

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

ATIK ŞEFTALİ POSASINDAN KARANLIK FERMENTASYON İLE HİDROJEN GAZI ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİAKA DAO

DENİZLİ, TEMMUZ - 2016

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



ATIK ŞEFTALİ POSASINDAN KARANLIK FERMENTASYON İLE HİDROJEN GAZI ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİAKA DAO

DENİZLİ, TEMMUZ - 2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

SİAKA DAO tarafından hazırlanan "Atık şeftali posasından karanlık fermentasyon ile hidrojen gazı üretimi" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 14.07.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç.Dr.Hidayet ARGUN



Üye
Prof. Dr. İlgi KARAPINAR KAPDAN
Dokuz Eylül Üniversitesi
Üye
Yrd. Doç. Dr. Levent GÜREL
Pamukkale Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..10.08.2016 tarih ve ..29.15.... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof.Dr. Mehmet Ali SARIGÖL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 113M994 nolu proje ile desteklenmiştir.

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.

SiAKA DAO

ÖZET

**ATIK ŞEFTALİ POSASINDAN KARANLIK FERMANTASYON İLE
HİDROJEN GAZI ÜRETİMİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SİAKA DAO
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. HİDAYET ARGUN)

DENİZLİ, 2016

Bu tezde doğal mikroorganizmalar yardımıyla atık şeftali posasından (AŞP) kesikli karanlık fermentasyon ile biyohidrojen üretimi araştırılmıştır. Buna göre karanlık fermentasyon deneyleri iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada AŞP'dan hidrojen üretimi için en uygun substrat konsantrasyonu belirlenirken, ikinci aşamada Box-Behnken Yüzey Tepki Metodu (BBYTM) kullanılarak C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretim verimi (HÜV) ve hızı (HÜH) üzerine olan etkileri incelenmiştir. Tüm deneyler nötral pH (6.0-7.2)'ta ve mezofilik sıcaklıkta (37°C) gerçekleştirilmiştir. Başlangıç substrat konsantrasyonunun 3.42 ile 170.80 g KM/L arasında değiştirildiği koşullarda en yüksek hidrojen oluşum verimi (180 mL H₂/g KOİ) ve hızı (6.44 mL H₂/saat) 34.16 g KM/L konsantrasyonunda elde edilirken en yüksek kümülatif hidrojen hacimleri 102.5 ve 170.8 g KM/L başlangıç konsantrasyonlarında elde edilmiştir. C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretim verimi ve hızına olan etkilerinin incelendiği deneylerde ise BBYTM kullanılmıştır. Burada HÜV ve HÜH amaç fonksiyonları olarak seçilirken C/N, C/P, C/Fe ve C/Ni oranları bağımsız değişkenler olarak seçilmiş ve optimum HÜV (460.93 mL H₂/g KOİ) ve HÜH (2.42 mL H₂/saat) değerleri C/N/P/Fe/Ni: 100/2.09/3.94/0.047/0.023 oranında elde edilmiştir. Gaz fazında ulaşılan en yüksek hidrojen yüzdesi %42 olmuştur. Doğrulama deneyleri sonucunda tahmin edilen HÜH ve HÜV değerlerine ulaşılması bulunan modelin güvenilir olduğunu göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Atık Şeftali Posası, Karanlık Fermentasyon, Hidrojen, Box-Behnken Tasarım

ABSTRACT

HYDROGEN PRODUCTION FROM WASTE PEACH PULP BY DARK FERMENTATION

MSC THESIS

SIKA DAO

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

ENVIRONMENTAL ENGINEERING

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

DENİZLİ, 2016

Biohydrogen gas production from waste peach pulp (WPP) by batch dark fermentation was carried out without external microorganisms addition. In this context effects of initial substrate concentration and C/N/P/Fe/Ni ratio on hydrogen formation rate and yield were investigated. All experiences were done under mesophilic condition 37°C and neutral pH (6.0-7.2). Waste peach pulp concentration was varied between 3.42-170.80 g DW/L and 34.16 g DW/L showed the best performance in terms of hydrogen formation yield (180 mL H₂/g COD) and rate (6.44 mL H₂/h). However higher cumulative hydrogen volumes were found at initial substrate concentrations of 102.5 g DW/L and 170.8 g DW/L. Box- Behnken surface reaction method was utilized by choosing C/N 5-85.36; C/P 5-45.80; C/Fe 375-3750; C/Ni 690-6900 ratios as independent variables whereas objectives fonctions were hydrogen production yield and rate. The results were correlated by quadratic functions and all terms significantly influence the responses. C/N/P/Fe/Ni ratio of 100/2.09/3.94/0.047/0.023 resulted the highest hydrogen production yield and rate 460.93 mL H₂/g COD and 2.42 mL H₂/h respectively. The highest percentage of hydrogen in gas phase was 42%. The similarity of hydrogen production yield and rate to the predicted results indicates the reliability of the model.

KEYWORDS: Waste Peach pulp, Dark fermentation, Hydrogen, Box-Behnken Design

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
SEMBOL LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Tezin amacı.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1 Hidrojen.....	6
2.1.1 Hidrojen gazının depolanması.....	6
2.1.2 Hidrojen gazının yakıt olarak kullanımı.....	7
2.2 Hidrojen gazının üretimi.....	7
2.2.1 Termokimyasal yöntemler.....	7
2.2.2 Biyolojik yöntemler.....	8
2.2.2.1 Karanlık fermentasyon ile hidrojen gazı üretimi.....	10
2.2.2.1.1 Sıcaklık.....	12
2.2.2.1.2 pH.....	13
2.2.2.1.3 Besi maddesi.....	13
2.2.2.1.4 Karıştırma.....	13
2.2.2.1.5 Hidrojen kısmi basıncı.....	13
2.2.2.1.6 Organik yükleme oranı ve alıkonma süresi.....	14
2.2.2.1.7 Substrat türü.....	14
2.2.2.1.8 Mikroorganizma.....	15
2.2.2.1.9 Karanlık fermentasyon işletme tipleri.....	16
2.2.2.1.10 Literatürde yapılan çalışmalar.....	17
2.2.2.2 Aydınlatılmış fermentasyon ile hidrojen gazı üretimi.....	21
2.2.2.3 Direkt biyofotoliz.....	22
2.2.2.4 İndirekt biyofotoliz.....	22
3. MATERYAL VE METOTLAR.....	23
3.1 Şeftali posası.....	23
3.2 Ön işlemler.....	23
3.3 Deneysel çalışmalar.....	23
3.4 Analitik yöntemler.....	24
4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	27
4.1 Ham atık şeftali posası.....	27
4.2 Başlangıç substrat konsantrasyonunun H ₂ üretimine etkisi.....	27
4.3 C/N/P/Fe/Ni oranının optimize edilmesi.....	33
5. BULGULAR.....	56
6. KAYNAKLAR.....	58
7. EKLER.....	67
8. ÖZGEÇMİŞ.....	103

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Meyve atıklardan karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi şeması.	3
Şekil 2.1: Biyohidrojen üretim prosesleri.	9
Şekil 2.2: Selüloz atıklardan biyohidrojen üretim şeması.	11
Şekil 2.3: Karanlık fermentasyon işletme tipleri.	16
Şekil 4.1: Farklı başlangıç substrat konsantrasyonları için kümülatif H ₂ üretiminin zamana göre değişimi.	28
Şekil 4.2: H ₂ ve TUYA üretim verimlerinin farklı başlangıç substrat konsantrasyonlarına göre değişimi.	31
Şekil 4.3: H ₂ üretim hızının farklı başlangıç substrat konsantrasyonlarına göre değişim.	31
Şekil 4.4: H ₂ üretim veriminin C/N oranına göre değişimi.	41
Şekil 4.5: H ₂ üretim veriminin C/P oranına göre değişimi.	42
Şekil 4.6: H ₂ üretim veriminin C/N ve C/P oranlarına göre değişimi.	43
Şekil 4.7: H ₂ üretim hızının C/N oranına göre değişimi.	44
Şekil 4.8: H ₂ üretim hızının C/P oranına göre değişimi.	45
Şekil 4.9: H ₂ üretim hızının C/N ve C/P oranlarına göre değişimi.	46
Şekil 4.10: H ₂ üretim veriminin C/Fe oranına göre değişimi.	47
Şekil 4.11: H ₂ üretim veriminin C/Ni oranına göre değişimi.	48
Şekil 4.12: H ₂ üretim veriminin C/N ve C/Fe oranlarına göre değişimi.	49
Şekil 4.13: H ₂ üretim veriminin C/N ve C/Ni oranlarına göre değişimi.	50
Şekil 4.14: H ₂ üretim hızının C/Fe oranına göre değişimi.	51
Şekil 4.15: H ₂ üretim hızının C/Ni oranına göre değişimi.	52
Şekil 4.16: H ₂ üretim hızının C/N ve C/Fe oranına göre değişimi.	53
Şekil 4.17: H ₂ üretim hızının C/N ve C/Ni oranlarına göre değişimi.	54

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: H ₂ üretiminde termokimyasal yöntemleri	8
Tablo 2.2: Literatürde biyohidrojen üretim için elde edilen sonuçlar	9
Tablo 2.3: Kesikli ve sürekli fermentasyon tiplerinin kıyaslanması.	17
Tablo 2.4: H ₂ üretimine yönelik çalışmalar	19
Tablo 4.1: AŞP kompozisyon	27
Tablo 4.2: Deney başlangıcı ve sonundaki substrat, glikoz, TUYA ve KOİ konsantrasyonları.	29
Tablo 4.3: Farklı başlangıç substrat konsantrasyonları gKM/L için Gompertz katsayıları	30
Tablo 4.4: Doğal mikroorganizmalar ile H ₂ çalışmalar	33
Tablo 4.5: Box-Behnken Yüzey Tepki Metodu değerleri ve sonuçları.	35
Tablo 4.6: Hidrojen üretim verimine ait varyans analiz ANOVA tablosu.	39
Tablo 4.7: Hidrojen üretim hızına ait varyans analiz ANOVA tablosu.	40

SEMBOL LİSTESİ

KF	:	Karanlık fermentasyon
Y	:	Verim
AŞP	:	Atık Şeftali Posası
HÜH	:	Hidrojen Üretimi Hızı
HÜV	:	Hidrojen Üretimi Verimi
TUYA	:	Toplam Uçucu Yağ Asit
BBYTM	:	Box-Behnken Yüzey Tepki Metodu
C	:	Karbon
N	:	Azot
P	:	Fosfor
Fe	:	Demir
Ni	:	Nikel
HAS	:	Hidrolik Alıkonma Suresi
OYS	:	Organik Yükleme Hızı
KOİ	:	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
KM	:	Katı Madde
KA	:	Kuru Ağırlık
UKM	:	Uçucu Katı Madde
UAKM	:	Uçucu Askıda Katı Madde

ÖNSÖZ

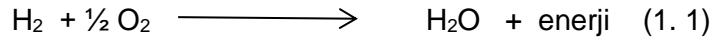
Öncelikle bu tezi 113M994 No'lu proje kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a ve benim Türkiye'deki eğitimimi sürdürebilmem için maddi destek sağlayan Ali Kuşçu bursu programı ile T.C. Başbakanlık Yurt Dışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na (YTB) sonsuz ve içten teşekkürlerimi sunarım. Bu tezin gerçekleştirilmesinde her yönden bana destek olan tez danışmanım Doç. Dr. Hidayet ARGUN'a saygı ve şükranlarımı sunarım. Çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen ve bu süreçte tüm zorlukları benimle göğüsleyen laboratuvar arkadaşlarım Gülizar ONARAN, Mansur TURANBAEV, Dr. Tufan TOPAL, Arş. Gör. Roda Gökçe YILMAZ'a teşekkür ederim. Bu tezin gerçekleştirilmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Vedat UYAK ve Yrd. Doç. Levent GÜREL'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans eğitimim boyunca yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Osman Nuri AĞDAĞ Hocam başta olmak üzere tüm Pamukkale Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü hocalarıma sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca hayatımın her döneminde bana destek olan aileme minnettarım.

1. GİRİŞ

Dünyadaki artan nüfus artışı beraberinde çevre kirliliği ve enerji problemlerini getirmektedir. Dünya enerji konseyine göre enerji ihtiyacının yaklaşık %80'i fosil yakıtlar tarafından karşılanmaktadır (Guo ve diğ. 2010). Fosil yakıt kullanımı; asit yağmurlarına, ozon tabakasının delinmesine, küresel ısınmaya, hava kirliliğine, iklim değişikliğine ve benzeri çevre sorunlarına sebep olmaktadır. ABD'de 2030 yılına kadar CO ve CO₂ emisyonlarının %32 oranında azaltılmasına karar verilmiştir. Bunu yapabilmek için fosil yakıtların yerine geçebilecek biyokütle, rüzgâr, güneş enerjisi vb. yenilenebilir enerji kaynakları üzerinde durulmakta ve hidrojen enerjisi üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Dünya hidrojen ticaretinin 50 milyar kilogram olduğu ve bunun yıllık %10 oranında arttığı düşünülmektedir (Winter ve diğ. 2005).

Hidrojen, endüstride; metanol, amonyum ve metan gibi ürünlerin yapımında ayrıca yakıt hücrelerinde elektrik üretimi için kullanılabilir. (Veziroğlu 1995; Ramachandran ve diğ. 1998).

Hidrojen, yakıldığında ortama sadece su buharı verildiği için hidrojen gazı çevre dostu olarak kabul edilmektedir (Das 2001) .

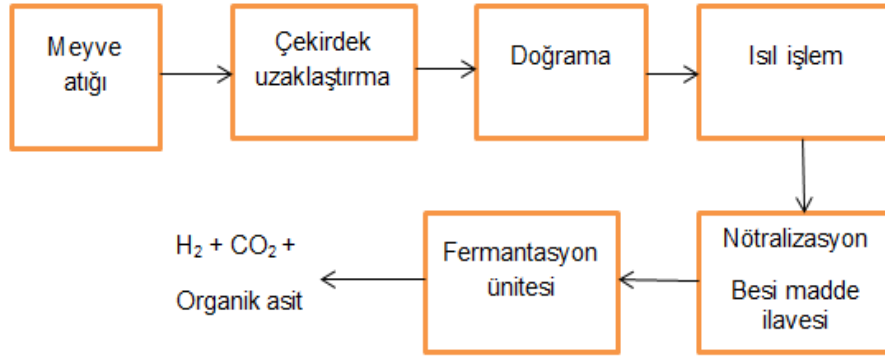


Denklem (1.1)'de gösterildiği gibi 1 mol H₂ yakıldığında 1 mol H₂O oluşmakta olup, bu suyun küresel ısınma ve iklim değişikliğine etkisi olmamaktadır (Levin ve diğ. 2004). Bu nedenle yakıt olarak saf hidrojen kullanan bir motor herhangi bir çevre kirliliği üretmemektedir (Das ve Veziroğlu 2001). Hidrojen gazının fosil enerji kaynaklarına göre enerjisi yüksektir ve yaklaşık 122 kJ/g'dır (Bacas 2006). Hidrojen, geleceğin enerji taşıyıcısı olarak kabul edilmektedir. (Suzuki ve diğ. 1982).

Hidrojen üretiminde, biyolojik hidrojen üretim prosesleri, termokimyasal ve elektrokimyasal teknolojiler kullanılabilir. Hidrojenin biyolojik olarak eldesinde algler ve siyanobakteriler ile suyun biyo-fotolizi, fotosentetik bakteriler ile organik bileşiklerin aydınlık fermentasyonu, yine organik bileşiklerin anaerobik bakteriler ile karanlık fermentasyonu veya bu proseslerin kombinasyonları kullanılmaktadır (Levin ve diğ. 2004). Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi, az enerji gereksinimi ve ılımlı şartlarda gerçekleşmesi açısından termokimyasal ve diğer biyolojik metotlardan daha avantajlıdır. Işık olmaksızın sürekli ve stabil hidrojen üretimine

imkan veren karanlık fermentasyon sanayide kullanıma elverişli olması, sistem kontrolünün kolaylığı ve işletme maliyetinin düşüklüğü gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır (Wang ve diğ. 2009). Ancak hidrojen üretim hızı ve verimi termokimyasal teknolojiler ile kıyaslandığında henüz düşüktür. Karanlık fermentasyonda karbonhidrat içeren organik bileşiklerden anaerobik mikroorganizmalar yardımıyla H₂, CO₂ ve uçucu yağ asitleri (UYA) oluşturulur.

Karbonhidratlar içerisinde glikoz ideal bir substrattır, ancak kullanımı maliyetlidir. Bu yüzden daha ucuz alternatif kaynaklarına yönelmek gerekmektedir. Doğada bulunan birçok tarımsal ve evsel organik atıklar karbonhidratça zengin olduğu için hidrojen üretiminde kullanılabilir. Ayrıca meyve fabrikası atıkları da karbonhidrat açısından zengindir. Bu atıklar genellikle hayvan yemi olarak kullanılmakta veya çöpe atılmaktadır. Örneğin 1 kg şeftalinin meyve suyu üretimi için işlenmesi sonucunda yaklaşık 100 g posa oluşmakta olup, oluşan atık posa 8.1 g şeker, 1.5 g protein, 0.3 g ham yağ, 1.5 g potasyum, 0.1 g kalsiyum, 0.1 g fosfor, 2.5 g selüloz ve 0.3 g pektin posa içermektedir (Aziz Ekşi ve Nevzat Artık 1982). Dolayısıyla hidrojen üretimi amacıyla şeftali posasının değerlendirilmesi atıkların azaltılması yanında enerji üretimi için avantajlar sunmaktadır. Karanlık fermentasyonda; yemek atığı, meyve atığı, kağıt atığı, tarımsal atıklar, sebze atığı, hayvansal atıklar ve evsel atıklar substrat olarak kullanılabilir. 2013 yılında dünya şeftali üretiminin yaklaşık 21 milyon ton olduğu ve bu üretimin yıllık %3.34 oranında (Anonim 1) arttığı düşünüldüğünde atık şeftali posasının karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi için değerlendirilebileceği görülmektedir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda döküntü şeftalinin yaklaşık 12.000 ton, değerlendirilemeyen atıkların ise 800.000 ton civarında olduğu rapor edilmiştir (Yurdagel ve diğ. 1997). Biyogaz elde edilmesinde meyve atıklarının genel olarak değerlendirme alanı fermentasyon teknolojisiidir. Bu atıklar yüksek oranda su ve mikroorganizma içerirler (Maronne ve diğ. 2014). Bu yüzden çabuk bir şekilde bozulma eğilimi gösterirler. Bu nedenle meyve atıkları hem ham madde hem de aşı olarak kullanılabilir. Şekil 1.1’ de meyve atıklarından karanlık fermentasyon ile hidrojen üretim şeması gösterilmiştir. Pratik olarak meyve fabrikalarında oluşan atık posa direkt olarak fermentasyon reaktöründe kullanılabilir. Fakat fermentasyonun daha sağlıklı koşullarda yapılabilmesi için posa kısmı hidroliz ve alkol üreten mayaları imha etmek amacıyla ısı işleme tabi tutulur. Bu aşamalardan sonra posa, gerekli pH ayarlaması yapılarak ve yeterli besi madde ilave edilerek fermentasyon hidrojen ünitesine alınır.

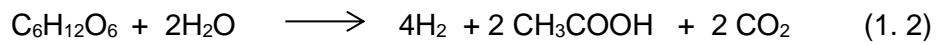


Şekil 1.1: Meyve atıklardan karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi şeması.

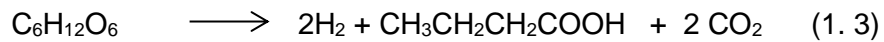
Karanlık fermentasyonda hidrojen üretim hızı ve verimini etkileyen parametreler şöyle özetlenebilir (Genç 2010):

- Substrat türü ve konsantrasyonu
- Mikroorganizma türü
- Reaktör tipi
- Makro ve mikro nütrientler Çevresel koşullar (pH, sıcaklık, ORP vb.)
- Hidrojenin kısmi basıncı.

Ayrıca hidrojen verimini ve metabolizma yolunu en çok etkileyen faktörlerden bir tanesi de fermentasyon son ürünleridir (Shima ve diğ. 2007, Manish ve diğ. 2008, Alvarez ve diğ. 2003, Valdez-Vazquez ve diğ. 2009). Örneğin fermentasyon sonucunda sadece asetik asit oluşması durumunda teorik olarak 4 mol H₂/mol glikoz elde edilebilir.



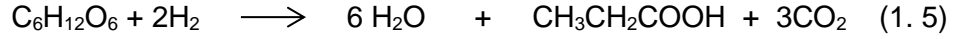
Çıkış suyunda bütirik asit oluşması durumundaysa oluşan verim 2 mol H₂/ mol glikoz olur.



Glikozun tamamen ayrışma reaksiyonu sonucunda H₂ ve CO₂ oluşmakta olup, bu durumdaki verim 12 mol H₂ / mol glikoz olmakta, ancak Denklem 1.4'de özetlenen bu reaksiyonun termodinamik olarak kendiliğinden gerçekleşmesi mümkün değildir.



Fermentasyonda glikozun tam biyolojik dönüşümü henüz gerçekleşmemiş ve 12 mol H₂ / mol glikoz olan verim elde edilememiştir. Son ürün olarak propiyonik asit ortaya çıkmış ise hiç hidrojen üretimi olmaz. Bu durumda hidrojen tüketen bakteriler tarafından H₂ tüketilir.



Genelde hidrojen üretiminde rol alan iki tür bakteri çeşidi vardır. Bunlar zorunlu anaerob ve fakültatif bakterilerdir. Hidrojen üretiminde kullanılan *Clostridium* türleri üzerine en çok çalışmalar yapılmıştır. Bu tür bakteriler iz miktarda ki oksijen konsantrasyonlarında bile büyüyemezler (Pan ve diğ. 2008). *Enterobakter* ise fakültatif organizma olup, oksijeni tolere edebilir (Nath ve diğ. 2004). Hidrojen üretiminde *Bacillus E. Coli'* de rol almaktadır (Kotay ve Das 2009). Ayrıca *Thermotoga Neopolitana* gibi termofilik bakterileri de hidrojen üretiminde kullanılır (Abhiney 2009). Karanlık fermentasyon sonucunda gaz fazda hidrojen ve karbondioksit gazı oluşurken, sıvı fazda uçucu yağ asitleri (UYA) (laktik asit, bütirik asit, asetik asit, propiyonik asit vb.) bunların yanında bazı durumlarda alkol üretimi de gerçekleşmektedir. Karanlık fermentasyonda UYA'nın ortaya çıkması ile pH düşer dolayısıyla pH kontrolü çok önemlidir. Ayrıca karanlık fermentasyon ortamında yüksek UYA konsantrasyonu inhibisyona neden olmaktadır (Jones ve Woods 1986).

Karanlık fermentasyonda hidrojen üretimini etkileyen faktörler çevresel koşullar ve ortam kompozisyonudur. Bazen çalışmalarda azot ve demirin önemli besin maddeleri oldukları belirtilmiştir (Liu ve diğ. 2004). Düşük veya yüksek besin madde konsantrasyonu, düşük hidrojen üretim hızı ve verimine neden olmaktadır. Besin maddenin sınırlanması, metabolik yolu değişimi, mikroorganizma aktivitesinin azalması gibi çeşitli nedenlerden dolayı besin madde konsantrasyonu inhibisyon yapmaktadır. Bundan dolayı karanlık fermentasyonda kullanılan substratlar için besin madde optimizasyonu gerekmektedir. Buna göre bu tezde şeftali posasından karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi incelenmiştir. Hidrojen üretim hızı ve verimi üzerine şeftali posası konsantrasyonu, C/N/P/Fe/Ni oranının etkileri incelenmiştir. Box-Behnken Yüzey Tepki Metodu (BBYTM) kullanılarak hidrojen üretim verimi ve hızı üzerinde optimum besin madde oranları belirlenmiştir.

1.1 Tezin amacı

Bu tezin amacı atık şeftali posasından karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimini araştırmaktır. Bu amaçla atık şeftali posası hem substrat hem de aşı kaynağı olarak kullanılmıştır. Tez iki aşamadan oluşmakta olup, birinci aşamada başlangıç substrat konsantrasyonunun, ikinci aşamadaysa C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretim verimi ve hızına olan etkileri araştırılmıştır. Tüm deneyler kesikli işletme koşullarında, mezofilik şartlarda (37°C) ve serum şişelerinde gerçekleştirilmiştir.

Buna göre başlangıç substrat konsantrasyonunun hidrojen üretimine olan etkisinin incelendiği deneylerde diğer tüm şartlar aynı tutulmak koşuluyla sadece katı madde konsantrasyonu 3.42–170.80 g KM/L arasında değişmiştir. En yüksek hidrojen üretim verimi (180 mLH₂/g KOİ) ve hızı (6.44 mL H₂/saat) 34.16 g KM/L'de elde edilmiştir. Substrat konsantrasyonu 3.42'den 34.16 g KM/L'e kadar limitleme yaparken, 34.16 g KM/L üzerindeki substrat konsantrasyonları substrat ve ürün inhibisyonuna neden olmuştur.

C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretimine olan etkilerinin araştırılmasında BBYTM kullanılmıştır. Buna göre C/N, C/P, C/Fe ve C/Ni oranları bağımsız değişkenler olarak seçilirken, hidrojen oluşum verimi (mL H₂/g KOİ) ve hidrojen üretim hızı HÜH (mLH₂/saat) amaç fonksiyonları olarak seçilmiştir. Toplam 27 deneyden oluşan çalışmanın sonucunda en yüksek hidrojen üretim verimi (460.93 mL H₂/g KOİ) ve hızını (2.42 mLH₂ /saat) sağlayan optimum C/N/P/Fe/Ni oranı 100/2.09/3.94/0.047/0.023 olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Hidrojen

Hidrojen, doğada en bol bulunan elementtir. "H" harfiyle gösterilen hidrojen atomu +1 değerli bir çekirdek ve 1 elektrondan oluşur. Hidrojen evrenin en temel elementlerinden birisi olup, güneş ve yıldızlarda bulunan ana bileşiktir. Hidrojen gazı ise iki hidrojenin birleşmesiyle oluşur ve "H₂" ile gösterilir. Doğada diatomik H₂ bulunmaz çünkü yeryüzündeki hidrojenin genellikle tamamı diğer elementlerle bileşik halde bulunur. Hidrojen, ayrıca alkali metallerle kimyasal olarak birleşmiş halde bulunur. Sodyum borhidrür (NaBH₄), Borhidrür (BH₃, B₂H₆), alüminyum hidrür (AlH₃), Magnezyum hidrür (MgH₂), Sodyum hidrür (NaH) gibi hidrürler oluşur.

