aşı kültürü olarak kullanılmıştır. Kompostlardan birisi 30 L'lik plastik bidonda (Bidon kompost, BK) diğeri 10 L'lik metal kova (Teneke kompost, TK) içerisinde hazırlanmıştır.

### **2.2.1 Bidonda Kompost Yapım Aşamaları**

Kompostta etkin bir havalandırma sağlamak amacıyla 20 L'lik kilitli mavi bidonun taban ve yan yüzeyleri belirli aralıklarda delinmiştir. Komposttan süzölebilecek sıvının tahliyesi için bidon delikleri ile uyumlu şekilde delinen küçük bir leğen bidonun altına ters şekilde kapatılmış ve tahliye olan sıvının birikebileceği ayrı bir büyük leğen içerisine yerleştirilerek kompost düzeneği tamamlanmıştır. Çamlık ormanında ayrışmaya başlamış karışık haldeki üç farklı ağaç, yaprak vb. içerikli yığından homojen bir şekilde toplanan örnekler bir çuvala alınmıştır. Kompost hazırlanırken bidon içerisine öncelikle Çamlık ormanından toplanan

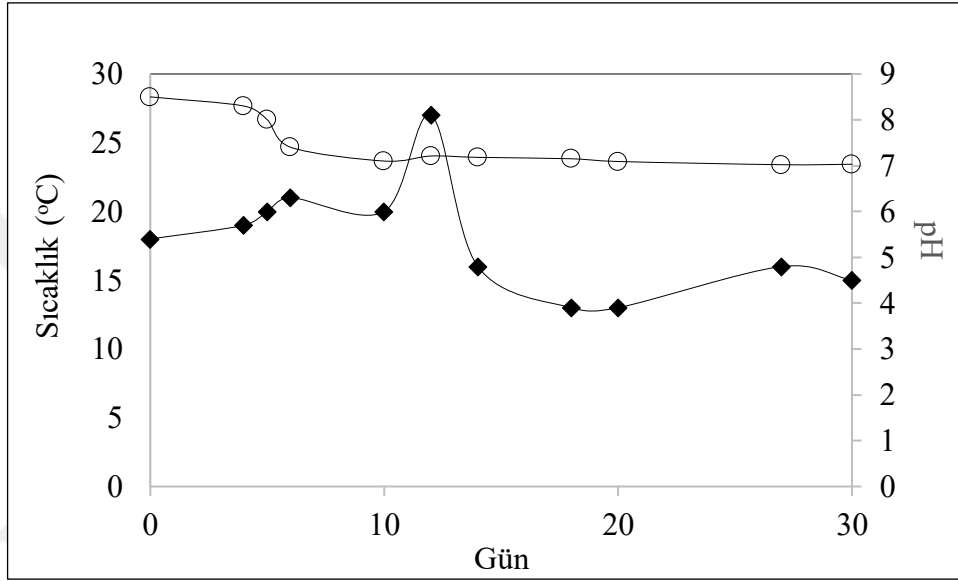
örnekler (yaklaşık 10 kg) eklenmiş, daha sonra bu karışıma ilave olarak 500 gr yanmış sığır gübresi, kâğıt/karton atıkları, yumurta kabuğu ve çay çöpü eklenmiştir. Kompostun nemliliğini sağlamak ve kompost sürecini hızlandırmak amacıyla 1 tatlı kaşığı melas ve 1 mL iz element çözeltisi 1 L ılık suda çözüldükten sonra komposta homojen bir şekilde ilave edilmiştir. Havalandırmayı etkin bir biçimde sağlamak için kompost her gün manuel olarak karıştırılıp, nemlilik, pH, sıcaklık değerleri takip edilmiştir. Hazırlanan kompostun C/N/P oranı 44,11/0,84/1, toplam kuru maddesi %40,83 ve kül değeri %30,62 olarak belirlenmiştir. Bidonda hazırlanan kompost düzeneğinin fotoğrafı Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Bidon kompost düzeneği.

Şekil 2.2, bidonda üretilen komposta ait bir aylık sıcaklık ve pH değerlerini göstermektedir. Buna göre kompost sıcaklığı 18°C’den başlamış olup, 12. Gün 27°C’ye yükselmiştir. Daha sonra yine 15 °C mertebelerine düşerek sabit değerlerde seyretmiştir. Diğer taraftan kompost pH’ı 8,5’ten başlayıp kompostlaştırma seyri boyunca hafif düşüş göstererek 7,03 değerine kadar inmiştir. Sıcaklık değerinin 50-60°C termofilik değerlere kısa süreliğine yükselmesi beklenmesine rağmen bidon kompostta bu sıcaklık değerlerine ulaşılamamıştır. Diğer taraftan pH değerlerinin alkaliden nötral değerlere düşmesi ortamdaki karbonhidratlardan organik asit oluşumunun bir nedeni olarak düşünülebilir. Bu şekilde bidonda elde edilen kompost kullanılarak ayrık kökünden hidrojen üretimi için iki adet aşı sağlanmıştır. Bunlardan ilkinde alınan kompost suda bir saat kaynatılıp sonra bölüm 2.1.1’de anlatıldığı şekilde melas üzerinde büyütüldükten sonra ayrık köküyle yapılan fermantasyon

ortamına %10 (v/v) oranında ilave edilmiştir. Kaynatma ön işlemine tabi tutulan bu kompost BKK-37 olarak adı verilmiştir. İkinci olarak bidon kompostundan alınan 3 g kompost etüvde 90 °C sıcaklıkta 30 dakika bekletildikten sonra bölüm 3.1’de anlatıldığı şekilde melas üzerinde büyütülmüş ve ayrık köküyü yapılan fermentasyon ortamına %10 (v/v) oranında ilave edilmiştir. Etüvde ısıtma işlemine tabi tutulan bu kompost BKE-37 olarak isimlendirilmiştir. Her iki aşının kullanıldığı deneyler 100 mL çalışma hacminde 55 devir/dakika çalkalama hızı ve 37 °C sıcaklıkta inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Deney koşulları bölüm 3.1’de açıklandığı şekilde yapılmıştır.



Şekil 2.2: Bidon kompostunda ölçülen sıcaklık (♦) ve pH (o) değerlerinin zamana göre değişimi.

### 2.2.2 Tenekede Kompost Yapım Aşamaları

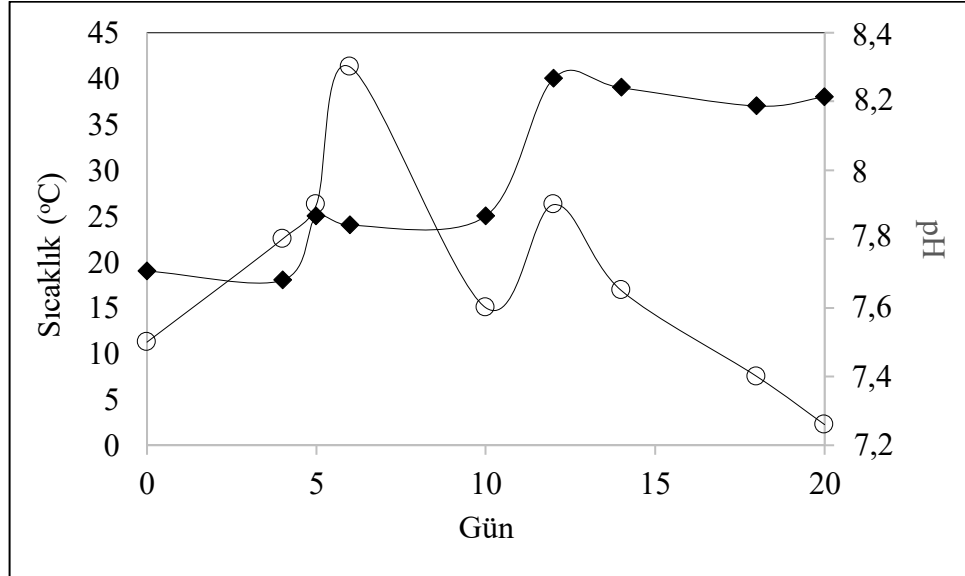
Kompostta etkin bir havalandırma sağlamak amacıyla 10 L'lik teneke kova içerisine zamanlayıcıya bağlı akvaryum pompasına eklenen bir serum hortumu ile havalandırmalı kompost düzeneği kurulmuştur (bkz. Şekil 2.3) Zamanlayıcı ile her bir saat için 15 dakika havalandırma sağlanmıştır. Kompost ham malzemesi Çamlık ormanında ayrışmaya başlamış karışık haldeki üç farklı ağaç, yaprak vb. içerikli yığından homojen bir şekilde toplanan örneklerden sağlanmıştır. Kompost hazırlanırken teneke içerisine öncelikle Çamlık ormanından toparlanan örnekler (yaklaşık 2 kg) eklendikten sonra bunun üzerine 200 gr yanmış sığır gübresi, kâğıt/karton atıkları, yumurta kabuğu, yeşil atıklar ve çay çöpü eklenmiştir. Kompostun nemliliğini sağlamak ve mikrobiyal aktiviteye destek olmak amacıyla bir

tatlı kaşığı melas ve 1 mL iz element çözeltisi 1 L ılık suda çözüldükten sonra bunun 500 mL'si kompostta homojen bir şekilde ilave edilmiştir. Kompostun bulunduğu kap 20°C'ye ayarlanan inkübatörde tutulmuştur. Teneke kompostun nemliliği pH ve sıcaklık değerleri düzenli olarak kontrol edilmiştir.



Şekil 2.3: Teneke kompost düzenneği.

Şekil 2.4 incelendiğinde kompost başlangıç pH değerinin 7,5'tan ilk altı günde 8,3 değerine yükseldiği daha sonra 7,26'ya düştüğü gözlemlenmiştir. Diğer taraftan 10°C'den başlayan sıcaklık değeri 12. Günde 40°C'ye çıktıktan sonra bu seviyelerde kalmıştır. Beklenen termofilik sıcaklık değerlerine ulaşamamıştır.



Şekil 2.4: Teneke kompostunda ölçülen sıcaklık (♦) ve pH (o) değerlerinin zamana göre değişimi.

Metal kovada üretilen bu komposttan da bidon kompost ile elde edilen aşılarda olduğu gibi iki tür aşı aynı yöntem ile elde edilmiştir. Kaynatma ön işlemine tabi tutulan kompost TKK-55, etüvde ısıtma işlemine tabi tutulan kompost ise TKE-55 olarak adlandırılmıştır. Bu aşılarda da bölüm 2.1.1’de anlatıldığı gibi melas üzerinde 16 saat büyütüldükten sonra %10 (v/v) oranında ayrık kökünden hidrojen üretim deneylerine ilave edilmiştir. Her iki aşının kullanıldığı deneyler 100 mL çalışma hacminde ve 55°C sıcaklıktaki inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Deney koşulları bölüm 3.1’de açıklandığı şekilde yapılmıştır.

### 2.3 H<sub>2</sub> Üretimi İçin Uygun Substrat Kompozisyonunun Belirlenmesi

Atık ve aşı türü belirleme çalışmalarından sonra uygun substrat kompozisyonunun belirlenmesi üzerinde çalışılmıştır. Bunun için iki set deney yapılmıştır. Her bir set deneysel koşulların belirlenmesi için iki değişkenli Box-Wilson (BW) istatistiksel deney tasarımı kullanılmıştır. İlk deney setinde değişkenlerden birisi başlangıç ayrık otu kökü konsantrasyonu (X<sub>1</sub>) olurken diğeri amonyum klorür (NH<sub>4</sub>Cl) konsantrasyonu (X<sub>2</sub>) olmuştur. İkinci set BW deneyindeyse değişkenlerden ilki ayrık otu kökü konsantrasyonu (X<sub>1</sub>) iken ayrık otu yaprak konsantrasyonu (X<sub>2</sub>) ikinci değişken olmuştur. Buradaki esas amaç, hidrojen üretimini en iyileyen kompozisyonun belirlenmesi olmuştur. Her iki set deney için amaç fonksiyonu olarak H<sub>2</sub> üretim verimi, mL H<sub>2</sub>/100 mL (Y<sub>1</sub>), H<sub>2</sub> üretim hızı mL H<sub>2</sub> / saat, (Y<sub>2</sub>) ve TUYA üretim verimi, g TUYA / g TOK<sub>o</sub> (Y<sub>3</sub>) kullanılmıştır. İki parametrelili Box-Wilson deney tasarımında dört faktöriyel ve dört aksiyal deney noktası olmasının yanında üç tekrarlı merkez nokta bulunmakta ve toplam deney sayısı 11 olmaktadır. Box-Wilson deney noktalarında incelenen değişkenlerin haricindeki tüm koşullar (ilave edilen aşı miktarı, başlangıç deney hacmi, başlangıç pH değeri vb.) aynı tutulmuştur. Tüm deneyler bölüm 3.1’de aşı büyütülmesi konusunda belirtildiği gibi boro-silikat cam şişelerde anaerobik koşullarda 100 mL çalışma hacmi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Aşı olarak bölüm 3.3’te anlatılan BKE37 melas üzerinde 16 saat büyütüldükten sonra %10 (v/v) oranında ilave edilerek kullanılmıştır.

