

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

KARANLIK FERMANTASYON İLE MELASTAN HİDROJEN
ÜRETİMİNDE UÇUCU YAĞ ASİTLERİ İNHİBİSYONUNUN
AZALTILMASINA YÖNELİK STRATEJİLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

M. ENES MIYNAT

DENİZLİ, TEMMUZ - 2019

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



KARANLIK FERMANTASYON İLE MELASTAN HİDROJEN
ÜRETİMİNDE UÇUCU YAĞ ASİTLERİ İNHİBİSYONUNUN
AZALTILMASINA YÖNELİK STRATEJİLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

M. ENES MIYNAT

DENİZLİ, TEMMUZ - 2019

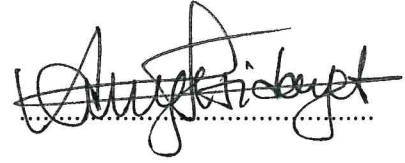
KABUL VE ONAY SAYFASI

Muhammet Enes MIYNAT tarafından hazırlanan “KARANLIK FERMANTASYON İLE MELASTAN HİDROJEN ÜRETİMİNDE UÇUCU YAĞ ASİTLERİ İNHİBİSYONUNUN AZALTILMASINA YÖNELİK STRATEJİLER” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 17.07.2019 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.

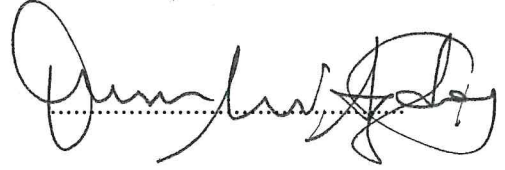
Jüri Üyeleri

İmza

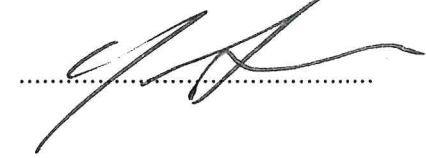
Danışman
Prof. Dr. Hidayet ARGUN
Pamukkale Üniversitesi



Üye
Prof. Dr. Osman Nuri AĞDAĞ
Pamukkale Üniversitesi



Üye
Doç. Dr. Serkan EKER
Dokuz Eylül Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 21.07.2019 tarih ve ..3.11/4..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



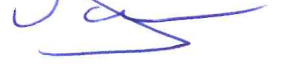
Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

✓

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.

M.Enes MIYNAT



ÖZET

**KARANLIK FERMANTASYON İLE MELASTAN HİDROJEN
ÜRETİMİNDE UÇUCU YAĞ ASİDİ İNHİBİSYONUNUN
AZALTILMASINA YÖNELİK STRATEJİLER
YÜKSEK LİSANS TEZİ
M. ENES MIYNAT
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. HİDAYET ARGUN)**

DENİZLİ, 2019

Bu tez kapsamında karanlık fermantasyon (KF) ile melastan hidrojen üretiminde uçucu yağ asidi (UYA) inhibisyonunun azaltılmasına yönelik araştırmalar yapılmıştır. Buna yönelik olarak dört farklı stratejinin incelendiği dört aşamalı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü basamakta sırasıyla; atık yumurta kabuğu (AYK) konsantrasyonunun, demir tozu (DT) konsantrasyonunun, ipliksi bakteri (İB) içeren çamur ilavesinin ve seyreltme metodunun (SM) karanlık fermantasyon ile melastan hidrojen üretiminde UYA inhibisyonuna etkisi incelenmiştir. İlk üç basamakta incelenen strateji UYA inhibisyonu üzerinde hedeflenen etkiyi göstermemiştir. Dördüncü basamakta seyreltme metodunun (SM) etkisini incelemek üzere Box-Behnken İstatistiksel Deney Tasarımı (BBİDT) kullanılmış ve sonuçlar Design Expert yazılımı ile irdelenmiştir. Deney tasarımı bağımsız değişkenler olarak seyreltme zamanı (X_1), ilave su hacmi (X_2), ve başlangıç kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ, X_3); amaç fonksiyonu olarak ise hidrojen üretim verimi (HÜV) ve hidrojen üretim hızı (HÜH) belirlenmiştir. Optimizasyon çalışması sonucunda en yüksek HÜV (7.56 mL H_2 /mL) ve HÜH (15.50 mL H_2 /sa) değerlerine X_1 (sa), X_2 (%) ve X_3 (g/L) koşullarının sırasıyla; 3. saat, % 130 ve 85 g/L olduğu durumda ulaşılabileceği tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen doğrulama deneyi sonucunda HÜV ve HÜH değerleri sırasıyla 7.7 mL H_2 /mL ve 21.47 mL/sa olarak bulunmuş olup modelin güvenilirliği teyit edilmiştir. Doğrulama deneyi seyreltme yapılmayan deney ile kıyaslandığında HÜV ve HÜH’de sırasıyla % 51 ve % 47’lik bir artış gerçekleştiği ve SM uygulanan deneyde UYA konsantrasyonunun daha düşük olduğu görülmüştür. Böylece, SM’nin melastan hidrojen üretiminde UYA inhibisyonunu azaltarak KF performansına katkı sağlayan bir strateji olduğu bulgulanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Biyohidrojen, Box Behnken Deney Tasarımı, Karanlık Fermantasyon, Uçucu Yağ Asitleri

ABSTRACT

STRATEGIES FOR THE REDUCTION OF VOLATILE FATTY ACIDS INHIBITION DURING DARK FERMENTATIVE HYDROGEN PRODUCTION FROM MOLASSES

MSC THESIS

M. ENES MIYNAT

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
ENVIRONMENTAL ENGINEERING**

(SUPERVISOR: PROF. DR. HİDAYET ARGUN)

DENİZLİ, 2019

Strategies for the prevention of volatile fatty acids (VFA) inhibition during dark fermentative hydrogen production from molasses was carried out in this thesis. In this context, four different strategies were conducted. In accordance with this purpose, effect of waste egg shell concentration, effect of iron powder concentration, effect of filamentous bacteria containing sludge addition and effect of dilution (ED) is investigated for the prevention of VFA inhibition during dark fermentative hydrogen production from molasses, respectively. The first three strategy attempts did not show an expected effect. For the fourth step, a Box-Behnken Experimental Design was used to investigate the ED and the results were analyzed with Design Expert software. The dilution time (X_1), additional water volume (X_2), and initial chemical oxygen demand (COD, X_3) were used as independent variables; hydrogen production yield (HPY) and rate (HPR) were used as objective functions. The optimum X_1 (h), X_2 (%) and X_3 (g/L) resulting the highest HPY (7.56 mL H_2 /mL) and HPR (15.50 mL H_2 /h) values were obtained at 3rd hour, % 130 and 85 g/L respectively. The validation experiment resulted similar HPY (7.7 mL H_2 /mL) and HPR (21.47 mL H_2 /h) confirming the reliability of the model. Compared to the undiluted experiment, the verification experiment showed an increase at HPY (% 51) and HPR (% 47) moreover, VFA concentration decreased apparently. This indicates that ED is a successful strategy for the prevention of VFA inhibition during dark fermentative hydrogen production from molasses.

KEYWORDS: Biohydrogen, Box Behnken Experimental Design, Dark Fermentation, Volatile Fatty Acids

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Tezin Amacı	4
2. Genel Bilgiler	6
2.1 Hidrojen.....	6
2.2 Hidrojen Üretim Yöntemleri	6
2.2.1 Biyolojik Hidrojen Üretim Prosesleri	8
2.2.1.1 Biyofotoliz	8
2.2.1.2 Aydınlik Fermantasyon.....	8
2.2.1.3 Karanlık Fermantasyon	9
2.2.1.3.1 Karanlık Fermantasyonda UYA inhibisyonunu Engellemeye Yönelik Bazı Stratejiler	10
2.2.1.3.1.1 İyon Değiştirme	10
2.2.1.3.1.2 Adsorpsiyon	11
2.2.1.3.1.3 Elektrokimyasal Prosesler.....	12
2.2.1.3.1.4 Membran Prosesler	13
2.2.1.3.1.5 Ekstraksiyon.....	14
2.2.1.3.1.6 Birleşik Karanlık ve Aydınlik Fermantasyon	15
2.2.1.3.2 Literatürde Karanlık Fermantasyonla Hidrojen Üretimi Üzerine Yapılmış Çalışmalar	16
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1 Substrat	21
3.2 Mikroorganizma	22
3.3 Deneysel Çalışmalar ve Analitik Yöntemler	22
4. BULGULAR	25
4.1 Atık Yumurta Kabuğunun Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H ₂ Üretimine Etkisi	25
4.2 Demir Tozu Konsantrasyonunun Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H ₂ Üretimine Etkisi	28
4.3 İpliksi Bakteri İçeren Aşı Çamuru İlavesinin Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H ₂ Üretimine Etkisi	31
4.4 Seyreltme Metodunun Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H ₂ Üretimine Etkisi	32
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
6. KAYNAKLAR.....	49
7. EKLER.....	58
EK A: AYK'nın KF ile hidrojen üretimine ve UYA inhibisyonuna etkisi ...	58
EK B: DT'nin KF ile hidrojen üretimine ve UYA inhibisyonuna etkisi.....	60
EK C: İB'nin KF ile hidrojen üretimine ve UYA inhibisyonuna etkisi	62

EK D: SM'nin KF ile hidrojen üretimi ve UYA inhibisyonuna etkisi.....	63
EK E: BBİDT için model verileri.....	68
8. ÖZGEÇMİŞ.....	69

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Biyohidrojen üretim prosesleri (Argun ve Kargi, 2011).....	2
Şekil 2.2: UYA'ların KF ile H ₂ üretiminde olumsuz etkileri.....	10
Şekil 4.1: Farklı konsantrasyonlarda AYK (g/L) için KH (mL) değerinin zamana (saat) göre değişimi.....	26
Şekil 4.2: HÜV'ün farklı AYK konsantrasyonlarına göre değişimi.....	27
Şekil 4.3: HÜH'ün farklı AYK konsantrasyonlarına göre değişimi.....	27
Şekil 4.4: Farklı konsantrasyonlarda DT (g/L) için KH (mL) değerinin zamana (saat) göre değişimi.....	29
Şekil 4.5: HÜV'nin farklı DT konsantrasyonlarına göre değişimi	30
Şekil 4.6: HÜH'nin farklı DT konsantrasyonlarına göre değişimi	30
Şekil 4.7: İB ilavesi ve İB ilavesi içermeyen şişe için KH (mL H ₂) değerinin zamana (saat) göre değişimi.....	32
Şekil 4.8: HÜV'nin seyreltme zamanına göre (saat) değişimi.....	37
Şekil 4.9: HÜV'nin ilave su hacmine göre değişimi.....	38
Şekil 4.10: HÜV'nin KOİ konsantrasyonuna göre değişimi.....	39
Şekil 4.11: HÜV'nin KOİ konsantrasyonu ve ilave su hacmine göre değişimi	40
Şekil 4.12: HÜH'nin seyreltme zamanına (saat) göre değişimi.....	41
Şekil 4.13: HÜH'nin ilave su hacmine göre değişimi	42
Şekil 4.14: HÜH'nin KOİ konsantrasyonuna göre değişimi	43
Şekil 4.15: HÜH'nin KOİ konsantrasyonu ve ilave su hacmine göre değişimi.	45
Şekil 4.16: Optimum ve seyreltme yapılmayan deney için glikoz, TUYA, KH değerlerinin zamana göre değişimi	46