Normal şartlarda hidrojen renksiz, kokusuz, tatsız ve zehirsizdir. Bununla birlikte havadan ve helyumdan yaklaşık 15 kat daha hafif bir gazdır (Turan 2006). Doğada serbest hidrojen gazı oldukça az miktarda bulunur (Anonim 2). Doğal hidrojen gazı volkanlardan, kömür yataklarından ve petrol kuyularından oluşur. Su molekülü iki atom hidrojenin bir atom oksijenle olan bileşiğidir; dolayısıyla tüm okyanuslar çok büyük hidrojen depolarıdır. Hidrojen ve oksijen kovalent bağlarla bağlanır ve ortaya su molekülü çıkar. Ayrıca, bitkiler, hayvan gübreleri ve fosil kaynaklı maddelerin önemli bir parçası hidrojendir. Volkanik bölgelerde hidrojen serbest halde oluşmasına rağmen hemen dağılır ve kazanılamaz.

2.1.1 Hidrojen gazının depolanması

Kimya sanayinde amonyak ve metanol üretiminde, petrolün rafine edilmesinde hidrojen kullanılmaktadır. Evlerde, sanayide ve ulaşımda elektrik üretimi ve yakıt olarak hidrojen kullanımı için araştırmalar devam etmektedir. Hidrojen gazı üretiminde en önemli konulardan birisi üretilen gazın depolanmasıdır. Özellikle gelecekte taşıtlarda hidrojenin depolanmasının daha fazla önem kazanacağı düşünülmektedir. Hidrojeni sıvı, gaz ve katı formlarda depolamak mümkündür. Hidrojen, süper izolasyonlu vakumlu tanklarda -253 °C'de sıvı halde (LH₂) olarak depolanabilir (Anonim 2). Sıvı hidrojen uzun mesafe yolcu araçlarında, uçaklarda ve

uzay araçlarında çok avantajlı bir yakıt olarak kabul edilmektedir (Anonim 2) Hidrojenin gaz halinde depolanmasında boşalmış doğal gaz yatakları, mağaralar ve büyük depolama tankı kullanılabilir. Buna merkezi depolama denilir. Katı olarak hidrojenin depolanması ise metal hidratlar şeklinde olur (Anonim 2).

2.1.2 Hidrojen gazının yakıt olarak kullanımı

Oksijenin olduğu yerlerde hidrojen kolaylıkla okside olur ve ortaya çıkan enerji ısınma, mutfak, türbin, buhar kazanları veya motorların çalıştırılmasında kullanılabilir (Anonim 2). Hidrojen yakıtlı motorlar güç üretme yöntemi bakımından, hidrojen yakıtlı içten yanmalı motorlar ve yakıt pilli motorlar olarak bulunur.

1920' li Rudolf Erren tarafından hidrojenle içten yanmalı ilk motor geliştirilmiştir. Daha sonra bu motor tanker, otomobil, otobüs gibi araçların hidrojenle çalıştırılmasında kullanılmıştır (Anonim 2). 1970'li yıllarda Ford motor şirketi tarafından hidrojen yakıt hücresi geliştirilmiştir. Günümüzde MAZDA, BMW gibi otomotiv üreticileri hidrojenle çalışan araçların geliştirilmesine yönelik yoğun çalışmalar yapmaktadır.

2.2 Hidrojen gazının üretimi

2.2.1 Termokimyasal yöntemler

Hidrojen üretiminde buhar reformasyonu, katalitik reformasyonu, piroliz, elektroliz gibi yöntemler kullanılmaktadır. Tablo 2.1'de hidrojen üretiminde termokimyasal yöntemler ve hidrojenin saflaştırılması depolanması yöntemleri verilmektedir.

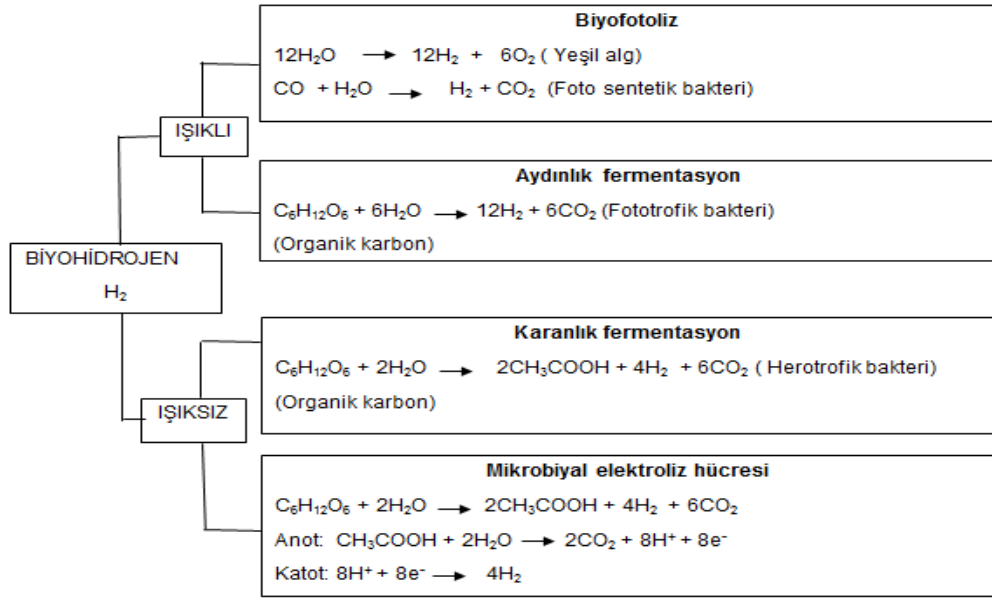
Tablo 2.1: Hidrojen üretiminde termokimyasal yöntemler, saflaştırma ve depolama yöntemleri (Lazanovski ve diğ. 2011)

H ₂ üretimi	H ₂ saflaştırma	H ₂ depolama
Buhar reformasyonu	Basınç Salınım Adsorpsiyonu (PSA) Membran temizleyici	Gaz halde sıkıştırma Sıvı
Katalitik reformasyon		
Piroliz		
Diğer		

Buhar reformasyon ile hidrojen üretim tesisinde üç ana bölüm vardır bunlar: reformasyon, su-buhar dönüşüm reaksiyonu ve saflaştırma ünitesidir (Spath ve diğ. 2001). Karışık gaz, ZnO₂ katalizör yataklarından geçtikten sonra yüksek sıcaklık ve düşük sıcaklık dönüşüm reaktörlerine nakledilir. Gaz dönüşüm reaktöründe CO hidrojene dönüşür ve saflaştırma ünitesinde basınçlı salınım adsorpsiyon kullanılarak hidrojen saflaştırılır. Hidrojen üretiminde kullanılan en popüler metot buhar reformasyon prosesidir. Katalitik reformasyon ise petrol rafinerilerinde hidrokarbon molekülleri kullanılarak gerçekleştirilir. Hidrojenin eldesinde bazen piroliz kullanılır. Organik bileşikler anaerobik ortamda ısıtılarak hidrojen gibi gaz ürünlere dönüştürülebilir (Anonim 3). Bir başka yöntem elektroliz ile hidrojen eldesidir. Burada elektrik akımıyla, sudaki hidrojen ve oksijen birbirinden ayrılır. Suyun %11.1'i hidrojen olup, dünya hidrojen üretiminin %20 sini oluşturan bu yöntem ile yüksek saflıkta hidrojen üretimi mümkündür (Anonim 2). 1950'lerde çok kullanılan bu yöntem günümüzde az kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin tümünde doğrudan veya dolaylı olarak fosil yakıtlar kullanılmakta ve yüksek enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Dolayısıyla fosil yakıtlara dayalı olmayan ve düşük enerji gerektiren hidrojen üretim yöntemlerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Bu kapsamda biyolojik hidrojen üretim prosesleri önemli avantajlar sunmaktadır.

2.2.2 Biyolojik yöntemler

Biyolojik hidrojen gazı üretim metotları şekil 2.1'de özetlenmiştir buna göre biyolojik hidrojen gazı üretimi ışıklı ve ışısız olarak iki ana başlık altında incelenmektedir.



Şekil 2.1: Biyohidrojen üretim prosesleri (Manish ve diğ. 2008).

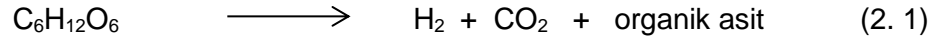
Tablo 2.2’de biyohidrojen üretim yollarına göre, literatürde elde edilen sonuçlar özetlenmiştir. Bu tabloda verilen bilgilerden, karanlık fermentasyonun aydınlık fermentasyon biyoproseslerden daha hızlı olduğu görülmektedir. Karanlık fermentasyonda H₂ üretimi ışıksız büyüyen anaerobik bakteriler ile gerçekleştirilir.

Tablo 2.2: Literatürde biyohidrojen üretim için elde edilen sonuçları

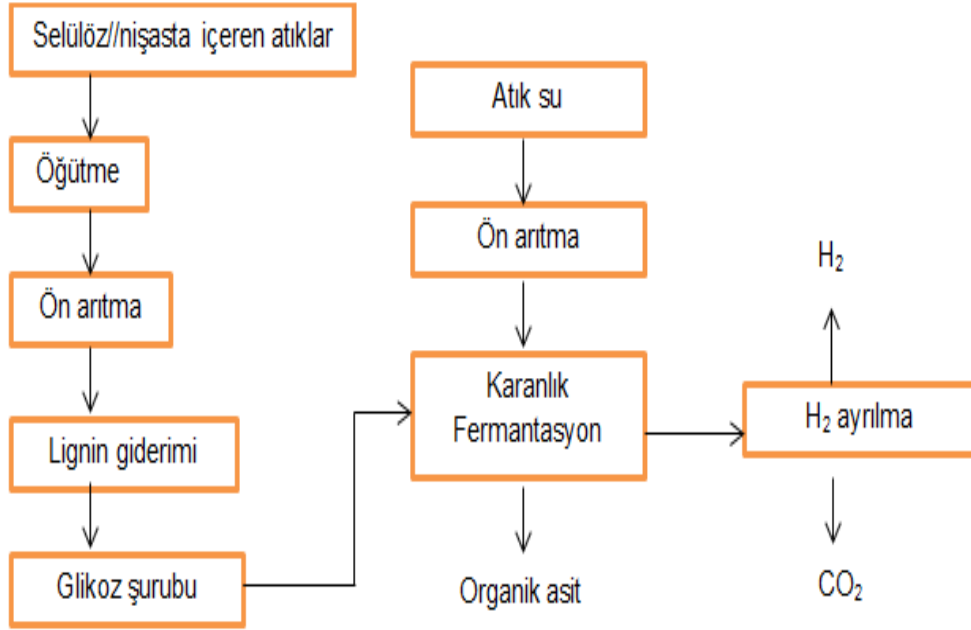
Hidrojen üretim metodu	Hidrojen üretim hızı (mmol H ₂ /Lsaat)	Referans
Doğrudan fotoliz	0.07	(Kosourov ve diğ. 2002; Melis ve diğ. 2000)
Dolaylı fotoliz	0.355	(Sveshnikov ve diğ. 1997)
Aydınlık fermentasyon	0.16	(Levin. ve diğ. 2004; Tsygankov ve diğ. 1994)
Karanlık fermentasyon	8.2-121	(Chang ve diğ. 2002; Ueno ve diğ. 1996)

2.2.2.1 Karanlık fermentasyon ile hidrojen gazı üretimi

Karanlık fermentasyon (KF) veya başka bir deyişle fermantatif hidrojen üretimi karbonhidratların anaerobik bakteriler tarafından hidrojen, CO₂ ve uçucu yağ asitlerine dönüştürülmesi prosesidir. Bu süreçte hidrojenaz enzimleri önemli rol oynamakta olup, glikozun karanlık fermentasyondaki dönüşümü Eşitlik 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.2 selüloz ve nişasta içeren atıklardan karanlık fermentasyon ile hidrojen gazı üretim prosesini özetlemektedir. Buna göre, hidrojen üretimi atığın belirli ön arıtlardan geçirilmesinden sonra yapılabilir. Özellikle lignoselülozik atıklardan KF öncesi lignin giderimi ve bunu takiben hidroliz işleminin uygulanması önemlidir. Biyokütle içerisindeki lignin, KF esnasında enzimlerin kullanılabilir şekerlere ulaşımını engellediği için uzaklaştırılması gerekir. Diğer taraftan selüloz, nişasta gibi polimerlerin doğrudan KF'ye verilmeyip, enzimatik veya kimyasal hidroliz işlemi sonrasında KF'ye verilmesi substratın mikroorganizmalar tarafından daha kolay bir şekilde kullanımına olanak vermektedir.



Şekil 2.2: Selüloz ve nişasta içeren atıklardan karanlık fermentasyon ile hidrojen gazı üretim şeması (Kapdan ve Kargı 2006).

Birçok bakteri karanlık fermentasyon ile hidrojen üretebilirken bunlar arasında en yaygın olanları spor oluşturabilen *Clostridium butircum*, *Clostridium asetobutircum*, *Clostridium bejerinckii*, *clostridiyum thermolacticum*, *Clostridium sacharoperbutilasetonicum*, *Clostridiyum tyrobutircum*, *Clostridium thermocellum* *Clostridium parapatrificum* gibi *Clostridium türleridir*. Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretiminin diğer biyolojik hidrojen üretim proseslerine göre bazı avantajları ve dezavantajları şöyle sıralanabilir (Das ve diğ. 2001):

- Yüksek hidrojen üretim hızı,
- Daha kararlı hidrojen üretimi,
- Daha kolay mikrobiyal büyüme ortamı.

Dezavantajları ise

- Çıkış suyunda oluşan uçucu yağ asitlerinin parçalanamaması ve yüksek oranda hidrojen içermesi,
- Geniş reaktör hacimleri gereksinimidir.

Yukarıda bahsedilen avantajlarından dolayı karanlık fermentasyon ışık gerektiren biyolojik hidrojen üretim metotlarına göre daha cazip fırsatlar sunmaktadır. Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimini etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar arasında sıcaklık, pH, besi madde dengesi, karıştırma, hidrojenin kısmi basıncı, organik yükleme ve hidroliz alıkonma süresi gibi faktörler sayılabilir.

2.2.2.1.1 Sıcaklık

Karanlık fermentasyon için sıcaklık en önemli parametrelerden birisidir. Sıcaklık hidrojen üretim verimini ve hızını etkiler. Optimum bir sıcaklık belirlenmemiş ise mikroorganizma türlerine göre bu sıcaklık seçilebilir. Örneğin; mezofilik, termofilik, ekstrem termofilik, hipertermofilik koşullar olabilir (Wang ve diğ. 2009). Çoğu çalışmalar mezofilik koşullarda yaklaşık 37°C'de yapılmıştır. Fermentasyon esnasında sıcaklıktaki dengesizlik mikroorganizma aktivitesini etkiler. Uygun aralıktaki sıcaklık mikroorganizma aktivitesini artırır ve yüksek sıcaklıkta azaltır (Genç 2010). Bu durumda mikroorganizmalar kendilerini sıcaklığın dengesizliğinden korumak için hidrojen üretim görevini yerine getiremezler. Dolayısıyla hidrojen üretimi verimi bu durumdan etkilenir. Mikroorganizmaların sıcaklığa göre sınıflandırılması şu şekildedir: 25-40°C mezofilik, 40-65°C termofilik, 65-80°C ekstrem termofilik, >80°C hipertermofilik (Levin ve diğ. 2004). Ekstrem termofilik koşullarında hidrojen üretim verimi ve hızı yüksek olup, teorik verim olan 4 mol'e yakın verimler 3.5-3.95 mol aralığında rapor edilmiştir (Van Niel ve diğ. 2002). Mezofilik koşullarda ise 1 mol glikoz başına en fazla 2-3 mol H₂ üretimi rapor edilmiştir (Van Niel ve diğ. 2002).

2.2.2.1.2 pH

pH karanlık fermentasyonda en önemli çevresel faktörlerden birisidir. pH mikroorganizmalarda enzim (hidrojenaz metabolizması) aktivitesini etkilemektedir. Fermentasyon esnasında organik asit oluştuğundan dolayı ortamın pH ' ı sürekli düşer bu nedenle hidrojen oluşumu azalır. Çünkü bu mikroorganizmaların hücre yaşamını etkilemektedir (Hallenberck 2009^a). Hidrojen üretim verimini artırmak için pH'ın sürekli kontrol edilmesi gerekmektedir. Optimum pH değerini bulmak için araştırmacılar tarafından çalışmalar yapılmıştır. Yayımlanmış makalelerde en yüksek hidrojen üretim veriminin elde edildiği pH aralığı 5.2 ile 7 aralığıdır (Chong ve diğ. 2009; Fang ve Liu 2000; Tang ve diğ. 2008; Wang ve Wan 2009).

2.2.2.1.3 Besi maddesi

Hidrojen üretiminin verimli bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için ortamdaki besin maddeleri dengeli bir şekilde olmalıdır. Makro besin maddelerin yanında (N, P) ortama uygun miktarda mikro besin maddelerin (Fe, Zn, Ni, Mg vb.) de ilave edilmesi gerekir. N ve P mikrobiyal büyümesine rol alırken mikro besin maddeler (Fe, Ni...) hidrojen oluşum için sorumlu olan hidrojenaz enzimi yapısında rol almaktadırlar.

2.2.2.1.4 Karıştırma

Sürekli karıştırma ile hidrojen üretimi hızlandırılır. Büyük hacimlerde biyokütle çökmesinin sebebiyle mikroorganizmalar aktiveye geçemezler dolayısıyla lag fazı uzun sürebilir.

2.2.2.1.5 Hidrojen kısmi basıncı

Fermentasyon sisteminde hidrojen kısmi basınçtan dolayı hidrojenaz enzimi oksitlenir ve ferrodoksin indirger (Chong ve diğ. 2009). Sıvı fazda olan protonlar okside olurlar böylece hidrojen oluşumu etkilenir (Chong ve diğ. 2009). Hidrojen basıncı arttığı sürece hidrojen üretimi düşer bu yüzden karanlık fermentasyon sisteminde hidrojen kısmi basıncı önemli faktörlerden sayılır.

2.2.2.1.6 Organik yükleme oranı ve alıkonma süresi

Organik yükleme oranı (OYO ve hidrolik alıkonma süresi (HAS) substratın türüne göre uygun bir şekilde seçilmelidir. Substrat türü değıştikçe bu iki parametre de değışir (Vazquez ve diğ. 2009). OYO birim hacim başına günlük olarak beslenen organik madde miktarıdır. HAS ise atığın reaktörde geçirdiği süre olarak tanımlanır. Bu parametreler sürekli deneylerde hidrojen üretimini etkileyen iki önemli faktördür. HAS; substrat tipi, reaktör tipi, mikroorganizma tipi gibi faktörlere bağlıdır. Kısa hidrolik alıkonma süresi ve yüksek organik yükleme oranının kümülatif hidrojen miktarını artırdığı görülmüştür. Sürekli işletilen reaktörde peynir altı suyu ile biyohidrojen üretiminde Vazquez ve diğ. (2009) HAS ve OYO'nin etkilerini incelemiştir. Buna göre maksimum hidrojen üretim hızı 46.61 mmol H₂/L saat, HAS 6 gün, OYO 38,6 g Laktoz/L gün olarak bulunmuştur. Sürekli karıştırmalı tank reaktörde (SKTR) hidrojen üretimi üzerine HAS'nin etkisi Wongtanet ve diğ. (2007) tarafından araştırılmıştır. Buna göre HAS 1, 2, 3 gün için hidrojen üretim hızları sırası ile 3.340, 2.490, 1.780 L H₂/L gün olmuştur. HAS, 1 gün için biyogazdaki hidrojen yüzdesi %38 ile %73 arasında değışmiştir. Hidrojen üretim verimi ise HAS'nin azalmasıyla artmıştır. HAS: 1 gün olduğunda hidrojen üretim verimi 1.240 mol H₂ / mol glikoz iken, HAS: 3 gün olduğunda ise hidrojen üretim verimi 0.20 mol H₂ / mol glikoz değerine düşmüştür. Buradan da anlaşıldığı gibi düşük HAS'de hidrojen üretim verimi daha yüksektir. Azbar ve diğ. (2009) tarafından yapılan çalışmada HAS: 1 gün olarak alındığında farklı OYO' de (21, 35, 47 g KOİ/L gün) hidrojen üretim hızı sırası ile 6, 9, ve 3 mmol H₂/gKOİ olarak gerçekleşmiştir.

2.2.2.1.7 Substrat türü

Karanlık fermentasyonda çeşitli substratlar kullanılmaktadır ve hidrojen üretimi kullanılan substrat ile yakından ilişkilidir. Fermentatif hidrojen üretimi için ham maddenin kolay temin edilmesi, karbonhidrat ve besi madde içeriği ile yapısı önemli faktörlerdir. Substratın kaynağı, büyük miktarda elde edilebilmesinin yanında birincil insani gereksinimler için kullanılmaması ve yatırım ve işletme maliyetinin düşük olması gerekmektedir. Literatürdeki sınıflandırmalara göre kullanılabilir substratlar dört ana gruptadır (Bartacek ve diğ. 2007). Bunlar; saf substratlar, enerji bitkileri, atık maddeler ve arıtma çamurlarıdır. Saf substratlar temel deneysel araştırmalar için kullanılabilir ancak endüstriyel amaçlı pilot ölçekte kullanım için pratik değildir. Enerji bitkileri (yüksek glikoz, düşük lignin içeren katı atıklar, belediye

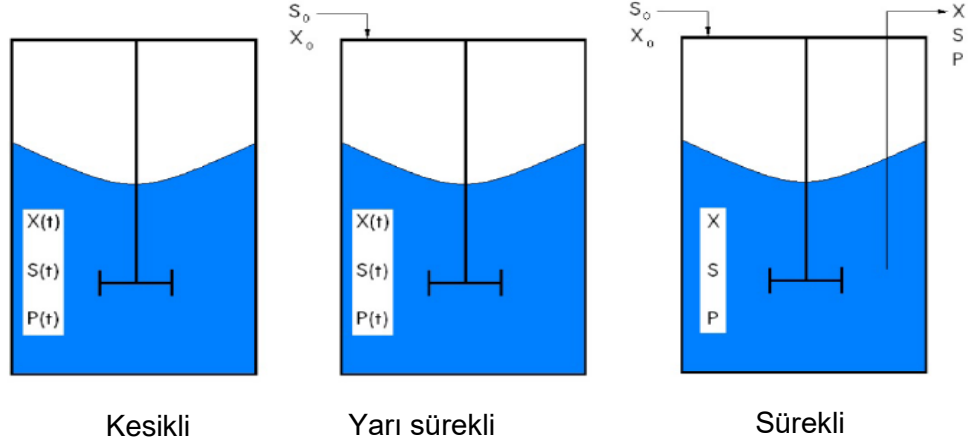
atıkları, sanayiden gelen atıklar), endüstriyel atık su (organik madde içeren atık su, nişasta, karbonhidrat ve selüloz içeren atıklar, atık su arıtma tesisinde oluşan çamurlar) gibi karbonhidratça zengin katı veya sıvı atıklardır (Bartacek ve diğ. 2007) Saf substrattaki özgül hidrojen verimleri karmaşık substrattakinden daha yüksek, ancak fizibilite açısından sürdürülemezdir. Bunun sebebi maliyetinin yüksek oluşudur (Kapdan ve diğ. 2006).

2.2.2.1.8 Mikroorganizma

Arıtma çamurlarından hidrojen üreten bakteriler izole edilebilir. Bu amaç için bazen kimyasal veya ısı işlem uygulanarak hidrojen tüketen metanojenler ve homoasetojenler inhibe edilir. Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretiminde kullanılan mikroorganizma türü de önemlidir. Saf kültür veya karışık kültür kullanılarak hidrojen üretimi yapılabilir. Karışık kültür kullanımı saf kültür kullanımına göre avantajlar sunmaktadır (Liu 2008). Zira saf kültür kullanımında substrat ve ortamın steril olarak korunması zor olmakla birlikte saf kültür temini ve büyütmesi karışık kültüre göre daha zordur.

2.2.2.1.9 Karanlık fermentasyon işletme tipleri

Karanlık fermentasyon ile hidrojen üretiminde üç farklı işletme türü (kesikli, yarı sürekli ve sürekli) seçilebilir. Bunlar Şekil 2.3'te gösterilmektedir.



Şekil 2.3: Karanlık fermentasyon işletme tipleri (X: Biyokütle, S: Substrat, P: Ürün, t: Zaman, X₀: Başlangıç biyokütle konsantrasyonu, S₀: Başlangıç substrat konsantrasyonu)

Kesikli fermentasyon kapalı sistemler olarak düşünülebilir. Reaksiyona girecek bileşenler reaksiyon başlangıcında reaktöre ilave edilir. Reaksiyon süresince reaktöre tekrar substrat veya biyokütle beslemesi yapılmaz ve ürün çıkışı gerçekleşmez. Fermentasyon, ortamdaki mikrobiyal aktivite durana kadar devam eder.

Yarı sürekli beslemede substrata adapte olmuş yüksek biyokütle konsantrasyonundaki mikroorganizma kütlesi üzerine belirli debide substrat beslemesi yapılır ve hacim zamanın bir fonksiyonu olarak artarak yükselir. İstenilen hacme ulaşıncaya besleme kesilir ve bir süre sonra reaktörün belirli bir kısmı boşaltıldıktan sonra tekrar substrat beslemesi yapılır.

Sürekli fermentasyonda reaktör belirli bir organik yük altında sabit debi ile belirli bir hidrolik alıkonma süresinde sürekli olarak beslenir.

Kesikli ve sürekli üretim tiplerinin kıyaslanması Tablo 2.3'te özetlenmiştir. Tablo 2.3'te iki sistemin avantajlarına bakıldığında sürekli fermentasyonun daha verimli ve avantajlı olduğu görülmektedir, çünkü devreye alma süresi daha kısa ve pH kontrolü kolaydır (Bakonyi ve diğ. 2014). Reaktörde konsantrasyon, pH ve ORP değişmesinden dolayı kesikli deneylerin sonuçlarının açıklanmasında zorluk vardır.

Laboratuvarda yapılan deneylerin çoğu kesikli modda yapılmıştır. Fakat bu işin ticaretini yapan firmalara sürekli fermentasyon modu önerilmektedir.