BW deney setlerinden elde edilen sonuçlar eşitlik 1'de verilen fonksiyon ile korele edilerek b sabitleri IBM SPSS Statistics Subscription (deneme sürümü) yazılımı ile hesaplanmıştır.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 \quad (2.1)$$

## 2.4 Analitik Metotlar

Deneysel çalışmalarda kullanılan tüm kimyasallar Merck firmasına ait ve %99,5-100 saflıktadır. Toplam gaz ölçümü %2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve %10 NaCl içeren çözeltinin (asit-tuz çözeltisi) kullanıldığı sıvı yer değiştirme prensibi esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Gaz ve sıvı numuneler deney şişeleri içerisinden şırınga ile alınmıştır. Gaz numuneleri GC'de (Gaz kromatografisi, Agilent 7820) analiz edilerek H<sub>2</sub> yüzde kompozisyonu belirlenmiştir. GC çalışma koşulları şöyledir: fırın sıcaklığı: 110 °C, giriş sıcaklığı: 230 °C, detektör sıcaklığı: 250 °C, kolon: Supelco, Carboxen<sup>TM</sup> 1010 PLOT Fused Silica Capillary Column, 30m x 0.53 mm (U.S. Patents 5-549-445 ve 5-607-580), taşıyıcı gaz: 8 mL/dk'dır. pH ve ORP ölçümleri HANNA 2211 markalı pH metre ile yapılmıştır. Sıvı faz numunelerde uçucu yağ asitleri (UYA) ve katı faz numunelerde ise toplam organik karbon (TOK) analizleri yapılmıştır. Ölçüm yöntemlerinde standart metotlar (Eugene vd. 2012) esas alınmıştır. Lignin, selüloz ve hemiselüloz analizleri Ege Üniversitesi Zootekni Bölümü Laboratuvarında yaptırılmıştır. Kümülatif hidrojen gazı hacmi hesabında H<sub>2</sub> kütle dengesi kurularak, günlük üretilen H<sub>2</sub> miktarı bir önceki günün üzerine ilave edilmiştir.

H<sub>2</sub> ve zaman verileri Gompertz eşitliği (2.2) ile korele edilerek eşitlik parametreleri belirlenmiştir. Bazen regresyon sonucunda bu parametrelerde uygunsuz sonuçlar elde edilebilmektedir. Bunun için gerekli kontroller el ile de hesaplanarak yapılmıştır.

$$H(t) = P \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_m e}{P} (\lambda - t) \right] + 1 \right\} \quad (2.2)$$

Burada, H(t): Kümülatif H<sub>2</sub> (mL), P: Hidrojen üretim potansiyeli (mL), R<sub>m</sub>: Hidrojen üretim hızı (mL H<sub>2</sub>/saat), λ: Lag süresi (saat), t: Fermentasyon süresi (saat)'dir.

Gaz hesaplamalarında ideal gaz denklemleri kullanılmıştır (2.3).

$$P.V=n.R.T \quad (2.3)$$

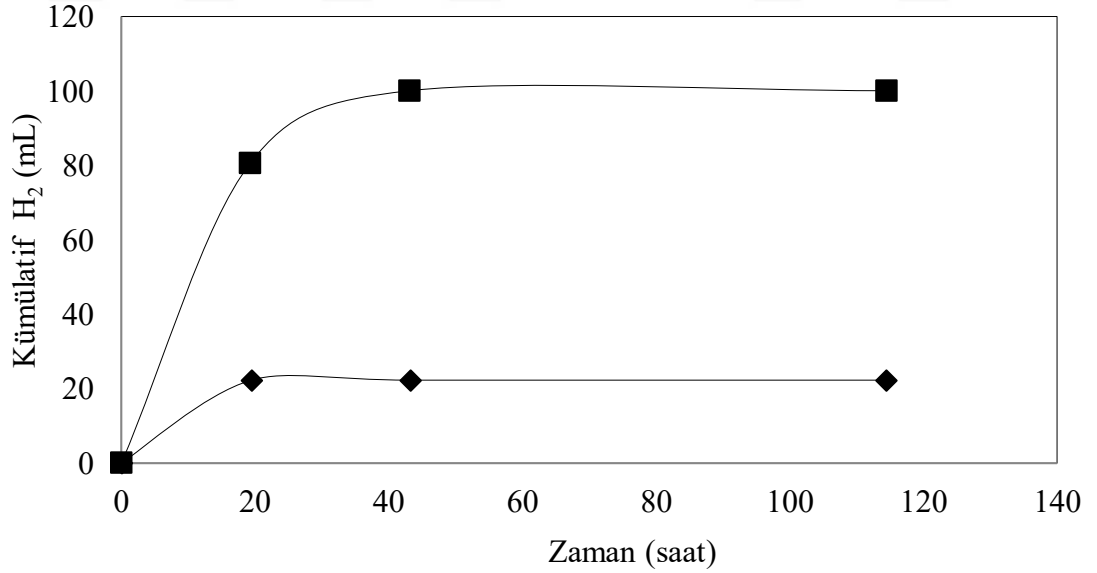
Burada, P: Basınç (atm), V: Hacim (L), n: mol sayısı, R: İdeal gaz sabiti (0,082 L.atm/mol.K) T: Sıcaklık (K).



### 3. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

#### 3.1 Atık Türüne Karar Verilmesi

Şekil 3.1, ayrık ve meyan köklerinin substrat olarak kullanıldığı karanlık fermantasyon ile  $H_2$  üretim deneylerinin kıyaslanmasını göstermektedir. Bu kıyaslama deneyinde substrat türü dışındaki tüm parametreler eşit tutulmuştur. Şekil 3.1 incelendiğinde ayrık kökü kullanılarak 43 saat sonunda 100,01 mL hidrojen üretilirken, meyan kökü ile yapılan deneyden aynı sürede 22,32 mL kümülatif Hidrojen çıkışı olmuştur. Fermantasyonun ilk 20 saati de incelendiğinde ayrık otu ile yapılan deneyden (80,64 mL) elde edilen hidrojen üretimi meyan kökünün kullanıldığı çalışmanın hidrojen üretiminin yaklaşık dört katı olmuştur. Bu da ayrık otundan hidrojen üretiminin meyan kökünde kıyasla daha avantajlı olduğunu göstermiştir.



Şekil 3.1: Ayrık kökü (■) ve meyan kökünden (◆) karanlık fermantasyon ile hidrojen üretiminin kıyaslanması.

Tablo 3.1, ayrık ve meyan kökü ile yapılan çalışmalara ait Gompertz eşitliği katsayılarını özetlemektedir. Dikkat edilirse, ayrık otuna ait korelasyon katsayısı

%96,31 olup,  $R_m$  dışındaki  $P$  ve  $\lambda$  değerleri Şekil 3.1 ile uyumlu çıkmıştır. Modelin  $R_m$  değerini yüksek hesaplaması nedeniyle bu değer el ile hesaplandığında 4,17 mL  $H_2$ /saat gibi daha makul bir değer olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer taraftan meyan kökü ile yapılan çalışmaya ait Gompertz eşitliği katsayılarında da  $R_m$  haricinde Şekil 3.1 ile tutarlılık görülmüştür. Meyan kökü deneyi için  $R_m$  el ile hesaplandığında 1,15 mL  $H_2$ /saat değeri çıkmaktadır. Bu noktadan hareketle,  $R_m$  değerleri kıyaslandığında ayırık köküyle hidrojen üretiminin daha hızlı olduğu söylenebilir. Lag süreleri her iki deney içinde hemen hemen aynı mertebelerde çıkmış olup, mikroorganizmaların substratlara yaklaşık aynı sürelerde adapte olduğunu göstermektedir.

**Tablo 3.1:** Ayırık otu kökü ve meyan kökü ile hidrojen üretim çalışmalarına ait Gompertz eşitliği

Bitkisel atık	P (mL $H_2$ /100 mL)	$R_m$ (mL $H_2$ /saat)	$\lambda$ (saat)	$R^2$
Ayrık kökü	93,59	76,71	1,65	96,31
Meyan kökü	22,32	15,12	1,32	1,00

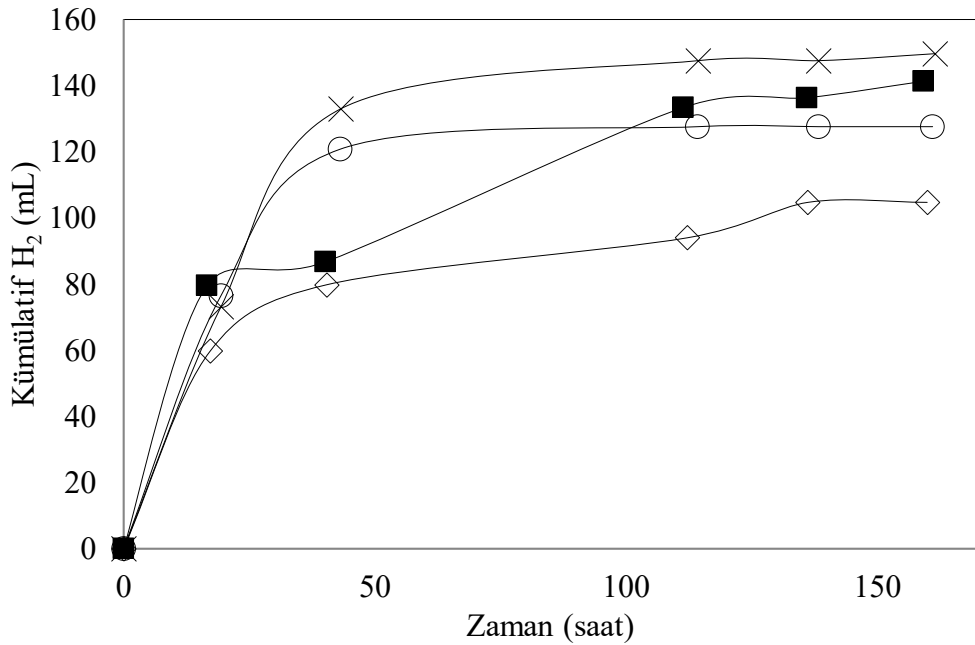
Ayrık otu ile yapılan çalışmada biyogaz içerisinde ulaşılan maksimum hidrojen yüzdesi %29,7 olurken meyan kökünde bu değer %4,36 seviyesinde kalmıştır. Her iki deney esnasında metan üretimi olmamıştır. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde ayırık otu kökünden  $H_2$  üretiminin daha avantajlı olduğu açıkça görülmüştür.

### 3.2 Aşı Kültürüne Karar Verilmesi

Şekil 3.2, farklı kompostlardan üretilen aşuların kümülatif hidrojen üretimlerinin zamana göre değişimini göstermektedir. Buna göre tüm aşuların ayırık otu kökünden hidrojen üretimini gerçekleştirebildiği anlaşılmaktadır. Tüm aşular ilk 20 saat içerisinde aktif bir şekilde  $H_2$  üretmiştir. En yüksek  $H_2$  üretimi BKE37 ile 150 mL olarak gerçekleşmiştir. Bunu 141,32 mL ile TK55, 127,6 mL ile BKK37 ve 104,7 mL ile TKE55 takip etmiştir. BKE37 ve BKK37 aynı komposttan farklı ısı işleme tabi tutulan aşular olmasına rağmen  $H_2$  üretim performansları farklı olmuştur. Bunun birçok nedeni olabilir, ancak düşük pH'ta kaynatma metanojen eliminasyonu yanında  $H_2$  üreten mikroorganizmaları da olumsuz etkilemiş olabilir. Oysa, etüvde

90 °C’de 30 dakikalık ısıtma tabii tutulan kompostta H<sub>2</sub> üreten kültürler daha az dejenere olmuş olabilirler. Mezofilik ortamda kompostun etüvde ısıtma tabii tutulması daha verimli olmuştur. Tenekede üretilen komposttan elde edilen aşılarda ise kaynatılarak ısıtma tabii tutulan aşı (TKK55) etüv muamelesinden (TKE55) daha yüksek H<sub>2</sub> üretimi gerçekleştirmiştir.