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Melasın genel özellikleri.....	21
Tablo 4.1: AYK deneyi başlangıç ve son glikoz, KOİ ve TUYA sonuçları.....	26
Tablo 4.2: DT deneyi için başlangıç ve çıkış KOİ, glikoz, TUYA konsantrasyonları	29
Tablo 4.3: Box-Behnken istatistiksel deney tasarımı değer ve sonuç tablosu ..	34
Tablo 4.4: HÜV için varyans analizi tablosu	35
Tablo 4.5: HÜH için varyans analizi tablosu	36
Tablo 4.6: Optimum ve seyreltme yapılmayan deney için başlangıç-çıkış glikoz, TUYA sonuçları ve KH, HÜV, HÜH değerleri	45

SEMBOL LİSTESİ

Atm	: Açık Hava Basıncı
HÜV	: Hidrojen Üretim Verimi
HÜH	: Hidrojen Üretim Hızı
BF	: Biyofotoliz
AF	: Aydınlık Fermantasyon
KF	: Karanlık Fermantasyon
UYA	: Uçucu Yağ Asidi
DT	: Demir Tozu
AYK	: Atık Yumurta Kabuğu
İB	: İpliksi Bakteri
SM	: Seyreltme Metodu
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
BBİDT	: Box-Behnken İstatistiksel Deney Tasarımı
KH	: Kümülatif Hidrojen
ORP	: Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli
TUYA	: Toplam Uçucu Yağ Asidi

ÖNSÖZ

Yüksek lisans boyunca bilgisini ve deneyimini esirgemeyerek bu tezin hazırlanmasına yardımcı olan, destek veren tez danışmanım Prof. Dr. Hidayet ARGUN'a, Prof. Dr. Osman Nuri AĞDAĞ başta olmak üzere Pamukkale Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölüm hocalarıma ve pozitif desteğini eksik etmeyen Yrd. Doç. Dr. Sibel ÇUKURLUOĞLU'na, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan İkbâl ÖREN'e ve motivasyonunu hiçbir zaman esirgemeyen dostum Orçun YAPICI'ya teşekkür ederim.

Son olarak, maddi ve manevi desteği ile bugünlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Hızlı kentleşme ve nüfus artışına bağlı olarak fosil yakıtların kontrolsüz bir şekilde tüketimi temiz yakıtların üretimini gündeme getirmiştir (Kargi ve diğ. 2012). Fosil yakıtlar hızla tükenmekte ve yakıt olarak kullanılması durumunda sera gazı etkisi yapan (NO_x, SO_x, CO_x vb.) emisyonlara neden olmaktadır (Das, 2001). Bu kapsamda yenilenebilir yakıt kaynaklarına, sürdürülebilir ve çevre dostu enerji sistemlerine ihtiyaç vardır. Rüzgar enerjisi, güneş enerjisi, jeotermal enerji vb. sistemler fosil yakıtların kullanımına alternatif oluşturmaktadır. Bunların yanında hidrojenin de geleceğin enerji taşıyıcısı olacağı öngörülmektedir (Gonzales ve diğ. 2016a). Hidrojenin enerji içeriği diğer hidrokarbon yakıtlara göre yaklaşık 3 kat daha yüksektir (122 kJ/g) (Wicher ve diğ. 2013) ve hidrojenin yakılması sonucu yalnızca su buharı açığa çıkmaktadır (1.1) (Das, 2001; Piera ve diğ. 2006). Bu sayede hidrojenin yakıt olarak kullanımı sonucu hava kirliliği etkisi yapacak atmosferik emisyonlar oluşmaz.



Hidrojen gazı; geleneksel olarak kömür gazlaştırma, doğalgazın buhar ile reformasyonu ve elektroliz gibi yöntemler ile üretilirken alternatif olarak biyolojik prosesler ile de elde edilebilmektedir (Azwar ve diğ. 2014; Dhar ve diğ. 2015). Geleneksel yöntemler yoğun enerji ve karmaşık işletme kontrolü gerektirirken biyolojik yöntemler daha ılımlı şartlarda (25 °C, 1 atm) gerçekleştirilebilmektedir (Wicher ve diğ. 2013). Ancak biyolojik prosesler henüz hidrojen üretim performansı açısından geleneksel yöntemler ile rekabet edecek düzeyde değildir. Başlıca biyolojik hidrojen üretim prosesleri;

- Biyofotoliz (BF),
- Aydınlik Fermantasyon (AF),
- Karanlık Fermantasyon (KF)'dur (Argun ve Kargi, 2011).

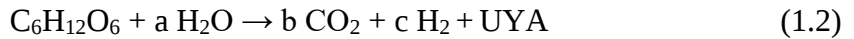


Şekil 1.1: Biyohidrojen üretim prosesleri (Argun ve Kargi, 2011)

Şekil 1.1’de biyolojik hidrojen gazı üretim prosesleri özetlenmektedir. BF, alg veya siyanobakterilerin ışık enerjisini kullanarak sudan hidrojen gazı oluşturmalarıdır (Saratale ve diğ. 2008). Yavaş gerçekleşen bu proses ışık enerjisi gerektirmekte ve oksijen gazına karşı son derece hassastır (Argun ve Kargi, 2011; Saratale ve diğ. 2008).

AF, mikroorganizmaların anoksik şartlarda ışık enerjisi yardımıyla organik bileşikleri hidrojene dönüştürmesi işlemidir. Burada *Rhodobacteraceae* ailesinden mor kükürtsüz fotoheterotrofik bakteri türlerinin organik bileşikleri ve UYA’ları hidrojene dönüştürmesi örnek olarak verilebilir (Argun ve Kargi, 2011; Basak ve Das, 2007). Bu proses pH, sıcaklık, ışık enerjisi gibi çevre şartlarına karşı hassas olup, sıkı işletim şartları gerektirir (Argun ve Kargi, 2011; Ozmihci ve Kargi, 2010; Tuna ve diğ. 2009).

KF mikroorganizmaların anaerobik ortamda karbonhidratları parçalayıp hidrojen, karbondioksit ve UYA’lara dönüştürmesidir. Bu prosesle hidrojen üretebilen mikroorganizmalar arasında spor oluşturan *Clostridium* türleri, fakültatif *Enterobacter sp.*, *Bacillus* türleri, bazı termofilik bakteriler ve asidojenik anaerobik çamur sayılabilir (Argun ve Kargi, 2011; Saratale ve diğ. 2008). Reaksiyon (1.2) karanlık fermantasyon ile hidrojen üretimini özetlemektedir.



Bu reaksiyon sonucu oluşan UYA profili hidrojen verimini etkilemektedir (Zhang ve diğ. 2012). Sadece asetik asit oluştuğunda 4 mol hidrojen açığa çıkarken, bütirik asit oluştuğunda 2 mol hidrojen açığa çıkmaktadır (Dhar ve diğ. 2015). Ürün olarak; asetik asit, bütirik asit, propiyonik asit, valerik asit, laktik asit gibi çeşitli UYA'lar oluşabilmekte ve ortamda birikim göstermektedir (Dhar ve diğ. 2015; Fonseca ve diğ. 2016). Bu durumun KF performansına bazı olumsuz etkileri vardır. Bu olumsuz etkileri önlemek için UYA inhibisyonunun minimize edilmesi gerekir.

UYA'lar; kaynama noktaları suya göre yüksek, molekül boyutu nanometre seviyelerinde olan (Weng ve diğ. 2010; Zhou ve diğ. 2013) zayıf asitlerdir. Bu bileşiklerin fiziksel ve kimyasal özelliğine bağlı olarak ortamdan uzaklaştıracak veya inhibisyon etkisini düşürecek çeşitli metotlar mevcuttur. Bunlar;

- İyon değiştirme (Li ve diğ. 2015),
- Adsorpsiyon (Li ve diğ. 2015; Zacharof ve Lovitt, 2013),
- Elektrokimyasal prosesler (Li ve diğ. 2015; Zacharof ve Lovitt, 2013),
- Membran prosesler (Li ve diğ. 2015; Reyhanitash ve diğ. 2016; Zacharof ve Lovitt, 2013),
- Ekstraksiyon (Li ve diğ. 2015; Reyhanitash ve diğ. 2016),
- Birleşik karanlık ve aydınlık fermantasyon (Argun ve Kargi, 2010; Liu ve diğ. 2010) olarak sıralanabilir.

UYA inhibisyonunun minimize edilmesi için pratik ve etkili bir yöntem ihtiyacı vardır. Bu tez kapsamında bu amaca yönelik olarak;

- Demir tozu (DT) konsantrasyonunun,
- Atık yumurta kabuğu (AYK) konsantrasyonunun,
- İpliksi bakteri (İB) içeren aşı ilavesinin,
- Seyreltme metodunun (SM) UYA inhibisyonuna, HÜV ve HÜH'ye olan etkileri incelenmiştir.

1.1 Tezin Amacı

Bu tezin amacı karbonhidrat açısından zengin endüstriyel bir atık olan melastan KF ile hidrojen gazı üretiminde UYA inhibisyonunu engelleyen stratejilerin araştırılarak daha yüksek HÜH ve HÜV'lere ulaşılmasıdır. Bu amaçla bu tez dört aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada, AYK'da bulunan kalsiyum karbonat (CaCO_3)'ın UYA ile reaksiyonu dikkate alınarak, AYK'nın KF ile hidrojen gazı üretiminde UYA inhibisyonu üzerine etkileri incelenmiştir. İkinci aşamada demir iyonlarının UYA ile reaksiyonu sonucu UYA tuzlarının oluşumu hedeflenmiş ve bu amaçla DT konsantrasyonunun KF üzerine etkileri araştırılmıştır. Üçüncü aşamada, ortamda UYA konsantrasyonunu azaltmak amacıyla İB içeren kültür aşılansmış ve sonuçlar irdelenmiştir. Dördüncü aşamada ise UYA inhibisyonunu engellemek üzere, belirli parametreler dikkate alınarak seyreltme uygulanmış ve KF üzerine etkileri gözlemlenmiştir. Deneyler serum şişelerinde, mezofilik ortamda (37 °C), kesikli işletme şartlarında gerçekleştirilmiştir.

Birinci aşamada, UYA inhibisyonunu engellemek üzere yüksek CaCO_3 içeriğinden dolayı (~% 95) 0-20 g/L arasında AYK kullanılmıştır ancak AYK'nın hidrojen üretim verimini arttırıcı bir etkisi gözlemlenmemiştir.

İkinci aşamada aynı amaç doğrultusunda KF ortamına 2,5-300 g/L arasında DT ilavesi yapılmış ve 300 g/L DT konsantrasyonunda en yüksek hidrojen verimine (321 mL $\text{H}_2/\text{gKOİ}$) ulaşılmıştır.

Üçüncü aşamada İB'lerin UYA konsantrasyonuna etkisini gözlemlmek amacıyla İB içeren kültür aşılansmış ancak İB ilavesi içermeyen deney dikkate alındığında UYA konsantrasyonunda azalma görülmediği gibi HÜV ve HÜH'de artış olmamıştır.

Dördüncü aşamada, UYA inhibisyonunu engellemek amacıyla SM uygulanmış olup optimum seyreltme zamanı, başlangıç kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) konsantrasyonu ve seyreltme yüzdesini belirlemek üzere Box-Behnken İstatistiksel Deney Tasarımı (BBİDT) kullanılmıştır. Gerçekleştirilen BBİDT sonucunda başlangıç KOİ konsantrasyonu, seyreltme zamanı ve seyreltme yüzdesi için optimum koşullar sırasıyla; 85 g/L, 3. Saat, % 130 olarak belirlenmiştir.

Optimum nokta için gerçekleştirilen deneyde KH, HÜV ve HÜH değerleri sırasıyla; 694,30 mL H₂, 7,714 mL H₂/mL ve 21,47 mL H₂/sa olarak gözlemlenmiştir.