Tablo 2.3: Kesikli ve sürekli fermentasyon tiplerinin karşılaştırılması (John ve diğ.2011)

Kesikli fermentasyon	Sürekli fermentasyon
Ürün miktarı düşüktür	Ürün miktarı yüksektir
Hız ve verim düşüktür	Hız ve verim yüksektir
Az yer gereksinimi	Yüksek yer gereksinimi
Maliyet düşüktür	Farklı substrat kullanılmaz
Esnek işletim	Maliyet yüksektir
İşletim basit ve sistem inşaatı kolay	İnşaat karmaşık ve işletim zor
Sistem sürekli kontrol edilmeli	Ürün kalitesi sabittir

2.2.2.1.10 Literatürde yapılan çalışmalar

Literatürde sürekli ve kesikli karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimine yönelik yapılan laboratuvar çalışmalarından bazıları Tablo 2.4'de özetlenmiştir. Görüldüğü gibi farklı substratlar kullanılarak, farklı sıcaklıklarda ve farklı pH değerlerinde kesikli ve sürekli deneyler yapılmıştır. Atık özelliklerine, mikrobiyal kompozisyonuna göre hidrojen üretim hızı ve verimi değişmektedir.

Hisami ve diğ. (2010) elma posasından hidrojen üretimini rapor etmiştir. 35°C sıcaklık ve pH 6'da yapılan kesikli deneyler sonucunda 2.3 mol H₂/mol heksoz veriminde hidrojen üretilmiştir. Gonzalez ve diğ. (2012) meyve fabrikasının atık suyundan hidrojen üretimi çalışmıştır. Hidrojen üretim hızı ve verimi sırasıyla 600 mmolH₂/gün ve 1403 mmolH₂/g heksoz olarak elde edilmiştir. Akinbomi ve diğ. (2015) hidrojen üretebilmek için atık elma posası kullanmıştır. Sürekli beslemeli bir reaktörde gerçekleşen deney sonucunda 504 mL H₂/g UKM verim elde edilmiştir. Aynı araştırmacılar tarafından karışık meyveden oluşan substratın hidrojen üretimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Karışım oranları %20 portakal ve %80 elma konsantrasyonlarında tutulurken 513 mLH₂/g UKM verim elde edilmiştir.

Hidrojen üretimi kapsamında bazı endüstriyel atık sular substrat olarak kullanılmıştır. Vijayaraghavan ve diğ. (2006) palmye yağ çıkış suyundan hidrojen üretimini araştırmıştır. Buna göre 7 günlük hidrolik alıkonma süresinde 0.42 L

biyogaz/kg KOİ üretimi ve %57 hidrojen içeriği elde etmişlerdir. Pirinç şarabı atık suyundan 1.37-2.14 mol H₂/ mol heksoz verim olarak ve %53 – 61 hidrojen Yu ve diğ. (2002) tarafından elde edilmiştir. 55°C de, farklı pH'larda (pH: 4-9) ve farklı konsantrasyonlarda (36.6-92 g/L) nişasta atık suyu kullanarak Zhang ve diğ. (2003) tarafından hidrojen üretim potansiyeli denenmiştir. pH 6'da maksimum hidrojen üretimi verimi 92 mL H₂/ g nişasta olarak elde edilmiştir. pH 7' de maksimum spesifik hidrojen üretimi hızı 365 mL H₂/ g UAKM gün ve hidrojen içeriği % 60 olarak bulunmuştur. Sukroz kullanılarak, hidrojen üretimi kinetik çalışması yapılmıştır (Chen ve diğ. 2006). Bu çalışmada hidrojen üretimi verimi 234 mL H₂/ g KOİ olarak rapor edilmiştir. Başka çalışmada Vijayaraghavan ve diğ. (2007) tarafından karışık atık meyveden hidrojen üretimi denenmiştir. Buna göre biyogaz oluşumu 0.73 m³/kg UKM olurken hidrojen içeriği %60 olarak belirlenmiştir.

Bu parametrelerin optimum olduğu şartlarda hidrojen üretim verimi ve hızı artar. Bunlar çok önemli ve dikkat edilmesi gereken parametrelerdir. Genel olarak kesikli fermentatif hidrojen prosesinde verim 0.2-3.5 molH₂/mol glikoz arasında değişmektedir (Holladay ve diğ. 2009). Fermentatif hidrojen ortamda kesikli reaktör kullanarak Öztekin ve diğ. (2008) tarafından N/C = 0.025; P/C = 0.008; Fe/C = 0.015 oranlarının etkisini incelenmiştir. Hidrojen üretim verimi ve hızı sırasıyla 2.84 molH₂/mol glikoz ve 96 mL H₂/g biyokütle saat olarak rapor edilmiştir (Öztekin ve diğ. 2008). Anaerobik hidrojen üretiminde de demir (C/Fe) ve nikel (C/Ni) oranları reaktörün performansını ve hidrojen üretim verimini %71 artırmıştır (Dogan ve diğ. 2010). Fermentatif hidrojen üretiminde ayrıca reaktör tipinin etkisi de incelenmiştir. Yukarı akışlı reaktör (YAR) için yapılan bir çalışmada hidrojen üretim hızı 2.77 LH₂/L gün iken dolgu yataklı reaktörde (DYR) 1.28 LH₂/L gün olarak verilmiştir (Buchun ve diğ. 2015). Reaktör tipi, hidrojen üretimine ve bakteriyel aktivitelere tesir etmektedir. Özmihçı ve diğ. (2009) tarafından periyodik besleme sistemi denenmiş, 600 mL/gün substrat yüklemede en yüksek hidrojen üretim hızı 1857 mL H₂/L gün iken, 150 mL/gün' de hidrojen üretim verimi 109 mLH₂/gKM olmuştur. Yapılan çalışmalarda gaz konsantrasyonu farklı OYO ile değişmektedir (Krupp ve diğ. 2009).

Tablo 2.4: Kesikli ve sürekli karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimine yönelik yapılan çalışmalar

Aşı kültürü	Substrat	Reaktör tipi	Ön arıtım	HÜH	HÜV	pH	Sıcaklık (°C)	Referans
Pirinç kök bakterileri	Elma posası	Kesikli	-	-	2.3 mol H ₂ /mol heksoz	6	35	(Hisami ve diğ. 2010)
Karışık kültürü	%100 Elma %20 Elma + %80 portakal	Sürekli	-	-	504 mL H ₂ /g UKM 513 mL H ₂ /g UKM	6-7	55	(Akinbomi ve diğ.2015)
Anaerobik çamur	Buğday tozu	Kesikli	Isıl	-	2.84 mol H ₂ /mol glikoz	6.8	37	(Öztekin ve diğ.2008)
Anaerobik çamur	Meyve sebze atık suyu 37g KOİ/L	Kesikli	Isıl	1.7 mmol H ₂ /gün	2.1 mol H ₂ /mol glikoz	5.5	35	(Garcia pena ve diğ.2013)
-	Meyve atık suyu	Sürekli	-	2.5LH ₂ /L gün	5.4 mol H ₂ /Kg KOİ	3.7	30	(Diamant ve diğ.2013)
Aktif çamur	Meyve fabrikası atık suyu	Kesikli	-	600 mol H ₂ /gün	1403 mol H ₂ /g heksoz	5	26	(Gonzalez ve diğ. 2012)

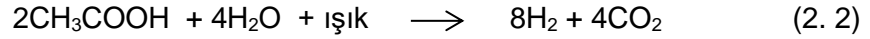
Tablo 2.4'ün devamı

Aşı kültürü	Substrat	Reaktör tipi	Ön arıtım	HÜH	HÜV	PH	Sıcaklık (°C)	Referans
Karışık kültürü	Zeytin posası	Sürekli	-	-	2.8-4.5 mmol H ₂ /g karbonhidrat	5.5-6	35	(Eleni ve diğ. 2002)
Kanalizasyon çamuru	Karışık meyve	Kesikli	-		2.1 mol H ₂ /mol glikoz	5	35	(Hwang ve diğ.2010)
Anaerobik çamur	%40 marul %40 limon %20 üzüm	Kesikli	Asit Alkali Enzim	10.11mLH ₂ /L 3.64m LH ₂ /L 5.65 mLH ₂ /L	-	6	37	(Jia x. ve diğ.2014)
Anaerobik çamur	Gıda atığı	Kesikli		-	0.39-2.68 mol H ₂ /Heksoz	6	37	(Thanaporn ve diğ.2014)
Anaerobik çamur	Bira fabrikası atık suyu	Kesikli	Isıl	88mL H ₂ /saat	-	6	37	(Sameena ve diğ. 2014)
Hayvan gübresi	Karışık meyve posası	Sürekli	-	-	0.73m ³ biyogaz /kg UKM	7	-	(Vijayaraghavan ve diğ.2007)

Karanlık fermentasyon çıkış suyundan bulunan organik asitler parçalanamadıkları için çıkış suyunda organik kirliliğe neden olurlar. Ayrıca bu bileşikler önemli miktarda bağlı formda hidrojen içerirler. Ancak bazı özelleşmiş bakteriler ışık enerjisi yardımıyla bu organik asitleri parçalayarak hidrojen üretme kabiliyetindedirler. Fotofermentasyon olarak adlandırılan bu proseste *Rhodobacter* türü mikroorganizmalar kullanılarak hidrojen üretimi yapılabilmektedir.

2.2.2.2 Aydınlik fermentasyon ile hidrojen gazı üretimi

Asetik asitten aydınlık fermentasyon ile hidrojen üretimi Eşitlik 2.2'de verilmiştir. Buna göre 1 mol'den asetik asitten 4 mol hidrojen üretimi teorik olarak mümkündür. Karanlık fermentasyonda 2 mol asetik asit olduğu için toplamda sekiz mol hidrojen üretilebilir. Ancak gerçek şartlar altında bu verime ulaşmak birçok mikrobiyal sınırlamadan dolayı mümkün değildir.



Aydınlık fermentasyon ile hidrojen üretiminde mor kükürtsüz bakteriler (*Rhodospseudomonas R. capsulatus*, *R. palustris* ve *R. Sphaeroides*) ve mor kükürtlü bakteriler (*Chromatium* veya *Thiocapsan* ve türleri) kullanılmaktadır (Basak ve Das 2007; Kovacs ve diğ. 2000).

Aydınlık fermentasyonun avantajları ve dezavantajları şöyle sıralanabilir (Das ve Veziroğlu 2001):

- Farklı organik substrat, organik asit, atık su, gıda ve tarımsal atıklardan hidrojen üretim imkânı,
- Farklı ışık türlerinin kullanılabilirliği,
- Yüksek hidrojen yüzdesidir.

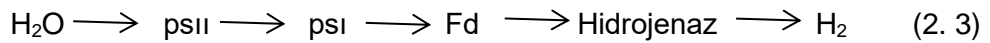
Dezavantajları ise:

- Yüksek reaktör maliyeti,
- Düşük hidrojen üretim hızı,
- Işık gereksinimidir.

Karanlık ve aydınlık fermentasyon ardışık veya birleşik olarak işletilebilir. Ardışık fermentasyonda birinci basamak karanlık fermentasyon olurken şekerlerden hidrojen ve organik asit üretimi gerçekleştirilir. Oluşan çıkış suyu aydınlık fermentasyon ortamına beslenilerek organik asitlerden hidrojen ve CO₂ üretiminin oluşması sağlanır. Birleşik karanlık-aydınlık fermentasyonda ise tüm bu reaksiyonlar aynı ortamda gerçekleştirilir ve teorik olarak 1 mol glikozdan 12 mol hidrojen üretimi mümkündür (Das ve diğ. 2001). Biyohidrojen üretiminde bu karanlık fermentasyon ve aydınlık fermentasyon proseslerinin dışında biyofotoliz prosesi ile de hidrojen üretimi mümkündür. Güneş ışığında *Siyanobakteri* veya yeşil mikro algler tarafından su molekülleri fotoliz edilip, hidrojen ve oksijen açığa çıkar. Bu mikroorganizmalar karbon kaynağı olarak CO₂ kullanırlar.

2.2.2.3 Direkt biyofotoliz

Bu proseste siyanobakteri ve algler suyu güneş ışığı yardımıyla doğrudan parçalar. Oluşan protonlar hidrojenaz enzimi yardımıyla hidrojen gazına dönüştürülür. Bu proseste oluşan oksijenin hidrojenaz aktivitesini inhibe etmesi nedeniyle oksijenin sistemden uzaklaştırılması gerekir (Hallenbeck ve diğ.2002). Literatürde *Chlamydomonas reinhardtii* kullanılarak hidrojen üretimi rapor edilmiştir (Das ve diğ. 2001). Doğrudan biyofotolizde hidrojen oluşumu aşağıdaki Eşitlikte özetlenmiştir (Genç 2009). Burada psII: fotosistem II' yi, psI ise fotosistem I, Fd: Ferrodoksin'i temsil etmektedir.



2.2.2.4 İndirekt biyofotoliz

İndirekt biyofotoliz prosesinde su doğrudan parçalanmaz bunun yerine önce fotosentez ile karbonhidrat üretilir daha sonra bu karbonhidratlardan hidrojen üretimi gerçekleştirilir.

3. MATERYAL VE METOTLAR

3.1 Şeftali posası

Bu tez çalışmasında atık şeftali posasından karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi araştırılmıştır. Substrat için gerekli olan atık şeftali posası (AŞP), Denizli'nin Çal ilçesi Akkent beldesinde bulunan Konfrut Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş'den temin edilmiştir. AŞP temin edildikten sonra kompozisyon analizleri yapıp - 18 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2 Ön işlemler

Deney öncesinde şeftali posası 45 dakika süreyle kaynatılarak kısmi hidrolizi tabi tutulduktan sonra laboratuvar ortamında 12 saat atmosfere açık bir şekilde bekletilmiştir. Deney öncesi tüm şişe ve kapaklar 121 °C' de 30 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

3.3 Deneysel çalışmalar

Deneyler 250 mL serum şişelerinde, kesikli işletim modunda inkübatörde 37 °C'de, pH 6.8, dışarıdan aşı ilavesi yapılmadan gerçekleştirilmiştir. pH ayarı 5 M NaOH ve H₂SO₄ kullanılarak manuel olarak yapılmıştır.

Başlangıç substrat konsantrasyonunun hidrojen üretimine olan etkilerinin araştırıldığı deneylerde 90 mL çalışma hacminde katı madde konsantrasyonu 3.42–170.80 g KM/L arasında değiştirilirken diğer tüm koşullar aynı tutulmuştur.

C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretimi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı deneylerde C/N, C/P, C/Fe, C/Ni oranları analitik saflıkta (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, FeSO₄.7H₂O ve NiCl₂.6H₂O kimyasalları kullanılarak ayarlanmıştır. Bu deneylerde kullanılan çalışma hacmi 100 mL dir. Gaz fazdaki hidrojen konsantrasyonu %42 en yüksek olarak elde edilmiştir.

3.4 Analitik yöntemler

Deneyleerde gaz ve sıvı faz analizleri yapılmıştır. Sıvı numunelerde glikoz cinsinden toplam şeker konsantrasyonu tayini ile Toplam Uçucu Yağ Asidi (TUYA) tayini, sıvı numunenin 7000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmesi sonrası berrak kısmında yapılmıştır. Askıda katı madde ve kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) analizleri ise numune santrifüjlenmeden tayin edilmiştir. Glikoz konsantrasyonu Dubois ve diğ. (1956) tarafından geliştirilen fenol-asit metoduyla tayin edilmiştir. TUYA konsantrasyonu ise Merck Co (Spectroquant, 1.01763.0001) deneysel kit kullanılarak ölçülmüştür. Askıda katı madde ve kimyasal oksijen ihtiyacı konsantrasyonları standart metotlara göre tayin edilmiştir (Greenberg ve diğ. 2005). Toplam Kjeldahl azotu, toplam fosfor, toplam organik karbon sırasıyla BS ISO 1871:2009, BS EN 14672:2005 ve BS-EN 13137 standart metotlarına göre belirlenmiştir. Hidrojen yüzdesi Agilent 7820A markalı gaz kromatografi (GC) cihazında ölçülmüştür. Hidrojen tayininde kullanılan GC kolonu Supelco, Carboxen™ 1010 PLOT Fused Silica Capillary Column, 30m x 0.53 mm (U.S. Patents 5-549-445 ve 5-607-580) olup taşıyıcı gaz olarak azot gazı (8 mL/dk) kullanılmıştır. GC' de bulunan fırın, giriş ve detektör sıcaklıkları sırasıyla 110°C, 230°C, 250°C olarak seçilmiştir. GC'nin kalibrasyon edilmesinde analitik saflıkta karbondioksit, hidrojen ve metan gazları kullanılmıştır.

Deneyleer esnasında oluşan toplam gaz hacmi, Logan BE ve diğ.(2002) tarafından geliştirilen sıvı yer değıştirme yöntemiyle ölçülmüştür. Sıvı yer değıştirme çözültisi olarak 2% H₂SO₄ ve 10% NaCl içeren bir çözülti kullanılmıştır.

Kümülatif hidrojen hacmi aşağıdaki denklem (3. 1) kullanılarak hesaplanmıştır (Argun ve diğ. 2009).

$$V_{H_{2,i}} = V_{H_{2,i-1}} + V_w * CH_{2,i} + (V_{G,i} * CH_{2,i} - V_{G,i-1} * CH_{2,i-1}) \quad (3. 1)$$

burada $V_{H_{2,i}}$ ve $V_{H_{2,i-1}}$ (i)' inci ve (i-1)' inci koşullardaki kümülatif H₂ hacmini (mL), V_w sıvı yer değıştirme sisteminde ölçülen toplam gaz hacmini (mL), $CH_{2,i}$ ve $CH_{2,i-1}$ (i)' inci ve (i-1)' inci koşullarda ölçülen hidrojen gazı yüzdelerini, $V_{G,i}$ ve $V_{G,i-1}$ ise (i)' inci ve (i-1)' inci koşullarda şişede bulunan sıvı üstü hava boşluk hacmini (mL) temsil etmektedir.

Hidrojen üretim verimi Y (mL H₂/g COD) kümülatif hidrojen miktarının tüketilen KOİ miktarına bölünmesiyle hesaplanmıştır.

$$Y = CH_2/\Delta S \quad (3. 2)$$

$$H\ddot{U}H = CH_2/\Delta t \quad (3. 3)$$

burada CH₂ Kümülatif hidrojen hacmini (mL) ΔS ise tüketilen substrat (KOİ, TOC gibi) miktarını temsil etmektedir.

HÜH Hidrojen üretim hızı, t zaman

Kümülatif hidrojen ve zaman verileri Gompertz eşitliği kullanılarak Statistica yazılımında korele edilerek Gompertz katsayıları regresyon ile belirlenmiştir (Lee KS ve diğ. 2008). Denklem 3. 4' de Gompertz denklemi verilmektedir:

$$H(t) = P \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_m e}{P} (\lambda - t) \right] + 1 \right\} \quad (3. 4)$$

burada, P Maksimum hidrojen üretimini (mL), R_m Hidrojen üretimi hızını (mLH₂/saat), t Zamanı (saat), λ Lag fazını (saat) ve e 2.71 değerini ifade etmektedir.

C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretimine etkisini incelemek için Design Expert 8.01 yazılımında bulunan Box-Behnken Yüzey Tepki Metodu (BBYTM) kullanılmıştır (Design-Expert 8.01 yazılımı). Burada C/N, C/P, C/Fe ve C/Ni oranları bağımsız değişkenler olarak seçilirken, hidrojen oluşum verimi (mLH₂/g KOİ) ve hidrojen üretim hızı HÜH (mLH₂/saat) amaç fonksiyonları olarak seçilmiştir. Deneylein sonuçlarının tekrarlanabilirliği için deneyler iki defa tekrarlanmıştır. Bağımsız değişken aralıkları C/N oranı için X₁ 5-85.36, C/P oranı için X₂ 5-45.80, C/Fe oranı için X₃ 375-3750 ve C/Ni oranı için X₄ 690-6900 seçilerek BBYTM yöntemine göre 27 deneyden oluşan bir set tasarlanmıştır. Deney sonuçları Eşitlik (3. 5) ile korele edilerek denklem katsayıları belirlenmiştir.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{44}X_4^2 \quad (3. 5)$$

burada, Y amaç fonksiyonu(hidrojen oluşum verimi Y_{HÜV} veya hidrojen üretim hızı Y_{HÜH}). b harfleri ise fonksiyonun katsayılarıdır (b₀: eşitlik sabiti, b₁, b₂, b₃, b₄ lineer, b₁₂, b₁₃, b₁₄, b₂₃, b₂₄, b₃₄ etkileşim, b₁₁, b₂₂, b₃₃, b₄₄ kuadratik katsayılarıdır).

Optimum hidrojen üretim verimi HÜV ve hidrojen üretim hızı HÜH'ü veren koşullar Design Expert ile belirlenmiştir. Ortama N, P, Fe ve Ni ilavesinde posa içerisindeki N ve P dikkate alınırken posa içerisindeki Fe ve Ni dikkate alınmamıştır.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

4.1 Ham atık şeftali posası

Tablo 4.1'de AŞP kompozisyon analiz sonuçları gösterilmiştir. Buna göre AŞP'da TOK içeriği yüksek iken TKA ve TF içeriklerinin düşük olduğu anlaşılmaktadır. Bu da AŞP'nin karanlık fermentasyonda uygun bir substrat olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Diğer taraftan AŞP içerisinde burada analizleri yapılamayan birçok mikro nütrient, vitaminlerin de bulunduğu tahmin edilmektedir.

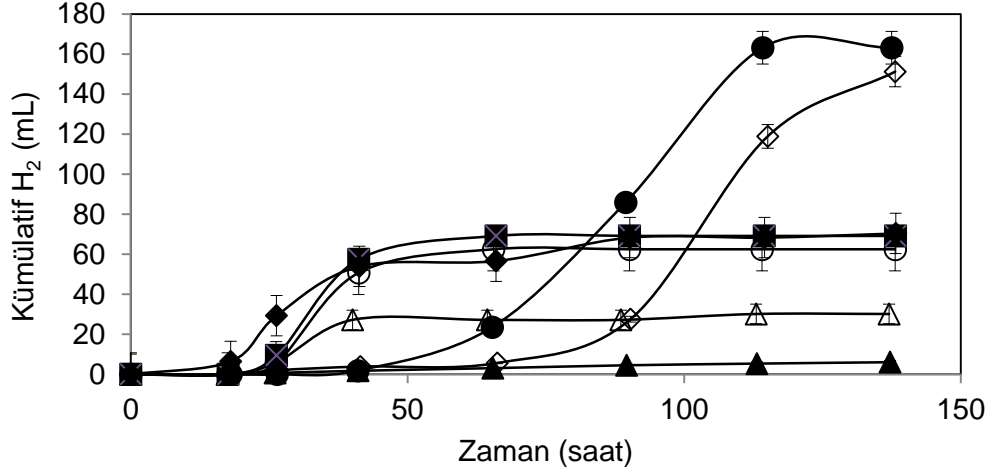
Tablo 4.1: AŞP kompozisyonu

Parametre	
Toplam katı madde (%)	34.2
Uçucu katı madde (%)	98.00
Su içeriği (%)	65.84
Kül (%)	0.56
Toplam Organik Karbon (TOK) (%)	55.24
Toplam Kjeldahl Azotu (TKA) (%)	0.22
Toplam Fosfor (TF) (%)	0.12
Lignin (%)	4.7
Glikoz cinsinden toplam şeker (g/L)	26.38

4.2 Başlangıç substrat konsantrasyonunun H₂ üretimine etkisi

Farklı başlangıç substrat (şeftali posası ŞP) konsantrasyonları (g kuru madde/L) için kümülatif hidrojen (mL) üretimlerinin zamana göre değişimi Şekil 4.1'de gösterilmektedir. 140 saat sonunda oluşan toplam kümülatif hidrojen hacmi farklı başlangıç substrat konsantrasyonları için 6 ile 165 mL arasında değişmiştir. 3.42 g KM/L'den 102.48 g KM/L'ye kadar kümülatif H₂ artarken 170.80gKM/L'de düşüş göstermiştir. Substrat sınırlama nedeniyle en düşük hidrojen üretimi 3.4g KM/L substrat konsantrasyonunda bulunmuştur. 34.16, 51.24 ve 68.32 g KM/L substrat konsantrasyonlarında ise kümülatif hidrojen hacimlerinde önemli bir fark

elde edilememiştir. Bunun sebebi glikoz konsantrasyon değerlerinin yakın olması olabilir. 17.08, 34.16 ve 51.24 g KM/L posa konsantrasyonlarının adaptasyon süreleri birbirine çok yakın olduğundan hidrojen üretimi hemen hemen aynı sürelerde başlamıştır. Yüksek AŞP konsantrasyonlarında hidrojen üretiminin daha geç gerçekleştiği fakat daha yüksek kümülatif hidrojen değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Bunun sebebi substrat inhibisyon veya zor parçalanabilir maddeler ile açıklanabilir.



Şekil 4.1: Farklı başlangıç substrat konsantrasyonları (g KM/L) için kümülatif hidrojen (mL) üretiminin zamana göre değişimi (▲) 3.42, (△) 17.08, (○) 34.16, (■) 51.24, (◆) 68.32, (●) 102.5, (◇) 170.80.

Tablo 4.2' de deney başlangıç ve son glikoz, TUYA ve KOİ konsantrasyonları verilmiştir. Görüldüğü gibi glikoz ve KOİ konsantrasyonları azalırken aynı zamanda TUYA oluşumları gözlemlenmiştir ve bu durum substrat konsantrasyonunun artmasıyla artmıştır. Tüm koşullar için hesaplanmış KOİ giderimi %10 ile %42 arasında olmuştur.

Tablo 4.2: Deney başlangıcı ve sonundaki substrat, glikoz, TUYA ve KOİ konsantrasyonları.