Bunun nedeni uygulanan ön işlemler sonrasında kompostların mikrobiyal popülasyonlarında oluşan farklılıklar olabilir. Tüm şartlar incelendiğinde mezofilik şartlarda ayırık otu kökünden BKE37’nin en yüksek H<sub>2</sub> üretimini gerçekleştirdiği sonucu çıkmaktadır.



Şekil 3.2: Farklı kompostlardan üretilen aşılardan üretilen kümülatif hidrojen üretimlerinin zamana göre değişimi. (X: BKE37, ■: TKK55, o: BKK37, ◊: TKE55)

Tablo 3.2’de kullanılan aşılara ait Gompertz eşitliği sabitleri incelendiğinde sonuçların Şekil 3.2 ile uyumlu çıktığı görülmektedir. Buna göre maksimum H<sub>2</sub> üretim değerleri en yüksek BKE37 için 147,76 mL olarak hesaplanırken en düşük TKE55’te elde edilmiştir. H<sub>2</sub> üretim hızları incelendiğinde mezofilik şartlardaki değerlerin termofilik şartların yaklaşık iki katı olduğu söylenebilir. Adaptasyon süreleri değişkenlik göstermekle birlikte TKK55 için model ile negatif değer elde edilmiş olup, bunun bir anlamı yoktur. Grafikler incelendiğinde adaptasyon sürelerinin düşük olduğu söylenebilir.

**Tablo 3.2:** Farklı aşı kültürlerinden hidrojen üretim deneylerine ait Gompertz eşitlikleri.

Aşı	P (mLH <sub>2</sub> /100 mL)	Rm (mL H <sub>2</sub> /saat)	λ (saat)	R <sup>2</sup>
BKE37	147,76	4,76	4,23	99,90
BKK37	127,11	5,21	4,42	99,95
TKK55	135,59	2,49	-6,09	91,94
TKE55	98,59	3,18	0,13	96,27

BKE37 aşısına ait H<sub>2</sub> üretim verimi 70,77 mL H<sub>2</sub>/g KM olup, diğerleri arasında en yüksek değer olarak hesaplanmıştır. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde 90°C'de 30 dakikalık ısıtma işlemine tabi tutulmuş kompostun mezofilik şartlarda ayırık kökünden en verimli H<sub>2</sub> üretimi yaptığı sonucuna varılmıştır.

### 3.3 H<sub>2</sub> Üretimi İçin Uygun Substrat Kompozisyonunun Belirlenmesi

#### 3.3.1 Ayırık Otu Kökü ile Amonyum Klorür Box-Wilson Deneyleri

Tablo 3.3, ayırık otu kökü ile NH<sub>4</sub>Cl derişimlerinin bağımsız değişken olarak kullanıldığı Box-Wilson (BW) deney setine ait deneysel ve model tahmini değerlerini göstermektedir. Bu tasarımda X<sub>1</sub>: 5-60 g/L arasında değişirken X<sub>2</sub>: 0-1,5 g/L arasında değişmiştir. Tablo 2.1 incelendiğinde ayırık otu kökünün C/N değerinin 49,26 olduğu görülmektedir ki bu değer karanlık fermantasyon ile hidrojen üretiminde 20 civarında olması tercih edilir. Bu nedenle ortama azot kaynağı ilave edilerek C/N oranının uygun seviyelere indirilmesi düşünülmüştür. Bu sayede C/N oranı bu set deneyde 8,56-49,67 aralığında incelenmiştir. A4 noktası için C/N oranı 20 dir. Bununla birlikte bu set deneyde amaç en uygun hidrojen üretimini veren ayırık kökü ve NH<sub>4</sub>Cl karışım derişimlerinin belirlenmesi olmuştur. Tablo 4 incelendiğinde Hidrojen üretim verimi, Hidrojen üretim hızı ve TUYA verimi 49-668 mL H<sub>2</sub>/ 100 mL, 2-14 mL H<sub>2</sub>/saat, 0,07-0,56 g TUYA / g TOK<sub>o</sub> arasında değişmiştir. Deneysel ve model tahmini değerleri çoğunlukla uyum gösterirken bazı değerlerde sapmalar gözlemlenmiştir. Bu set deneyin gerçekleştirilmesi esnasında A3 noktası deney şişesinin kırılması nedeniyle kuadratik fonksiyon sabitlerinin belirlenmesi esnasında

A3 noktası hesap dışında tutulmuştur. Buna rağmen deneysel ve model tahmin değerleri tutarlılık içerisinde kalmıştır.

**Tablo 3.3:** BW deney sonuçları (Ayrık kökü-NH<sub>4</sub>Cl).

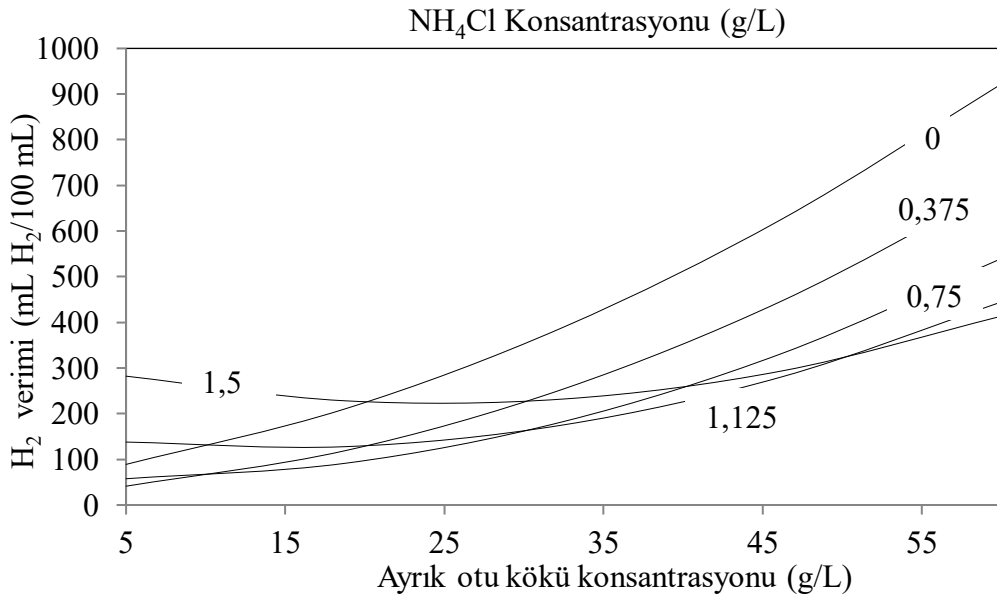
	Değişkenler		Deneysel ve model ile tahmin edilen sonuçlar					
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Y <sub>1</sub>		Y <sub>2</sub>		Y <sub>3</sub>	
	Ayrık otu kökü derişimi (g/L)	NH <sub>4</sub> Cl derişimi (g/L)	Hidrojen verimi (mLH <sub>2</sub> /100 mL)		R <sub>m</sub> (mLH <sub>2</sub> /saat)		TUYA verimi (gTUYA/gTOK <sub>0</sub> )	
Aksiyal noktalar			Deney	Model	Deney	Model	Deney	Model
A <sub>1</sub>	5,00	0,75	49,66	57,57	2,04	0,34	0,56	1,25
A <sub>2</sub>	60,00	0,75	667,04	539,77	7,30	7,77	0,10	1,74
A <sub>3</sub>	60,00	0,00		922,02		21,78		1,72
A <sub>4</sub>	32,50	1,50	350,59	232,19	12,19	9,88	0,09	0,595
Faktöryel noktalar								
F <sub>1</sub>	51,94	1,28	184,46	331,84	3,09	6,31	0,07	1,14
F <sub>2</sub>	51,94	0,22	554,66	618,47	14,03	15,32	0,13	1,27
F <sub>3</sub>	13,06	1,28	112,77	166,22	3,95	6,59	0,30	0,95
F <sub>4</sub>	13,06	0,22	132,44	102,35	3,81	4,52	0,25	0,79
<u>Orta nokta</u>	32,50	0,75	183,52	182,96	5,89	6,32	0,13	0,74

Bu tutarlılık Tablo 3.4'te R<sup>2</sup> değerleri incelendiğinde daha iyi görülmektedir. Her üç amaç fonksiyonu için R<sup>2</sup> değerleri %80 üzerinde çıkmıştır.

**Tablo 3.4:** BW amaç fonksiyonu sabitleri (Ayrık kökü-NH<sub>4</sub>Cl).

	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>12</sub>	b <sub>11</sub>	b <sub>22</sub>	R <sup>2</sup>
Y <sub>1</sub>	59,164	5,201	-170,08	-8,505	0,153	227,614	0,83
Y <sub>2</sub>	0,662	0,532	-10,544	-0,269	-0,003	10,678	0,83
Y <sub>3</sub>	1,178	-0,051	0,648	-0,007	0,001	-0,272	0,94

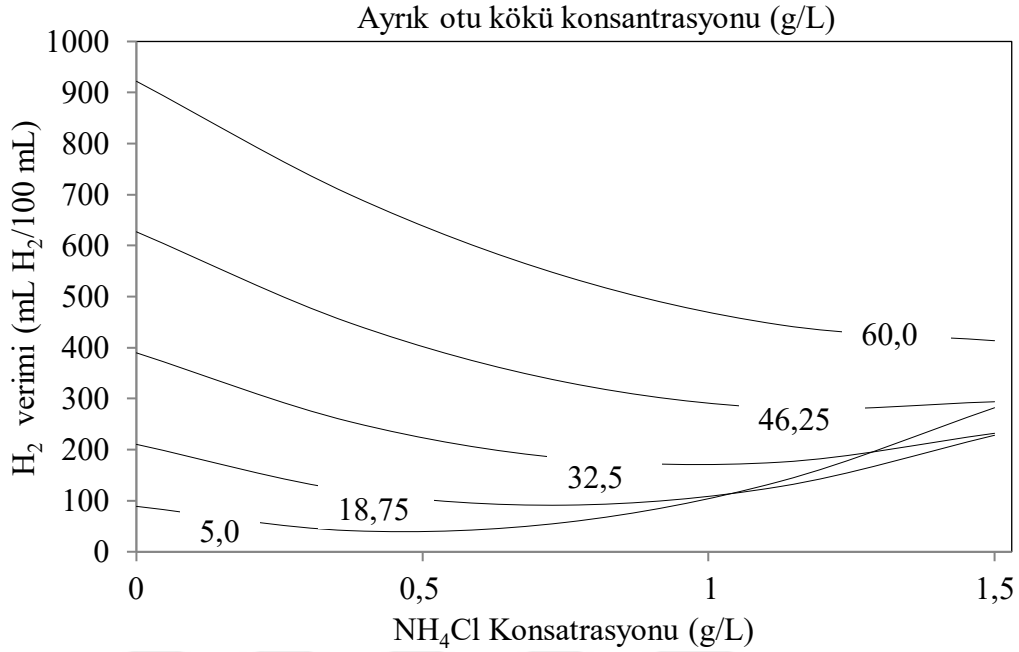
Şekil 3.3 sabit NH<sub>4</sub>Cl derişiminde H<sub>2</sub> veriminin ayırık kökü derişimiyle değişimini göstermektedir. Dikkat edilirse verimi NH<sub>4</sub>Cl derişiminin sabit tutulduğu tüm durumlarda ayırık kökü derişiminin arttırılmasıyla birlikte arttığı görülmektedir. En yüksek H<sub>2</sub> verimi (922,04 mLH<sub>2</sub>/100 mL) NH<sub>4</sub>Cl ilavesinin yapılmadığı ve ayırık kökü derişiminin 60 g/L olduğu durumda oluşmaktadır. NH<sub>4</sub>Cl derişiminin H<sub>2</sub> verimi üzerine olan etkisinin Şekil 3.4’te daha iyi anlaşılacaktır.