2. Genel Bilgiler

2.1 Hidrojen

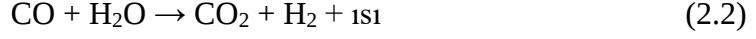
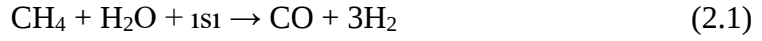
Hidrojen evrende en bol bulunan (Sherif ve diğ. 2003) ve en hafif elementtir (Das, 2001). 1 L hidrojen 0.09 g'dır (Das, 2001). Renksiz ve kokusuz bir gazdır. Viskozitesi düşüktür. Dünya yüzeyi yaklaşık % 0.14 hidrojen içerirken atmosfer yaklaşık olarak % 0.07 oranında hidrojen içermektedir (Das, 2001). Doğada genel olarak moleküler halde bulunmamaktadır. Günümüzde genel olarak; fosil yakıtlardan, biyokütleden ve sudan üretilebilmektedir (Das, 2001). Hidrojenasyon prosesinde reaktan olarak, oksijen süpürücü olarak, elektrik jeneratöründe soğutucu olarak ve yakıt olarak kullanılabilir (Das, 2001).

2.2 Hidrojen Üretim Yöntemleri

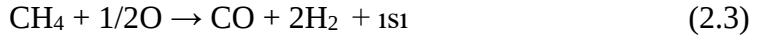
Hidrojen; fosil yakıtlar, su ve biyokütle gibi hammadelerden üretilebilmektedir (Das, 2001). Hidrojenin üretiminde kullanılan prosesler başlıca; kimyasal, biyolojik, elektrolitik, fotolitik ve termo-kimyasal olarak sıralanabilir (Dincer ve Acar, 2014; International Energy Agency, 2006). Bu proseslerin kendine özgü avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Hammaddenin bulunabilirliği, marketin durumu teknolojik gelişmeler ve maliyet gibi etkenler hidrojen üretimi için uygun prosesin seçiminde önemlidir (International Energy Agency, 2006).

Doğal gaz veya kömür hidrojen üretimi için kullanılan fosil yakıtlara örnek gösterilebilir. Doğal gaz (metan) ile hidrojen üretiminde buhar gaz reformasyonu, kısmi oksidasyon ve bunların kombinasyonu olan ototermal reformasyon kullanılabilir (Das, 2001). Doğal gazın buhar reformasyonunda, metan su buharı ile tepkimeye girmekte ve reaksiyon sonucunda karbon monoksitle hidrojen açığa çıkmaktadır (2.1) (International Energy Agency, 2006; Shah ve diğ. 2017). Proses endotermik olup proses sıcaklığının tipik değeri 700-850 °C arasındadır. Prosesin

birinci aşamasında oluşan karbon monoksit ikinci aşamada hidrojen ve karbon dioksit'e dönüştürülmektedir (2.2) (International Energy Agency, 2006).



Kısmi oksidasyon yöntemi ekzotermiktir dolayısıyla dışarıdan ısı enerjisine ihtiyaç yoktur. Metanın oksijen ile yakılmasıyla hidrojen ve karbon monoksit oluşmaktadır (2.3) (International Energy Agency, 2006; Shah ve diğ. 2017).



Ototermal reformasyon, kısmi oksidasyon ile buhar gazı reformasyonunun kombinasyonudur. Toplam reaksiyon ekzotermiktir ve çıkış sıcaklığı 950-1100 °C, çıkış basıncı 100 bar seviyelerine ulaşabilmektedir (Shah ve diğ, 2017). Bu proseste de oluşan karbon monoksit denklem (2.2)'de olduğu gibi hidrojen ve karbon dioksit'e dönüştürülmektedir (International Energy Agency, 2006).

Kömürden hidrojen üretiminde gazifikasyon prosesleri kullanılabilir. Endotermik bir prosestir. Doğal gazdan hidrojen üretimine göre daha kompleks ve maliyetli bir prosestir. Denklem (2.4)'de bu prosesin genel denklemi görülmektedir (International Energy Agency, 2006).



Biyokütleden hidrojen üretiminde piroliz ve gazifikasyon proseslerinden yararlanılmaktadır. Bu proseslerin sonucunda H₂, CH₄, CO₂, CO, N₂ gibi gazlar oluşabilmektedir (Das, 2001).

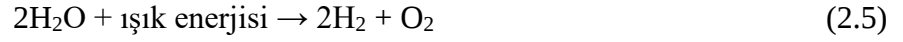
Ham madde olarak suyun kullanıldığı hidrojen üretim proseslerinde; elektroliz, fotoliz, termokimyasal vb. yöntemlerden faydalanılmaktadır (Das, 2001). Dünyanın büyük bir kısmı sularla kaplıdır. Dolayısıyla su, sürdürülebilir ve yenilenebilir hidrojen üretimi için önemli bir potansiyel oluşturmaktadır.

Hidrojen bu geleneksel yöntemlerin dışında biyolojik proseslerle de üretilmektedir. Biyolojik hidrojen üretim prosesleri temel olarak BF, AF ve KF'dir.

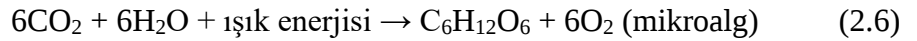
2.2.1 Biyolojik Hidrojen Üretim Prosesleri

2.2.1.1 Biyofotoliz

Biyolojik hidrojen üretim proseslerinden biri BF'dir. Alg veya siyanobakter gibi türler ışık varlığında suyu parçalayarak hidrojen ve oksijene dönüştürürler (Saratale ve diğ. 2008). Diğer biyolojik hidrojen üretim prosesleri ile kıyaslandığında yavaş gerçekleşmektedir (Argun ve Kargi, 2011). Oksijene karşı hassas bir prosestir dolayısıyla proses sonucunda oluşan oksijen sistemin verimini düşürmektedir (Genç, 2009). Doğrudan BF ve dolaylı BF olarak ikiye ayrılmaktadır (Genç, 2009). Doğrudan BF'de su doğrudan hidrojene ve oksijene ayrılmaktadır (2.5) (Genç, 2009).



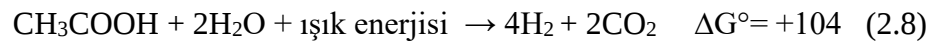
Dolaylı BF'de sudan hidrojen üretimi zincirleme reaksiyonlarla gerçekleşmektedir. Birinci basamakta mikroalgler, ışık varlığında karbondioksit ve suyu tüketerek organik maddeyi oluşturur (2.6). İkinci basamakta fermantasyon ile organik maddenin hidrojen ve UYA'ya dönüşümü gerçekleşmektedir (2.7) (Genç, 2009).



Dolaylı BF'nin doğrudan BF'ye göre önemli avantajlarından biri oksijenin sistemde birikmemesidir. Dolayısıyla oksijenin engelleyici etkisinden kaçınılmış olunmaktadır (Genç, 2009).

2.2.1.2 Aydınlik Fermantasyon

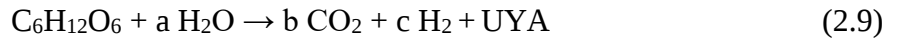
Mor kükürtsüz fotoheterotrofik bakteriler ışık varlığında UYA'ları hidrojen ve karbon dioksit'e dönüştürebilmektedir (2.8) (Argun ve Kargi, 2011).



Mor kükürtsüz bakteriler karbon kaynağı olarak glikoz, süksinat, sükroz, UYA gibi farklı organik bileşikleri tercih edebilmektedir. Bu bakterilere *Rhodobacteraceae* ailesinden *Rhodobacter spheroides*, *Rhodobacter capsulatus*, *R. sphaeroides*-RV, *Rhodovulum sulfidophilum* W-1S, *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodospirillum rubrum* örnek olarak gösterilebilir (Argun ve Kargi, 2011; Basak ve Das, 2007). AF için uygun pH ve sıcaklık aralığı sırasıyla 6.8-7.5 ve 31-36 °C'dir (Argun ve Kargi, 2011). Yüksek N/C oranında, oksijen veya amonyak varlığında enzim aktivitesi sınırlanmakta ve AF performansı düşüş göstermektedir (Genç, 2009). Sıkı işletim şartları gerektiren bir prosestir (Argun ve Kargi, 2011; Ozmihci ve Kargi, 2010; Tuna ve diğ. 2009).

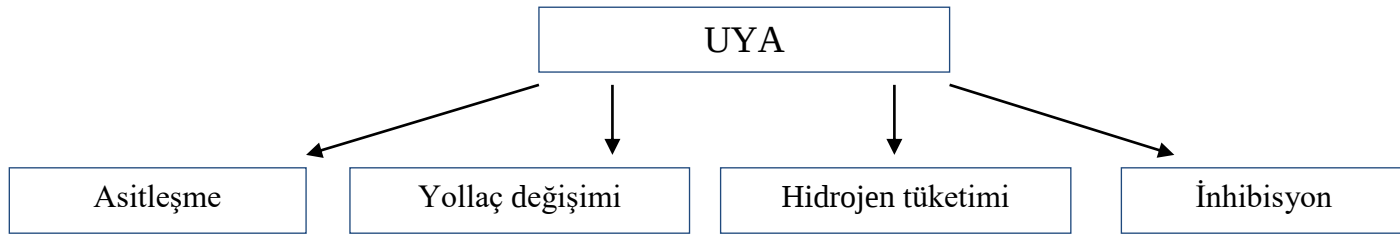
2.2.1.3 Karanlık Fermantasyon

Çeşitli heterotrofik mikroorganizmalar karbonhidratları anaerobik ortamda H₂, CO₂ ve UYA'lara dönüştürebilmektedir. Spor oluşturan *Clostridium* türleri, fakültatif *Enterobacter* ve *Bacillus* türleri, bazı termofilik bakteriler, asidojenik anaerobik çamur bu mikroorganizmalara örnek olarak gösterilebilir (Argun ve Kargi, 2011; Saratale ve diğ. 2008). Reaksiyon (2.9) KF'de gerçekleşen genel denklemi göstermektedir (Argun ve Kargi, 2011; Dhar ve diğ. 2015).



Reaksiyon sonucunda oluşan UYA profili KF performansını etkilemektedir (Dhar ve diğ. 2015; Zhang ve diğ. 2012). Oluşan son ürüne göre hidrojen verimi değişmektedir ancak bu verimler teorik olup pratikte prosesi maksimum verimde işletmek zordur. Çeşitli faktörler bu duruma etken olarak gösterilebilir. Bu tez kapsamında, ortamda biriken UYA'ların ürün inhibisyonuna neden olup KF performansına yaptığı olumsuz etkiler irdelenmiş ve sorunun çözümüne yönelik araştırmalar yapılmıştır.

Şekil 2.1'de UYA'ların KF ile H₂ üretiminde neden olduğu olumsuz etkiler gösterilmiştir.



Şekil 2.2: UYA'ların KF ile H₂ üretiminde olumsuz etkileri

Şekil 2.2'de gösterildiği üzere UYA'ların bazı olumsuz etkileri mevcuttur. UYA'lar ortamın asitleşmesine, metabolik yollaçların değişip farklı ürün oluşturulmasına, mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon etkisine ve hidrojenin tüketilmesine neden olabilmektedir (Valdez-Vazquez ve Poggi-Varaldo, 2009). UYA'lar, asitleşmenin yol açtığı düşük pH değerlerinde hücre membranından geçerek mikroorganizmanın dış ortam ile olan pH dengesini bozup mikrobiyal kültürün spor oluşturmaya veya ölümüne neden olabilmektedir (Şentürk ve Büyükgüngör, 2015). Bu olumsuz etkileri engellemek için UYA inhibisyonunun minimize edilmesi ve bu amaca yönelik metotların irdelenmesi gerekmektedir.