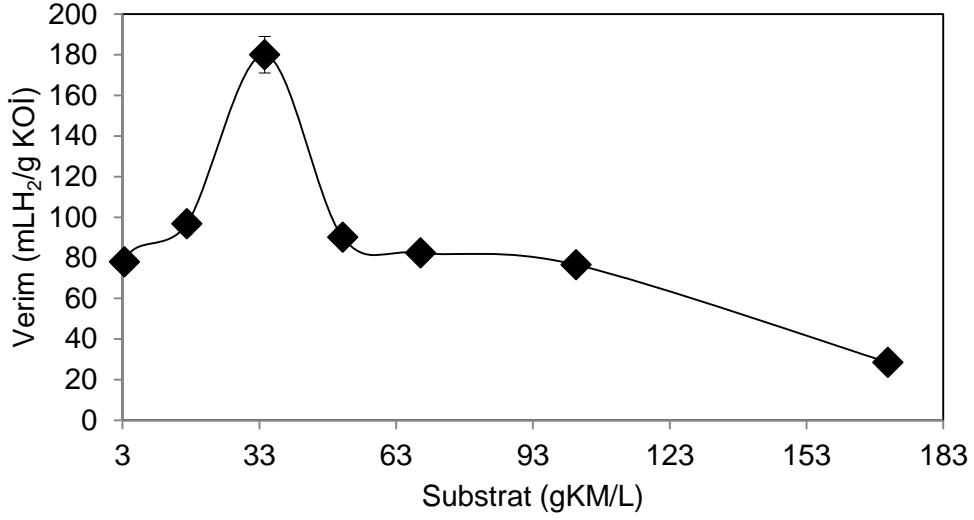
Substrat konsantrasyonu (g KM/L)	Glikoz _o (g/L)	Glikoz _s (g/L)	TUYA _o (g/L)	TUYA _s (g/L)	KOİ _o (g/L)	KOİ _s (g/L)
3.42	1.45	0.42	0.43	0.99	2.02	1.16
17.08	5.37	0.75	0.51	3.36	11.06	7.37
34.16	19.85	9.14	1.25	8.05	31.19	27.35
51.24	21.83	7.08	2.20	10.35	42.54	30.70
68.32	26.09	10.97	3.40	15.10	47.68	35.52
102.48	29.96	12.95	5.48	21.60	77.98	54.29
170.80	53.09	16.46	6.36	32.55	123.67	64.83

Tablo 4.3'de Gompertz eşitliği katsayıları gösterilmiştir. Maksimum hidrojen üretim potansiyeli substrat konsantrasyonunun artmasıyla 6 mL'den 164 mL'ye ulaşmış, daha yüksek konsantrasyonlarda (170.80 g KM/L) 152 mL'ye düşmüştür. Hidrojen üretim hızı (R_m) substrat konsantrasyonunun 3.42'den 51.24 g KM/L'ye kadar artmasıyla 6 mLH₂/saat seviyelerine gelmiş, 51.24 ile 170.80g KM/L arasında ise düşüşe geçmiş olup 3 mL H₂/saat mertebesinde sabitlenmiştir. Substrat konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak adaptasyon süresi de yaklaşık olarak doğrusal şekilde artmıştır. Tablo 4.2'de substrat konsantrasyon artığında şeker artmış ve 4.3'te görüldüğü gibi substrat konsantrasyon artmasıyla hidrojen üretimi potansiyeli artmıştır. Tablo 4.3'te kümülatif hidrojen hacminin artmasının nedeni glikoz konsantrasyonundaki artış ile açıklanabilir. Glikoz konsantrasyonu 1 ile 30 g/L arasındayken kümülatif hidrojen hacminde, substrat sınırlama nedeniyle, artış gözlenmektedir. Fakat glikoz konsantrasyonu 30 g/L'nin üzerindeyken kümülatif hidrojen hacminde, substrat inhibisyon veya alkol oluşumu nedeniyle, azalma olmuştur.

Tablo 4.3: Farklı başlangıç substrat konsantrasyonları (g KM/L) için Gompertz eşitliği katsayıları.

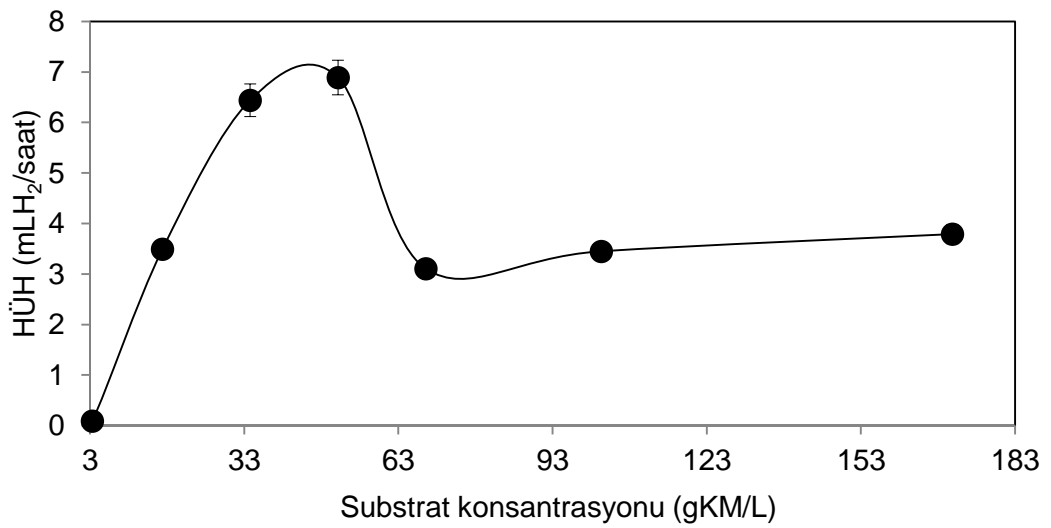
Substrat konsantrasyonu (g KM/L)	P (mL)	R _m (mL H ₂ /saat)	λ (saat)	R ²
3.42	6.11	0.09	8.73	0.99
17.08	30.17	3.49	15.86	0.98
34.16	62.51	6.44	17.09	0.99
51.24	69.17	6.89	16.41	0.99
68.32	90.02	3.11	16.71	0.99
102.48	164.76	3.45	23.68	0.99
170.80	152.75	3.79	55.76	0.99

Hidrojen üretim verimi farklı başlangıç substrat konsantrasyonları için değişimi Şekil 4.2'de gösterilmektedir. Hidrojen üretim verimi substrat konsantrasyonunun artmasıyla beraber en yüksek değer olan 180 mL H₂/g KOİ' ye 34.16 g KM/ L'de ulaşırken daha yüksek konsantrasyonlarda hidrojen üretim verimi azalarak 28.55 mL H₂/g KOİ seviyesine inmiştir. Substrat limitleme nedeniyle hidrojen üretim verimi 80 mL H₂/g KOİ'den 180 mL H₂/g KOİ'ye ulaşmış. Daha yüksek substrat konsantrasyonda 34.16 g KM/L üzerindeki hidrojen üretim verimi azalmış. Bunun nedeni substrat inhibisyon ile açıklanabilir. Ayrıca yüksek sustrat konsantrasyonlarda metabolizma yolu değişimi mevcuttur dolayısıyla yan ürünleri alkol gibi oluşur.



Şekil 4.2: Hidrojen (■) üretim verimi farklı başlangıç substrat konsantrasyonlarına göre değişimi.

Hidrojen üretim hızının (HÜH) farklı başlangıç substrat konsantrasyonuna göre değişimi Şekil 4.3'te gösterilmektedir. Hidrojen üretim veriminde olduğu gibi HÜH'de substrat konsantrasyonunun artmasıyla beraber en yüksek değer olan 6.89 mLH₂/saat'e 51.24 g KM/L konsantrasyonunda ulaşmıştır. Substrat konsantrasyonunun 68.32'den 170.80 g KM/L'ye çıkartılmasıyla HÜH azalmış ve 3 mLH₂/saat değerinde sabitlenmiştir. 3 ile 51.24 g KM/L aralığında substrat limitlemeye, 51.24 ile 170.80 g KM/L substrat inhibisyona sebep olmuş veya fermentasyon ortamında alkol oluşumu olmuştur.



Şekil 4.3: Hidrojen üretim hızının (HÜH) farklı başlangıç substrat konsantrasyonlarına göre değişimi.

Bu tezdeki sonuçlara göre en yüksek hidrojen ve uçucu yağ asidi oluşum verimleri 34.16 g KM/L başlangıç substrat konsantrasyon değerinde elde edilmiştir. Fakat en yüksek kümülatif hidrojen hacimleri 102.5 ve 170.8 g KM/L başlangıç konsantrasyonlarında bulunmuştur. Burada 34.16g KM/L başlangıç konsantrasyonunun adaptasyon süresi, 102.5 ve 170.8 g KM/L başlangıç konsantrasyonlarındakinden daha düşük çıkmasıdır. Bunun nedeni substrat ve ürün inhibisyonu ile açıklanabilir. Bu tezde doğal mikroorganizmalar yardımıyla AŞP 'den H₂ gazı üretmek için en uygun başlangıç substrat konsantrasyonunun 34.16 g KM/L olduğu söylenebilir. Aşısız fermentasyon ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar Tablo 4.4'de verilmektedir. Farklı substrat kullanılarak, farklı sıcaklıklarda kesikli ve sürekli deneyler yapılmıştır. Atık özelliklerine, mikrobiyal kompozisyonuna göre hidrojen üretim hızı ve verimi değişiklik göstermiştir. Sebze atıklarında H₂ üreten *Pectobacterium*, *Raultella*, *Rahnella*, *Lactococcus* gibi bakteriler bulunmaktadır (Marone ve diğ. 2014). Ön arıtıma tabi tutulmuş yemek atığında H₂ üreten *Clostridium sp* sayısının *Lactobacillus sp* sayısından daha fazla olduğu bulunmuştur (Kim ve diğ.2009).

Tablo 4.4: Atık içerisindeki doğal mikroorganizmalar yardımıyla farklı atıklardan hidrojen üretim çalışmaları

Substrat	HÜV	HÜH	İşletme tipi ve sıcaklık (°C)	Kaynak
Sebze atıkları, 0.4 W/V	21.95 mL H ₂ /g UK	0.58 mL H ₂ /saat	Kesikli, 28	(Marone ve diğ. 2012)
Yaprak şeklindeki bitkisel atıklar, 0.4 W/V	18.6 L H ₂ /Kg KM	-	Kesikli, 28	(Marone ve diğ. 2014)
Yaprak şeklindeki bitkisel atıklar + Patates kabuğu, 0.4 W/V	17 L H ₂ /Kg KM	-	Kesikli, 37	(Marone ve diğ. 2014)
Yemek Atığı, 30 g KOİ/L	2.05 molH ₂ /mol heksoz	-	Kesikli, 35	(Kim ve diğ. 2009)
Yemek Atığı, 30 g KOİ/L	1.81 molH ₂ /mol heksoz	300 mL H ₂ /L.saat	Kesikli, 35 ± 1	(Kim ve diğ. 2011)
Şeker kamışı, 84.2 KgKOİm ³ /gün		2107 mLH ₂ /L gün	Sürekli, 55	(Fuess ve diğ. 2015)
Glikoz içerikli sentetik atık su, 2 g glikoz/L	2.48 mol H ₂ /mol substrat	-	Sürekli, 30±1	(Leite ve diğ. 2008)
AŞP, 34.16 g KM/L	180 mLH ₂ /g KOİ	6.44 mLH ₂ /saat	Kesikli, 37	Bu çalışma

4.3 C/N/P/Fe/Ni oranının optimize edilmesi

C/N/P/Fe/Ni oranının optimize edilmesi için Design-Expert istatistiki deneysel tasarım programı kullanılmıştır. Design Expert programı içerisinde yer alan Box-Behnken Yüzey Tepki Metodu (BBYTM) kullanılarak deney noktaları tespit edilmiştir. C, N ve P elementleri mikroorganizmalar için makro besin konumundayken, Ni ve Fe elementleri ise hidrojen gazı üretiminden sorumlu olan hidrojenaz enzimlerinin yapısında bulunan önemli kofaktörlerdir. Bu nedenle bu elementlerin karanlık fermentasyon ortamında belirli bir oranda bulunması hidrojen üretim performansını doğrudan etkileyen bir unsurdur.

Bağımsız değişken olarak C/N (X_1), C/P (X_2), C/Fe (X_3) ve C/Ni (X_4) ve amaç fonksiyonu olarak hidrojen üretim verimi HÜV (mLH₂/g KOİ) ve hidrojen üretim hızı HÜH (mLH₂/saat) seçilmiştir. C/N oranı için X_1 5-85.36, C/P oranı için X_2 5-45.80, C/Fe oranı için X_3 375-3750, C/Ni oranı için X_4 690-6900 değişken aralıkları seçilmiştir. BBYTM' na göre 27 deneyden oluşan bir set deney tasarlanmıştır. Her deney için hidrojen üretim verimleri ve hızları hesaplanmıştır. Box-Behnken Yüzey Tepki Metodun değerleri ve sonuçları Tablo 4.5'te gösterilmektedir. Deneylerin tekrarlanabilirliğinin test edilmesi maksadıyla orta nokta üç defa tekrar edilmiştir. Tablo 4.5'e bakıldığında deney sonunda hidrojen oluşum verimi ve HÜH değerleri sırasıyla 55.85-482.52 mLH₂/g KOİ ve 0.41-2.47 mLH₂/saat aralığında değişim göstermiştir. Her bir değişkenin hidrojen üretim verimi ve hızı üzerindeki etkisi farklı oranda olmuştur. Deneysel sonuçlar ile model tahmini değerlerinin birbirine çok yakın çıkması, modelin güvenilirliğini artırmıştır. HÜV ve HÜH için en uygun modelin kuadratik model türü olduğu bulunmuştur (Lack-of-Fit test, p-değeri >0.05). Hidrojen üretim verimini temsil eden kuadratik model için korelasyon katsayısı $R^2 = 0.96$ olurken HÜH için $R^2 = 0.92$ bulunmuştur. 4.1 ve 4.2 eşitliklerinde değişkenlerin etkileri daha net görülmektedir. Eşitlik 4.1'de değişkenler ile HÜV arasındaki ilişki tanımlanmaktadır. Eşitlik 4.2' de ise değişkenler ile HÜH arasındaki ilişki ifade edilmektedir. 4.1 ve 4.2 no'lu eşitliklerde lineer katsayılar (b_1, b_2, b_3 ve b_4) bağımsız değişkenlerin farklı oranlarında hidrojen üretimine katkı sağladıkları görülmektedir. Eşitlik 4.1'deki lineer katsayılar incelediğinde hidrojen üretim verimine pozitif katkı sağlandığı görülmektedir. Buna göre C/Ni oranı çok önemli etki sağlarken b_4 48.90, C/N oranı etkisi de büyüktür b_1 20.66. C/Fe ve C/P oranlarının katkısı ise sırasıyla b_3 11.27, b_2 3.68 olmuştur.

Tablo 4.5: Box-Behnken Yüzey Tepki Metodun değerleri ve sonuçları.

Deney No	Değişkenlerin gerçek ve kodlanmış değerleri				Sonuçlar			
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y ₂ Verim (mLH ₂ /g KOİ)		Y ₂ HÜH (mLH ₂ /saat)	
	C/N oranı	C/P oranı	C/Fe oranı	C/Ni oranı	Deneysel Sonuç	Model Tahmini	Deneysel Sonuç	Model Tahmini
1	5.00 (-1)	25.40 (0)	2062.50(0)	690.00 (-1)	80.18	53.94	0.41	0.46
2	45.18 (0)	25.40 (0)	3750.00(+1)	6900.00 (+1)	242.44	220.78	1.7	1.45
3	45.18 (0)	45.80(+1)	2062.50(0)	6900.00 (+1)	210.28	208.01	1.35	1.54
4	45.18 (0)	25.40 (0)	2062.50(0)	3795.00 (0)	461.65	461.65	2.42	2.44
5	45.18 (0)	5.00 (-1)	2062.50(0)	6900.00 (+1)	217.07	184.97	1.37	1.37
6	45.18 (0)	45.80(+1)	3750.00(+1)	3795.00 (0)	212	209.30	1.31	1.61
7	45.18 (0)	5.00 (-1)	375.00 (-1)	3795.00 (0)	162.74	179.39	1.74	1.57
8	5.00 (-1)	25.40 (0)	2062.50(0)	6900.00 (+1)	115.04	156.82	1.38	1.25
9	45.18 (0)	45.80(+1)	375.00 (-1)	3795.00 (0)	212.11	193.05	1.34	1.26

Tablo: 4.5' in devamı

Deney No	Değişkenlerin gerçek ve kodlanmış değerleri				Sonuçlar			
	X ₁ C/N oranı	X ₂ C/P oranı	X ₃ C/Fe oranı	X ₄ C/Ni oranı	Y ₂ Verim (mLH ₂ /g KOİ)		Y ₂ HÜH (mLH ₂ /saat)	
					DeneySEL Sonuç	Model Tahmini	DeneySEL Sonuç	Model Tahmini
10	85.36 (+1)	25.40 (0)	375.00 (-1)	3795.00 (0)	143.43	160.63	1.21	1.13
11	85.36 (+1)	25.40 (0)	2062.50(0)	690.00 (-1)	128.17	100.34	0.53	0.80
12	85.36 (+1)	45.80(+1)	2062.50(0)	3795.00 (0)	159.59	149.48	1.12	0.89
13	85.36 (+1)	25.40 (0)	3750.00(+1)	3795.00 (0)	236.05	232.60	1.5	1.40
14	45.18 (0)	25.40 (0)	2062.50(0)	3795.00 (0)	482.52	461.65	2.44	2.44
15	5.00 (-1)	5.00 (-1)	2062.50(0)	3795.00 (0)	111.21	100.80	0.78	0.50
16	85.36 (+1)	5.00 (-1)	2062.50(0)	3795.00 (0)	186.01	170.02	0.59	0.65
17	45.18 (0)	45.80(+1)	2062.50(0)	690.00 (-1)	55.85	94.52	0.67	0.77
18	5.00 (-1)	25.40 (0)	375.00 (-1)	3795.00 (0)	158.7	168.72	1.01	1.21
19	45.18 (0)	25.40 (0)	375.00 (-1)	690.00 (-1)	99.29	100.43	0.79	0.81
20	45.18 (0)	25.40 (0)	2062.50(0)	3795.00 (0)	440.77	461.65	2.47	2.44

Tablo: 4.5' in devamı

Deney No	Değişkenlerin gerçek ve kodlanmış değerleri				Sonuçlar			
	X ₁ C/N oranı	X ₂ C/P oranı	X ₃ C/Fe oranı	X ₄ C/Ni oranı	Y ₂ Verim (mLH ₂ /g KOİ)		Y ₂ HÜH (mLH ₂ /saat)	
					Deneysel Sonuç	Model Tahmini	Deneysel Sonuç	Model Tahmini
21	45.18 (0)	25.40 (0)	3750.00(+1)	690.00 (-1)	165.24	170.67	2.26	1.93
22	45.18 (0)	5.00 (-1)	3750.00(+1)	3795.00 (0)	175.23	208.24	1.12	1.34
23	5.00 (-1)	25.40 (0)	3750.00(+1)	3795.00 (0)	152.48	141.85	0.89	1.06
24	45.18 (0)	5.00 (-1)	2062.50(0)	690.00 (-1)	94.01	102.85	1.08	0.98
25	45.18 (0)	25.40 (0)	375.00 (-1)	6900.00 (+1)	271.87	245.92	2.34	2.45
26	5.00 (-1)	45.80(+1)	2062.50(0)	3795.00 (0)	140.57	136.05	0.78	0.78
27	85.36 (+1)	25.40 (0)	2062.50(0)	6900.00 (+1)	152.88	193.07	1.08	1.17

$$\begin{aligned}
Y_{HÜV} = & +461.65 + 20.66 X_1 + 3.68X_2 + 11.27X_3 + 48.90 X_4 - 13.94 X_1 X_2 + 24.71 X_1X_3 \\
& - 2.54 X_1X_4 - 3.15 X_2X_3 + 7.84 X_2X_4 - 23.85X_3X_4 - 172.05 X_1^2 - 150.51X_2^2 - \\
& 113.64X_3^2 - 164.55 X_4^2
\end{aligned} \tag{4. 1}$$

Tablo 4.6 ve 4.7 HÜV ve HÜV analizleri için yapılan varyans analizi sonuçlarını özetlemektedir. Hidrojen üretim verim modeli için önerilen p olasılık değerinin < 0.05 çıkması modelin önemli olduğuna işaret etmektedir. Diğer taraftan lack of fit analizine ait P değerinin >0.05 çıkması lack of fit'in önemsiz olduğunu ve model uyumluluğunun iyi olduğuna işaret etmektedir. Değişkenler ve etkileşimleri için p değerleri 0.05'ten küçük çıkan X_1 , X_4 , X_1^2 , X_2^2 , X_3^2 , X_4^2 terimlerinin hidrojen verimi üzerine önemli etkisi olduğu sonucunu göstermektedir.

Tablo 4.6'da lineer katsayılar incelendiğinde C/Ni, C/N oranlarının HÜV üzerine önemli etkileri olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Fakat C/Fe, C/P oranları için p-değerleri 0.05'ten yüksek olup HÜV üzerindeki etkileri önemsizdir. Tablo 4.6'da etkileşim katsayılarına bakıldığında terimlerin hidrojen üretim verimine etkileri önemsiz olduğu görülmektedir (p -değeri > 0.05). Fakat kuadratik katsayılar için p-değeri 0.05'ten daha küçük olup, hidrojen üretim verimine önemli etkisi olmuştur. Eşitlik 4.1'de kuadratik katsayıların bütün değişkenler için negatif etkisi görülmektedir. C/N oranı en yüksek negatif etkiyi sağlamıştır b_{11} -172.05, C/Ni, C/P, C/Fe oranlarının katsayıları sırasıyla b_{44} -164.55, b_{22} -150.51, b_{33} -113.64 olmuştur. Eşitlik 4.2'de lineer katsayılar incelendiğinde her bir değişkenin HÜH üzerine farklı etkisinin olduğu görülmektedir. C/Ni oranı en yüksek etkiyi sağlarken b_4 0.29, C/N, C/Fe, C/P oranlar için katsayılar sırasıyla b_1 0.065, b_3 0.029, b_2 0.01 bulunmuştur.

Tablo 4.6: Hidrojen üretim verimine ait varyans analiz (ANOVA) tablosu.

İstatistiksel parametreler	Kareler Toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler			
			ortalaması	F-değeri	P-değeri	
Model	297056,606	14	21218,3289	20,8310	< 0.0001	önemli
X ₁ -C/N	5123,26688	1	5123,2668	5,0297	0.0446	
X ₂ -C/P	162,288075	1	162,2880	0,1593	0.6968	
X ₃ -C/Fe	1525,5075	1	1525,5075	1,4976	0.2445	
X ₄ -C/Ni	28698,4321	1	28698,4321	28,1746	0.0002	
X ₁ X ₂	777,8521	1	777,8521	0,7636	0.3993	
X ₁ X ₃	2442,3364	1	2442,3364	2,3977	0.1475	
X ₁ X ₄	25,755625	1	25,7556	0,0252	0.8763	
X ₂ X ₃	39,69	1	39,6900	0,0389	0.8468	
X ₂ X ₄	246,019225	1	246,0192	0,2415	0.6320	
X ₃ X ₄	2274,3361	1	2274,3361	2,2328	0.1609	
X ₁ ²	157878,433	1	157878,4327	154,9967	< 0.0001	
X ₂ ²	120814,043	1	120814,0426	118,6088	< 0.0001	
X ₃ ²	68879,982	1	68879,9819	67,6227	< 0.0001	
X ₄ ²	142662,121	1	142662,1209	140,0581	< 0.0001	
Residual	12223,1034	12	1018,5919			
Lack of Fit	11351,5721	10	1135,1572	2,6049	0.3092	önemsiz
Pure Error	871,531267	2	435,7656			
Cor Total	309279,709	26				

Tablo 4.7’de lineer terimler incelendiğinde C/Ni oranının etkisinin HÜH üzerinde önemli olduğu görülmektedir (P-değeri < 0.05). Diğer değişkenlerin etkisi HÜH üzerinde önemsiz olmuştur çünkü p-değeri 0.05’den daha büyük çıkmıştır. Eşitlik 4.2’de iki faktör etkileşim katsayıların gösteriyor ki bütün değişkenlerin etkisi farklı olmuştur. Ancak Tablo 4.7’de p-değeri 0.05’ten büyük çıkması, etkileşimlerinde iki faktörün önemsiz olduğu görülmektedir. Tablo 4.7’ye bakıldığında sadece X₃X₄ terimi için p-değeri 0.0011 önemli çıkmıştır. Eşit 4.2’de bütün kuadratik terimleri HÜH üzerinde negatif etkisi görülmektedir. C/N oranı en yüksek negatif etkiyi sağlamıştır (-0.99), C/P, C/Ni, C/Fe oranlarının katsayıları sırasıyla -0.75, -0.53, -0,25 olmuştur. Tablo 4.7’de bütün kuadratik terimlerin HÜH üzerinde önemli olduğu anlaşılmaktadır (P-değeri < 0.05).

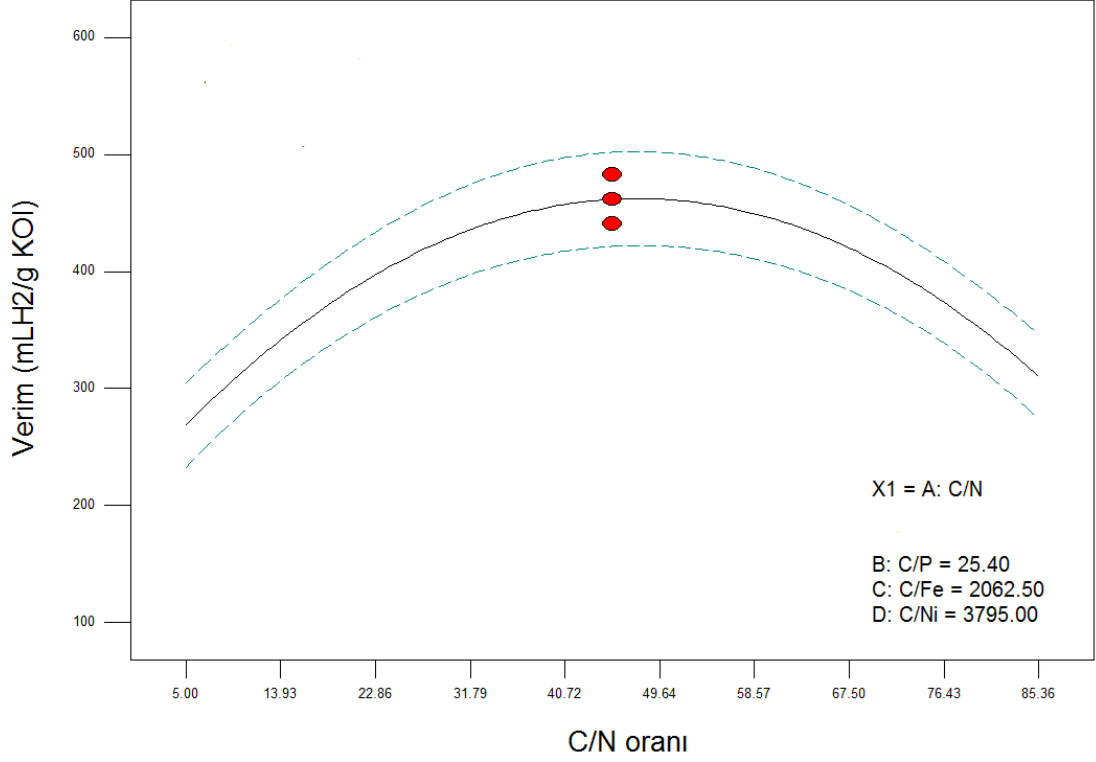
$$Y_{HÜH} = 2.44 + 0.065X_1 - 9.16E-003X_2 + 0.029X_3 + 0.29X_4 + 0.13X_1X_2 + 0.10X_1X_3 - 0.10X_1X_4 + 0.15X_2X_3 + 0.097X_2X_4 - 0.53X_3X_4 - 0.99X_1^2 - 0.75X_2^2 - 0.25X_3^2 - 0.53X_4^2 \quad (4.2)$$

Tablo 4.7: Hidrojen üretim hızına (HÜH) ait varyans analiz (ANOVA) tablosu.