**Şekil 3.3:** Sabit NH<sub>4</sub>Cl derişiminde H<sub>2</sub> veriminin ayırık otu kökü derişimiyle değişimi.

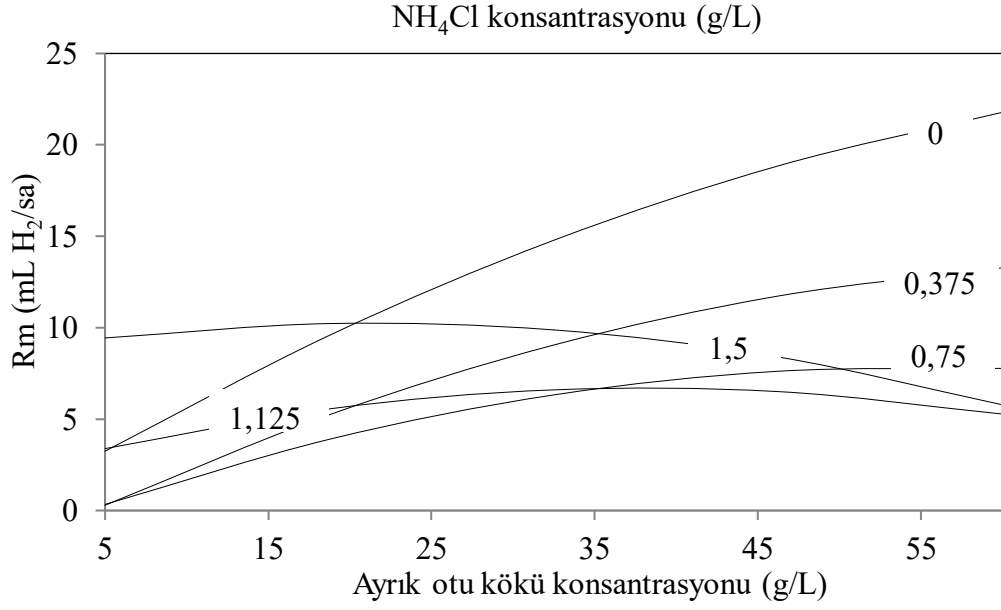
Şekil 3.4. sabit ayırık otu kökü derişiminde H<sub>2</sub> veriminin NH<sub>4</sub>Cl derişimiyle değişimini göstermektedir. Dikkat edilirse sabit NH<sub>4</sub>Cl derişiminde ayırık kök derişiminin arttırılması durumunda daha yüksek H<sub>2</sub> verimleri elde edilmektedir. NH<sub>4</sub>Cl derişimin arttırılmasıyla birlikte her ayırık kök derişimi için H<sub>2</sub> verimleri düşüş göstermiştir. Bu durum artan NH<sub>4</sub>Cl derişimi ile ortamdaki klorür iyonunun mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon oluşturmasından olabilir. Şekil 3.3 ve 3.4

incelendiğinde hiç  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ilave edilmemesi halinde daha yüksek  $\text{H}_2$  verimlerinin elde edildiği görülmüştür.



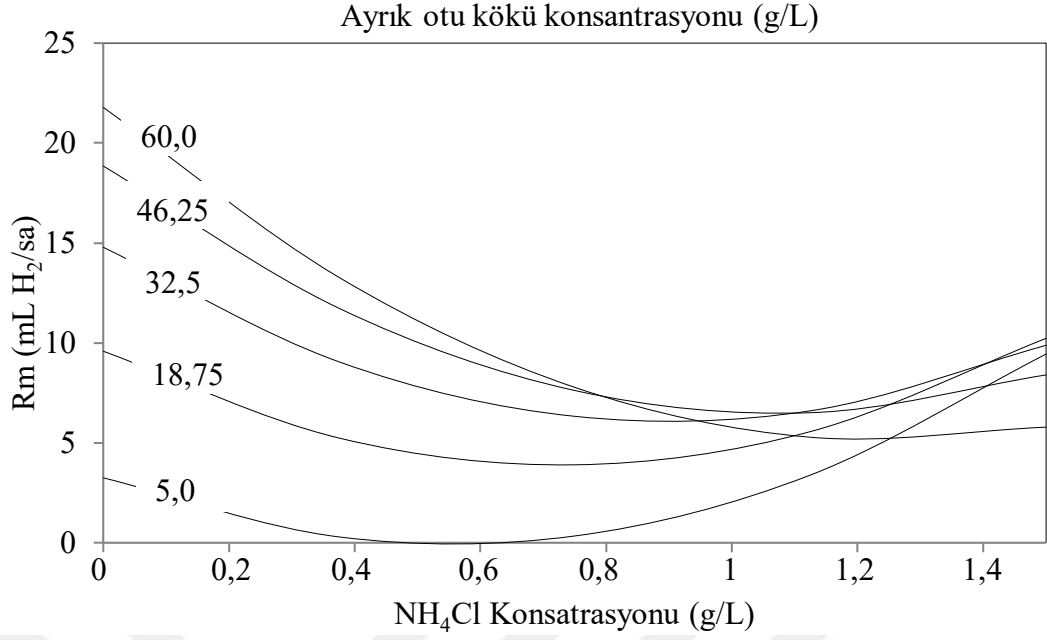
Şekil 3.4: Sabit ayırık otu kökü derişiminde  $\text{H}_2$  veriminin  $\text{NH}_4\text{Cl}$  derişimiyle değişimi.

Şekil 3.5 sabit  $\text{NH}_4\text{Cl}$  derişiminde hidrojen üretim hızı olan  $R_m$ 'in ayırık otu kökü derişimiyle olan değişimini göstermektedir. En yüksek  $R_m$  değeri olan 21,78 mL  $\text{H}_2$  / saat değeri ayırık otu kökü ve  $\text{NH}_4\text{Cl}$  derişimlerinin sırasıyla 60 ve 0 g/L olduğu durumda oluşmaktadır. Genel olarak bakıldığında 0'dan 0,75 g/L'ye kadar olan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  derişimleri için ayırık kökü derişiminin artırılmasıyla birlikte  $R_m$  değeri artış göstermiştir. 1,125 ve 1,5 g/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$  derişimleri için ayırık kökü derişimi 5 ile 60 g/L aralığında değişirken önce hafif artış göstermiş daha sonra azalmıştır. Ancak 0 g/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ile kıyaslandığında diğer tüm  $\text{NH}_4\text{Cl}$  derişimlerinin katkısının minimal olduğu gözükmektedir.



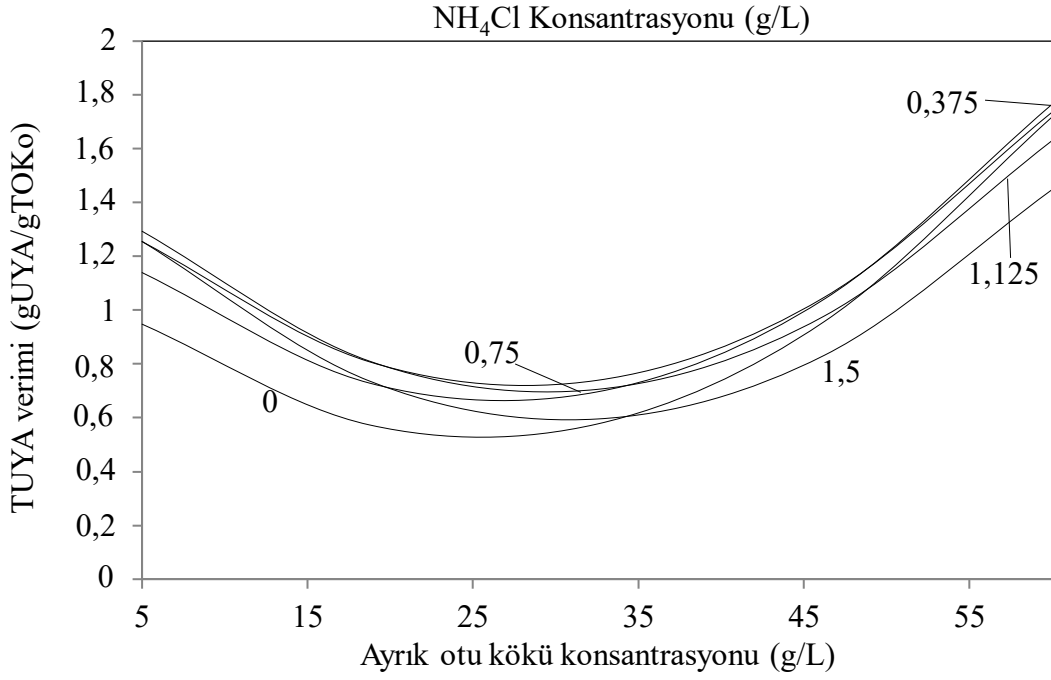
Şekil 3.5: Sabit NH<sub>4</sub>Cl derişiminde H<sub>2</sub> üretim hızının ayrik otu kökü derişimiyle değişimi.

Sabit ayrik otu kökü derişiminde H<sub>2</sub> üretim hızının (Rm) NH<sub>4</sub>Cl derişimiyle değişimi Şekil 3.6'da özetlenmiştir. Burada da 0 g/L NH<sub>4</sub>Cl derişiminde 60 g/L ayrik otu kökü derişiminin diğer tüm derişimlerden daha yüksek Rm verdiği görülmektedir. Genel olarak bakıldığında NH<sub>4</sub>Cl derişiminin tüm sabit ayrik kökü derişimleri için yaklaşık 0,6 g/L'ye kadar azalış gösterdiği daha sonra hafif bir artışa neden olduğu söylenebilir.



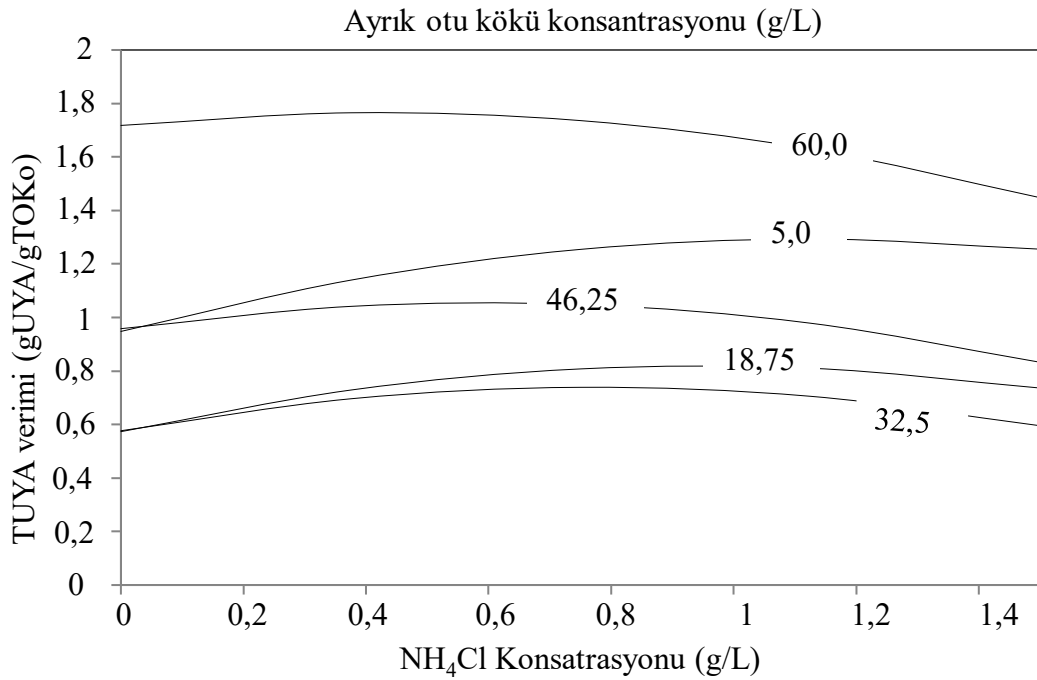
Şekil 3.6: Sabit ayırık otu kökü derişiminde H<sub>2</sub> üretim hızının NH<sub>4</sub>Cl derişimiyle değişimi.