2.2.1.3.1 Karanlık Fermantasyonda UYA inhibisyonunu Engellemeye Yönelik Bazı Stratejiler

2.2.1.3.1.1 İyon Değiştirme

UYA'lar suda pH'ya bağlı olarak iyonlarına ayrışabilen bileşiklerdir. Bu özelliklerinden yararlanılarak iyon değiştirme yöntemi ile anyonik iyon gruplarının tutulması mümkündür. Bu prosesin verimliliği UYA'nın suda ayrışma oranı, pH, reçinenin seçiciliği gibi faktörlere bağlıdır (López-Garzón ve Straathof, 2014). Bu prosesin dezavantajları arasında, UYA'nın iyonlarına ayrışmasının fermentasyon pH'sında düşük oranda gerçekleşmesi (Zacharof ve Lovitt, 2013), reçinelerin UYA tutma kapasitelerinin düşük olması, iyon değişimi sonucu iletkenliği arttıracak iyonların fermentasyon ortamına salınımı örnek olarak gösterilebilir.

Chen ve diğ. (2015) glikoz ve gliserolü substrat olarak kullanarak *Lactobacillus reuteri* suşu ile 1,3-propanediol ve laktik asit üretimini araştırmıştır.

Yapılan çalışmada UYA inhibisyonunu engellemek üzere anyonik zayıf bazik reçine olan D301G kullanılmıştır. Reçine 0. ve 12. saatte ortama ilave edilmiş olup 12. saatte yapılan reçine ilavesi 1,3-propanediol ve laktik asit üretimini sırasıyla % 15 ve % 12'nin üzerinde arttırmıştır (Chen ve diğ. 2015).

Rebecchi ve diğ. (2016) üzüm posası fermantasyon çıkış suyundaki UYA'ları tutmak amacıyla dört farklı reçine üzerine (Septra NH2, Amberlyst A21, Septra SAX, Septra ZT-SAX) yaptıkları çalışmada Amberlyst A21'i optimum olarak seçmiş ve farklı pH'larda bu reçinenin fermantasyon suyundaki UYA tutulumunu incelemiştir. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda 6.5 pH seviyesinde 1.4 mmol/g_{kuru reçine} reçine tutma kapasitesine ulaşmışlardır (Rebecchi ve diğ. 2016).

Yousuf ve diğ. (2016) mutfak atığı fermantasyon suyundan UYA giderimi yapmak üzere Amberlite IRA-67 ve aktif karbon arasında karşılaştırma yapmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada Amberlite IRA-67 ve aktif karbon için maksimum asit giderimi sırasıyla % 74 ve % 63 olarak rapor edilmiştir. Bu giderim pH 3.3 seviyesinde 200 g/L adsorban kullanılarak gerçekleşmiştir (Yousuf ve diğ. 2016).

2.2.1.3.1.2 Adsorpsiyon

Bu proses, adsorbanların adsorbatı gözeneklerinde veya adsorban yüzeyinde tutması ile gerçekleşmektedir. Literatürde organik asitlerin adsorpsiyonu için kil (Silva ve diğ. 2013), kitosan (Chai ve Ji, 2012), aktif karbon (Ruiz ve diğ. 2015; Yousuf ve diğ. 2016) gibi adsorban maddelerin kullanımı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Adsorbanların UYA üzerindeki seçiliği düşüktür (Zacharof ve Lovitt, 2013) ve mikroorganizmalar bu maddeleri destek malzemesi olarak kullandığı durumlarda adsorbanın gözeneklerini kapatabilmektedir. Diğer yöntemlerle kıyaslandığında işletimi kolay bir prosestir (Zacharof ve Lovitt, 2013).

López-Velandia ve diğ. (2014) yaptıkları çalışmada kavun kabuğundan aktif karbon sentezlemiş ve UYA giderimi üzerine adsorpsiyon çalışması yapmıştır. Gerçekleştirilen araştırma sonucunda sentezlenen aktif karbonun Langmuir ve Freundlich izotermine göre tutma kapasitesi sırasıyla, 40.984 mg/g ve 26.382 mg/g olarak bulunmuştur (López-Velandia ve diğ. 2014).

Kim ve diğ. (2011) mezopor silika nanopartiküle amin fonksiyonu ekleyerek UYA adsorpsiyonu üzerine araştırma yapmıştır. Sentezlenen amin fonksiyonu sayesinde iyon değişim mekanizması da UYA'nın tutulumunda etkili olmuştur. Yapılan çalışmada en yüksek asit adsorpsiyon kapasitesi 3.38 mol/kg olarak rapor edilmiştir (Kim ve diğ. 2011).

Freitas ve diğ. (2007) yaptıkları çalışmada aktif karbonun, montmorillonitin ve setrimonyum bromür ile geliştirilmiş montmorillonitin asetik, bütirik ve propiyonik asit üzerindeki adsorpsiyon etkisini incelemiştir. Gerçekleştirilen deneyler sonucunda aktif karbonun bu UYA'ların adsorpsiyonunda en yüksek etkiyi gösterdiği rapor edilmiştir (Freitas ve diğ. 2007).

2.2.1.3.1.3 Elektrokimyasal Prosesler

Elektrokimyasal proseslerde UYA'lar iyonlarına ayrılarak ortamdaki uzaklaştırılmaktadır. Elektrodializ, bipolar membran elektrodializ, mikrobiyal elektroliz hücresi bu proseslere örnek olarak gösterilebilir. UYA inhibisyon etkisinin bu yöntemlerle verimli bir şekilde azaltımı mümkündür. Bu prosesler yüksek enerji ihtiyacı gerektirmektedir (Zacharof ve Lovitt, 2013). Bazı elektrokimyasal proses hatlarında asidik, bazik ve tuzluluğu yüksek çıkış suları oluşmaktadır.

Arslan ve diğ. (2017) UYA inhibisyonunu engellemek amacıyla bipolar membran elektrodializ prosesini kullanmıştır. Proses, sürekli işletilen fermantasyon şartlarında yerinde (in-situ) uygulanmıştır. Fermantasyon esnasında UYA kazanımı gerçekleştirilmiş ve faydalı ürün olarak kullanılabilen UYA'ların üretimi 1.4 kat artmıştır (Arslan ve diğ. (2017)).

Kim ve Moon (2001) yaptıkları çalışmada, fermantasyon çözeltisinden laktik asit ayrımı gerçekleştirmek üzere tek kademeli elektrodializ prosesi kullanmış ve çalışma sonucunda % 98.7 (maksimum) oranında laktik asit ayırma verimi elde etmiştir (Kim ve Moon, 2001).

Wang ve diğ. (2006) gerçekleştirdikleri çalışmada siklohekzanon imalatı sonucu oluşan tuzlu atık sudan organik asit gidermek amacıyla elektrodializ

yöntemini kullanmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada en yüksek organik asit ayırım verimi % 42.14 olarak rapor edilmiştir (Wang ve diğ. 2006).

Hřbová ve diğ. (2004) fermantasyon çözeltisinden laktik asit gidermek amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada iki aşamalı elektrodializ prosesi kullanmıştır. İkinci aşamada bipolar membran elektrodializ kullanılan çalışmada verimlilik % 70-80 olarak rapor edilmiştir (Hřbová ve diğ. 2004).

2.2.1.3.1.4 Membran Prosesler

Membran proseslerle UYA'nın fiziksel özelliklerine uygun membranlar seçilerek UYA'yı ortamdan uzaklaştırmak (Zacharof ve Lovitt, 2013) ve inhibisyon etkisini azaltmak mümkündür. Bu prosesin başlıca dezavantajları; UYA ile birlikte fermantasyon ortamı için gerekli olan diğ. maddelerin tutulması, membranların maliyetli olması ve tıkanma problemleridir (Zacharof ve Lovitt, 2013).

Zhou ve diğ. (2013) yaptıkları çalışmada iki farklı nanofiltrasyon (NF) membran (Desal-5 DK, Alfa Laval-NF) ve iki farklı ters osmoz (RO98pHt, RO99) membran ile monosakkaritlerden asetik asitin ayırılım performansı üzerine kıyaslama yapmıştır. Deneyler sonucunda RO98pHt ve RO99'un ksiloz ve glikozu %100'e yakın oranda tuttuğı asetik asiti ise sırasıyla %44.21 ve % 47.51 oranında ayırdığı gözlemlenmiştir. NF ile şekerlerin tutulumu ters osmoza göre daha düşüktür ancak UYA'lar NF membranlarda daha düşük oranda tutulduğu için şeker içerikli çözeltiden daha yüksek oranda ayrılabilir (Zhou ve diğ. 2013).

Baruah ve Hazarika (2014) gerçekleştirdikleri çalışmada polisülfonlu α , β , γ -siklodekstrin NF membranın asetik asit giderimi üzerine etkisini incelemiştir. Yürütölen deneyler sonucunda β -siklodekstrin membranın en iyi sonucu verdiğı ve asetik asiti çözelti ortamından % 99 oranında ayırdığı rapor edilmiştir (Baruah ve Hazarika, 2014).

Gonzáles ve diğ. (2008) iki NF membranın (DK2540C ve AFC80) laktik asit giderimi üzerine etkisini incelemiştir. pH'nın 2.7-6.0 arasında değışimi ile laktik asit giderim verimi DK2540C için % 10-91 oranında olurken AFC80 için % 45-82 arasında olduğı rapor edilmiştir (González ve diğ. 2008).

2.2.1.3.1.5 Ekstraksiyon

Ekstraksiyon prosesinde UYA'yı fermantasyon ortamından ayırmak için bu bileşiklerin ekstraktan tarafından tutulma özelliğinden faydalanılır. Ekstraktan olarak orta zincirli yağ asitleri, alkoller, eterler, organofosforlar, alifatik aminler gibi bileşikler kullanılmaktadır (Ijmker ve diğ. 2014; Kertes ve King, 1986; Rocha ve diğ. 2017). Membran ve elektrokimyasal proseslere göre daha düşük maliyetli bir prosestir fakat UYA'yı verimli bir şekilde ayırmak için düşük pH'lar gerekmektedir (Zacharof ve Lovitt, 2013) ve ekstraktanların mikroorganizmalar için toksik kimyasallar olması prosesin pratikteki uygulanabilirliğini zorlaştırmaktadır.

Reyhanitash ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada fermantasyon sonucu oluşan UYA'ların ekstraksiyonunda beş farklı ekstraktanın (TOA (trioktilamin), [P_{666,14}][Cl] (triheksil (tetradesil) fosfonyum klorür), [P_{666,14}][Br] (triheksil (tetradesil) fosfonyum bromür), [P_{666,14}][Phos] (triheksil (tetradesil) fosfonyum bis-2,4,4(trimetil pentil) fosfinat), [P_{666,14}][N(CN)₂] (triheksil (tetradesil) fosfonyum disiyanamid) etkisi üzerine inceleme yapmıştır. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda kütlece % 20 TOA'nın n-oktanol ile karıştırılması sonucu elde edilen ekstraktan ile [P_{666,14}][Phos]'nin en etkili sonucu verdiği ulaşılmıştır (Reyhanitash ve diğ. 2016).

Alkaya ve diğ. (2009) yaptıkları çalışmada şeker kamışı anerobik fermantasyon çıkış suyundan UYA'ları ayırmak amacıyla ekstraksiyon üzerine araştırma yapmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada trioktilfosfinoksit (TOPO)'in kerosende farklı konsantrasyonlarda karışımının ve pH'nın ekstraksiyon üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Gözlemler sonucunda TOPO'nun kerosende ağırlıkça % 20 oranda karışımı ve 2.5 pH ortamı optimum olarak belirlenmiştir. En yükek UYA ekstraksiyon verimi % 61 ile % 98 arasında rapor edilmiştir (Alkaya ve diğ. 2009).