İstatistiksel parametreler	Kareler Toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler			
			ortalaması	F-değeri	P-değeri	
Model	9,0961	14	0,6497	10,6023	0.0001	önemli
X ₁ -C/N	0,0507	1	0,0507	0,8273	0.3810	
X ₂ -C/P	0,0010	1	0,0010	0,0164	0.9001	
X ₃ -C/Fe	0,0102	1	0,0102	0,1665	0.6904	
X ₄ -C/Ni	1,0092	1	1,0092	16,4683	0.0016	
X ₁ X ₂	0,0702	1	0,0702	1,1459	0.3055	
X ₁ X ₃	0,0420	1	0,0420	0,6857	0.4238	
X ₁ X ₄	0,0441	1	0,0441	0,7196	0.4129	
X ₂ X ₃	0,0870	1	0,0870	1,4200	0.2564	
X ₂ X ₄	0,0380	1	0,0380	0,6204	0.4461	
X ₃ X ₄	1,1130	1	1,1130	18,1625	0.0011	
X ₁ ²	5,2580	1	5,2580	85,8018	< 0.0001	
X ₂ ²	2,9733	1	2,9733	48,5204	< 0.0001	
X ₃ ²	0,3377	1	0,3377	5,5121	0.0369	
X ₄ ²	1,5146	1	1,5146	24,7166	0.0003	
Residual	0,7353	12	0,0612			
Lack of Fit	0,7341	10	0,0734	115,9118	0.0086	önemsiz
Pure Error	0,0012	2	0,0006			
Cor Total	9,8315	26				

Design-Expert optimizasyon çalışması sonucunda C/N 47.65, C/P 25.40, C/Fe 2131.30 ve C/Ni 4248.50 şartlarında en yüksek HÜV ve HÜH değerlerinin elde edileceği görülmüş ve bu koşullarda beklenen HÜV ve HÜH değerleri sırasıyla 466 mLH₂/g KOİ ve 2.46 mLH₂/saat bulunmuştur. Bu optimum koşulların doğrulanması

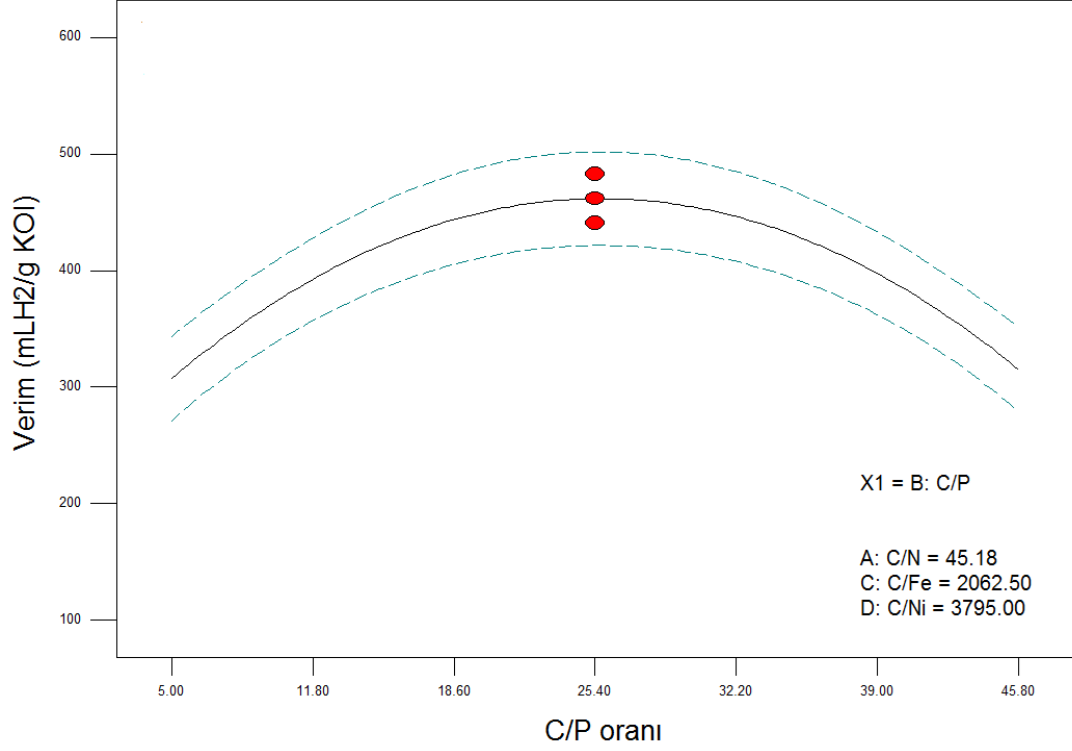
için yapılan karanlık fermentasyon sonunda ulaşılan HÜV ve HÜH değerleri sırasıyla 460.93 mLH₂/g KOİ ve 2.42 mLH₂/saat çıkmıştır. Bu sonuçların birbirlerine yakın çıkması BBYTM modelinin uygulanabilirliğini göstermiştir. Hidrojen üretim veriminin C/N oranına göre değişimi Şekil 4.4'de gösterilmektedir.



Şekil 4.4: Hidrojen üretim veriminin (mLH₂/g KOİ) C/N oranına göre değişimi.

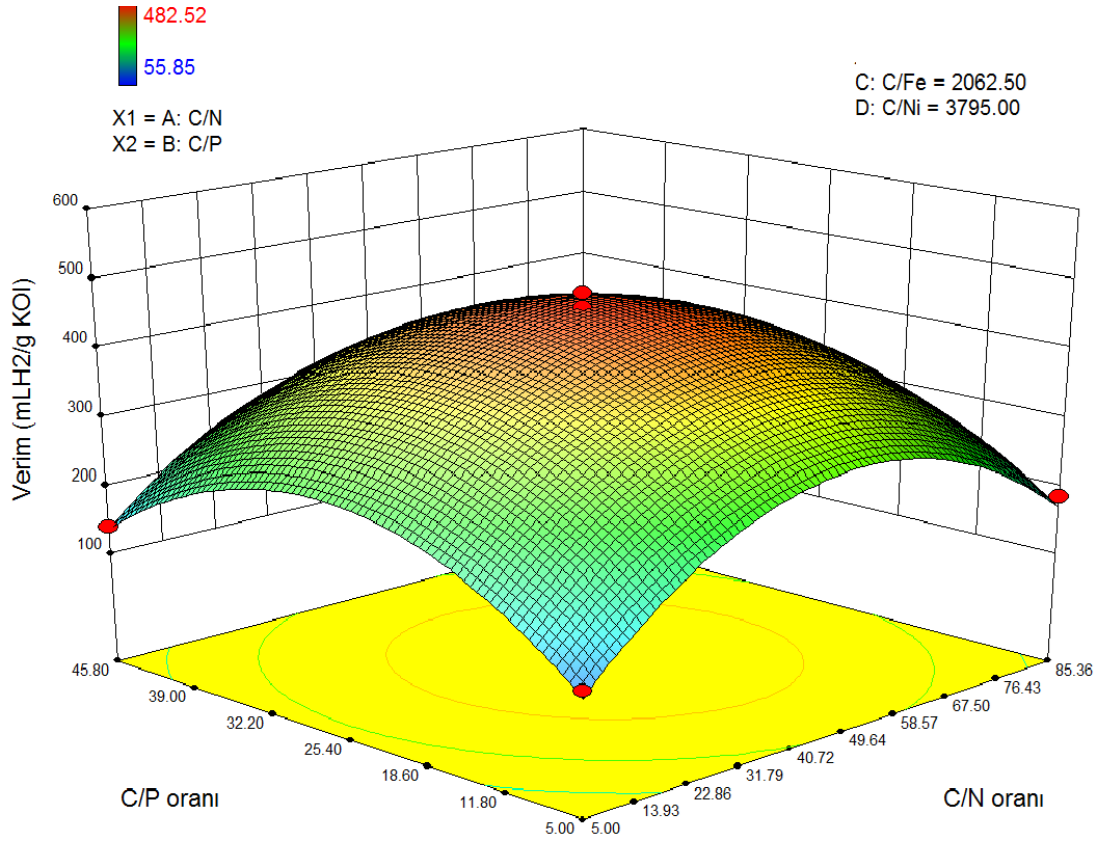
Buna göre C/P 25.40, C/Fe 2062.50 ve C/Ni 3795.00 oranları sabit tutulurken hidrojen üretim verimi, C/N oranının 5'ten 49.64'e artmasıyla 466.11 mLH₂/g KOİ değerine ulaşmış ve C/N 47.65'in üstüne çıktığında azalma göstermiştir. Şekil 4.4'e bakıldığında hidrojen üretim veriminin 240-470 mL H₂/g KOİ arasında değiştiği görülmektedir. Düşük C/N oranında azot miktarı yüksek olduğu için mikrobiyal inhibisyona sebep olmuş ve yüksek C/N oranında (düşük azot miktarı) azot limitlemesine neden olmuştur. Kontrol deneyleri için yani azot ve fosfor ilave yapılmadan elde edilen hidrojen üretim verimi ortalama 145 mL H₂/g KOİ olup, bu sonuç nütrient ilavesinin önemini ortaya koymuştur.

Şekil 4.5'te hidrojen üretim veriminin C/P oranına göre değişimini göstermektedir. C/N, C/Fe, C/Ni oranları sabit tutulurken hidrojen üretim verimi, C/P oranının 5'ten 25.40'a artmasıyla artmış maksimum 460 mLH₂/g KOİ değerine ulaşmış ve daha sonra C/P 25.40 üstüne çıktığında azalma göstermiştir. Bunun nedeni 25.4'ten daha düşük oranlarında P'nin mikrobiyal inhibisyona ve 25.4 üstündeki oranlarda ise P'nin mikrobiyal büyüme üzerinde limitlemesi neden olmuştur.



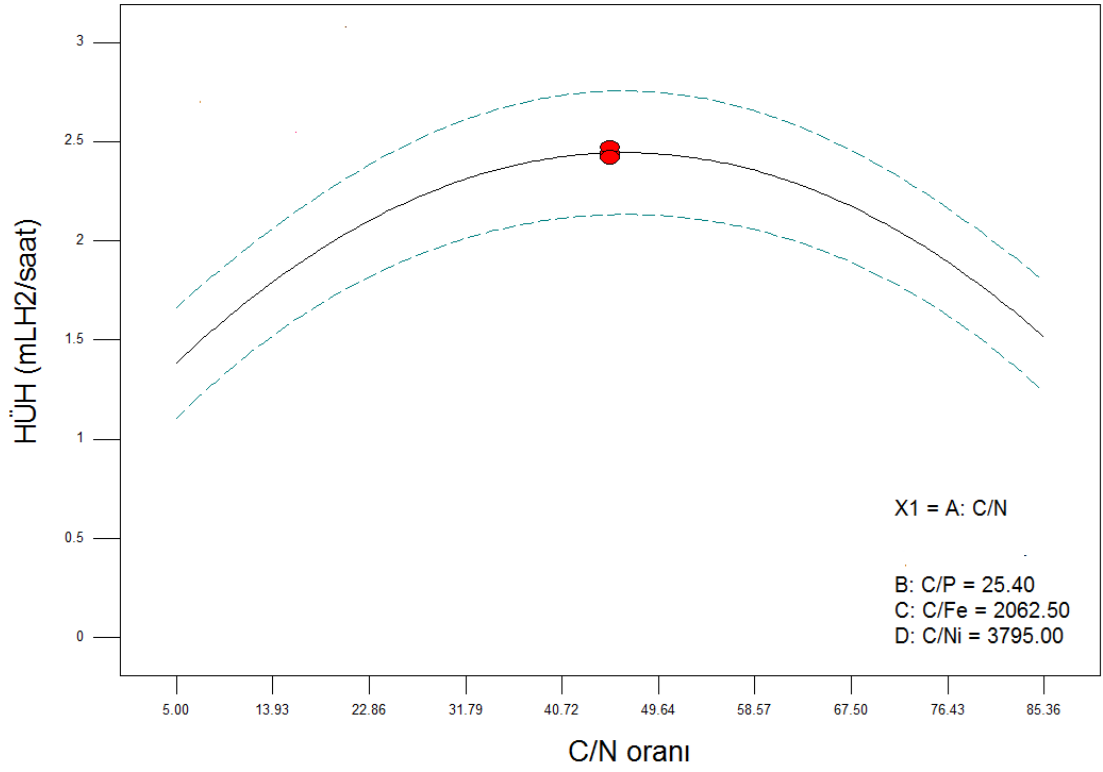
Şekil 4.5: Hidrojen üretim veriminin C/P oranına göre değişimi.

Hidrojen üretim veriminin C/N ve C/P oranlarına göre değişimi Şekil 4.6' da gösterilmektedir. Buna göre Şekil 4.6'da elde edilen sonuçlar Şekil 4.4 ve 4.5 ile uyumlu çıkmıştır. Hidrojen üretim verimi, C/N ve C/P oranlarının artırılmasıyla maksimum 400 mL H₂/ g KOİ değerine ulaştıktan sonra yüksek C/N ve C/P oranlarında (düşük azot ve fosfor miktarlarında) hidrojen üretim verimi azalmıştır. Bunun nedeni aynı yukarıda bahsedildiği gibi yüksek azot ve fosfor miktarının mikroorganizmalar üzerinde inhibisyona, düşük azot ve fosfor miktarlarının ise limitlemeye sebep olmasıdır.



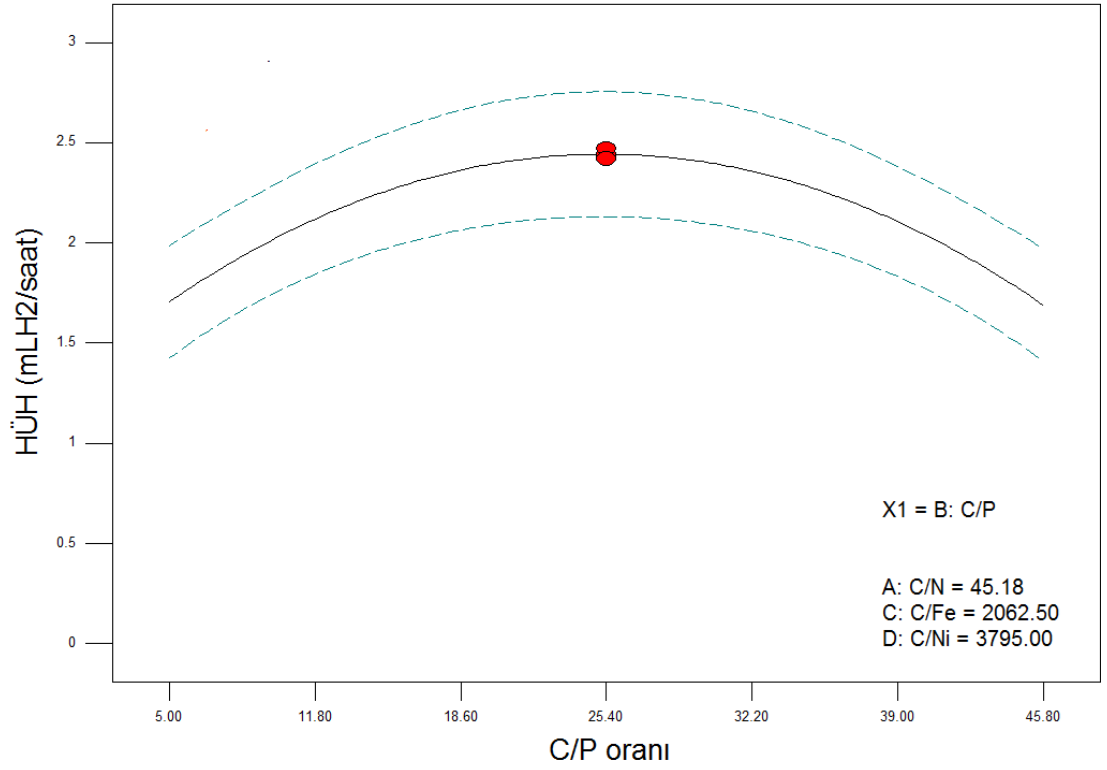
Şekil 4.6: Hidrojen üretim veriminin (mL H₂/g KOİ) C/N ve C/P oranlarına göre değişimi.

Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) C/N oranına göre değişimi Şekil 4.7'de gösterilmektedir. Şekil 4.7'de görüldüğü gibi C/N oranı 5 ile 47.65 arasında HÜH artmış ve en yüksek 2.40 mL H₂/saat'lik değere ulaşmıştır. Fakat daha yüksek C/N oranlarında HÜH düşmüştür. Bunun sebebi de düşük azot miktarının mikrobiyal limitlemeye, yüksek azot miktarının ise mikrobiyal inhibisyona neden olmasıdır.



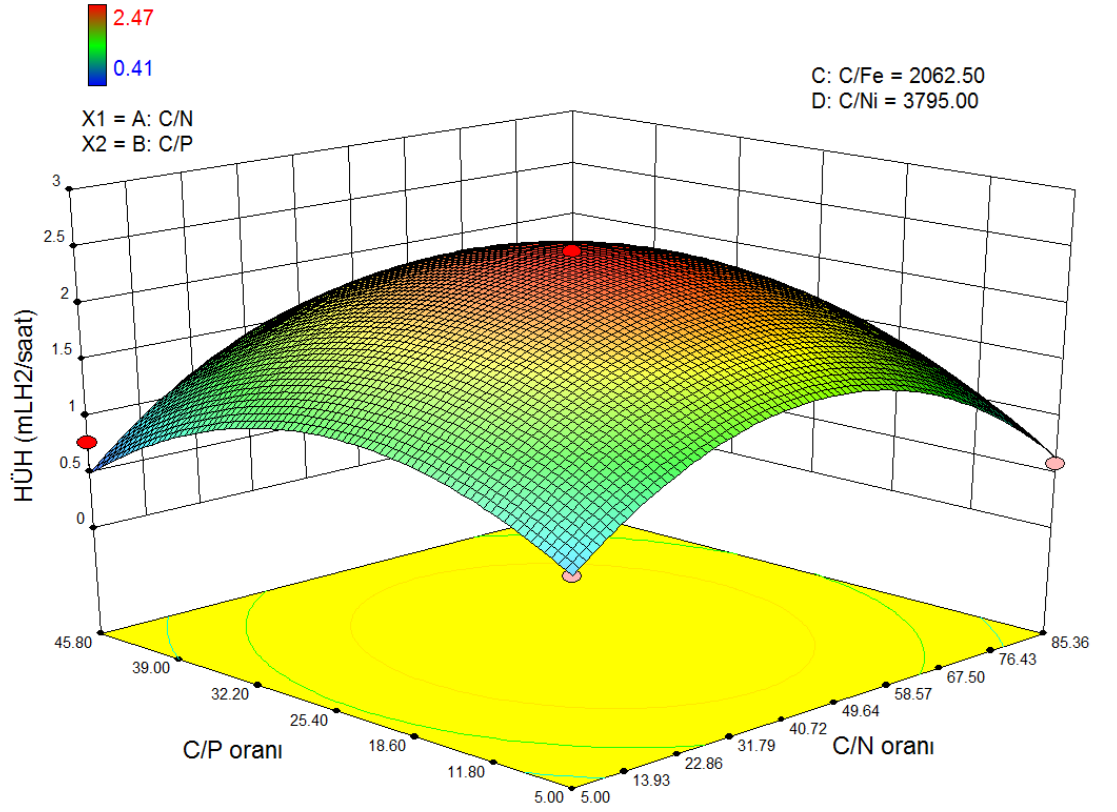
Şekil 4.7: Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) C/N oranına göre değişimi.

Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) C/P oranına göre değişimi Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Burada C/P oranı değiştirilirken, C/N, C/Fe ve C/Ni oranları sabit tutulmuştur. HÜH, C/P oranının 5'ten 25.4'e çıkmasıyla birlikte optimum değeri olan 2.47 mL H₂/saat' e ulaşmış fakat daha yüksek C/P oranlarında düşmüştür. Şekil 4.8'de açıkça görüldüğü gibi C/P oranının 25.4'ten daha düşük olduğu durumlarda P inhibisyonu, daha yüksek olduğu durumlardaysa P limitlemesi gözlemlenmiştir.



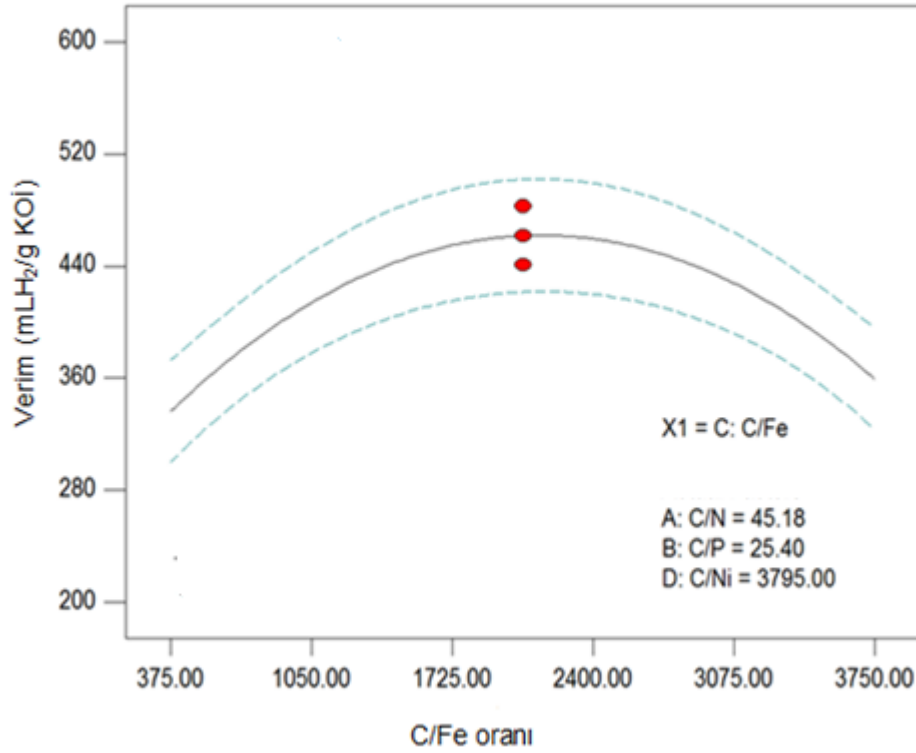
Şekil 4.8: Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) C/P oranına göre değişimi.

C/N ve C/P oranlarına göre hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) değişimi Şekil 4.9'da gösterilmektedir, bu grafik Şekil 4.7 ve Şekil 4.8 ile uyumlu çıkmıştır. Şekil 4.9'da görüldüğü gibi hem C/N hem de C/P oranına ait HÜH değişimlerinin benzer olduğu görülmektedir. C/N ve C/P oranlarının artmasıyla HÜH artmış 0.5 mL H₂/saat' ten 2.47 mL H₂/saat'e ulaşmıştır. Daha yüksek C/N ve C/P oranlarında ise HÜH 0.41 mL H₂/saat seviyelerine düşmüştür. Bunun nedeni yukarıda açıklandığı gibi düşük C/N ve C/P oranlarında mikrobiyal N ve P inhibisyonu, yüksek C/N ve C/P oranlarında ise N ve P limitlemesinin yaşanmasıdır.



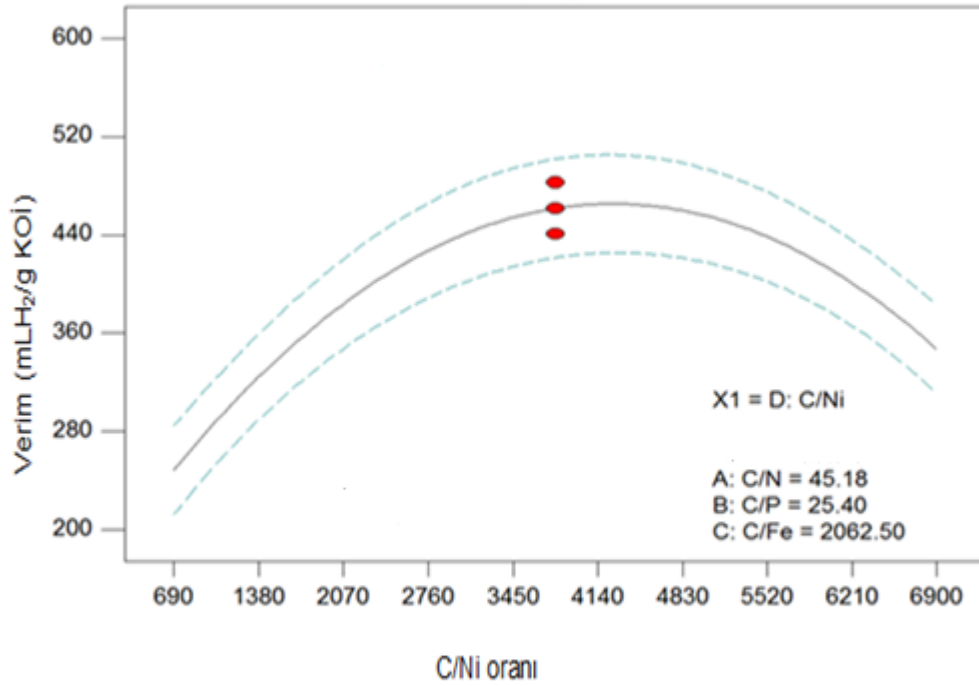
Şekil 4.9: Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) C/N ve C/P oranlarına göre değişimi.