Şekil 3.7 incelendiğinde sabit NH<sub>4</sub>Cl derişiminde TUYA veriminin ayırık kökü derişimiyle değişimi görülmektedir. Buna göre tüm sabit NH<sub>4</sub>Cl derişimleri için ayırık kökü derişiminin 5'ten 30 g/L çıkartılmasıyla birlikte bir düşüş daha sonra yükseliş görülmektedir. En yüksek TUYA verimi olan 1,736 g TUYA / g TOKo 60 g/L ayırık kökü ve 0,375 g/L NH<sub>4</sub>Cl derişimlerinde elde edilmiştir. NH<sub>4</sub>Cl derişiminin TUYA verimi üzerindeki etkisini daha iyi anlayabilmek için Şekil 3.8 oluşturulmuştur.



Şekil 3.7: Sabit NH<sub>4</sub>Cl derişiminde TUYA veriminin ayrik otu kökü derişimiyle değişimi.

Şekil 3.8'e bakıldığında genel olarak NH<sub>4</sub>Cl derişiminin 5 g/L hariç tüm sabit ayrik otu kökü derişimleri için 0'dan 0,8 g/L'ye kadar artırılması TUYA veriminde hafif bir artış gösterdikten sonra daha yüksek NH<sub>4</sub>Cl derişimleri uygulandığında düşüş göstermiştir.



Şekil 3.8: Sabit ayrik otu kökü derişiminde TUYA veriminin NH<sub>4</sub>Cl derişimiyle değişimi.

Yukarıdaki sonuçlar değerlendirildiğinde 60 g/L ayrık kökü ve 0 g/L NH<sub>4</sub>Cl kullanılmasının en uygun H<sub>2</sub> üretimini sağladığı sonucuna varılmış ve bu nokta için üç tekrarlı verifikasyon deneyleri yapılmıştır. Buna göre modelin doğruluğu H<sub>2</sub> verimi, R<sub>m</sub> ve TUYA verimi için sırasıyla %75, %74 ve %20 olarak sağlanmıştır. Görüldüğü gibi bu set deney için %80 üzerinde verifikasyon elde edilememiştir. Bu duruma, farklı zamanda yapılan verifikasyon denemesi için aşı kaynağı profilinde meydana gelen ancak tarafımızdan mikroskopik olarak tespit edilemeyen popülasyon değişimi neden olmuş olabilir. Mikrobiyal proseslerde bu tarz durumların görülmesi muhtemeldir.

**Tablo 3.5:** Ayrık kök ve ayrık otu karışımı verifikasyon deney sonuçları.

X <sub>1</sub> : 60 g/L X <sub>2</sub> : 0 g/L	Amaç fonksiyonu	Deneysel sonuç	Model tahmini
	Y <sub>1</sub>	689,13	922,02
	Y <sub>2</sub>	29,39	21,78
	Y <sub>3</sub>	0,34	1,78

### 3.3.2 Ayrık Otu Kökü ile Ayrık Otu Yapağı Box-Wilson Deneyleri

Tablo 3.6, ayrık otu kökü ile ayrık otu yapağı derişimlerinin bağımsız değişken olarak kullanıldığı BW deney setine ait deneysel ve model tahmini değerlerini göstermektedir. Bu tasarımda X<sub>1</sub>: 5-125 g/L arasında değişirken X<sub>2</sub>: 0-29,75 g/L arasında değişmiştir. Bağımsız değişken derişim aralıkları belirlenirken Bölüm 3.3.1'deki tasarım ve sonuçlar dikkate alınmıştır. Bu deney setinde incelenen noktalarda C/N oranı 6,83-49,67 aralığında değişim göstermiştir. Burada da A4 noktası için C/N oranı 20'dir. Bu set deneyde amaç en uygun hidrojen üretimini veren ayrık otu kökü ve yapağı karışım derişimlerinin belirlenmesidir. Tablo 3.6 incelendiğinde hidrojen üretim verimi, hidrojen üretim hızı ve TUYA veriminin 27-721 mL H<sub>2</sub> / 100 mL, 1,7-23 mL H<sub>2</sub> / saat, 0,11-0,19 g TUYA / g TOK<sub>o</sub> arasında değişim gösterdiği görülmektedir. Deneysel ve model tahmini değerlerin çoğunlukla uyumlu olduğu görülmüştür. Tablo 3.7'de R<sup>2</sup> değerleri incelendiğinde üç amaç fonksiyonu için R<sup>2</sup> değerlerinin %90 üzerinde çıktığı görülmektedir.

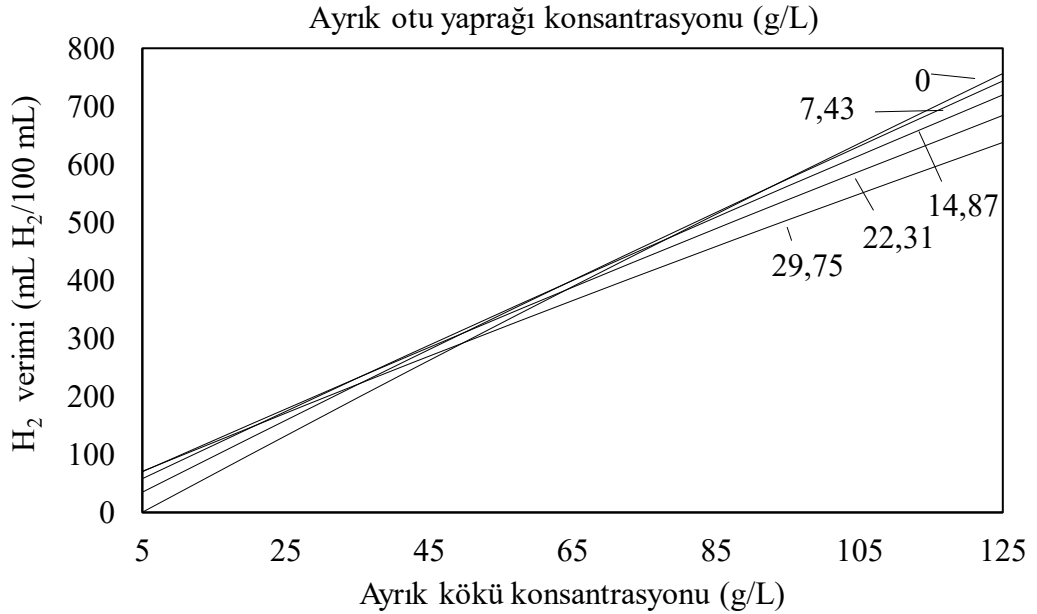
**Tablo 3.6:** BW deney sonuçları (Ayrık otu kökü-ayrık otu yaprağı).

	Değişkenler		Deneysel ve model ile tahmin edilen sonuçlar					
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Y <sub>1</sub>		Y <sub>2</sub>		Y <sub>3</sub>	
	Ayrık kökü derişimi (g/L)	Ayrık otu yaprağı derişimi (g/L)	Hidrojen verimi (mLH <sub>2</sub> /100 mL)		R <sub>m</sub> (mLH <sub>2</sub> /saat)		TUYA verimi (gTUYA/gTOK <sub>0</sub> )	
Aksiyal noktalar			Deney	Model	Deney	Model	Deney	Model
A <sub>1</sub>	5,00	14,87	27,98	58,18	1,73	3,93	0,11	0,11
A <sub>2</sub>	125,00	14,87	720,23	719,57	22,31	15,79	0,22	0,22
A <sub>3</sub>	65,00	0,00	343,97	389,18	12,69	12,69	0,14	0,15
A <sub>4</sub>	65,00	29,75	379,97	365,07	12,67	11,14	0,16	0,14
Faktöryel noktalar								
F <sub>1</sub>	107,42	25,38	572,31	584,65	19,81	14,98	0,18	0,19
F <sub>2</sub>	107,42	4,36	678,27	648,97	20,63	15,19	0,19	0,20
F <sub>3</sub>	22,58	25,38	169,41	164,31	7,57	5,70	0,12	0,12
F <sub>4</sub>	22,58	4,365	181,60	134,11	10,27	7,69	0,12	0,12
<u>Orta nokta</u>	65,00	14,87	400,45	399,68	15,28	13,46	0,17	0,17

**Tablo 3.7:** BW amaç fonksiyonu sabitleri (Ayrık otu kökü-ayrık otu yaprağı).

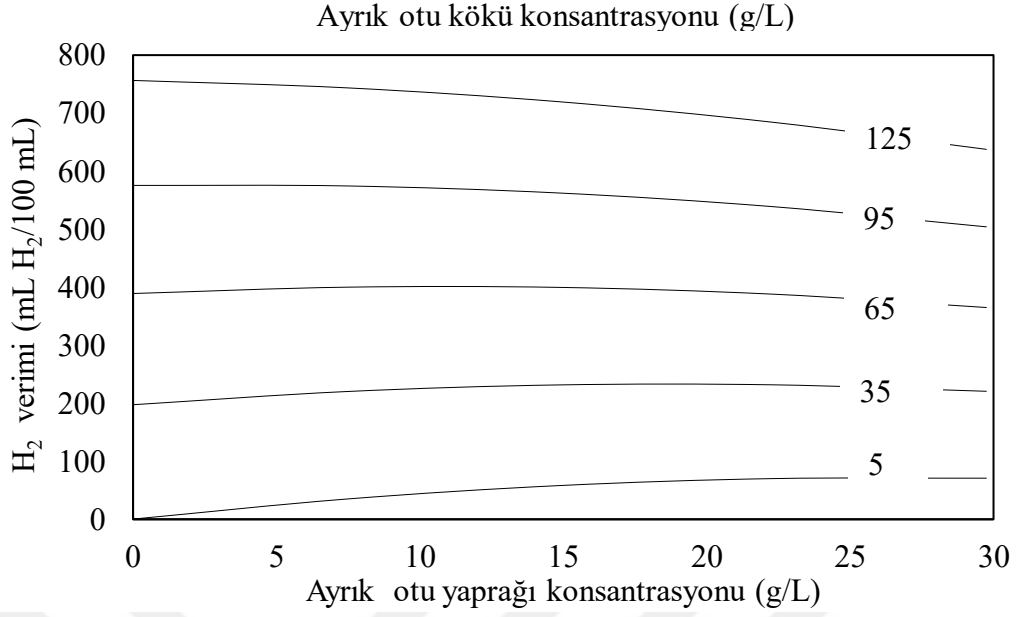
	$b_0$	$b_1$	$b_2$	$b_{12}$	$b_{11}$	$b_{22}$	$R^2$
$Y_1$	-32,993	6,69	5,668	-0,053	-0,003	-0,102	0,98
$Y_2$	3,009	0,214	0,091	0,001	-0,001	-0,007	0,95
$Y_3$	0,083	0,001	0,003	$3,458 \times 10^{-6}$	$1,868 \times 10^{-7}$	$9,67 \times 10^{-5}$	0,98

Şekil 3.9 sabit ayrık yaprağı derişiminde  $H_2$  veriminin ayrık kökü derişimiyle değişimini göstermektedir. Buna göre tüm sabit ayrık yaprağı derişimleri için  $H_2$  verimi ayrık kökü derişiminin arttırılmasıyla birlikte artış göstermiştir. En yüksek verim 125 g/L ayrık kökü ile 0 g/L ayrık yaprağı olan durumda 743,62 mL  $H_2$  / 100 mL olarak bulunmuştur. Ayrık yaprağı ilavesinin  $H_2$  verimi üzerine olan etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için Şekil 3.10 çizilmiştir.