Rocha ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada orta zincirli UYA'ların (hekzanoik asit, oktanoik asit, dekanoik asit) kısa zincirli UYA'lar üzerindeki ekstraksiyon performansını ve iki farklı seyreltici (toluen, hekzan) ekstraksiyon etkisini incelemiştir. Yürütülen çalışmalar sonucunda hekzanoik asit en yüksek ekstraksiyon

performansı göstermiştir. Seyreltici solventler arasından ise toluenin daha iyi ekstraksiyon performansı gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Rocha ve diğ. 2017).

2.2.1.3.1.6 Birleşik Karanlık ve Aydınlik Fermantasyon

Birleşik karanlık-aydınlık fermantasyon bu iki prosesin aynı ortamda birlikte kullanımıdır. Bu proseste KF sonucu oluşan UYA'nın AF'de karbon kaynağı olarak kullanılmasıyla UYA inhibisyonu engellenmektedir. Bu prosesle toplam hidrojen verimi arttırılabildiği gibi UYA'nın verimli kullanımı da gerçekleştirilebilmektedir (Argun ve Kargı, 2010; Liu ve diğ. 2010). AF'nin işletme şartlarının KF'ye göre daha zor oluşu ve AF için faaliyet gösteren mikroorganizmaların UYA yerine glikoza yönelim gösterme potansiyeli (katabolit-represyon) bu prosesin aynı ortamda gerçekleştirilmesi konusunda dezavantaj oluşturmaktadır. AF'de glikoz kullanımını tercih eden organizmalar UYA tüketimini bırakıp kullanım amacından sapma gösterebilmektedir.

Su ve diğ. (2009) yaptıkları çalışmada birleşik karanlık-aydınlık fermantasyonla hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Maksimum hidrojen verimi 4,16 mol H₂/mol glikoz olarak, maksimum asetat ve bütirat giderimi ise sırasıyla % 92.3 ve % 99.8 olarak rapor edilmiştir (Su ve diğ. 2009).

Liu ve diğ. (2010) yaptıkları çalışmada karanlık fermantasyon çıkış suyunu seyreltip sirküle ederek birleşik karanlık-aydınlık fermantasyon prosesinden hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Aşı olarak *Clostridium butyricum* ve immobilize *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 kullanılmıştır. En yüksek hidrojen verimi için optimum koşullar 1:05 seyreltme oranı, 1:2 oranında karanlık-aydınlık fermantasyon mikroorganizma karışımı, 10.25 W/m² ışık yoğunluğu olarak belirlenmiş ve HÜV 5.374 mol-H₂/mol-glikoz olarak rapor edilmiştir (Liu ve diğ. 2010).

Argun ve Kargı (2010) yaptıkları çalışmada öğütülmüş buğday kullanarak birleşik karanlık-aydınlık fermantasyon ile hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Fermantasyonda aşı olarak *Clostridium beijerinckii* (DSMZ-791) ve *Rhodobacter sphaeroides*-RV kullanılmıştır. Yürütülen çalışmada farklı alıkonma sürelerinin (1-6 gün) UYA oluşumuna ve hidrojen üretimine olan etkisi irdelenmiştir. En yüksek

HÜV 6 günlük alıkonma süresinde 90 mL-H₂/g-niştasta (0.6 mol-H₂/mol-glikoz) olarak rapor edilmiştir (Argun ve Kargi, 2010).

2.2.1.3.2 Literatürde Karanlık Fermantasyonla Hidrojen Üretimi Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Literatürde KF ile hidrojen üretimi mutfak atıkları (Moreno-Andrade ve diğ. 2015), şeker pancarı (Dhar ve diğ. 2015), peynir altı suyu (Kargi ve diğ. 2012), şeker fabrikası atığı (melas) (Genç ve Özbay, 2015; Hsiao ve diğ. 2009; Kongjan ve diğ. 2011) şeftali posası (Argun ve Dao, 2016), alglar (Batista ve diğ. 2014), pirinç samanı (Alemahdi ve diğ. 2015), pirinç kabuğu (Gonzales ve diğ. 2016b), öğütülmüş buğday (Argun ve Kargi, 2010), elma posası (Doi ve diğ. 2010), atık kağıt havlu (Argun ve Onaran, 2016) gibi çeşitli substratlar ile gerçekleştirilebilmektedir. İşletme şartlarına göre HÜV ve HÜH'ler değişebilmektedir.

Phanduang ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada substrat olarak mikroalg (*Chlorella sp.*) kullanarak hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Gerçekleştirilen çalışmada merkezi kompozit deney tasarımı kullanılmış ve sonuçlar yüzey tepki metodu ile analiz edilmiştir. Deney tasarımında toplam katı madde içeriğinin, substrat:aşı oranının (F/I) ve başlangıç pH'sının KH'ye olan etkisi incelenmiştir. En yüksek verim için optimum koşullar % 38.83 toplam katı madde içeriği, 6.03 pH, 4.33 F/I oranı olarak belirlenmiş olup maksimum KH ve HÜV sırasıyla 165 mL-H₂ ve 18.58 mL-H₂/gVS olarak rapor edilmiştir (Phanduang ve diğ. 2017).

Argun ve Dao (2016) şeftali posasından hidrojen üretiminde C/N, C/P, C/Fe ve C/Ni oranlarının HÜV ile HÜH'ye olan etkilerini incelemek üzere BBİDT'yi kullanmıştır. Yapılan çalışmada dışarıdan mikroorganizma aşılammamış olup hidrojen üretimi şeftali posasında bulunan doğal mikroorganizmalar tarafından sağlanmıştır. İkinci aşamada KF sonucu oluşan çıkış suyu elektrohrolize tabi tutularak toplam hidrojen üretimi arttırılmıştır. KF'de optimum C/N/P/Fe/Ni oranı 100/2.09/3.89/0.047/0.043 olarak bulunmuştur. Optimum şartlarda HÜV ve HÜH sırasıyla 460.93 mL-H₂/gCOD ve 2.44 mL-H₂/sa olarak rapor edilmiştir. İkinci aşamada elektrohroliz ile 310 saatlik alıkonma süresinde 30.09 mL-H₂/mL-reaktör hidrojen oluşumuna ulaşılmıştır (Argun ve Dao, 2016).

Kargı ve diğ. (2012) yaptıkları çalışmada peynir altı suyu tozundan termofilik şartlarda (55°C) hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Yürütülen çalışmada (0.48-2.86) g/L aralığında başlangıç aşısı konsantrasyonunun hidrojen üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. 1.92 g/L başlangıç aşısı konsantrasyonunda en yüksek HÜV (1.56 mol-H₂/mol-glikoz), HÜH (3.45 mL-H₂/sa) ve KH (633 mL-H₂) değerlerine ulaşılmıştır (Kargı ve diğ. 2012).

Dhar ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada sıralı (ardışık) KF ve mikrobiyal elektroliz hücresi prosesini kullanarak şeker pancarından hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Birinci basamakta (1-8) gCOD/gVSS aralığında substrat/aşısı oranının (S/X) hidrojen üretimine etkisini araştırmışlardır ve 2 ile 4 S/X oranında maksimum HÜV'ye ulaşmışlardır. Yürütülen deneyler sonucunda KF'de maksimum 3.2 mol H₂/mol heksoz HÜV'ye ulaşılmış olup mikrobiyal elektroliz hücresi ile birlikte toplamda 6 mol H₂/mol heksoz HÜV'ye ulaşılmıştır (Dhar ve diğ. 2015).

Doi ve diğ. (2010) pirinç kök (rizosfer) bakterilerini kullanarak elma posasından hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. pH 6 seviyesinde, 35 °C sıcaklıkta ve kesikli işletme şartlarında 2.3 mol H₂/mol heksoz HÜV'ye ulaşmışlardır (Doi ve diğ. 2010).

Azman ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada merkezi kompozit deney tasarımını kullanarak pirinç kepeğinden (yağsız) hidrojen üretiminde üç farklı parametrenin etkisini incelemiştir. Deney tasarımında bağımsız değişkenler olarak sıcaklık, başlangıç pH ve mikroorganizma aşısı oranı (% v/v) seçilmiştir. Deney tasarımı ile optimum sıcaklık (°C), pH ve mikroorganizma aşısı oranı (% v/v) sırasıyla; 35.2, 5.5 ve 11.6 olarak bulunmuştur. Optimum koşullar için tekrarlanan deneyde KH ve HÜV sırasıyla; 572.5 mL-H₂ ve 132.2 mL-H₂/g şeker olarak bulunmuştur (Azman ve diğ. 2016).

Wang ve Jin (2009) yaptıkları çalışmada *Clostridium butyricum* W5 ile melasdan hidrojen üretiminde karbon ve azot kaynağı konsantrasyonunun, pH'nın, sıcaklığın ve mikroorganizma boyutunun hidrojen üretimine etkisini araştırmıştır. Optimum deney şartları; 100 g/L melas, 1.2 g/L NH₄NO₃, 39 °C, 6.5 pH, 9×10⁴ hücre/mL mikroorganizma olarak belirlenmiş olup 1.85 mol H₂/mol heksoz HÜV'ye ulaşılmıştır (Wang ve Jin, 2009).

Sinha ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada *Klebsellia pneumoniae* ve *Clostridium acetobutylicum* kültürünü birlikte kullanarak üç farklı substratın (kamış melası, nişasta şilempesi, içki fabrikası çıkış suyu) hidrojen üretimi üzerine etkisini araştırmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada KOİ giderim verimi % 50-70 aralığında olup kamış melası, nişasta şilempesi ve içki fabrikası çıkış suyu için maksimum HÜV sırasıyla 9.47, 8.72 ve 7.78 mol H₂/kg KOİ olarak rapor edilmiştir. HÜH ise sırasıyla 1125, 642 ve 790 mL/sa olarak belirlenmiştir (Sinha ve diğ. 2016).

Genç ve Özbay (2015) melas, patates fabrikası atıksuyu ve çikolata atığını asit hidrolizine tabi tutarak ön arıtmadan geçmiş substrat ile ön arıtmadan geçmemiş substratın hidrojen üretimine etkisini incelemiştir. Ön arıtmadan geçmemiş melas, patates fabrikası atıksuyu ve çikolata atığı için HÜH 2.2, 0.8 ve 2.2 mL H₂/dk olarak bulunurken ön arıtım yapılmış substrat için HÜH sırasıyla 4.6, 1.1 ve 1.5 mL H₂/dk olarak bulunmuştur. Ön arıtım işlemi melas ve çikolata atığında KH değerini sırasıyla % 171 ve 282 oranında arttırmıştır (Genç ve Özbay, 2015).

Argun ve Onaran (2016) atık kağıt havludan hidrojen üretiminde 0-6 g/L aralığında biyokütle konsantrasyonunun ve 5-40 g/L aralığında başlangıç glikoz konsantrasyonunun KF performansına etkisini araştırmıştır. Ardından elektrohizoliz prosesi ile hidrojen üretimi arttırılmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada optimum biyokütle ve glikoz konsantrasyonu sırasıyla 0.10 g/L ve 21.33 g/L olarak bulunmuştur. Optimum koşullarda 65.26 mL H₂ KH ve 1.53 mL H₂/sa HÜH değerine ulaşılmıştır. Elektrohizoliz prosesi için HÜV 30.12 mL H₂/mL reaktör hacmi olarak rapor edilmiştir (Argun ve Onaran, 2016).