Hidrojen üretim veriminin (mL_{H2}/g KOİ) C/Fe oranına göre değişimi Şekil 4.10'da sunulmaktadır. Şekil 4.10'a bakıldığında hidrojen üretim veriminin 300-470 mL H₂/g KOİ arasında değiştiği görülmektedir. C/N, C/P ve C/Ni oranları sabit tutulurken hidrojen üretim verimi, C/Fe oranının 375'ten 2000'e çıkmasıyla 460 mL H₂/g KOİ değerine ulaşmış ve C/Fe 2000'in üstüne çıktığında azalma (360 mL H₂/g KOİ) göstermiştir. Düşük C/Fe oranında yüksek demir miktarı hidrojenaz enziminin inhibisyonuna sebep olurken ayrıca yüksek C/Fe oranındaki düşük demir miktarı ise demir limitlemesine neden olmuştur.



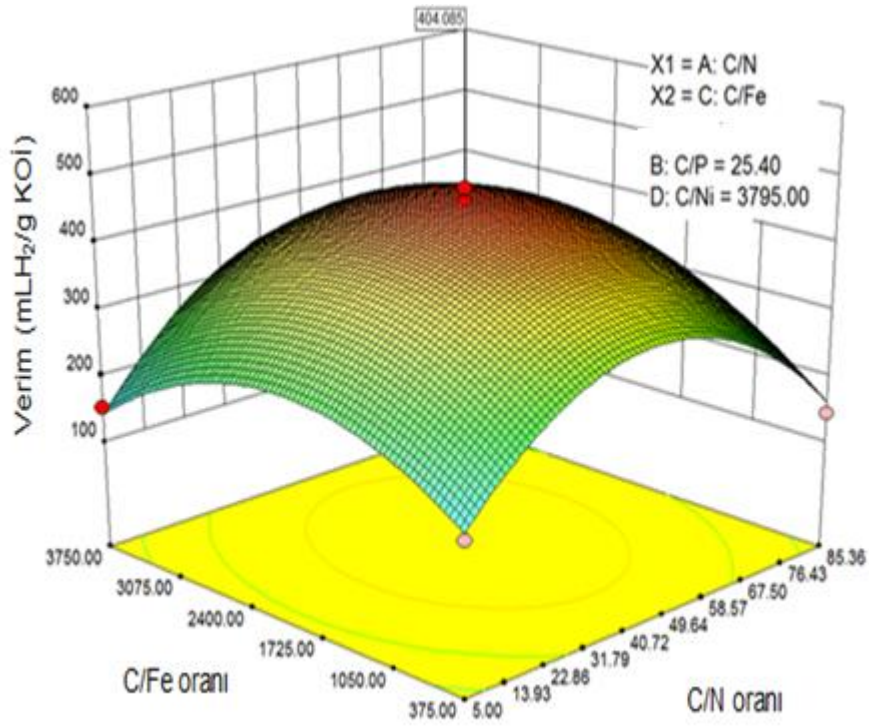
Şekil 4.10: Hidrojen üretim veriminin (mL H₂/g KOİ) C/Fe oranına göre değişimi.

Hidrojen üretim veriminin ($\text{mLH}_2/\text{g KOİ}$) C/Ni oranına göre değişimi Şekil 4.11'de gösterilmektedir. C/N, C/P, C/Fe oranları sabit tutulurken hidrojen üretim verimi, C/Ni oranının 690'ten 3795'e çıkmasıyla artmış 250 $\text{mLH}_2/\text{g KOİ}$ 'de maksimum 440 $\text{mLH}_2/\text{g KOİ}$ değerine ulaşmış ve daha yüksek C/Ni oranlarında ise azalma (360 $\text{mLH}_2/\text{g KOİ}$) göstermiştir. C/Ni 3795 ($4.97 \text{ mg/L Ni}^{+2}$) noktasında hidrojen üretim verimi artmış. Bu durum [Ni-Fe] hidrojenaz enziminin aktivasyonu ile açıklanabilir. Hidrojen üretim veriminin 4.97 mg/L 'den daha yüksek Ni^{+2} konsantrasyonlarında azalmasının sebebi; hidrojen tüketen [Fe-Ni] hidrojenaz enzim aktivitesi, demir veya nikelin toksik etkisi ve fermentasyon yollacı değişimi olabilir.



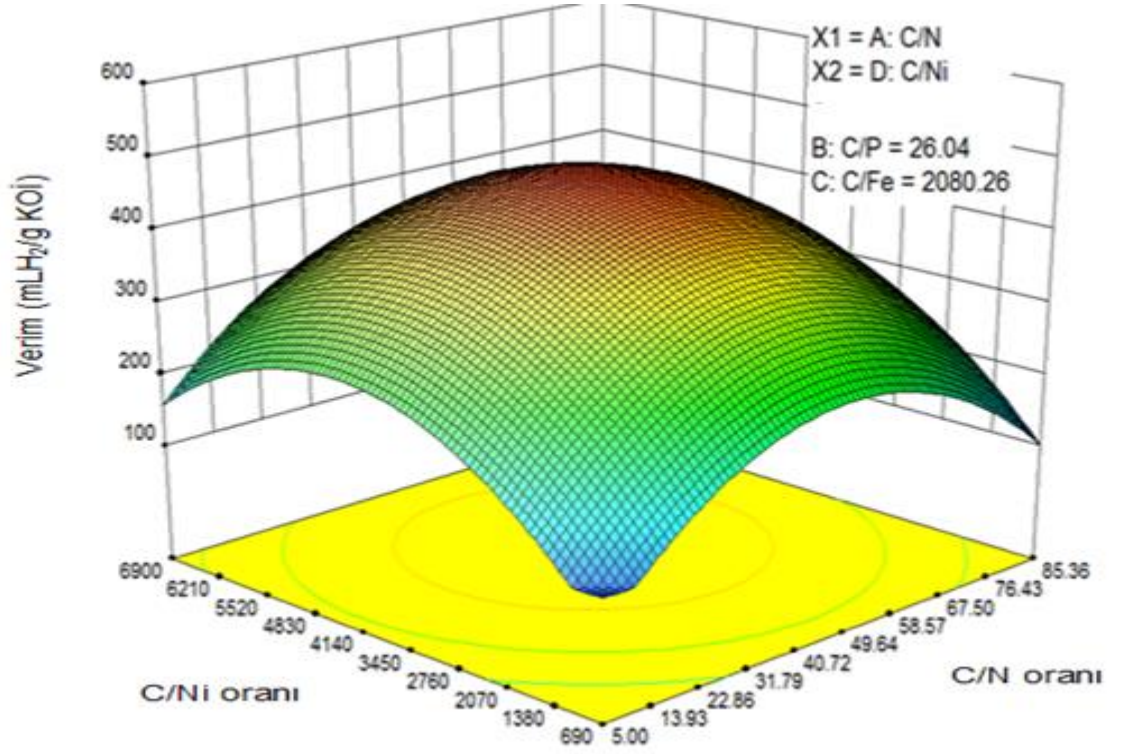
Şekil 4.11: Hidrojen üretim veriminin ($\text{mL H}_2/\text{g KOİ}$) C/Ni oranına göre değişimi.

Hidrojen üretim veriminin ($\text{mLH}_2/\text{g KOİ}$) C/N ve C/Fe oranına göre değişimi Şekil 4.12'de gösterilmektedir. Buna göre hidrojen üretim verimi, C/Fe oranının artmasıyla maksimum ($404 \text{ mL H}_2/\text{g KOİ}$) değerine ulaşmıştır. Daha yüksek C/Fe oranlarında (düşük demir miktarlarında) ise hidrojen üretim verimi azalmıştır. Buradan hidrojenaz ve ferrodoksin enzimlerinde demir iyonunun önemli bir etkisi olduğu anlaşılmaktadır. Düşük C/Fe oranlarında (<2062) hidrojen üretim veriminin azalmasındaki neden substrattaki bileşiklerin koagülasyonu ve aşırı Fe^{+2} konsantrasyonunun mikrobiyal topluluk üzerinde toksik etkiye sebep olmasıdır.



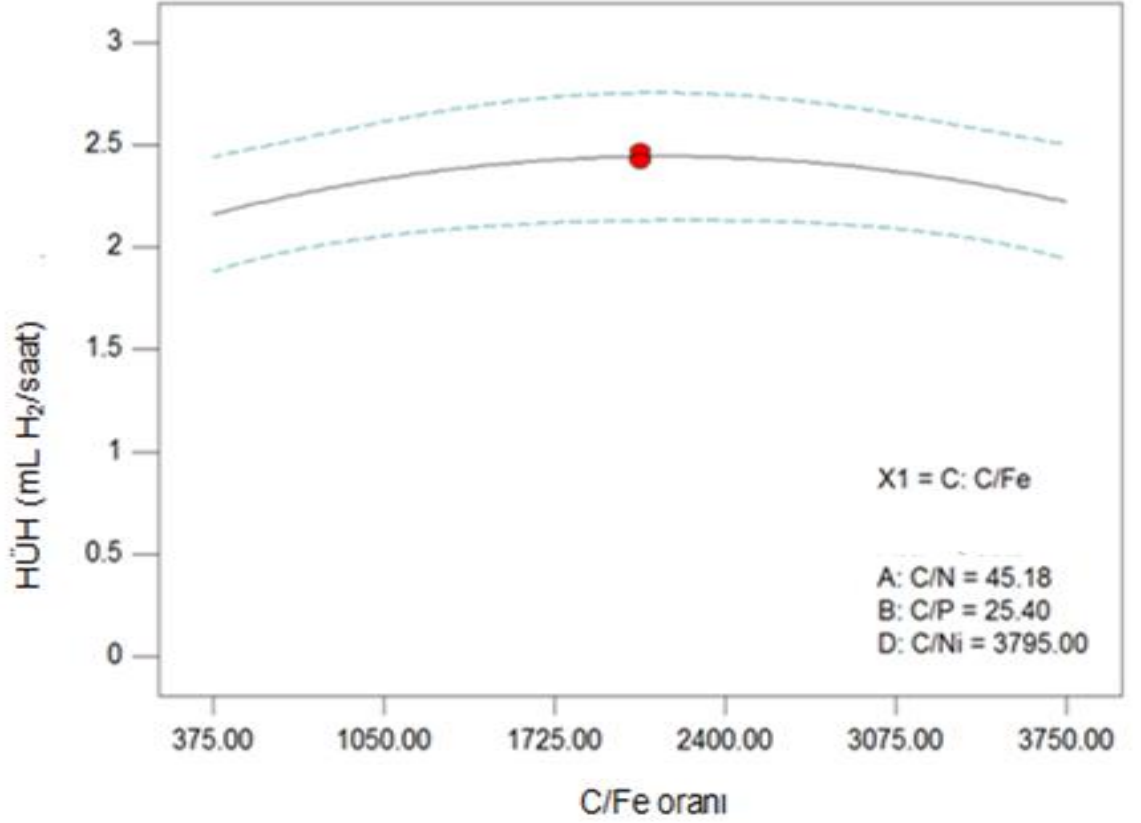
Şekil 4.12: Hidrojen üretim veriminin ($\text{mLH}_2/\text{g KOİ}$) C/N ve C/Fe oranlarına göre değişimi.

Hidrojen üretim veriminin ($\text{mL H}_2/\text{g KOİ}$) C/N ve C/Ni oranlarına göre değişimi Şekil 4.13'te verilmektedir. Buna göre hidrojen üretim verimi, C/N ve C/Ni oranlarının artmasıyla maksimum $412 \text{ mL H}_2/\text{g KOİ}$ değerine ulaştıktan sonra yüksek C/N ve C/Ni oranlarında (düşük azot ve nikel miktarlarında) düşmüştür. Bunun nedeni yine Şekil 4.12'deki gibi yüksek azot ve nikel miktarının mikroorganizmalar ve hidrojenaz enzimi üzerinde inhibisyona, düşük azot ve nikel miktarlarının ise limitlemeye sebep olmasıdır.



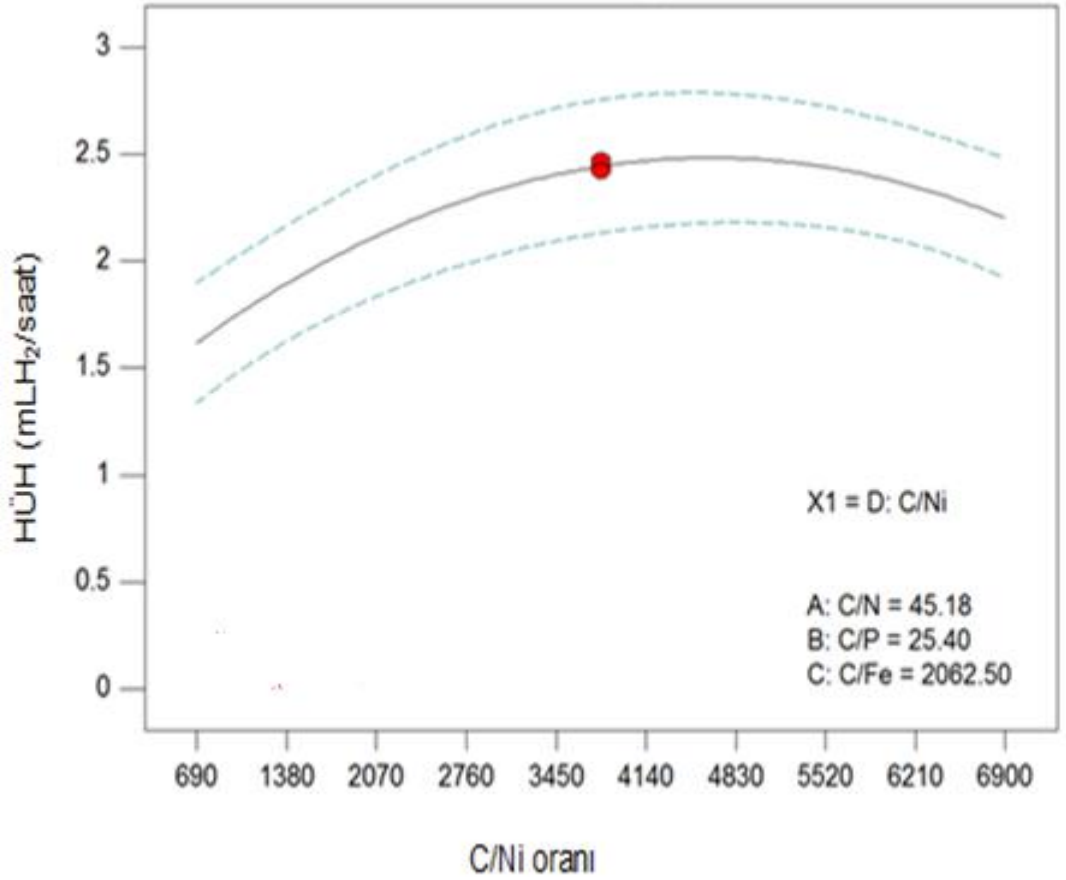
Şekil 4.13: Hidrojen üretim veriminin ($\text{mLH}_2/\text{g KOİ}$) C/N ve C/Ni oranlarına göre değişimi.

Şekil 4.14'de C/Fe oranının 375'ten 3750'e artmasıyla HÜH 2.4 mL H₂/saat civarında seyretmiştir. C/Fe 2000'den sonra ise HÜH değerinde küçük bir azalma olmuştur. Grafik 4.14'de açıkça görüldüğü gibi hidrojen üretim hızına demirin etkisi oldukça düşük çıkmıştır. HÜH 2.2 mL H₂/saat'ten 2.40 mL H₂/saat'e kadar az bir miktarda yükselmiş daha sonra 2.3 mL H₂/saat seviyelerine inmiştir.



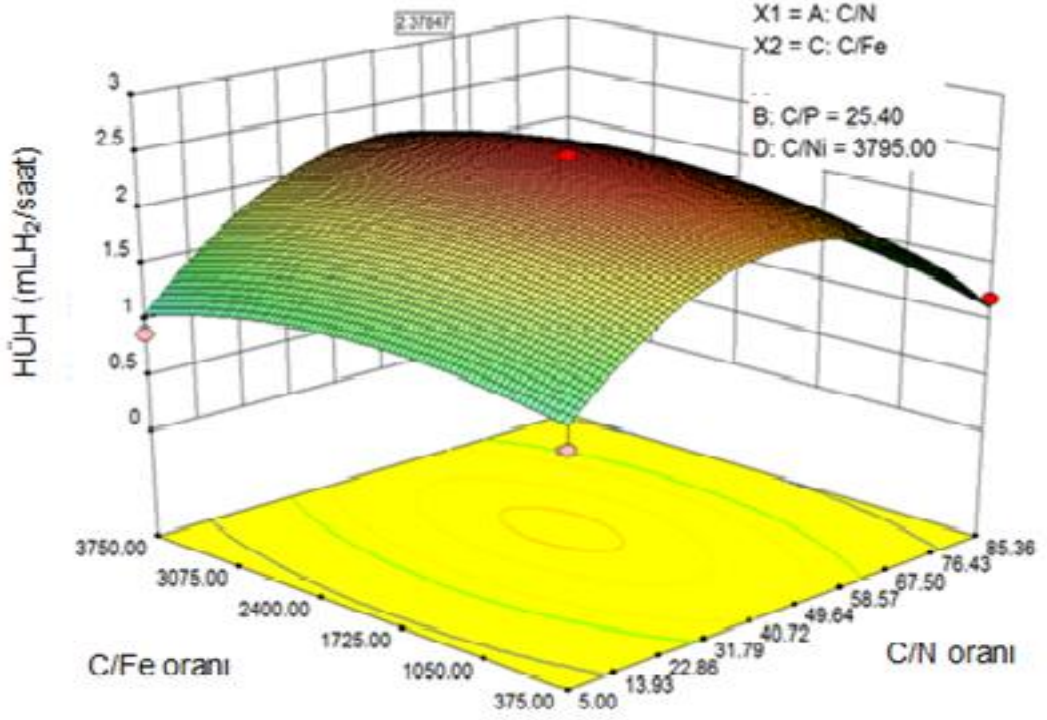
Şekil 4.14: Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) C/Fe oranına göre değişimi.

Hidrojen üretim hızının (HÜH, mL_{H₂}/saat) C/Ni oranına göre değişimi Şekil 4.15'te gösterilmektedir. Burada C/Ni oranı değiştirilirken, C/N, C/P ve C/Fe oranları sabit tutulmuştur. HÜH, C/Ni oranının 690'ten 3795'e artmasıyla 1.5 mL H₂/saat' ten 2.47 mL_{H₂}/saat'e ulaşmış fakat daha yüksek C/Ni oranlarında 2 mL H₂/saat değerine düşmüştür. C/Ni oranının 3795'ten daha düşük olduğu durumlarda Ni⁺² iyonları enzim inhibisyonuna, daha yüksek oranlarda ise substrat limitlemesine neden olmuştur.



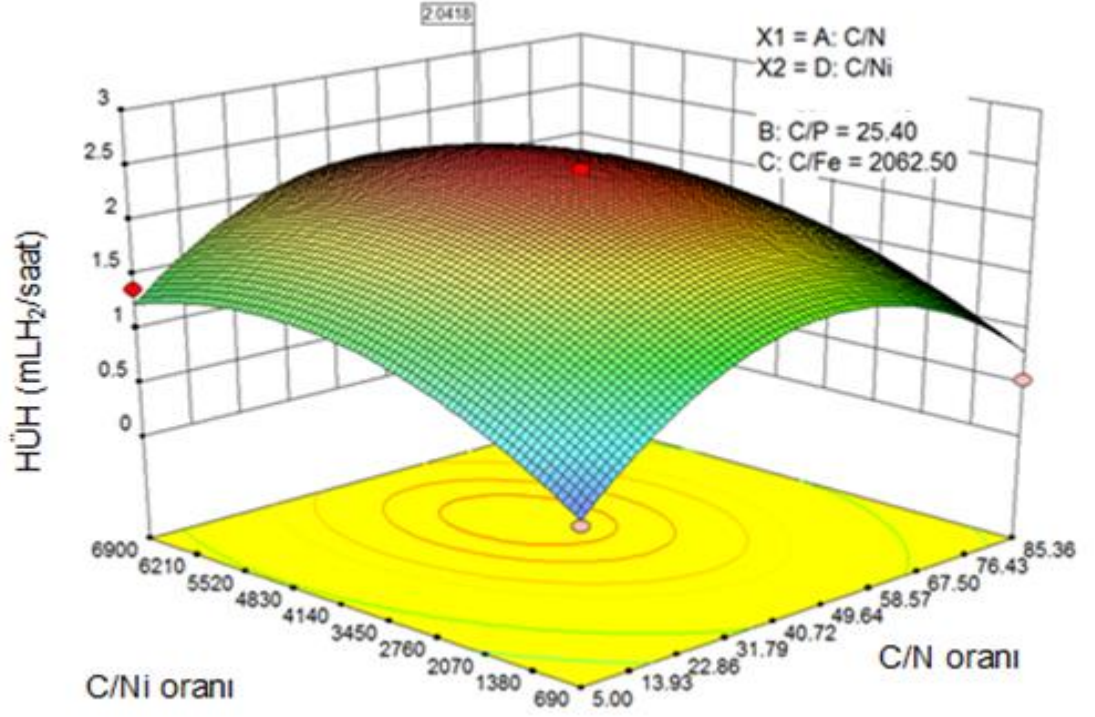
Şekil 4.15: Hidrojen üretim hızının (HÜH, mL H₂/saat) C/Ni oranına göre değişimi.

Hidrojen üretim hızının (HÜH, mL H₂/saat) C/N ve C/Fe oranlarına göre değişimi Şekil 4.16' da verilmektedir. Buradaki değişim Şekil 4.7 ve 4.14 ile uyumlu çıkmıştır. C/Fe oranının artmasıyla birlikte HÜH değeri 1.2 mL H₂/saat' ten maksimum değer olan 1.38 mL H₂/saat'e ulaşmıştır. Daha yüksek C/Fe oranlarında ise HÜH 1.06 mL H₂/saat seviyelerine düşmüştür. Açıkça görüldüğü gibi C/Fe oranının artmasıyla HÜH'de önemli bir değişim olmamıştır.



Şekil 4.16: Hidrojen üretim hızının (HÜH, mL H₂/saat) C/N ve C/Fe oranlarına göre değişimi.

Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) farklı C/N ve C/Ni oranlarına göre değişimi Şekil 4.17'de verilmektedir. C/N ve C/Ni oranlarının artmasıyla birlikte HÜH artmış ve maksimum değerine (2.47 mL H₂/saat) ulaşmıştır. Daha yüksek C/N ve C/Ni oranlarında ise HÜH değeri düşüş göstermiştir. Bunun nedeni yukarıda açıklandığı gibi düşük C/N ve C/Ni oranlarında mikrobiyal topluluğa ve hidrojenaz enzimine N ve Ni⁺² iyonu inhibisyonu, yüksek C/N ve C/Ni oranlarında ise N ve Ni⁺² iyonu limitlemesi ile açıklanabilir.



Şekil 4.17: Hidrojen üretim hızının (HÜH, mLH₂/saat) C/N ve C/Ni oranlarına göre değişimi.

Bu alışmada BBTM kullanılarak C/N/P/Fe/Ni oranı optimize edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda optimum C/N/P/Fe/Ni oranı 100/2.09/3.94/0.047/0.023 olarak belirlenmiştir ve bu şartlarda beklenen hidrojen üretim verimi ve hızı sırası ile 466 mLH₂/g KOİ ve 2.46 mLH₂/saat hesaplanmıştır. Bu koşullarda yapılan verifikasyon deneyinde hidrojen verimi ve hızı sırasıyla 460.93 mL H₂/g KOİ ve 2.42 mL H₂/ saat elde edilmiştir. Kirli ve diğ. (2016) tarafından buğday unu substrat olarak kullanılmış ve N/P/Fe/C 2/0.8/1.5/100 oranında 2.1 molH₂/mol glikoz verim olarak rapor edilmiştir. Argun ve diğ. (2008), benzer substrat kullanarak C/N/P oranının hidrojen üretimi üzerine etkisini incelemişler ve en yüksek hidrojen üretim verimini C/N/P:100/0.5/0.1 oranında bulmuşlardır. Diğer taraftan Öztekin ve diğ.(2008) buğday nişastası kullanarak en yüksek hidrojen üretim verimini N/C:0.02; P/C:0.008; Fe/C:0.015 olarak rapor etmiştir. Buradan görüldüğü gibi karanlık fermentasyon ortamına belirli oranlarda ilave edilen N, P, Fe miktarlarının hidrojen üretimine önemli katkısı olduğu anlaşılmaktadır.