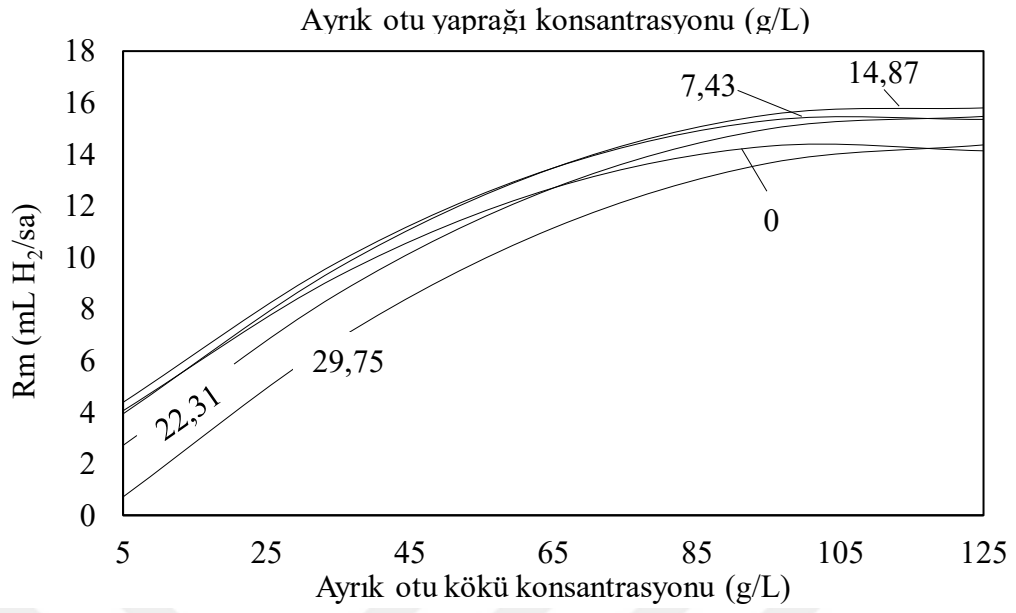
**Şekil 3.9:** Sabit ayrık otu yaprağı derişiminde  $H_2$  veriminin ayrık otu kökü derişimiyle değişimi.

Buna göre 95 ve 125 g/L sabit ayrık kökü derişimlerinde ayrık yaprağı derişiminin 0'dan 29,75 g/L'ye kadar arttırılması durumunda  $H_2$  verimlerinde hafif düşüşler gözlemlenmiştir. Diğer ayrık otu kökü derişimlerindeyse ayrık otu yaprağı derişiminin arttırılması  $H_2$  veriminde çok az yükselme etkisi gösterdikten sonra düşüş gözlemlenmiştir.



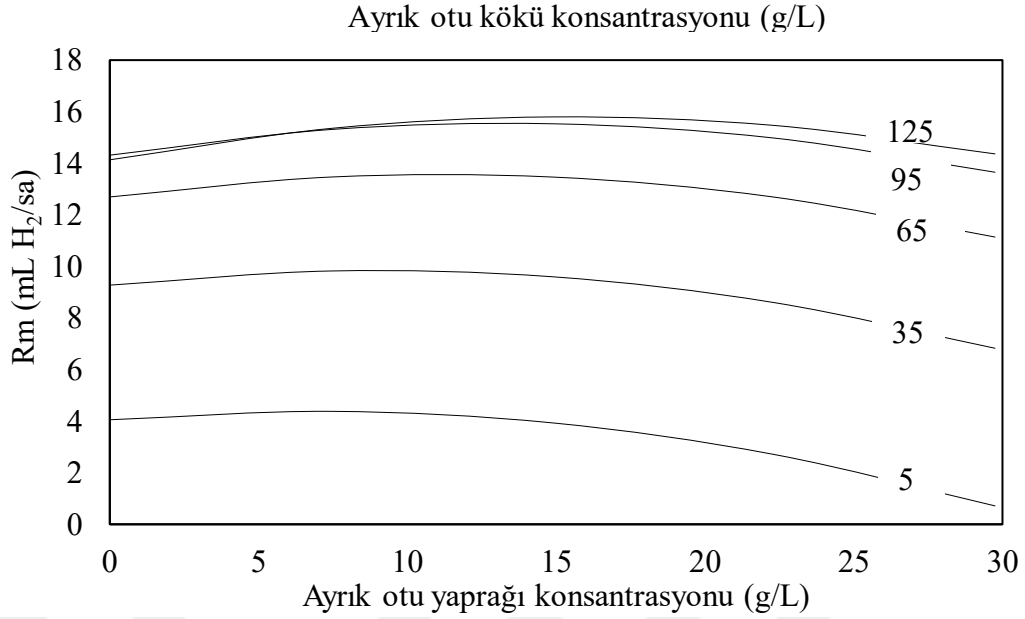
**Şekil 3.10:** Sabit ayırık otu kökü derişiminde H<sub>2</sub> veriminin ayırık otu yaprağı derişimiyle değişimi.

Şekil 3.11 sabit ayırık otu yaprağı derişiminde R<sub>m</sub>'in ayırık otu kökü derişimiyle değişimini göstermektedir. Şekil incelendiğinde R<sub>m</sub> değerinin tüm sabit ayırık otu yaprağı derişimlerinde ayırık otu kökü derişiminin arttırılmasıyla birlikte arttığı ve sonra sabitlendiği görülmektedir. Şekil 3.11'e göre ayırık otu kökü derişiminin arttırılmasının R<sub>m</sub> üzerinde etkili bir artış yaptığı söylenebilir. Ayırık otu yaprağı derişiminin etkisi Şekil 3.12'de daha iyi görülmektedir.



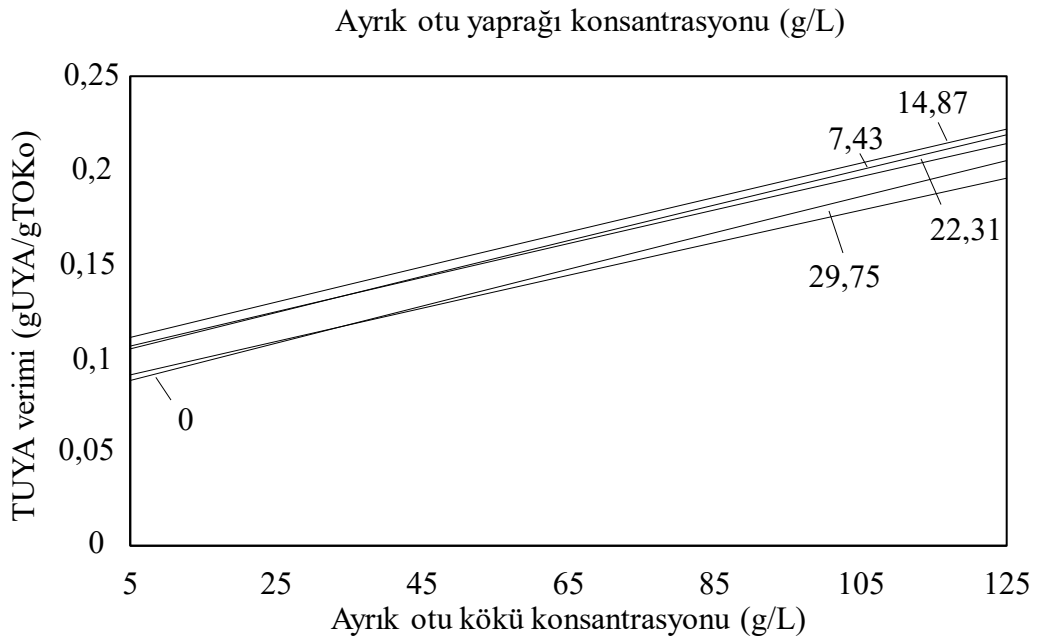
**Şekil 3.11:** Sabit ayrik otu yaprağı derişiminde Rm'in ayrik otu kökü derişimiyle değişimi.

Şekil 3.12, sabit ayrik otu kökü derişiminde Rm'in ayrik otu yaprağı derişimiyle değişimini ifade etmektedir. Buna göre, özellikle 35 g/L üzerindeki ayrik otu kökü derişimleri için ayrik otu yaprağı derişiminin 0'dan 10-20 g/L değerlerine kadar artırılması Rm üzerinde arttırıcı bir etki yaparken daha yüksek ayrik otu yaprağı derişimleri Rm değerlerinde azalmaya neden olmuştur. En yüksek Rm değeri ayrik otu kök ve yaprak derişimlerinin 125 ve 14,875 g/L olduğu değerde elde edilmiştir.



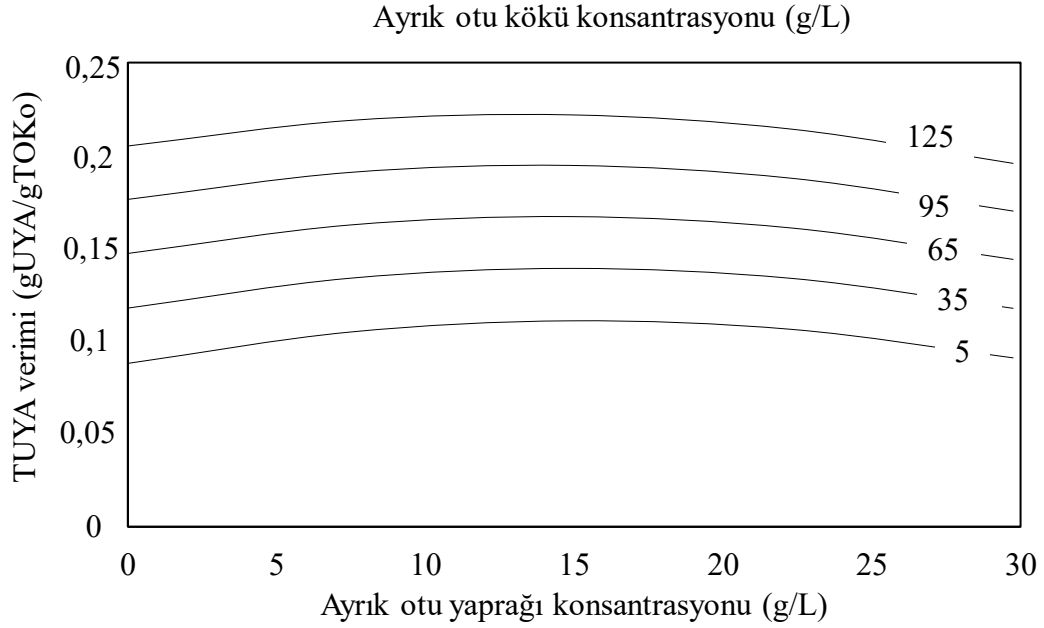
Şekil 3.12: Sabit ayrik otu kökü derişiminde Rm'in ayrik otu yaprağı derişimiyle değişimi.

Şekil 3.13, sabit ayrik otu yaprağı derişiminde TUYA veriminin ayrik otu kökü derişimiyle değişimini göstermektedir. Şekilden de anlaşılacağı üzere, tüm sabit ayrik otu yaprağı derişimleri için, ayrik otu kök derişiminin artırılmasıyla birlikte TUYA verimi lineer olarak artmıştır. En yüksek TUYA verimi 125 g/L ayrik otu kökü ve 14,875 g/L ayrik otu yaprağının olduğu durumda 0,22 gTUYA / gTOKo olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.13: Sabit ayrik otu yaprağı derişiminde TUYA veriminin ayrik otu kökü derişimiyle değişimi.

Sabit ayrık otu kökü derişimlerinde ayrık otu yaprağı derişiminin TUYA verimi üzerine olan etkileri Şekil 3.14'te görölmektedir. Buna göre tüm ayrık otu kökü derişimlerinde ayrık otu yaprağı derişiminin 0'dan 15 g/L mertebesine kadar arttırılması TUYA veriminin yükselmesine daha yüksek ayrık yaprağı derişimleri de TUYA veriminin düşmesine neden olmuştur. H<sub>2</sub> ve uçucu yağ asitleri karanlık fermantasyonda eş zamanlı oluşan ürünler olup, buradaki değişim Şekil 3.10 ve 3.12 ile birebir olmasa da uyum içerisinde olduğu söylenebilir.



**Şekil 3.14:** Sabit ayrık otu kökü derişiminde H<sub>2</sub> veriminin ayrık otu yaprağı derişimiyle değişimi.

Yukarıdaki sonuçlar değerlendirildiğinde 125 g/L ayrık otu kökü ve 14,875 g/L ayrık otu yaprağı kullanılmasının en uygun H<sub>2</sub> üretimini sağladığı sonucuna varılmış ve bu nokta için üç tekrarlı verifikasyon deneyleri yapılmıştır. Buna göre deneysel ve model tahmini değerleri Tablo 3.8'de verilmiştir. Buna göre modelin doğruluğu H<sub>2</sub> verimi %92,3, Rm %67,7 ve TUYA verimi için %92 olarak sağlanmıştır.