Han ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada buğday unu hidrolizatından hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Kesikli işletilen deneylerde 10.69 g/L başlangıç glikoz konsantrasyonunda 1.9 mol-H₂/mol-glikoz HÜV'ye ulaşılmıştır (Han ve diğ. 2015).

Gonzalez del Campo ve diğ. (2012) meyve suyu fabrikası atık suyundan hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Yaptıkları çalışmada 5 pH seviyesi ve 26 °C'de 1.4 mol-H₂/mol-heksoz HÜV'ye ulaşmışlardır (Gonzalez Del Campo ve diğ. 2012).

Islam ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada iki kültürü birlikte kullanarak (*Clostridium thermocellum* ve *Clostridium thermosaccharolyticum*) şeker sorgumundan hidrojen üretmiştir. Gerçekleştirilen deneylerde *C. thermocellum*: *C.*

thermocellum aşı oranının (0:1-1.5:1 ve 1:0 v/v), substrat konsantrasyonunun (2.5-15.0 g/L) ve *C. thermocellum* aşılama saatinin (0-48 sa) etkisi araştırılmıştır. Optimum şartlar sırasıyla 1:1 aşı oranı, 24. saat ve 5 g/L substrat konsantrasyonu olarak rapor edilmiştir. Bu şartlarda 5.1 mmol/g-substrat H₂’ye ulaşılmıştır (Islam ve diğ. 2017).

Zhang ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada dev panda (*Ailuropoda melanoleuca*) dışkısından karışık mikroorganizma kültürü izole ederek manyoktan hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Yürütülen deneylerde L-cystein’in KF performansına etkisi incelenmiş olup kontrol grubuna göre H₂’yi 1.6-2.0 kat arttırdığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda 688.36 mL H₂/L KH ve 152.86 mL/L.sa H₂’ye ulaşılırken 0.5 g/L L-cystein kullanılan durumda 725 mL H₂/L KH ve 307.54 mL/L.sa H₂’ye ulaşılmıştır (Zhang ve diğ. 2016).

Mamimin ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada palm yağı ile dekantör kekini birlikte kullanarak *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2 türü ile termofilik şartlarda hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Mikroorganizma konsantrasyonu optimum % 20 (v/v) olarak bulunmuş olup sürekli işletme şartlarında H₂ ve H₂ sırasıyla 7.2 L-H₂/L-palm yağı ve 18.1 mmol-H₂/L.sa olarak rapor edilmiştir (Mamimin ve diğ. 2016).

Fonseca ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyonlarda galaktoz kullanarak izole ettikleri mikroorganizma (*Clostridium beijerinckii* Br21) ile hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. En yüksek hidrojen üretim performansı 35 °C, 7 başlangıç pH’sı ve 15 g/L galaktoz kullanımında gerçekleşmiştir. Yapılan çalışmada maksimum H₂ ve H₂ sırasıyla 117.45 mL-H₂/L.sa ve 2.02 mol-H₂/mol-galaktoz olarak rapor edilmiştir (Fonseca ve diğ. 2016).

Eker ve Sarp (2017) karanlık fermantasyon ile atık kağıttan hidrojen üretiminde başlangıç substrat ve biyokütle konsantrasyonunun etkisini araştırmıştır. Yapılan çalışmada 3.84 – 45.5 g/L aralığında başlangıç şeker konsantrasyonunun ve 0.25 - 2 g/L aralığında başlangıç biyokütle konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir. Başlangıç şeker konsantrasyonunun araştırıldığı çalışmada en yüksek H₂ değerine (1.01 mol H₂/mol şeker) 3.84 g/L şeker konsantrasyonunda ulaşılırken, başlangıç biyokütle konsantrasyonunun araştırıldığı çalışmada en yüksek H₂ değerine (0.34

mol H₂/mol şeker) 0.25 g/L biyokütle konsantrasyonunda ulaşıldığı rapor edilmiştir (Eker ve Sarp, 2017).

Ozmihci ve diğ. (2011) öğütölmüş buğday atığı hidrolizatından termofilik şartlarda (55 °C) hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir. Yapılan çalışmada 20 g/L başlangıç şeker konsantrasyonunda 0.52-2.58 g/L aralığında biyokütle konsantrasyonunun ve 1.5 g/L biyokütle konsantrasyonunda 4.2-23.7 g/L aralığında şeker konsantrasyonunun KF performansına etkisi incelenmiştir. Birinci set deneyde en yüksek KH (582 mL) ve HÜH (5.43 mL/sa) 1.32 g/L biyokütle kullanımında gerçekleşmiştir. Farklı substrat konsantrasyonu kullanılan çalışmada ise en yüksek KH (365 mL) 19.25 g/L toplam şeker kullanımında gerçekleşirken en yüksek HÜH (12.95 mL/sa) ve HÜV (200 mL H₂/g-toplam şeker) 4.2 g/L toplam şeker kullanımında gerçekleşmiştir (Ozmihci ve diğ. 2011).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Substrat

Bu tez kapsamında Afyonkarahisar Şeker Fabrikasından temin edilen atık melas substrat olarak kullanılmıştır.

Melas; koyu kahverengi renkli, yüksek KOİ içeren endüstriyel bir yan üründür ve deşarj edilebilmesi için özel arıtım gerekmektedir. Karbonhidrat, nütrient, iz element vb. içeriğinden dolayı hidrojen üretimi için potansiyel bir substrattır. Hidrojen üretimi amacıyla kullanıldığında hem yakıt üretimi gerçekleştirilmekte hem de atığın stabilizasyonu sağlanabilmektedir.

Tablo 3.1 Melasın genel özellikleri

Bileşen	Konsantrasyon
Toplam Organik Karbon (TOC)	0.51 kg/L
Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)	1.48 kg/L
Glikoz	0.74 kg/L
Toplam fosfor	0.20 g/kg
Toplam Kjeldahl Azotu (TKN)	9.5 g/kg

TOC, toplam fosfor ve TKN konsantrasyonu sırasıyla BS ISO 1871:2009, BS EN 14672:2005 ve BS-EN 13137 standart metotlarına göre belirlenmiştir. Glikoz konsantrasyonu asit fenol yöntemiyle (DuBois ve diğ. 1956), KOİ konsantrasyonu ise standart metotlarla (Rice ve diğ. 2012) belirlenmiştir.

3.2 Mikroorganizma

Deneylerde aşı olarak Denizli – Karahayıt yöresindeki doğal termal havuzlardan temin edilen çamur kullanılmıştır. Karahayıt bölgesinde jeotermal alanda gerçekleştirilen çevre ve hidrojeoloji çalışmasında su sıcaklığının 33- 61.5 C° arasında değişebildiği ve termal suyun genelde Ca-SO₄-HCO₃ tipinde olduğu rapor edilmiştir (Gokgoz ve diğ. 2010). Çamurdaki bikarbonat içeriği ve çamurun nötral pH'a sahip olması deneyler esnasında pH düşmelerine karşı tamponlama etkisi göstermiş ve bu durum ortam pH stabilizasyonunun sağlanmasına katkıda bulunmuştur. Mikroorganizmalar aşılardan önce metanojenik faaliyeti engellemek amacıyla bir saat kaynatma işlemine tabi tutulmuştur ve sonrasında herhangi bir ara büyötmeye tabi tutulmadan mezofilik şartlarda hidrojen üretimi gerçekleştirmek üzere aşılalmıştır.

3.3 Deneysel Çalışmalar ve Analitik Yöntemler

KF deneyleri kesikli işletme şartlarında 37 °C'de inkübatörde gerçekleştirilmiştir. DT, AYK ve İB'nin etkisinin incelendiği deneyler 310 mL'lik serum şişelerinde 150 mL çalışma hacminde gerçekleştirilmiş olup SM'nin etkisinin incelendiği deneyler 610 mL'lik serum şişelerinde 90 mL çalışma hacminde gerçekleştirilmiştir.

Bütün deneylerde besi maddesi olarak melas kullanılmış olup C/N/P oranı KH₂PO₄ ilavesi ile 100/2/0.5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Melasın azot içeriği yeterli görüldüğünden (C/N/P: 100/2.52/0.053) dolayı azot ilavesi yapılmamıştır. Ortamda anaerobik şartların oluşumuna katkı sağlamak amacıyla 0.05 g/L L-Cystein.HCl kullanılmıştır. Mikrobiyal kültür, çalışma hacminin %10 (v/v)'u oranında aşılalmıştır. İnkübasyon öncesinde anaerobik koşulların devamlılığı için, şişe boşluk hacmi argon gazı ile süpürölmüştür.

AYK (% 95 CaCO₃) ilavesinin etkisinin incelendiği deneyde başlangıçta 0-20 g/L arasında AYK ilavesi yapılmış ve diğer koşullar aynı tutulmuştur.

DT ilavesinin etkisinin incelendiği aşamada başlangıçta 2.5-300 g/L arasında DT ilavesi yapılmış ve diğer koşullar aynı tutulmuştur.

İB ilavesinin yapıldığı çalışmada 5. Saatte % 10 (v/v) İB içeren kültür ilavesi yapılmış ve sonuçlar irdelenmiştir.

SM etkisini incelemek amacıyla BBİDT kullanılmış ve sonuçlar Design Expert 10.0 yazılımı ile analiz edilmiştir. Deney tasarımında seyreltme saati (X_1 , 1-7. sa), ilave su hacmi yüzdesi (X_2 , % 0-200) ve başlangıç KOİ konsantrasyonu (X_3 , 5-95 g/L) bağımsız değişkenler olarak seçilmiş olup HÜV ve HÜH amaç fonksiyonları olarak belirlenmiştir. Deney verileri (3.1) numaralı eşitlik ile korele edilerek SM için uygun model tespit edilmiştir.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_{11} + b_{22}X_{22} + b_{33}X_{33} \quad (3.1)$$

Burada Y amaç fonksiyonu (HÜV veya HÜH) b harfleri ise fonksiyon katsayılarıdır (b_0 : eşitlik sabiti, b_1 , b_2 , b_3 lineer, b_{12} , b_{13} , b_{23} etkileşim, b_{11} , b_{22} , b_{33} ise ikinci dereceden katsayılarıdır).

Toplam gaz ölçümü sıvı yer değiştirme metoduna göre yapılmıştır. Sıvı yer değiştirme çözeltisi olarak % 2 H_2SO_4 ve % 10 NaCl içeren bir çözelti kullanılmıştır. Örnekleme için 10 mL'lik enjektörler kullanılmış olup hidrojen gazı yüzdesini belirlemek amacıyla; fırın sıcaklığı (oven) 110 °C, giriş sıcaklığı (inlet) 230 °C, detektör (detector) sıcaklığı 250 °C olan Agilent-7820A markalı gaz kromatografisi (GC) kullanılmıştır. GC kolonu Supelco, CarboxenTM 1010 PLOT Fused Silica Capillary Column, 30m x 0.53 mm (U.S. Patents 5-549-445 ve 5-607-580) olup taşıyıcı gaz kaynağı olarak azot gazı (8 mL/dk) kullanılmıştır. GC kalibrasyonu için farklı konsantrasyonda analitik saflıkta hidrojen gazı kullanılmıştır. pH ve ORP ölçümleri HANNA 2211 markalı cihaz ve ilgili ölçüm probu yardımıyla belirlenmiştir. Glikoz, KOİ ve toplam uçucu yağ asidi (TUYA) konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla sırasıyla; asit-fenol yöntemi (DuBois ve diğ. 1956), standart metotlar (Rice ve diğ. 2012) ve Merck (Spectroquant, 1.01763. 0001) UYA belirleme kitleri kullanılmıştır.