5. BULGULAR

Bu tezde atık şeftali posasından atık içerisindeki doğal mikroorganizmalar yardımıyla karanlık fermentasyon ile hidrojen üretimi araştırılmıştır. Buna göre en uygun başlangıç şeftali posası konsantrasyonu ile C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretimi üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada en yüksek hidrojen oluşum verimi 180 mL H₂/g KOİ olarak başlangıç substrat konsantrasyonunun 34.16 g KM/L olduğu koşulda elde edilmiştir. Fakat en yüksek kümülatif hidrojen hacimleri 102.5 ve 170.8 g KM/L başlangıç konsantrasyonlarında bulunmuştur. 34.16 g KM/L başlangıç konsantrasyonunun adaptasyon süresi, 102.5 ve 170.8 g KM/L başlangıç konsantrasyonlarındakinden daha düşük çıkmıştır. 34.16 g KM/L'den daha düşük substrat konsantrasyonları substrat limitlemesine neden olurken, daha yüksek konsantrasyonlar substrat ve ürün inhibisyonuna neden olmuştur. Buna göre AŞP'den hidrojen üretimi için en uygun başlangıç substrat konsantrasyonunun 34.16 g KM/L olduğu söylenebilir. Diğer taraftan hidrojen üretim verimi ve hızı için optimum C/N/P/Fe/Ni oranı araştırılmıştır. Bunun için BBTM kullanılarak C/N/P/Fe/Ni oranı optimize edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda optimum C/N/P/Fe/Ni oranı 100/2.09/3.94/0.047/0.023 olarak belirlenmiştir ve bu şartlarda beklenen hidrojen üretim verimi ve hızı sırası ile 466 mLH₂/g KOİ ve 2.46 mLH₂/saat hesaplanmıştır. Bu koşullarda yapılan doğrulama deneyinde hidrojen verimi ve hızı sırasıyla 460.93 mL H₂/g KOİ ve 2.42 mL H₂/ saat elde edilmiştir. Nutrient ilavesiz yapılan deneylerde elde edilen hidrojen üretim verimi ve hızı sırasıyla 135 mL H₂/g KOİ ve 1.48 mLH₂/saat olup, bu sonuç nutrient ilavesinin hidrojen üretim verim ve hızına önemli katkısı olduğunu göstermiştir. Deneysel ve beklenen sonuçların birbirlerine uyumlu çıkması (BBTM) modelinin güvenilirliğini göstermektedir. Düşük nutrient miktarlarında hidrojen üretim verimi ve hız değerleri düşük çıkmıştır. Azot ve fosfor konsantrasyonları düşük C/N ve C/P oranlarında mikrobiyal büyüme üzerine inhibisyon etkisi yapmakta bunun yanı sıra yüksek C/N ve C/P oranlarında ise limitleme etkisi olmaktadır. Yüksek miktarda Fe⁺² ve Ni⁺² konsantrasyonlarının hidrojenaz enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon yaptığı ve bu iyonların düşük miktarlarının ise limitlemeye sebep olduğu düşünülmektedir. Dikkat edilirse başlangıç substrat konsantrasyonunun hidrojen üretimine olan etkilerinin incelendiği deneyde N, P, Fe⁺² ve Ni⁺² ilave etmeden maksimum hidrojen oluşum verimi (180

mL H₂/g KOİ) ve hızı (6.44 mL H₂/saat) 34.16 g KM/L konsantrasyonunda elde edilmiştir. Aynı substrat konsantrasyonunda (34.16 g KM/L)C/N/P/Fe/Ni oranının hidrojen üretim verimine ve hızına olan etkilerinin incelendiği deneylerde maksimum hidrojen oluşum verimi 460 mL H₂/g KOİ ve hızı 2.42 mL H₂/saat olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre ortama uygun miktarda nütrient ilavesinin hidrojen üretimi üzerine olumlu etkisinin olduğu görülmüştür.

Atık şeftali posasından karanlık fermentasyon ile hidrojen üretiminde ileriye yönelik öneriler şöyle sıralanabilir:

- Farklı mikrobiyal aşı kültürlerinin dışarıdan AŞP'ye ilavesinin hidrojen üretim verimi ve hızı üzerine olan etkileri incelenebilir,
- C/N/P/Fe/Ni oranının aşı varlığında hidrojen üretim verimi ve hızı üzerindeki etkileri araştırılabilir,
- AŞP, kaynatma dışında farklı ön arıtım metodlarına tabi tutulduktan sonra hidrojen üretimi araştırılabilir,
- Otomatik pH ve ORP kontrollü reaktörlerde çalışmalar yapılarak daha kontrollü şartlarda hidrojen üretimi araştırılabilir,
- AŞP'nin farklı atıklarla karışımından KF ile hidrojen üretimi çalışılabilir,
- AŞP'de hidrojen üretimine katkı sağlayan mikrobiyal kompozisyonun tanısı yapılarak bu organizmalar üzerinde çalışmalar gerçekleştirilebilir,
- Sürekli, yarı-sürekli işletme şartlarında hidrojen üretimi araştırılabilir.

6. KAYNAKLAR

Anonim 1 (<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> n.d.)

Anonim 2 (<http://www.bayar.edu.tr/besergil>)

Anonim 3 (www.marmore.com.tr)

Akinbomi J., Mohammed J. Taherzadeh. "Evaluation of Fermentative Hydrogen Production from Single and Mixed Fruit Wastes", *Energies*, 8: 4253-4272; doi:10: 3390/en8054253, (2015).

Akutsu, Y., Li, Y.Y., Harada, H., Yu, H.Q."Effects of temperature and substrate concentration on biological hydrogen production from starch". *Int. J. Hydrogen Energ*, 34, 2558-2566, (2009).

Alvarez, M.J. "Biomethanization of the organic fraction of municipal solid waste", pp 1-43, IWA Publishing, London, (2003).

Argun, H., Kargi, F., Kapdan, K.K., Oztekin, R. "Batch dark fermentation of powdered wheat starch to hydrogen gas: Effects of the initial substrate and biomass concentrations". *Int J Hydrogen Energ*, 6109 – 6115. 33, (2008).

Argun, H., Kargi, F., Kapdan, K.K., Oztekin, R. "Biohydrogen production by dark fermentation of wheat powder solution: Effects of C/N and C/P ratio on hydrogen yield and formation rate", *Int J Hydrogen Energ* 33:1813–1819, (2007).

Argun H. Kargi, F. Kapdan I.K."Microbial culture selection for bio-hydrogen production from waste ground wheat by dark fermentation". *Int. J. Hydrogen Energ*, 35, 2195-2200, (2009).

Azbar, N. Çetinkaya Dokgöz, F.T. Keskin, T.Korkmaz, K.S. Syed, H.M. "Continuous fermentative hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic anaerobic conditions", *Int. J. of Hydrogen Energ*, 34: 7441-7447, (2009).

Ekşi A., Artık N., "Kayısı ve Şeftali palper posası ile atılan besin ögesi miktarı". Aroma meyve suyu fabrikası raporu, (1982).

Bacas, "Hydrogen as an Energy Carrier", *Royal Belgian Academy Council of Applied Science*. PhD TEZİ, (2006).

Bakonyi P. ,Nemestóthy N., Simon V., Bélafi-Bakó K., "Review on the start-up experiences of continuous fermentative hydrogen producing bioreactors", *Renew Sust Energ Rev*, 40,806–813, (2014).

Bartacek J, Zabranska J, Lens PNL. "Developments and constraints in fermentative hydrogen production". *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 1(3):201-214, (2007).

Basak, N. Das, D. "Microbial Biohydrogen Production by *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 in Photobioreactor". *Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science 2007, October 24-26, , San Francisco, USA, (2007).*

Betül Kirli, Ilgi Karapinar Kapdan, "Selection of microorganism immobilization particle for dark fermentative biohydrogen production by repeated batch operation", *Renew Energ ,87: 697-702, (2016).*

BS EN. Characterization of sludges - Determination of total phosphorus; German version *EN 14672:2005. ISO 2005;14672, (2005).*

BS EN. Characterization of waste - Determination of total organic carbon (TOC) in waste, sludges and sediments. *BS EN 2001;13137:1–22, (2001).*

BS ISO. Food and feed products — General guidelines for determination of nitrogen by Kjeldahl method. *BS ISO 2009;1871, (2009).*

Buchun Si, Zhidan Liu, Yuanhui Zhang, Jiaming Li, Xin-Hui Xing, Baoming Li Na Duan, Haifeng Lu. "Effect of reaction mode on biohydrogen production and its microbial diversity". *Int J Hydrogen Energ* 40: 3191-3200, (2015).

Chang J, Lee K, Lin P. "Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors". *Int. J. Hydrogen Energ, 27: 1167-74, (2002).*

Chong, M.L., Sabaratnam, V., Shirai Y., Hassan, M.A.,. "Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation", *Int J Hydrogen Energ, 34, 4755-4762, (2009).*

Das, D. Veziroğlu T. N. "Hydrogen Production by Biological Processes: A Survey of Literature". *Int J Hydrogen Energ, 26: 13-28, (2001).*

Davila-Vazquez, G., Cota-Navarro, C.B.,Rosales-Colunga, L.M., de Leon-Rodriguez, A.,Flores, E.R., "Continuous biohydrogen production using cheese whey: Improving the hydrogen production rate", *Int J Hydrogen Energ, 34: 4296-4304, (2009).*

De Amorim EL., Sader LT, Silva EL. "Effect of substrate concentration on dark fermentation hydrogen production using an anaerobic fluidized bed reactor", *Appl Biochem Biotechnol. 2012 Mar;166(5):1248-63. doi: 10: 1007/s12010-011-9511-9, (2012).*

Diamantis V. Ntougias S. Stamatelatos K. Kapagiannidis A. Melidis P. and Aivasidis A. " Simple, rapid and efficient hydrogen production via dark

fermentation of fruit wastewater ", *Renew energy, Protection and restoration of the environment XI*

Dogan K., Jaakko A. Puhakka. "Enhancement of anaerobic hydrogen production by iron and nickel". *Int J Hydrogen Energ* 35: 8554-8560, (2010).

Eleni C. Koutrouli, Hariklia N. Gavala, Ioannis V. Skiadas and Gerasimos Lyberatos, " Mesophilic Biohydrogen Production from Olive Pulp", *Institute of Chemical Engineering and High Temperature Chemical Processes*, GR-26504, Patras, Greece, (2002).

Eugene W. Rice, Rodger B. Baird, Andrew D. Eaton LSC. "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater". *Am Water Work Assoc Public Work Assoc Environ Fed*:1469, (2012).

Fang, H. H. P. & Liu, H. "Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture". *Bioresource Technol*, 73, 59–65, (2000).

Felipe Thales Moreira Silva, Luiza Rojas Moreira, Juliana de Souza Ferreira, Fabiana Regina Xavier Batista Vicelma Luiz Cardoso., Replacement of sugars to hydrogen production by *Rhodobacter capsulatus* using dark fermentation effluent as substrate, *Bioresource Technol*, 200,72–80, (2016).

Fuess, L.T., Mazine Kiyuna, L.S., Garcia, M.L., Zaiat, M., "Operational strategies for long-term biohydrogen production from sugarcane stillage in a continuous acidogenic packed-bed reactor". *Int. J. Hydrogen Energy*,10-143, (2015).

Garcia-Peña E. I., Canul-Chan M., Chairez I., Salgado-Manjarez E., Aranda-Barradas J., "Biohydrogen Production Based on the Evaluation of Kinetic Parameters of a Mixed Microbial Culture Using Glucose and Fruit–Vegetable Waste as Feedstocks", *Appl Biochem Biotechnol*, 171, 279–293, (2013).

Genç N., "Fermentatif biyohidrojen üretim proseslerinde hidrojen veriminin geliştirilmesindeki yaklaşımlar", *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 26(3): 225-239, (2010)

Genç N. Biyohidrojen üretim prosesleri. *BAÜ FBE Dergisi*, (2009)

Gonzalez del Campo, Fernandez FJ. Canizares P. "Electricity production by integration of acidogenic fermentation of fruit juice wastewater and fuel cells" , *Int. J. Hydrogen Energ*, 37, 9028-9037, (2012).

Greenberg AE, Clesceri LS, Eaton AD. Eds. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st edn. *American Public Health Association (APHA)*, Washington, DC, USA, (2005)

Guo, X.M. Trably, E. Latrille, E., Carrere, H. and Steyer, J.P. "Hydrogen Production from Agricultural Waste by Dark Fermentation": A Review, *Int. J. Hydrogen Energ*, (35), 10660-10673, (2010).

Hallenbeck P, Ghosh D. "Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward", *Trends in Biotechnology*, 27, 287–2, (2009).

Hallenbeck, P.C. "Fermentative hydrogen production: Principles, progress, and prognosis", *Int J Hydrogen Energ*, 34: 7379-7389, (2009^a).

Hallenbeck PC, Benemann JR. "Biological hydrogen production; Fundamentals and limiting processes". *Int. J. Hydrogen Energ*. 27: 1185-93, (2002).

Hisami Matsumoto, Doi Tetsuya, Jun Abe. "Application of rice rhizosphere microflora for hydrogen production from apple pomace". *Int. J. Hydrogen Energ*, 35, Pages 7369–7376, (2010).

Holladay JD, Hu J, King DL, Wang Y. "An overview of hydrogen production technologies". *Catal. Today*. 139: 244-60, (2009).

Hwang Jae-Hoon, Jeong-A Choi, Reda A.I. Abou-Shanab, Booki Min, Hocheol Song, hydrogen production", *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, 1: 201-214, (2007). *Int J Hydrogen Energ*, 34: 799-811, (2009).

J. Wang,, W. Wan, "Factors Influencing Fermentative Hydrogen Production: A Review", *Int J Hydrogen Energ* ,34: 799-811, (2009).

Abhiney, J., "Biohydrogen production from cull peach medium by hyperthermophilic bacterium *Thermotoga neopolitana*", master thesis, page 653, (2009).

Villadsen, J., Nielsen, J., Liden, G. "Bioreaction Engineering Principles" 3rd ed. 2011 Edition.

Kapdan, I.K., Kargi F. "Bio-hydrogen production from waste materials", *Enzyme and Microbial Technology* 38: 569–582 Review, (2006).

Kapdan, I.K., Kargı, F. "Bio-hydrogen production from waste materials", *Enzyme MicrobTech*, 38: 569-582, (2006).

Kim, D.H., Kim, S.H., Kim, H.W., Kim, M.S., Shin, H.S., "Sewage sludge addition to food waste synergistically enhances hydrogen fermentation performance". *Bioresource Technol.* 102, 8501–8506. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.089, (2011).

Kim, D.-H., Kim, S.-H., Shin, H.-S., "Hydrogen fermentation of food waste without inoculum addition". *Enzyme Microb. Technol.* 45, 181–187, (2009).

Kosourov S, Tsygankov A, Seibert M, Ghirardi ML. "Sustained hydrogen photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii*. Effects of culture parameters". *Biotechnol. Eng.* 78: 731-40, (2002).

Kotay SM, Das D. "Novel dark fermentation involving bioaugmentation with constructed bacterial consortium for enhanced biohydrogen production from pretreated sewage sludge". *Int J Hydrogen Energy*, 34: 7489-7496, (2009).

Kovacs, K.L., Kovacs, A.T., Maroti, G., Bagi, Z., Csanadi, G., Perei, K., Balint, D.. "Improvement of biohydrogen production and intensification of biogas formation". *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3, 321-330, (2004).

Krupp, M., Widmann, R., "Biohydrogen production by dark fermentation: Experiences of continuous operation in large lab scale", *International Journal of Hydrogen Energy*, 34,4509-4516 (2009).

Lee KS, Hsu YF, Lo YC, Lin PJ, Lin CY, Chang JS. "Exploring optimal environmental factors for fermentative hydrogen production from starch using mixed anaerobic microflora". *Int. J. Hydrogen Energy*;33: 1565–72, (2008).

Leite, J.A.C., Fernandes, B.S., Pozzi, E., Barboza, M., Zaiat, M., "Application of an anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids". *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 579–586. doi:10.1016/j.ijhydene..10.009, (2008).

Levin DB, Pitt L, Love M. "Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application". *Int. J. Hydrogen Energy.*; 29: 173-85 (2004).

Lin, C.Y, Chang, R.C. "Fermentative hydrogen production at ambient temperature". *Int. J. Hydrogen Energy*, 29: 715–720, (2004).

Liu G, Shen J. "Effects of culture medium and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria". *J Bioscience Bioeng*, 98: 251–6, (2004).

Logan BE, Oh SE, Kim IS, Van Ginkel S. "Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers". *Environ Sci Technol*,36:2530–5, (2002).

Lozanovski, A., Schuller, O., & Faltenbacher, M. "Guidance document for performing LCAs on fuel cells and H₂ technologies". Retrieved February 10, 2015, from <http://www.fc-hyguide.eu/documents/10156/d0869ab9-4efe-4bea-9e7a-1fb823f4fcfa>, (2011).

Manish, S. ve Banerjee, R., "Comparison of biohydrogen production processes", *Int J Hydrogen Energ*, 33, 279-286, (2008).

Marone A, Izzo G, Mentuccia L, Massini G, Paganin P, Rosa S, et al. Vegetable waste as substrate and source of suitable microflora for bio-hydrogen production. *Renew Energy*, 68: 6–13, (2014)

Melis A, Zhang L, Forestier M, Ghirardi ML, Seibert M. "Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*". *Plant Physiol*, 122: 127-35, (2000).

Mohammadi, P., Ibrahim, S., Annuar, M.S.M., Ghafari, S., Vikineswary, S., & Zinatizadeh, A.A. "Influences of environmental and operational factors on dark fermentative hydrogen production": A review. *Clean – Soil, Air, Water*, 40, 1297–1305, (2012).

Nath, K., Das, D. "Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches". *Appl. Microbial Biotechnol*, 65: 520–529, (2004).

Ozmihci, S., Kargi, F. "Dark fermentative bio-hydrogen production from waste wheat starch using co-culture with periodic feeding: Effects of substrate loading rate". *Int J Hydrogen Energ* 36 :7089-7093, (2011).

Oztekin, R., Kapdan, I.K., Kargi, F., Argun, H. "Optimization of media composition for hydrogen gas production from hydrolyzed wheat starch by dark fermentation", *Int J Hydrogen Energ* 33: 4083–4090, (2008).

Oztürk, Y.. "Characterisation of the Genetically Modified Cytochrome Systems and Their Application to Biohydrogen Production in *Rhodobacter Capsulatus*". *PhD thesis in Biotechnology. Middle East Technical University, Ankara*, (2005).

Pan CM, Fan YT, Xing Y, Hou HW, Zhang ML. "Statistical optimization of process parameters on bio-hydrogen production from glucose by *Clostridium* sp. Fanp2". *Bioresource Technol*, 99: 3146–54, (2008).

Paula N. Robledo-Narváez, Karla M. Muñoz-Páez, Hector M. Poggi-Varaldo Elvira Ríos-Leal, Graciano Calva-Calva, L. Alfredo Ortega-Clemente, Noemí Rinderknecht-Seijas, Carlos Estrada-Vázquez, M. Teresa Ponce-Noyola , J. Alfredo Salazar-Montoya. "The influence of total solids content and initial pH on batch biohydrogen production by solid substrate fermentation of agroindustrial wastes", *J. of Environ. Manage.* 128- 126-137, (2013).

Ramachandran, R., Menon, R.K.. "An Overview of Industrial Uses of Hydrogen", *Int J Hydrogen Energ*. 23: 593-8, (1998).

Sameena. N. Malik, V. Pugalenthib, Atul. N.Vaidya, Prakash. C. Ghosh, Sandeep. N. Mudliar, "Kinetics of nano-catalysed dark fermentative hydrogen production from distillery wastewater", *Energy Procedia* 54 417–430, (2014).

Shima, S, Thauer, R.K. "A third type of hydrogenase catalyzing H₂ activation". *Chem Rec*, 7(1), 37-46, (2007).

Srikanth S, Mohan SV. "Regulatory function of divalent cations in controlling the acidogenic biohydrogen production process". *RSC Adv*;2: 6576, (2012).

Spath, P. L, Mann, M.K., "Life Cycle Assessment of Hydrogen Production via Natural Gas Steam Reforming", *NREL*, (2001).

Suzuki Y. "Hydrogen as fuel gas", *Int. J. Hydrogen Energ*, 7, 227–230, (1982).

Sveshnikov DA, Sveshnikov NV, Rao KK, Hall DO. "Hydrogen metabolism of *Anabaena variabilis* in continuous cultures and under nutritional stress". *FEBS Letters*; 147: 297-301, (1997).

Tang, G. L. , Huang, J., Sun, Z.J., Tang, Q.Q, Yan, C.H., & Liu, G.Q. "Biohydrogen production from cattle wastewater by enriched anaerobic mixed consortia: Influence of fermentation temperature and pH". *J. Biosci Bioeng*, 106, 80–87, (2008).

Thanaporn Laothanachareon Suwimon Kanchanasuta, Wuttichai Mhuanthong Chantaraporn Phalakornkule, Nipon Pisutpaisal, Verawat Champreda, "Analysis of microbial community adaptation in mesophilic hydrogen fermentation from food waste by tagged 16S rRNA gene pyrosequencing", *J. Environ. Manage.*, 144 143-151, (2014).

Tsygankov AA, Hirata Y, Miyake M, Asada Y, Miyake J. "Photobioreactor with photosynthetic bacteria immobilized on porous glass for hydrogen photoproduction". *J. Ferment. Bioeng.*; 77: 575-78, (1994).

Turan, S., "Yenilenebilir Enerji Kaynakları", Konya Ticaret Odası Dergisi, (2006).

Ueno Y, Otauka S, Morimoto M. "Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture". *J. Ferment. Bioeng.* 82: 194-97, (1996)

Uğurlu, Ö.. "Türkiye' de Çevresel Güvenlik Bağlamında Sürdürülebilir Enerji Politikaları", Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, (2006).

Valdez-Vazquez, I. Poggi-Varaldo, H.M. "Hydrogen production by fermentative consortia", *Renew Sust Energ Rev*, 13, 1000-1013, (2009).

Van Niel, E.W.J., Budde, M.A.W., de Haas, G.G., van der Wal, F.J., Claasen, P.A.M., & Stams, A.J.M. "Distinctive properties of high hydrogen producing extreme thermophiles, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga elfii*". *Int J Hydrogen Energ*, 27, 1391-1398, (2002).

Veziroğlu, T.N. "Twenty Years of the Hydrogen Movement 1974 - 1994", *Int J Hydrogen Energ* 20: 1-7, (1995).

Vijayaraghavan K, Desa A. "Biohydrogen generation from palm oil mill effluent using anaerobic contact filter". *Int J Hydrogen Energ*, 31(10):1284–91, (2006).

Vijayaraghavan Krishnan, Desa Ahmad, Christianto Soning, "Bio-hydrogen generation from mixed fruit peelwaste using anaerobic contact filter", *Int J Hydrogen Energ*, 32, 4754 – 4760, (2007).

Vrije, P.M., Billoud, B.. "Occurrence, Classification, and Biological Function of Hydrogenases": An Overview. *Chem Rev*, 107(10), 4206-4272, (2007)

Wang, J. Wan, W. "Factors influencing fermentative hydrogen production": A review. *Int J Hydrogen Energ*, 234 (11-12), 799–811, (2009).

Winter C.J. "Into the hydrogen energy economy-milestones". *Int J Hydrogen Energy*, 30: 681–5, (2005).

Wongtanet, J., Sang, B.I., Lee, S.M., Pak, D., "Biohydrogen production by fermentative process in continuous stirred-tank reactor", *International Journal of Gren Energy*, 4: 385-395, (2007).

Jia X., Mingxiao Li, Beidou Xi, Chaowei Zhu, Yang Yang, Tianming Xia, Caihong Song Hongwei Pan, " Integration of fermentative biohydrogen with methanogenesis from fruit–vegetable waste using different pretreatments", *Energ. Convers. Manage*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.02.015>, (2014).

Yongje Kim, Eung Seok Lee, Byong-Hun Jeon, "Feasibility of hydrogen production from ripened fruits by a combined two-stage (dark/dark) fermentation system", *Bioresource Technol*, 102, 1051–1058 , (2011).

Yurdagel.,1997, "Şeftalinin çekirdeği değerlendirilmesi". TÜBİTAK-BİDEB raporu, Temmuz, (2008).

EKLER

7. EKLER

A. Substrat konsantrasyonunun etkisi

Tablo A 1: Karanlık fermentasyon substrat konsantrasyon 3.42 g KM/L şişesi deney sonuçları.

3.42 g KM/L		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	0.43	0	0	1.45	90	220	0	0
1	17.38		0.3	0.3		90	220	0	0.66
2	26.08		0.8	0.8		90	220	10	1.84
3	41.04		1.4	1.4		90	220	0	3.16
4	65.40		2.05	2.05		90	220	0	4.59
5	89.57		2.43	2.43		90	220	0	5.42
6	113.16		2.75	2.75		90	220	0	6.12
7	137.20		2.75	2.75		90	220	0	6.12
8	161.12		2.75	2.75		90	220	0	6.12
9	185.24		2.75	2.75		90	220	0	6.12
10	210.16	0.99	2.75	2.75	0.42	90	220	0	6.12

Tablo A 2: Karanlık fermentasyon substrat konsantrasyon 17.08 g KM/L şişesi deney sonuçları.

17.08 g KM/L		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	0.51	0	0	5.37	90	220	0	0
1	17.45		2.4	2.4		90	220	20	5.76
2	26.15		10.3	10.3		90	220	40	27.26
3	40.05		10.3	10.3		90	220	0	27.26
4	64.43		10.3	10.3		90	220	0	27.26
5	88.58		11.6	11.6		90	220	0	30.12
6	113		12.5	12.5		90	220	0	32.10
7	137.03		12.5	12.5		90	220	0	32.10
8	160.56		12.5	12.5		90	220	0	32.10
9	185.09		12.5	12.5		90	220	0	32.10
10	210.05	3.36	12.5	12.5	0.75	90	220	0	32.10

Tablo A 3: Karanlık fermentasyon substrat konsantrasyon 34.16 g KM/L şişesi deney sonuçları.

34.16 g KM/L		Analizler				Sıvı hacmi	Gaz hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.25	0	0	19.85	90	220	0	0
1	17.5		2.3	2.3		90	220	20	5.52
2	26.25		15.7	15.7		90	220	100	50.7
3	41.15		19.3	19.3		90	220	20	62.48
4	65.52		19.3	19.3		90	220	0	62.48
5	90.09		19.3	19.3		90	220	0	62.48
6	114.09		19.3	19.3		90	220	0	62.48
7	138.1		19.3	19.3		90	220	0	62.48
8	162.05		19.3	19.3		90	220	0	62.48
9	186.18		19.3	19.3		90	220	0	62.48
10	211.17	8.05	19.3	19.3	9.14	90	220	0	62.48

Tablo A 4: Karanlık fermentasyon substrat konsantrasyon 51.2 4 g KM/L şişesi deney sonuçları.

51.24 g KM/L		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.20	0	0	21.83	90	220	0	0
1	17.56		3.5	3.5		90	220	50	9.45
2	26.31		23.2	23.2		90	220	20	57.43
3	41.2		25.1	25.1		90	220	30	69.14
4	66		25.1	25.1		90	220	0	69.14
5	90.14		25.1	25.1		90	220	0	69.14
6	114.48		25.1	25.1		90	220	0	69.14
7	138.2		25.1	25.1		90	220	0	69.14
8	162.13		25.1	25.1		90	220	0	69.4
9	186.33		25.1	25.1		90	220	0	69.14
10	211.28	10.35	25.1	25.1	7.08	90	220	0	69.14

Tablo A 5: Karanlık fermentasyon substrat konsantrasyon 68.32 g KM/L şişesi deney sonuçları.