**Tablo 3.8:** Ayrık otu kök ve ayrık otu yaprağı karışımı verifikasyon deney sonuçları.

X <sub>1</sub> : 125 g/L X <sub>2</sub> : 14,875 g/L	Amaç fonksiyonu	Deneysel sonuç	Model tahmini
	Y <sub>1</sub>	779,66	719,57
	Y <sub>2</sub>	23,33	15,79
	Y <sub>3</sub>	0,24	0,22

## 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bahsedildiği üzere bu tez çalışması üç aşamada gerçekleştirilmiştir.

İlk aşama olan atık türüne karar verilmesi, ayrık otu kökü ve meyan kökü bitkisel atıklarının biyohidrojen üretim performanslarının değerlendirilmesi sonucu gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda ayrık otu kökü ile 43. saat sonunda 100,01 ml H<sub>2</sub> üretimi gerçekleşirken, meyan kökü ile aynı sürede 22,32 ml H<sub>2</sub> üretimi gerçekleşmiştir. Sonuçlar göz önüne alındığında bu tez çalışması kapsamında kullanılacak olan lignoselülozik bitkisel atığın, ayrık otu kökü olacağına karar verilmiştir.

İkinci aşama olan aşı kültürüne karar verilmesi, lignoselülozik yapıdaki substratı parçalayabilecek organizmaların çeşitli orman atıklarından ve evsel atıklardan oluşturulan farklı iki kompost türünden (bidon kompost ve teneke kompost) elde edilmesi amaçlanmıştır. Hazırlanan kompostların termofilik sıcaklıklara çıkması ve termofilik sıcaklıklarda biyohidrojen üretimi yapan organizmaların da kullanılabilmesi amaçlanmış ancak kompostlar termofilik sıcaklıklara ulaşamamıştır. Kompostların içerisindeki hidrojen tüketen mikroorganizmaların eliminasyonu için 90°C'de 30 dakika boyunca etüvde ısıtma işlemi tabi tutma ve düşük pH'ta kaynatma yöntemleri ayrı ayrı her iki kompost türleri için de uygulanmıştır. Tüm aşı kültürleri için yapılan deneysel çalışmaların sonucunda ilk 20 saat içerisinde aktif bir şekilde H<sub>2</sub> üretilmiş olsa da en yüksek H<sub>2</sub> üretim verimi BKE37 aşısında 70,77 mL H<sub>2</sub> /g KM olarak hesaplanmıştır. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde 90°C'de 30 dakikalık ısıtma işlemi tabi tutulan kompostun mezofilik şartlarda karanlık fermantasyonu (BKE37) ile ayrık otu kökünden en verimli H<sub>2</sub> üretimi yapıldığı sonucuna varılmıştır.

Yapılan deneysel çalışmalar sonucu ayrık otu kökünün C/N/P oranları sırasıyla 40,35/0,812/1,5 olarak hesaplanmıştır. Bu verilere dayanarak ayrık otu kökünün C/N değerinin 49,67 olduğu görülmektedir ki bu değer karanlık fermantasyon ile biyohidrojen üretiminde 20 civarında olması tercih edilir. Bu nedenle üçüncü ve son aşama olan hidrojen üretimi için uygun substrat

konsantrasyonunun belirlenmesi basamağında ortama azot kaynağı ilave edilerek C/N oranının uygun seviyelere indirilmesi ve bu sayede elde edilen biyohidrojen üretim veriminin artırılması hedeflenmiştir. Bu aşamada Box-Wilson deneysel tasarım modeli kullanılmış olup azot kaynakları olarak amonyum klorür ve ayrık yaprağı kullanılmıştır.

İlk set deneyde bağımsız değişkenler ayrık otu kökü (5–60 g/L) ve amonyum klorür (0- 1,5 g/L) olarak belirlenmiş ve C/N oranları 8,56-49,67 aralığında incelenmiştir. Deneysel çalışmalar sırasında deney setinin A3 (C/N=49,67) olarak adlandırılan noktası kırılmış ve hesaplamalarda bu nokta dahil edilememiştir yine de deneysel ve model tahmin değerleri tutarlılık içerisinde kalmıştır. Deneysel hesaplamalarda IBM SPSS (deneme sürümü) kullanılmış olup sonuçlar değerlendirildiğinde hidrojen üretim verimi, hidrojen üretim hızı ve TUYA verimi sırasıyla 49-668 mL H<sub>2</sub>/ 100 mL, 2-14 mL H<sub>2</sub>/saat, 0,07-0,56 g TUYA / g TOK<sub>o</sub> arasında değişmiştir. Deneysel ve model tahmini değerleri çoğunlukla uyum gösterirken bazı değerlerde sapmalar gözlemlenmiştir. Box Wilson deneysel tasarım modeline göre en verimli kümülatif biyohidrojen üretiminin bu deney seti için 60 g/L ayrık kökü ve 0 g/L NH<sub>4</sub>Cl noktasında (C/N=49,67) 922,02 ml H<sub>2</sub> olacağı, ayrık otu kökü miktarının arttıkça biyohidrojen üretim performansının arttığı, aynı zamanda da amonyum klorür miktarı arttıkça hidrojen üretim veriminin düşüş gösterdiği görülmüş ve bu durumun artan NH<sub>4</sub>Cl derişimi ile birlikte ortamdaki klorür iyonunun mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon oluşturmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Genel olarak bakıldığında 0'dan 0,75 g/L'ye kadar olan NH<sub>4</sub>Cl derişimleri için ayrık kökü derişiminin artırılmasıyla birlikte R<sub>m</sub> değeri artış göstermiştir. 1,125 ve 1,5 g/L NH<sub>4</sub>Cl derişimleri için ayrık otu kökü derişimi 5 ile 60 g/L aralığında değişirken önce hafif artış göstermiş daha sonra azalmıştır. Ancak 0 g/L NH<sub>4</sub>Cl ile kıyaslandığında diğer tüm NH<sub>4</sub>Cl derişimlerinin katkısının minimal olduğu ve en yüksek R<sub>m</sub> değeri olan 21,78 mL H<sub>2</sub> / saat değerinin ayrık otu kök ve NH<sub>4</sub>Cl derişimlerinin 60 ve 0 g/L olduğu noktada görülmüştür. NH<sub>4</sub>Cl derişiminin tüm sabit ayrık kökü derişimleri için yaklaşık 0,6 g/L'ye kadar azalış gösterdiği daha sonra hafif bir artışa neden olduğu söylenebilir. Tüm sabit NH<sub>4</sub>Cl derişimleri için ayrık kökü derişiminin 5'ten 30 g/L çıkartılmasıyla birlikte bir düşüş daha sonra yükseliş görülmektedir. En yüksek TUYA verimi olan 1,736 g TUYA / g TOK<sub>o</sub> 60 g/L ayrık kökü ve 0,375 g/K NH<sub>4</sub>Cl derişimlerinde elde edilmiştir. NH<sub>4</sub>Cl

derişiminin 5 g/L hariç tüm sabit ayrık otu derişimleri için 0'dan 0,8 g/L'ye kadar arttırılması TUYA veriminde hafif bir artış gösterdikten sonra daha yüksek NH<sub>4</sub>Cl derişimleri uygulandığında düşüş göstermiştir. Elde edilen tüm sonuçlar irdelendiğinde 60 g/L ayrık otu kökü ve 0 g/L amonyum klorür kullanılmasının en uygun H<sub>2</sub> üretimini sağladığı sonucuna varılmış ve bu nokta için üç tekrarlı verifikasyon deneyleri yapılmıştır. Sonuçlar H<sub>2</sub> verimi, R<sub>m</sub> ve TUYA verimi için sırasıyla değerlendirildiğinde modelin doğruluğu %75, %74 ve %20 olarak bulunmuştur. Görüldüğu gibi bu set deney için %80 üzerinde verifikasyon elde edilememiştir. Bunun sebebi farklı zamanda yapılan verifikasyon denemesi için aşı kaynağı profilinde meydana gelen ancak tarafımızdan mikroskobik olarak tespit edilemeyen popülasyon değişimi neden olmuş olabilir. Mikrobiyal proseslerde bu tarz durumların görülmesi muhtemeldir.

Ayrık otu kökü ve ayrık otu yaprağının bağımsız değişkenler olarak kullanıldığı deney setinde ilk sette elde edilen verilerden yola çıkarak, ayrık otu kökü konsantrasyonunun arttırılmasına karar verilmiştir. Bu sebeple bu deney setinde ayrık otu kökü 5-125 g/L ve ayrık otu yaprağı ise 0-29,75 g/ L konsantrasyon aralıklarında ve C/N oranları ise 6,83 – 49,67 aralıklarında incelenmiştir. Deneysel sonuçlar incelendiğinde sabit ayrık yaprağı derişimleri için elde edilen H<sub>2</sub> veriminin ayrık otu kökü derişiminin arttırılmasıyla birlikte artış gösterdiği görülmüştür. En yüksek verim 125 g/L ayrık otu kökü ile 0 g/L ayrık otu yaprağı olan durumda 743,62 mL H<sub>2</sub>/ 100 mL olarak bulunmuştur. Aynı zamanda R<sub>m</sub> değerinin tüm sabit ayrık otu yaprağı derişimlerinde ayrık otu kökü derişiminin arttırılmasıyla birlikte arttığı ve sonra sabitlendiği görülmüştür. Buna göre ayrık otu kökü derişiminin arttırılmasının R<sub>m</sub> üzerinde etkili bir artış yaptığı söylenebilir. 35 g/L üzerindeki ayrık otu kökü derişimleri için ayrık otu yaprağı derişiminin 0'dan 10-20 g/L değerlerine kadar arttırılması R<sub>m</sub> üzerinde arttırıcı bir etki yaparken, daha yüksek ayrık otu yaprağı derişimleri R<sub>m</sub> değerlerinde azalmaya neden olmuştur. En yüksek R<sub>m</sub> değeri ayrık otu kök ve yaprak derişimlerinin 125 ve 14,875 g/L olduğu değerde elde edilmiştir. En yüksek TUYA verimi de 125 g/L ayrık otu kökü ve 14,875 g/L ayrık otu yaprağının olduğu noktada 0,22 g TUYA / g TOK<sub>o</sub> olarak belirlenmiştir. Elde edilen tüm sonuçlar irdelendiğinde 125 g/L ayrık otu kökü ve 14,875 g/L ayrık otu yaprağı kullanılmasının en uygun H<sub>2</sub> üretimini sağladığı sonucuna varılmış ve bu nokta için üç tekrarlı verifikasyon deneyleri yapılmıştır. Verifikasyon deney setinde

elde edilen değerler ve model tahmini değerlerinin doğruluğu H<sub>2</sub> verimi için %92,3, Rm için %67,7 ve TUYA verimi için ise %92 olarak bulunmuştur.

Literatürde yapılmış olan çalışmalar ile kıyaslandığında bu çalışmadan elde edilen biyohidrojen verimleri büyük oranda umut vaat etmektedir.

Bu tez kapsamında elde edilen sonuçların geliştirilmesi amacıyla ileriye yönelik öneriler şöyle sıralanabilir:

Yapılan deneysel çalışmalarda karşılaşılan en önemli sorun, uygulanan fiziksel ön işlem ile ayrık otu kökünün tam olarak toz haline getirilememesidir. Bu durum deneysel çalışmalar sırasında pH, TUYA gibi parametrelerin izlenmesi için numune alınmasında zorluklar yaşanmasına neden olmuştur. Bunların yanı sıra organizmaların ayrık otu kökünün sahip olduğu karbon azot ve fosforu tam olarak kullanamaması sonucu ayrık otu kökünden tam potansiyel ile biyohidrojen gazı üretimi gerçekleştirilememiştir. Bu sebeple ayrık otu kökünün daha farklı ve daha güçlü ön işlemlerden geçirilmesi elde edilecek verimin arttırılmasında faydalı olabilir.

Farklı aşı kültürlerinin denenmesi ile elde edilen verim arttırılabilir.