Deney sürecince oluşan KH gazı hacmi eşitlik (3.2)'e göre hesaplanmıştır. HÜH, KH grafiğinde eğimin hesaplanmasıyla belirlenmiştir. HÜV eşitlik (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır. SM etkisinin incelendiği deneyde ise HÜV, KH'nin deney çalışma hacmine bölünmesiyle elde edilmiştir.

$$V_{H_2, i} = V_{H_2, i-1} + V_W * C_{H_2, i} + (V_{G, i} * C_{H_2, i} - V_{G, i-1} * C_{H_2, i-1}) \quad (3.2)$$

Burada $V_{H_2, i}$ = Kümülatif H_2 hacmi (mL), $V_{H_2, i-1}$ = Kümülatif H_2 hacmi (i-1)'inci değeri, V_W = Ölçülen toplam gaz (mL), $C_{H_2, i}$ = GC'de ölçülen H_2 gazı konsantrasyonu (%), $V_{G, i}$ = Fermentör sıvısı üstü hava boşluk hacmi (mL), $V_{G, i-1}$ = Fermentör sıvısı üstü hava boşluk hacmi (i-1)'inci değeri (mL), $C_{H_2, i-1}$ = GC'de ölçülen H_2 gazı konsantrasyonu (i-1)'inci değeri (%)'dir. Birim atık giderimi başına üretilen hidrojen verimi ise eşitlik 3.3 kullanılarak belirlenmiştir.

$$Y = \frac{\Delta H_2}{\Delta S} \quad (3.3)$$

Burada, Y = mL H_2 /g substrat, ΔH_2 = Kümülatif H_2 miktarı (mL) ve ΔS = tüketilen substrat (KOİ)'dir.

Gerçekleştirilen çalışmada DT Pamukkale Üniversitesi Marangoz Atölyesinden, İB'ler Denizli Gümüşsu Arıtma Tesisinden temin edilmiştir. AYK ise evsel kullanım sonucu oluşan yumurta atıklarının biriktirilmesi ile elde edilmiştir.

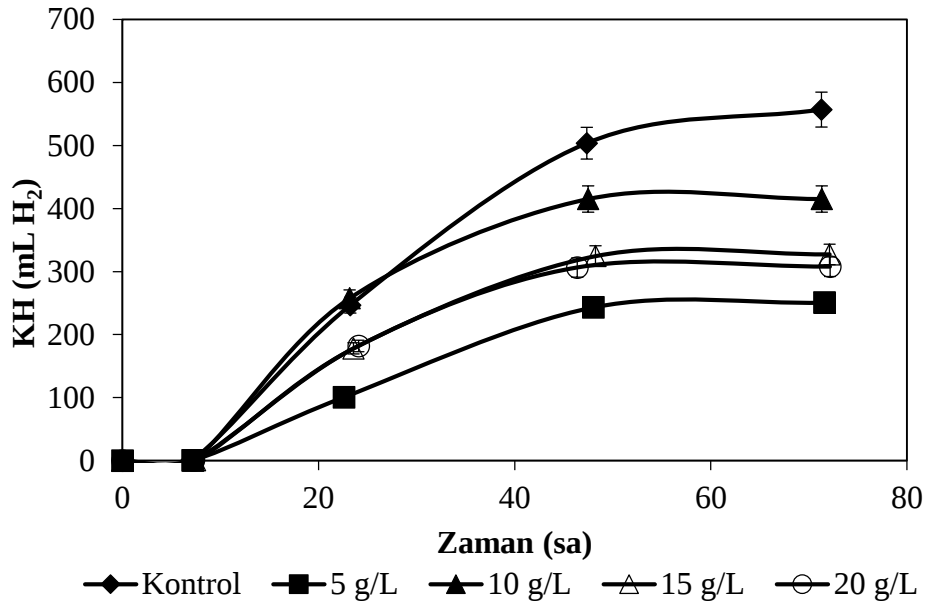
4. BULGULAR

4.1 Atık Yumurta Kabuğunun Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H₂ Üretimine Etkisi

Bu basamakta CaCO₃ içeriği yüksek AYK'nın KF ortamına ilavesiyle UYA inhibisyonunun azaltılması amaçlanmıştır. UYA anyonlarının Ca⁺² iyonu ile oluşturacağı reaksiyon gereği (4.1) (Blinkova ve Eliseev, 2005) tuz oluşumu sağlanarak UYA inhibisyon etkisinin azaltılması hedeflenmiştir. Bu amaçla stokiometrik oran dikkate alınarak 5-20 g/L arasında AYK konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir.



Şekil 4.1'de farklı konsantrasyonlarda AYK konsantrasyonları için KH değerinin zamana göre değişimi görülmektedir. Kontrol deneyi dikkate alındığında AYK'nın hidrojen üretimini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Yapılan UYA analizlerinde AYK kullanılan deneylerle kontrol deneyleri arasında UYA oluşumu bakımından fark olmadığı bulgulanmıştır. Burada kontrol terimi AYK ilavesi yapılmamış KF'yi ifade etmektedir.



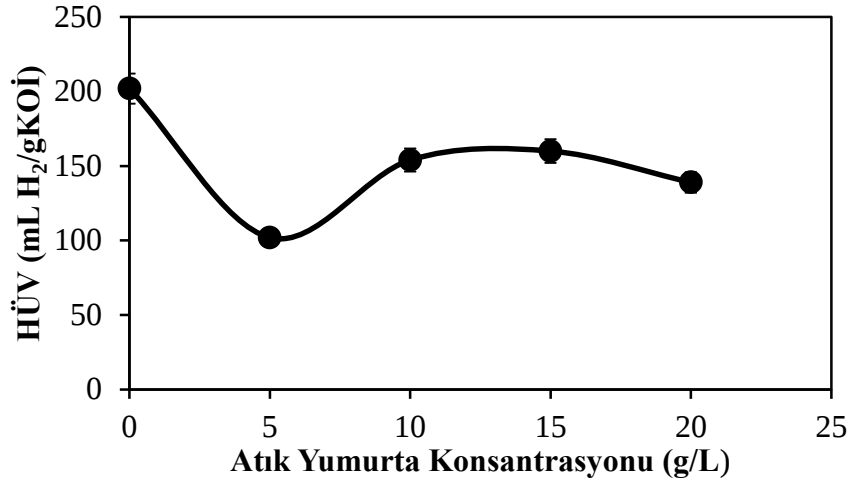
Şekil 4.1: Farklı konsantrasyonlarda AYK (g/L) için KH (mL) değerinin zamana (saat) göre değişimi

Tablo 4.1’de deney başlangıcı ve sonundaki KOİ, glikoz ve TUYA konsantrasyonları verilmiştir. KOİ giderimi % 51-37 arasında glikoz tüketimi ise % 97-93 arasında değişiklik göstermiştir. KOİ gideriminin glikoza göre düşük olmasının nedeni melasın melanoidin gibi biyolojik olarak parçalanması zor maddeler içermesi ve UYA oluşumunun KOİ’ye katkısıyla açıklanabilir.

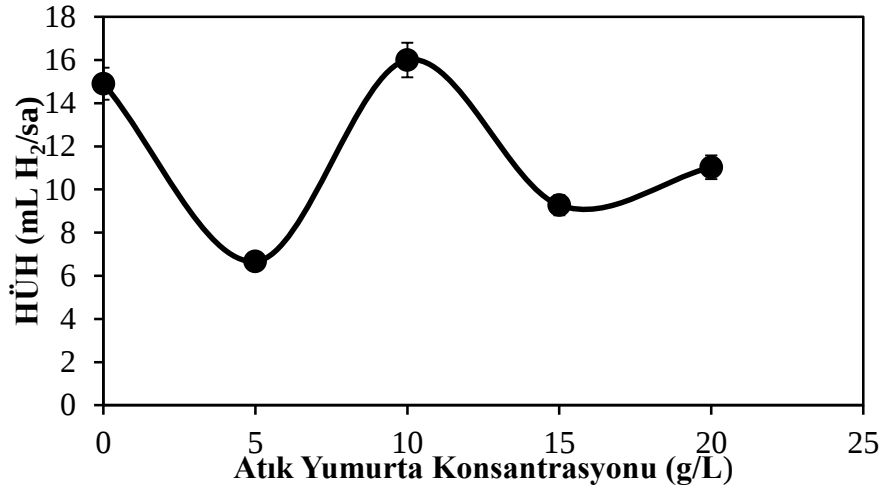
Tablo 4.1: AYK deneyi başlangıç ve son glikoz, KOİ ve TUYA konsantrasyonları.

AYK konsantrasyonu (g/L)	Glikoz ₀ (g/L)	Glikoz _ç (g/L)	KOİ ₀ (g/L)	KOİ _ç (g/L)	TUYA ₀ (g/L)	TUYA _ç (g/L)
Kontrol	20.72	0.63	35.98	17.61	1.33	7.20
5	20.72	1.16	35.98	19.69	1.33	7.48
10	20.72	1.32	35.98	18.10	1.33	7.30
15	20.72	1.16	35.98	22.39	1.33	8.31
20	20.72	1.15	35.98	21.28	1.33	7.80

Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’te farklı konsantrasyonlarda AYK’nın HÜV ve HÜH’e olan etkileri görülmektedir. Kontrol deneyi dikkate alındığında melastan hidrojen üretiminde AYK’nın KF performansına olumlu etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 4.2: HÜV'ün farklı AYK konsantrasyonlarına göre değişimi



Şekil 4.3: HÜH'ün farklı AYK konsantrasyonlarına göre değişimi

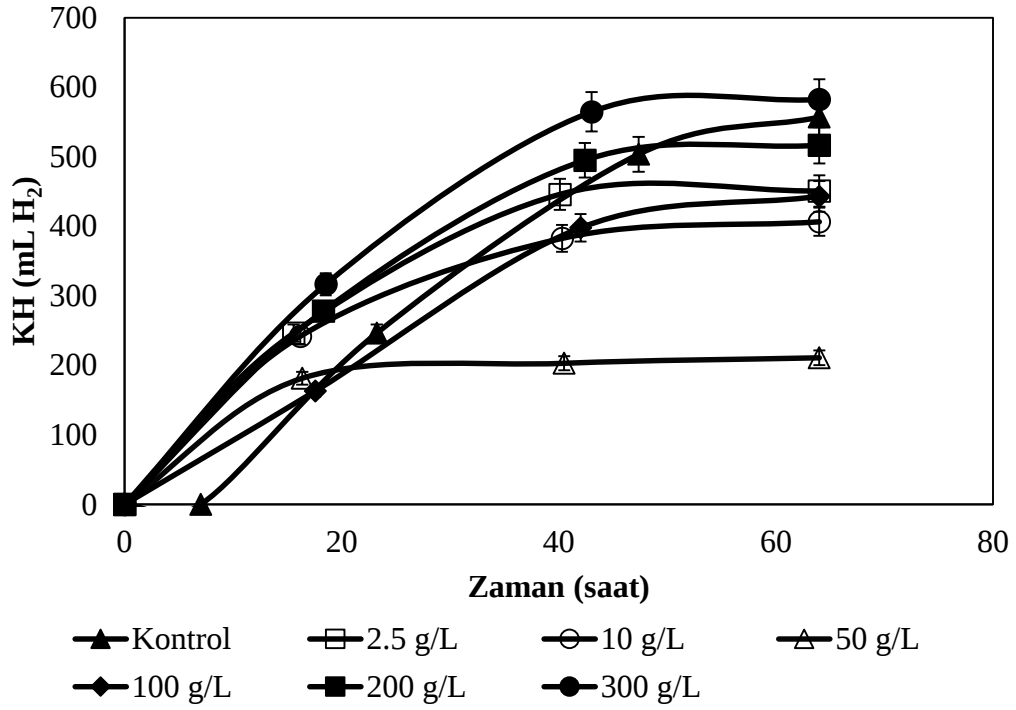
UYA analizleri incelendiğinde AYK'daki CaCO_3 'ün beklenildiği üzere UYA tuzları oluşturmadığı görülmektedir ve GC ölçümlerinde % 50'nin üzerinde CO_2 yüzdelere rastlanmıştır. CaCO_3 suda kireç ve bikarbonat oluşuma neden olmaktadır. Ca^{+2} gibi metaller UYA'lar dışında fosfat, sülfat gibi anyonlarla da tuzlar oluşturmaktadır. CaCO_3 'ün UYA tuzları yerine sülfat veya fosfat tuzları oluşturması, bikarbonat ve kirecin ortam alkalinitesine etkisi, UYA konsantrasyonunda düşüş olmaması, AYK'nın ortamdaki glikozu veya diğer faydalı kimyasalları adsorplaması, kabuktaki minerallerin inhibisyona neden olması gibi sebepler hidrojen üretim performansında artış olmamasına neden olmuş olabilir.