68.32 g KM/L		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	3.40	0	0	26.09	90	220	0	0
1	18.05		2.4	2.4		90	220	50	6.48
2	26.33		10.4	10.4		90	220	50	29.28
3	41.3		19.8	19.8		90	220	20	53.92
4	66.02		20.1	20.1		90	220	10	56.59
5	90.16		23.3	23.3		90	220	20	68.29
6	114.5		23.3	20.51		90	220	0	68.29
7	138.22		20.51	19.96		90	220	10	70.341
8	162.14		19.96	19.96		90	220	15	73.335
9	186.24		19.96	19.96		90	220	0	73.335
10	210.45	15.10	25.22	25.22	10.97	90	220	10	87.42

Tablo A 6: Karanlık fermentasyon substrat konsantrasyon 102.48 g KM/L şişesi deney sonuçları.

102.48 g KM/L		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	5.48	0	0	29.96	90	220	0	0
1	18.09		0.7	0.7		90	220	50	1.89
2	26.43		8.6	8.6		90	220	50	23.57
3	41		23.2	23.2		90	220	130	85.85
4	65.32		32.9	32.9		90	220	170	163.12
5	89.42		32.9	32.9		90	220	0	163.12
6	114.17		32.9	32.9		90	220	0	163.12
7	137.49		32.9	32.9		90	220	0	163.12
8	161.02		32.9	32.9		90	220	0	163.12
9	185.17		32.9	32.9		90	220	0	163.12
10	210.14	21.60	32.9	32.9	12.95	90	220	0	163.12

Tablo A 7: Karanlık fermentasyon substrat konsantrasyon 170.80 g KM/L şişesi deney sonuçları.

170.80 g KM/L	Analizler					Sıvı hacmi (mL)	Sıvı üstü hava boşluk hacmi (mL)	Ölçülen toplam gaz hacmi (mL)	Kümülatif H ₂ hacmi (mL)	
	Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}					Şeker (g/L)
	0	0	6.36	0	0	53.09	90	220	0	0
	1	18.15		0.8	0.8		90	220	40	2.08
	2	26.49		1.5	1.5		90	220	20	3.92
	3	41.49		2.2	2.2		90	220	10	5.68
	4	66.2		9.9	9.9		90	220	50	27.57
	5	90.3		29	29		90	220	170	118.89
	6	115.1		31	31		90	220	90	151.19
	7	138.14		31	31		90	220	0	151.19
	8	162.07		31	31		90	220	0	151.19
	9	186.21		31	31		90	220	0	151.19
	10	211.59	32.55	31	31	16.46	90	220	0	151.19

B. Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni optimizasyonu

Tablo B 1: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 1 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

1.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2, i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0.00	1.68	0.00	0.00	10.85	100	210	0.00	0.00
1	15.55		7.52	7.52		100	210	90	22.56
2	39.38		17.57	17.57		100	210	72	56.31
3	62.43		19.14	19.14		100	210	0	59.60
4	87.43		20.54	19.81		100	210	4	63.36
5	110.54		19.81	18.37		100	210	8	64.94
6	134.55		18.37	18.37		100	210	6	66.04
7	157.02		18.37	18.37		100	210	0	66.04
8	182.56		18.37	18.37		100	210	0	66.04
9	206.03		18.37	18.37		100	210	0	66.04
10	229.33		18.37	18.37		100	210	0	66.04
11	254.05	5.97	18.37	18.37	0.76	100	210	0	66.04

Tablo B 2: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 2 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

2.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.93	0	0	13.15	100	210	0	0
1	16.00		0.37	0.37		100	210	28	0.88
2	39.43		2.81	2.81		100	210	20	6.57
3	62.47		11.82	11.82		100	210	24	28.32
4	87.18		26.58	26.58		100	210	84	81.65
5	111.06		32.50	32.50		100	210	88	122.68
6	135.08		35.33	35.33		100	210	22	136.39
7	157.56		36.15	36.15		100	210	0	138.11
8	183.08		36.15	36.15		100	210	0	138.11
9	206.16		36.15	36.15		100	210	0	138.11
10	229.45		36.15	36.15		100	210	0	138.11
11	254.17	8.13	36.15	36.15	0.92	100	210	0	138.11

Tablo B 3: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 3 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

3.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.98	0	0	13.93	100	210	0	0
1	16.00		3.84	3.84		100	210	58	10.29
2	39.43		12.09	12.09		100	210	30	31.24
3	62.47		25.08	25.08		100	210	100	83.60
4	87.18		25.86	25.86		100	210	0	85.24
5	111.06		31.01	31.01		100	210	20	102.26
6	135.08		31.71	31.71		100	210	20	110.07
7	157.56		31.71	31.71		100	210	0	110.07
8	183.08		31.71	31.71		100	210	0	110.07
9	206.16		31.71	31.71		100	210	0	110.07
10	229.45		31.71	31.71		100	210	0	110.07
11	254.17	7.59	31.71	31.71	1.04	100	210	0	110.07

Tablo B 4: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 4 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

4.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.67	0	0	14.43	100	210	0	0
1	16.12		03.87	03.87		100	210	45	9.86
2	39.53		10.45	10.45		100	210	26	26.40
3	62.58		11.92	11.92		100	210	0	29.49
4	87.3		15.7	15.7		100	210	0	37.42
5	111.18		17.68	17.68		100	210	40	48.65
6	135.28		24.33	24.33		100	210	30	69.92
7	158.06		26.03	25.34		100	210	12	76.61
8	183.56		25.34	25.95		100	210	4	77.62
9	207.14		25.95	25.95		100	210	12	80.73
10	230.43		25.95	25.95		100	210	0	80.73
11	256.22	9.01	25.95	25.95	1.4	100	210	0	80.73

Tablo B 5: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 5 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

5.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2, i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.96	0	0	12.51	100	210	0	0
1	16.18		11.06	11.06		100	210	108	35.17
2	39.58		15.04	15.04		100	210	0	43.52
3	63.04		19.57	19.57		100	210	24	57.73
4	87.41		27.94	27.94		100	210	60	92.07
5	111.28		34.92	34.92		100	210	10	110.22
6	135.28		37.09	37.09		100	210	0	114.78
7	158.33		37.09	37.09		100	210	0	116.52
8	184.03		37.09	37.09		100	210	0	116.52
9	207.22		37.09	37.09		100	210	0	116.52
10	230.52		37.09	37.09		100	210	0	116.52
11	256.35	8.67	37.09	37.09	1.14	100	210	0	116.52

Tablo B 6: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 6 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

6.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.5	0	0	16.80	100	210	0	0
1	16.25		6.61	6.61		100	210	62	17.97
2	40.03		14.5	14.5		100	210	60	43.24
3	63.09		23.74	23.74		100	210	76	80.69
4	87.45		26.82	26.82		100	210	10	89.84
5	111.28		33.12	33.12		100	210	12	107.04
6	135.25		37.45	37.45		100	210	16	122.13
7	158.12		40.55	40.55		100	210	10	132.69
8	184.02		42.56	42.56		100	210	0	136.91
9	207.19		42.56	42.56		100	210	0	136.91
10	230.49		42.56	42.56		100	210	0	136.91
11	256.33	7.29	42.56	42.56	0.98	100	210	0	136.91

Tablo B 7: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 7 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

7.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.05	0	0	13.06	100	210	0	0
1	16.3		4.94	4.94		100	210	62	13.43
2	40.1		11.6	11.6		100	210	60	34.38
3	63.14		17.85	17.85		100	210	76	61.07
4	87.56		22.71	22.71		100	210	10	73.55
5	111.37		27.05	27.05		100	210	12	85.91
6	13.,34		29.52	28.3		100	210	16	95.82
7	158.22		28.3	28.3		100	210	10	98.65
8	184.1		28.3	28.3		100	210	0	98.65
9	207.28		28.3	28.3		100	210	0	98.65
10	230.58		28.3	28.3		100	210	0	98.65
11	256.02	6.33	28.3	28.3	1.03	100	210	0	98.65

Tablo B 8: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 8 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

8.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.28	0	0	12.49	100	210	0	0
1	16.35		03.58	03.58		100	210	40	8.95
2	40.14		13.19	13.19		100	210	72	38.62
3	63.2		28.73	28.73		100	210	104	101.14
4	88		30.01	30.01		100	210	22	110.43
5	111.41		31.76	31.76		100	210	28	122.99
6	135.26		34.49	34.49		100	210	0	128.73
7	158.16		34.74	34.25		100	210	0	129.25
8	184.02		34.25	34.25		100	210	8	131.99
9	207.21		34.25	34.25		100	210	0	131.99
10	230.51		34.25	34.25		100	210	0	131.99
11	256.35	8.19	34.25	34.25	0.96	100	210	0	131.99

Tablo B 9: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 9 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

9.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.46	0	0	14.65	100	210	0	0
1	16.4		07.75	07.75		100	210	60	20.92
2	40.2		11.31	11.31		100	210	0	28.40
3	63.24		17.61	17.61		100	210	26	46.20
4	88.05		18.77	18.77		100	210	0	48.64
5	111.45		20.87	20.87		100	210	0	53.05
6	135		20.87	20.87		100	210	0	53.05
7	157.52		20.87	20.87		100	210	0	53.05
8	183.38		20.87	20.87		100	210	0	53.05
9	206.56		20.87	20.87		100	210	0	53.05
10	230.26		20.87	20.87		100	210	0	53.05
11	256.1	6.36	20.87	20.87	1.49	100	210	0	53.05

Tablo B 10: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 10 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

10.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.96	0	0	15.39	100	210	0	0
1	16.47		01.58	01.58		100	210	30	3.79
2	40.23		6.15	6.15		100	210	20	14.61
3	63.28		10.1	10.1		100	210	12	24.12
4	88.1		10.1	10.1		100	210	0	24.12
5	111.51		12.88	12.88		100	210	8	30.99
6	135.06		12.88	12.88		100	210	0	30.99
7	157.58		12.88	12.88		100	210	0	30.99
8	183.02		12.88	12.88		100	210	0	30.99
9	206.21		13.44	13.44		100	210	0	32.17
10	229.51		14.47	14.47		100	210	0	34.33
11	255.33	6.60	14.54	14.54	2.12	100	210	0	34.48

Tablo B 11: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 11 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

11.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.46	0	0	11.75	100	210	0	0
1	16.55		2.75	2.75		100	210	42	6.93
2	40.28		6.83	6.83		100	210	26	17.27
3	63.33		14.65	14.65		100	210	42	39.84
4	88.15		19.92	19.92		100	210	70	64.85
5	111.57		19.92	19.92		100	210	0	64.85
6	135.11		24.03	24.03		100	210	20	78.29
7	158.04		27.94	27.94		100	210	46	99.36
8	183.47		28.41	28.41		100	210	6	102.05
9	207.14		28.41	28.41		100	210	8	103.87
10	230.36		28.41	28.41		100	210	0	103.87
11	256.28	9.09	28.41	28.41	1.33	100	210	0	103.87

Tablo B 12: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 12 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

12.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.29	0	0	15.85	100	210	0	0
1	16.55		4.46	4.46		100	210	44	11.32
2	40.28		8.38	8.38		100	210	26	21.73
3	63.33		11.02	11.02		100	210	6	27.94
4	88.15		17.05	17.05		100	210	28	45.38
5	111.57		26.09	26.09		100	210	40	74.80
6	135.11		29.65	29.65		100	210	40	94.13
7	158.04		29.65	25.77		100	210	0	94.13
8	183.47		25.77	25.73		100	210	6	95.68
9	207.14		25.73	25.73		100	210	8	97.74
10	230.36		25.73	25.73		100	210	0	97.74
11	256.23	6.15	25.73	25.73	0.94	100	210	0	97.74

Tablo B 13: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 13 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

13.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.68	0	0	14.35	100	210	0	0
1	17.03		7.70	7.70		100	210	74	21.86
2	40.38		19.11	19.11		100	210	92	63.41
3	63.44		28.31	28.31		100	210	44	95.18
4	87.23		28.31	28.31		100	210	0	95.18
5	111.08		28.31	28.31		100	210	0	95.18
6	136.00		28.31	28.31		100	210	0	95.18
7	158.54		28.31	28.31		100	210	0	95.18
8	184.38		28.31	28.31		100	210	0	95.18
9	208.06		28.31	28.31		100	210	0	95.18
10	231.26		28.31	28.31		100	210	0	95.18
11	257.07	5.76	28.31	28.31	0.99	100	210	0	95.18

Tablo B 14: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 14 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

14.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.71	0	0	16.22	100	210	0	0
1	17.10		13.56	13.56		100	210	112	43.66
2	40.43		21.00	21.00		100	210	38	67.26
3	63.48		27.96	27.96		100	210	42	93.62
4	88.30		29.27	29.27		100	210	30	105.15
5	112.2		29.27	29.18		100	210	0	105.15
6	136.05		29.18	29.18		100	210	20	110.99
7	159.00		29.18	29.18		100	210	0	110.99
8	184.43		29.18	29.18		100	210	0	110.99
9	208.11		29.18	29.18		100	210	0	110.99
10	231.31		29.18	29.18		100	210	0	110.99
11	257.12	6.78	29.18	29.18	1.13	100	210	0	110.99

Tablo B 15: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 15 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

15.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.28	0	0	15.17	100	210	0	0
1	17.15		0.28	0.28		100	210	20	0.64
2	40.47		2.93	2.93		100	210	8	6.44
3	63.58		9.50	9.50		100	210	16	21.76
4	88.36		18.39	18.39		100	210	50	49.62
5	112.27		26.32	26.32		100	210	102	93.12
6	136.12		29.47	29.47		100	210	10	102.68
7	159.05		29.47	30.96		100	210	0	102.68
8	184.52		30.96	29.06		100	210	30	115.10
9	208.19		29.06	29.06		100	210	6	116.84
10	231.41		29.06	29.06		100	210	0	116.84
11	257.19	8.82	29.06	29.06	0.84	100	210	0	116.84

Tablo B 16: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 16 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

16.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.71	0	0	15.53	100	210	0	0
1	17.2		9.94	9.94		100	210	110	31.80
2	40.51		14.61	14.61		100	210	8	42.78
3	64.00		26.38	25.23		100	210	84	89.66
4	88.40		25.23	26.38		100	210	12	92.68
5	112.31		27.82	27.82		100	210	16	100.16
6	136.16		31.81	31.81		100	210	0	108.54
7	159.11		32.11	32.11		100	210	0	109.17
8	184.55		32.11	32.11		100	210	0	109.17
9	208.24		32.11	32.11		100	210	6	110.92
10	231.46		32.11	32.11		100	210	0	110.92
11	257.25	8.04	32.11	32.11	0.80	100	210	0	110.92

Tablo B17: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 17 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

17.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.87	0	0	14.15	100	210	0	0
1	17.32		2.57	2.57		100	210	44	6.52
2	40.56		7.42	7.42		100	210	38	19.53
3	64.04		19.74	19.74		100	210	50	55.27
4	88.45		23.95	23.95		100	210	44	74.65
5	112.35		23.95	23.95		100	210	0	74.65
6	136.2		25.17	25.17		100	210	14	80.73
7	159.10		25.2	25.2		100	210	0	80.80
8	185.01		25.42	25.42		100	210	22	86.85
9	208.28		26.97	26.97		100	210	17	94.69
10	231.49		26.97	26.97		100	210	0	94.69
11	257.29	7.62	26.97	26.97	1.29	100	210	0	94.60

Tablo B18: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 18 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

18.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	mL	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.78	0	0	12.49	100	210	0	0
1	17.37		8.59	8.59		100	210	80	24.91
2	41.13		14.45	14.45		100	210	20	40.10
3	64.22		23.09	23.09		100	210	72	74.87
4	89.02		26.31	26.31		100	210	74	101.10
5	111.53		29.46	29.46		100	210	20	113.61
6	135.38		31.9	31.9		100	210	12	122.56
7	158.22		32.24	31.1		100	210	10	126.50
8	184.08		31.1	31.1		100	210	12	130.23
9	207.36		31.1	31.1		100	210	0	130.23
10	230.57		31.1	31.1		100	210	0	130.23
11	256.35	6.87	31.1	31.1	1.25	100	210	0	130.23

Tablo B 19: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 19 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

19.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.58	0	0	14.84	100	210	0	0
1	17.25		2.49	2.49		100	210	42	62.7
2	41.05		8.49	8.49		100	210	44	22.61
3	64.17		14.72	14.72		100	210	34	40.69
4	88.55		21.30	21.30		100	210	30	60.90
5	112.05		27.26	27.26		100	210	30	81.60
6	135.50		29.20	29.20		100	210	22	92.09
7	158.04		29.20	29.20		100	210	0	92.09
8	183.50		29.20	29.20		100	210	0	92.09
9	207.18		29.20	29.20		100	210	10	94.58
10	230.39		29.20	29.20		100	210	0	94.58
11	256.16	6.66	29.20	29.20	1.36	100	210	0	94.58

Tablo B 20: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 20 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

20.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.43	0	0	13.50	100	210	0	0
1	17.42		0.27	0.27		100	210	22	6.2
2	41.11		0.8	0.8		100	210	0	17.3
3	64.23		4.76	4.76		100	210	6	10.34
4	89.00		13.23	13.23		100	210	40	33.42
5	112.58		20.4	20.4		100	210	50	58.67
6	136.03		23.61	23.61		100	210	30	72.50
7	158.57		24.25	24.25		100	210	6	75.30
8	184.03		25.47	24.76		100	210	8	79.89
9	207.31		24.76	24.76		100	210	20	84.85
10	230.52		24.76	24.76		100	210	0	84.85
11	256.29	8.70	24.76	24.76	0.93	100	210	0	84.85

Tablo B 21: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 21 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

21.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.99	0	0	5.98	100	210	0	0
1	17.5		8.79	8.79		100	210	72	24.78
2	41.25		13.35	13.35		100	210	4	34.89
3	64.37		16.36	16.36		100	210	10	42.85
4	89.14		15.54	15.54		100	210	0	42.85
5	113.06		23.9	23.9		100	210	48	70.16
6	136.50		25.97	25.97		100	210	18	79.18
7	158.05		29.73	28.72		100	210	20	93.02
8	183.5		28.72	26.98		100	210	20	98.76
9	207.18		26.98	26.98		100	210	20	104.16
10	230.39		26.98	26.98		100	210	0	104.16
11	256.6	8.46	26.98	26.98	0.80	100	210	0	104.16

Tablo B 22: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 22 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

22.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.78	0	0	15.05	100	210	0	0
1	17.56		3.84	3.84		100	210	10	8.44
2	41.20		11.62	11.62		100	210	4	25.25
3	64.33		11.62	11.62		100	210	6	25.90
4	89.09		14.26	12.75		100	210	0	31.44
5	113.00		12.75	12.75		100	210	4	31.95
6	136.45		12.75	12.75		100	210	0	31.95
7	159.00		12.75	12.75		100	210	0	31.95
8	184.45		12.75	8.64		100	210	0	31.95
9	208.13		8.64	8.64		100	210	18	33.51
10	231.34		8.64	8.64		100	210	0	33.51
11	257.10	6.06	8.64	8.64	1.25	100	210	0	33.51

Tablo B 23: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 23 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

23.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	mL	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.86	0	0	13.86	100	210	0	0
1	18.03		2.55	2.55		100	210	46	6.52
2	41.24		8.72	8.72		100	210	32	22.27
3	64.40		18.59	18.59		100	210	46	51.55
4	89.14		24.44	24.44		100	210	60	78.50
5	113.06		24.82	24.82		100	210	0	79.30
6	136.52		24.82	24.82		100	210	0	79.30
7	159.07		27.04	25.95		100	210	18	88.83
8	184.52		25.95	25.95		100	210	12	91.94
9	208.21		25.95	25.95		100	210	0	91.94
10	231.42		25.95	25.95		100	210	0	91.94
11	257.17	9.84	25.95	25.95	0.56	100	210	0	91.94

Tablo B 24: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 24 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

24.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.93	0	0	13.62	100	210	0	0
1	18.08		4.82	4.82		100	210	80	13.97
2	41.28		12.35	12.35		100	210	42	34.97
3	64.44		14.45	14.45		100	210	0	39.38
4	89.20		21.00	21.00		100	210	30	59.44
5	113.1		21.19	21.19		100	210	0	59.84
6	136.55		21.24	21.24		100	210	10	62.07
7	159.11		21.24	20.75		100	210	0	62.07
8	184.57		20.75	20.00		100	210	10	64.14
9	208.23		20.00	20.00		100	210	4	64.94
10	231.45		20.00	20.00		100	210	0	64.94
11	257.23	6.09	20.00	20.00	1.43	100	210	0	64.94

Tablo B 25: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 25 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

25.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.77	0	0	15.53	100	210	0	0
1	18.13		01.93	01.93		100	210	46	4.94
2	41.33		6.74	6.74		100	210	32	17.19
3	64.50		18.07	18.07		100	210	66	52.91
4	89.24		25.16	25.16		100	210	74	86.42
5	113.14		27.05	27.05		100	210	0	90.39
6	136.59		27.94	27.94		100	210	0	92.26
7	159.15		29.54	29.00		100	210	22	102.12
8	185.06		29.00	29.00		100	210	30	110.82
9	208.29		29.00	29.00		100	210	0	110.82
10	231.51		29.00	29.00		100	210	0	110.82
11	257.29	10.92	29.00	29.00	0.83	100	210	0	110.82

Tablo B 26: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 26 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

26.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.65	0	0	14.88	100	210	0	0
1	18.2		06.43	06.43		100	210	74	18.26
2	41.37		11.4	11.4		100	210	40	33.25
3	64.55		22.06	21.8		100	210	60	68.88
4	89.28		21.8	21.8		100	210	74	85.01
5	113.21		21.8	21.8		100	210	0	85.01
6	137.07		21.8	21.8		100	210	0	85.01
7	160.03		21.8	21.8		100	210	0	85.01
8	185.53		21.8	21.8		100	210	0	85.01
9	209.17		21.8	21.8		100	210	0	85.01
10	232.42		21.8	21.8		100	210	0	85.01
11	258.18	6.93	21.8	21.8	1.60	100	210	0	85.01

Tablo B 27: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 27 No'lu fermentasyon şişesi deney sonuçları.

27.Şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	2.25	0	0	15.41	100	210	0	0
1	18.25		4.59	4.59		100	210	74	13.03
2	41.42		12.73	12.73		100	210	70	39.04
3	65.00		22.82	22.82		100	210	52	72.09
4	89.32		24.92	24.92		100	210	50	88.96
5	113.24		27.9	27.9		100	210	38	105.82
6	137.08		30.55	27.8		100	210	28	119.94
7	160.04		27.8	27.8		100	210	20	125.50
8	185.53		27.8	27.8		100	210	0	125.50
9	209.15		27.8	27.8		100	210	0	125.00
10	232.40		27.8	27.8		100	210	0	125.50
11	258.18	7.11	27.8	27.8	1.12	100	210	0	125.50

Tablo B 28: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 1 No'lu kontrol şişesi deney sonuçları.

1.kontrol şişesi		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	%CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.71	0	0	13.48	100	210	0	0
1	15.40		3.05	3.05		100	210	44	7.74
2	39.30		4.02	4.02		100	210	20	10.58
3	62.33		7.31	7.31		100	210	6	17.93
4	87.04		21.36	21.36		100	210	110	70.93
5	110.54		25.1	25.1		100	210	26	85.31
6	134.59		27.81	27.81		100	210	0	91.01
7	157.37		28.87	28.87		100	210	0	93.23
8	183.36		28.87	28.53		100	210	0	93.23
9	206.30		28.53	28.87		100	210	20	98.93
10	230.10		32.1	32.1		100	210	10	108.93
11	254.32	6.51	32.1	32.1	0.82	100	210	0	108.93

Tablo B 29: Karanlık fermentasyon C/N/P/Fe/Ni oranı optimizasyonu 2 No'lu kontrol şişesi deney sonuçları.

2.kontrol şişe		Analizler				Sıvı hacmi	Sıvı üstü hava boşluk hacmi	Ölçülen toplam gaz hacmi	Kümülatif H ₂ hacmi
Tarih (gün)	Zaman (saat)	TUYA (g/L)	CH _{2,i}	%CH _{2,i-1}	Şeker (g/L)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
0	0	1.99	0	0	14.36	100	210	0	0
1	15.5		02.64	02.64		100	210	44	6.70
2	39.33		6.52	6.52		100	210	30	16.80
3	62.38		14.11	14.11		100	210	22	35.85
4	87.07		21.31	21.31		100	210	70	65.88
5	110.53		22.9	22.9		100	210	30	76.09
6	135.00		22.9	22.9		100	210	0	76.09
7	157.40		22.9	22.9		100	210	0	76.09
8	183.40		22.9	22.9		100	210	0	76.09
9	206.45		22.9	22.9		100	210	0	76.09
10	230.10		22.9	22.9		100	210	0	76.09
11	254.45	7.32	22.9	22.9	1.80	100	210	0	76.09

8. ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı : SİAKA DAO

Doğum Yeri ve Tarihi : FİLDİŞİ SAHİLİ/03.02.1988

Lisans Üniversite : Institut National Polytechnique Yamoussoukro

Y. Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi

Elektronik posta : siakadao90@yahoo.fr

İletişim Adresi : 0545 913 74 02/ 00225 46 17 27 63

Yayın Listesi

:

- Hidayet Argun, Siaka Dao Hydrogen gas production from waste peach pulp by dark fermentation and electrohydrolysis. *International Journal of Hydrogen Energy* (2016) 1-9 doi:10.1016/j.ijhydene.2015.11.170.

Konferans listesi

:

- Hidayet Argun, Siaka Dao, Mansurali Turanbaev Hydrogen gas production from molasses by dark fermentation. International conference on viable energy trends (INVENT 2015) 30-31 Ocak-1 Şubat, 2016 Sharjah, UAE.
- Siaka Dao, Hidayet Argun, Atık şeftali posasından karanlık fermentasyon ile biohidrojen üretimi. Ulusal hidrojen teknolojilerin kongresi, 20-21 Aralık 2015, İstanbul, Türkiye.

- Hidayet Argun, Siaka Dao. Hydrogen production from waste fruits by natural microflora. Middle East technical university, 13-15 october 2014, Ankara, Turkey.
- 2015 Yılında Bursada düzenlenen ULUSAL ÇEVRE KONGRESİNE poster bildirisiyle katıldım. Atık üzümde karanlık fermentasyon ile hidrojen gazı üretimi. 15-17 Ekim 2015
- 2015 Yılı Mayıs ayında düzenlenen Türk-Alman Katı Atık Günleri ve Genç Araştırmacılar Forumuna poster bildirisiyle katıldım. Dark fermentative hydrogen gas production from waste peach pulp: effect of initial substrate concentration. İzmir, Türkiye.