Bu çalışmada farklı C/N oranları ile çalışılmıştır. Farklı fosfor kaynakları düşünülerek ayrık otu kökü ile biyohidrojen gazı üretimi için optimum C/N/P oranı belirlenebilir ve bu sayede elde edilen verim arttırılabilir.

Hibrit sistemler kullanılarak biyohidrojen gazı üretim verimi arttırılabilir.

## 5. KAYNAKLAR

Argun H. ve Kargı F., “Photo-fermentative hydrogen gas production from dark fermentation effluent of ground wheat solution: Effects of light source and light intensity”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 35(4), 1595–1603, (2010).

Argun H. ve Kargı F., “Bio-hydrogen production by different operational modes of dark and photo-fermentation: An overview”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 36(13), 7443–7459, (2011).

Argun H., Kargı F. ve Kapdan I. K., “Light fermentation of dark fermentation effluent for bio-hydrogen production by different Rhodobacter species at different initial volatile fatty acid (VFA) concentrations.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 33(24), 7405–7412, (2008).

Argun H., Kargı F. ve Kapdan, I. K., “Hydrogen production by combined dark and light fermentation of ground wheat solution.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 34(10), 4305–4311, (2009).

Azman N. F., Abdesahian P., Kadier A., Nasser Al-Shorgani N. K., Salih N. K. M., Lananan I., Hamid A. A., ve Kalil M. S., “Biohydrogen production from de-oiled rice bran as sustainable feedstock in fermentative process.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(1), 145–156 (2016).

Bharathiraja B., Sudharsanaa T., Bharghavi A., Jayamuthunagai J., ve Praveenkumar R., “Biohydrogen and Biogas – An overview on feedstocks and enhancement process.”, *Fuel*, 185, 810–828, (2016).

Chen C. Y., Yeh K. L., Lo Y. C., Wang H. M., ve Chang J. S., “Engineering strategies for the enhanced photo-H<sub>2</sub> production using effluents of dark fermentation processes as substrate.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 35(24), 13356–13364, (2010).

Cheng D., Ngo H. H., Guo W., Chang S. W., Nguyen D. D., Bui X. T., Wei W., Ni B., Varjani S. ve Hoang N. B., “Enhanced photo-fermentative biohydrogen production from biowastes: An overview.”, *Bioresour. Technol.*, 357, 127341, (2022).

Cheng D., Ngo H. H., Guo W., Chang S. W., Nguyen D. D., Deng L., Chen Z., Ye Y., Bui X. T. ve Hoang N. B., “Advanced strategies for enhancing dark fermentative biohydrogen production from biowaste towards sustainable environment.” *Bioresour. Technol.*, 351, 127045, (2022).

Eker S., ve Sarp M., “Hydrogen gas production from waste paper by dark fermentation: Effects of initial substrate and biomass concentrations.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 42(4), 2562–2568, (2017).

Genç N., “Biyolojik hidrojen üretim prosesleri”, *BAÜ FBE Dergisi*, 11(2), 17-36. (2009).

Güler Şentürk I., H. Büyükgüngör, H., “An Examination Of Used Different Waste Materials And Biohydrogen Production Methods.” *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 28, 369- 395 (2010).

Hallenbeck P. C. ve Benemann J. R., “Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 27(11–12), 1185–1193, (2002).

Javed M. A., Zafar A. M., Aly Hassan A., Zaidi A. A., Farooq M., el Badawy A., Lundquist T., Mohamed M. M. A. ve Al-Zuhair S., “The role of oxygen regulation and algal growth parameters in hydrogen production via biophotolysis.”, *J. Environ. Chem. Eng.*, 10(1), 107003, (2022).

Karaosmanoğlu Gorgeç F. ve Karapınar I., “Biohydrogen production from hydrolyzed waste wheat by dark fermentation in a continuously operated packed bed reactor: The effect of hydraulic retention time.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 44(1), 136–143, (2019).

Kasotia P., “The Health Effects Of Global Warming: Developing Countries Are The Most Vulnerable [online]”, (June 5, 2022), <https://www.un.org/en/chronicle/article/health-effects-global-warming-developing-countries-are-most-vulnerable> (2007).

Lopez-Hidalgo A. M., Sánchez A. ve de León-Rodríguez A., “Simultaneous production of bioethanol and biohydrogen by *Escherichia coli* WDHL using wheat straw hydrolysate as substrate.”, *Fuel*, 188, 19–27, (2017).

Muharja M., Junianti F., Ranggina D., Nurtono T. ve Widjaja A., “An integrated green process: Subcritical water, enzymatic hydrolysis, and fermentation, for biohydrogen production from coconut husk.” *Bioresour. Technol.*, 249, 268–275, (2018).

Nasirian N., Almassi M., Minaei S. ve Widmann R., “Development of a method for biohydrogen production from wheat straw by dark fermentation.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 36(1), 411–420, (2011).

Özmişçi, S. ve Kargı F., “Bio-hydrogen production by photo-fermentation of dark fermentation effluent with intermittent feeding and effluent removal.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 35(13), 6674–6680, (2010).

Petruzzello, M.P. “licorice [online], (June 12, 2022), <https://www.britannica.com/plant/licorice> , (2022).

Petruzzello, M.P., “quack grass [online]”, (June 12, 2022), <https://www.britannica.com/plant/quack-grass> , (2022).

Praptyana I. R. ve Budiyono., “Biohydrogen production from wood dust mahogany (Swietenia mahagony) by dark fermentation using Enterobacter aerogenes: Effect of ozone pretreatment time and pH.”, *Materials Today: Proceedings*, 63, S203–S209, (2022).

Qi N., Hu X., Zhao X., Li L., Yang J., Zhao Y. ve Li X., “Fermentative hydrogen production with peanut shell as supplementary substrate: Effects of initial substrate, pH and inoculation proportion.”, *Renewable Energy*, 127, 559–564, (2018).

Ren Y., Si B., Liu Z., Jiang W. ve Zhang Y., “Promoting dark fermentation for biohydrogen production: Potential roles of iron-based additives.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 47(3), 1499–1515, (2022).

Sawatdeenarunat C., Surendra K. C., Takara D., Oechsner H. ve Khanal S. K., “Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities.”, *Bioresour. Technol.*, 178, 178–186, (2015).

Sen B., Chou Y. P., Wu S. Y. ve Liu C. M., “Pretreatment conditions of rice straw for simultaneous hydrogen and ethanol fermentation by mixed culture.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(7), 4421–4428, (2016).

Sharma S., Basu S., Shetti N. P. ve Aminabhavi T. M., “Waste-to-energy nexus for circular economy and environmental protection: Recent trends in hydrogen energy.”, *Sci. Total Environ.*, 713, 136633, (2020).

Silva J. S., Mendes J. S., Correia J. A. C., Rocha M. V. P. ve Micoli L., “Cashew apple bagasse as new feedstock for the hydrogen production using dark fermentation process.”, *J. Biotechnol.*, 286, 71–78, (2018).

Soares J. F., Confortin T. C., Todero I., Mayer F. D. ve Mazutti M. A., “Dark fermentative biohydrogen production from lignocellulosic biomass: Technological challenges and future prospects.”, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 117, (2020).

Tosuner Z. V., Taylan G. G. ve Özmihçı, S., “Effects of rice husk particle size on biohydrogen production under solid state fermentation.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 44(34), 18785–18791, (2019).

United Nations 2019 Revision, “2022 World Population by Country [online]”, (June 5, 2022), <https://worldpopulationreview.com/> (2022)

Wang Y., Wang H., Feng X., Wang X. ve Huang, J., “Biohydrogen production from cornstalk wastes by anaerobic fermentation with activated sludge.”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 35(7), 3092–3099, (2010).

World Health Organization, “Climate change and health [online]”, (June 5, 2022), [https://www.who.int/health-topics/climate-change#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/climate-change#tab=tab_1) (2021).

Zhang J., Zhang J. ve Zang, L., “Thermophilic bio-hydrogen production from corn-bran residue pretreated by calcined-lime mud from papermaking process.”, *Bioresour. Technol.*, 198, 564–570, (2015).

Zhao Q., Yu P., Mahendran R., Huang W., Gao Y., Yang Z., Ye T., Wen B., Wu Y., Li S. ve Guo Y., “Global climate change and human health: pathways and possible solutions.”, *Eco-Environment and Health*, 1(2), 53-62, (2022).

# **EKLER**

## 6. EKLER

### EK A: Ayrık Otu Kökü ve Amonyum Klorür Karışımı için IBM SPSS Anova Tabloları

**Tablo A. 1:** Ayrık otu kökü ve amonyum klorür karışımı BW deneyi hidrojen verimi amaç fonksiyonu için anova tablosu.

ANOVA			
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler
Regresyon	916115,772	6	152685,962
Artık	59833,431	2	29916,716
Düzeltilmemiş Toplam	975949,203	8	
Düzeltilmiş Toplam	351452,707	7	

Amaç fonksiyonu: H<sub>2</sub> verimi (mL H<sub>2</sub>/100 mL)  
a. R kare = 1 - (Artık Kareler Toplamı) / (Düzeltilmiş Kareler Toplamı) = 0,83.

**Tablo A. 2:** Ayrık otu kökü ve amonyum klorür karışımı BW deneyi hidrojen üretim hızı amaç fonksiyonu için anova tablosu.

ANOVA			
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler
Regresyon	454,240	6	75,707
Artık	23,095	2	11,548
Düzeltilmemiş Toplam	477,335	8	
Düzeltilmiş Toplam	135,355	7	

Amaç fonksiyonu: R<sub>m</sub> (mL H<sub>2</sub>/saat)  
a. R kare = 1 - (Artık Kareler Toplamı) / (Düzeltilmiş Kareler Toplamı) = 0,829.

**Tablo A. 3:** Ayırık otu kökü ve amonyum klorür karışımı BW deneyi TUYA verimi amaç fonksiyonu için anova tablosu.

ANOVA			
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler
Regresyon	0,232	6	0,039
Artık	0,000	3	0,000
Düzeltilmemiş Toplam	0,232	9	
Düzeltilmiş Toplam	0,011	8	
Amaç fonksiyonu: TUYA/TOK <sub>o</sub> (gUYA/gTOK <sub>o</sub> )			
a. R kare = 1 - (Artık Kareler Toplamı) / (Düzeltilmiş Kareler Toplamı) = 0,978.			

## EK B: Ayrık Otu Kökü ve Ayrık Otu Yaprağı Karışımı için IBM SPSS Anova Tabloları

**Tablo B. 1:** Ayrık otu kökü ve ayrık otu yaprağı karışımı BW deneyi hidrojen verimi amaç fonksiyonu için anova tablosu.

ANOVA			
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler
Regresyon	1785254,369	6	297542,395
Artık	6462,717	3	2154,239
Düzeltilmemiş Toplam	1791717,085	9	
Düzeltilmiş Toplam	450741,094	8	

Amaç fonksiyonu: H<sub>2</sub> verimi (mL H<sub>2</sub>/100 mL)  
a. R kare = 1 - (Artık Kareler Toplamı) / (Düzeltilmiş Kareler Toplamı) = 0,986.

**Tablo B. 2:** Ayrık otu kökü ve ayrık otu yaprağı karışımı BW deneyi hidrojen üretim hızı amaç fonksiyonu için anova tablosu.

ANOVA			
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler
Regresyon	2020,164	6	336,694
Artık	16,665	3	5,555
Düzeltilmemiş Toplam	2036,830	9	
Düzeltilmiş Toplam	356,639	8	

Amaç fonksiyonu: R<sub>m</sub> (mL H<sub>2</sub> / saat)  
a. R kare = 1 - (Artık Kareler Toplamı) / (Düzeltilmiş Kareler Toplamı) = 0,953.

**Tablo B. 3:** Ayrık otu kökü ve ayrık otu yaprağı karışımı BW deneyi TUYA verimi amaç fonksiyonu için anova tablosu.

ANOVA			
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler
Regresyon	0,232	6	0,039
Artık	0,000	3	0,000
Düzeltilmemiş Toplam	0,232	9	
Düzeltilmiş Toplam	0,011	8	

Amaç fonksiyonu: TUYA/TOKo (g/g)  
a. R kare = 1 - (Artık Kareler Toplamı) / (Düzeltilmiş Kareler Toplamı) = 0,978.