4.2 Demir Tozu Konsantrasyonunun Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H₂ Üretimine Etkisi

Bu basamakta KF ortamına DT ilavesi yaparak UYA inhibisyonunun engellenmesi amaçlanmıştır. UYA anyonları ile demir iyonları arasındaki reaksiyonlar gereği (4.2, 4.3, 4.4, 4.5) (Jin ve diğ. 2015; Yu ve diğ. 2015) UYA tuzlarının oluşumu hedeflenmiş ve KF ortamına 2,5-300 g/L aralığında DT ilavesi yapılmıştır.



Şekil 4.4'te farklı DT konsantrasyonları için KH değerinin zamana göre değişimi görülmektedir. 300 g/L DT konsantrasyonunda en yüksek KH değerine ulaşıldığı görülmektedir ancak yapılan UYA analizleri sonucunda UYA konsantrasyonunda beklenen düzeyde bir düşüş gözlemlenmemiştir. Bu durumun UYA'ların fermentasyon ortamında tuz ve hidrojen iyonlarına yeterince ayrılmamış olmasından kaynaklanmış olabileceği tahmin edilmektedir.



Şekil 4.4: Farklı konsantrasyonlarda DT (g/L) için KH (mL) değerinin zamana (saat) göre değişimi

Tablo 4.2’de DT deneyi için başlangıç ve çıkış KOİ, glikoz, TUYA konsantrasyonları verilmiştir.

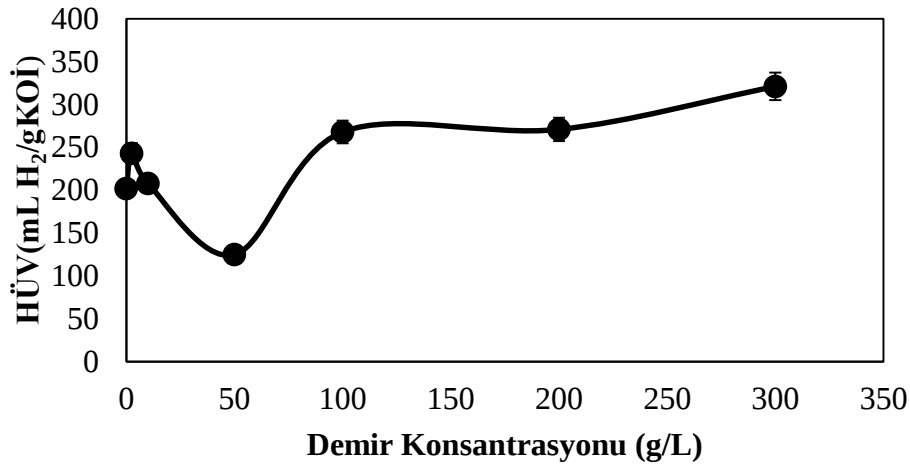
Tablo 4.2: DT deneyi için başlangıç ve çıkış KOİ, glikoz, TUYA konsantrasyonları

DT konsantrasyonu (g/L)	Glikoz ₀ (g/L)	Glikoz _ç (g/L)	KOİ ₀ (g/L)	KOİ _ç (g/L)	TUYA ₀ (g/L)	TUYA _ç (g/L)
Kontrol	20.72	0.63	35.98	17.61	1.33	7.20
2.5	20.58	1.39	33.32	20.95	1.61	6.98
10	20.58	1.67	33.32	20.27	1.61	8.06
50	20.58	1.18	33.32	22.07	1.61	6.94
100	20.58	1.17	33.32	22.29	1.61	8.56
200	20.58	0.90	33.32	20.61	1.61	8.72
300	20.58	0.67	33.32	21.23	1.61	7.00

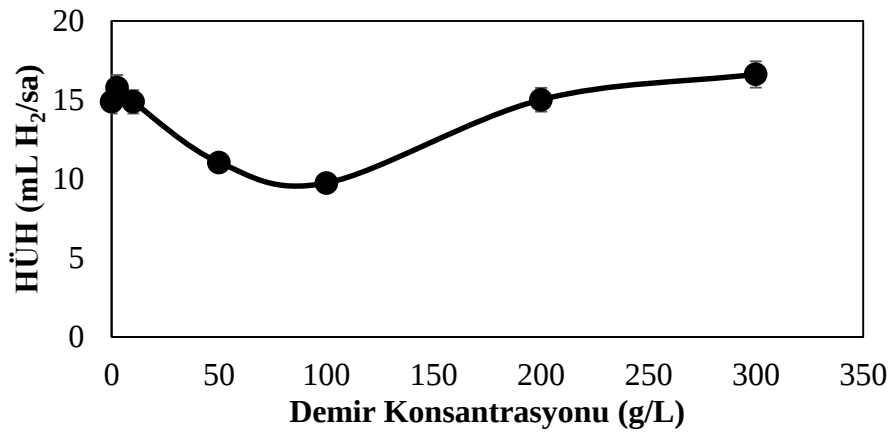
DT deneyinde glikoz, KOİ tüketimi ve TUYA oluşumu bakımından AYK deneyine benzer sonuçlar görülmektedir. Gerçekleştirilen deneyler sonucunda % 92’nin üzerinde glikoz tüketimi, % 33-39 arasında (DT kullanılmayan deney

dışında) KOİ tüketimi gözlemlenmiştir. DT'nin TUYA uzaklaştırılmasına etkisi gözlemlenmemiştir.

Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da farklı konsantrasyonlarda DT'nin HÜV ve HÜH'e olan etkileri görülmektedir. Fe^{+3} hidroksil iyonu ile birleştiğinde $Fe(OH)_3$ olarak suda çözünme özelliği gösterir. DT konsantrasyonunun artışı ortamdaki çözünmüş demir miktarını artırır. Bu durum mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu demir miktarını almalarını sağlar. DT konsantrasyonunun artmasıyla hidrojen üretim performansındaki göreceli artış bu sebeple açıklanabilir. Ancak UYA konsantrasyonunda bir azalma gözlemlenmemiştir. DT'nin UYA'lar yerine sülfat, fosfat gibi anyonlar ile tuz oluşturması, demirin UYA ile reaksiyonunun tersinir olması, ortam pH'ı, karıştırma hızı gibi çevre parametrelerin UYA tuzu oluşumuna etkisi bu duruma neden olarak gösterilebilir.



Şekil 4.5: HÜV'nin farklı DT konsantrasyonlarına göre değişimi

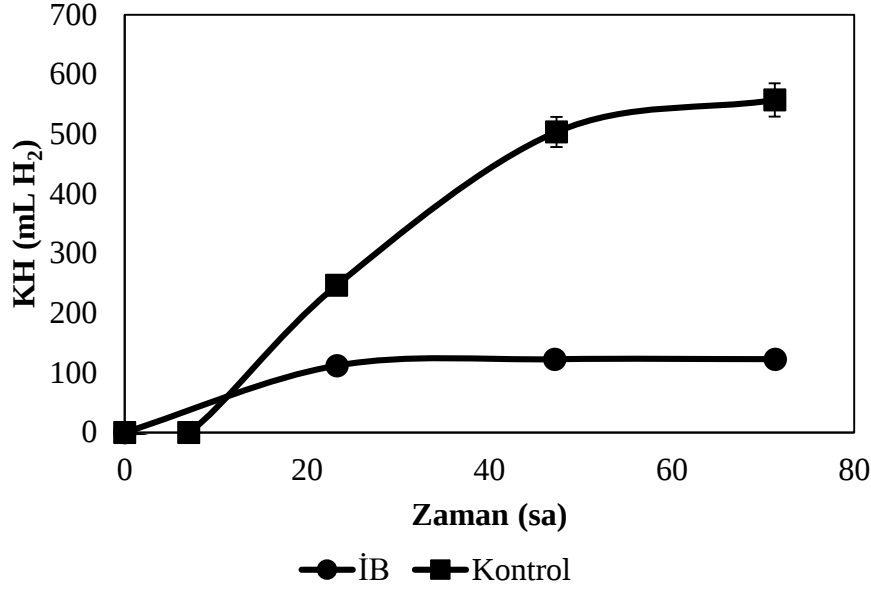


Şekil 4.6: HÜH'nin farklı DT konsantrasyonlarına göre değişimi

4.3 İpliksi Bakteri İçeren Aşı Çamuru İlavesinin Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H₂ Üretimine Etkisi

Bu basamakta İB içeren kültürün KF ortamına aşıl原因arak UYA inhibisyonunun engellenmesi ve hidrojen üretim performansının artırılması amaçlanmıştır. *Microthrix Parvicella* gibi İB'ler yağ asitlerini substrat olarak kullandığı ve anaerobik koşullarda bünyelerinde depolayabildiği bilinmektedir (Andreasen ve Nielsen, 2000; Noutsopoulos ve diğ. 2012). Bu durumun KF'de gerçekleşmesi halinde UYA inhibisyonunun engelleneceği öngörülerek İB ilavesinin hidrojen üretim performansına olumlu etkileri olup olmadığı araştırılmıştır.

Şekil 4.7'de İB içeren kültürün aşılandığı deney ile İB kullanılmayan deney arasında zamana göre KH karşılaştırılması yapılmaktadır. Şekilde görüldüğü üzere İB içeren kültür ilavesi KF performansını olumsuz etkilemiştir. İB içeren kültürün ortamdaki UYA'ları kullanmak yerine şekeri tüketmesi, diğer aşı kültürü ile rekabete girerek hidrojen üreten mikroorganizmaları inhibe etmesi, son ürünün hidrojen yerine farklı ürünlere kaymış olma ihtimali, transfer edilen kültürden olası inhibe edici kimyasalların transferi, İB'lerin ortamdaki adaptasyon süreci, İB'nin UYA yerine ortamdaki fosfatı depolaması ve ortamdaki fosforun eksilmesi ile fosfor limitlemesi olması, İB'lerin UYA'ları depolaması için yeterli stres koşullarının oluşmaması veya ilave edilen İB miktarının yüksek olması hidrojen üretim performansındaki düşüşe sebep olarak gösterilebilir.



Şekil 4.7: İB ilavesi ve İB ilavesi içermeyen şişe için KH (mL H₂) değerinin zamana (saat) göre değişimi

4.4 Seyreltme Metodunun Uçucu Yağ Asidi İnhibisyonu ve H₂ Üretimine Etkisi

SM'nin amacı KF ortamına ilave su ekleyerek UYA konsantrasyonunun düşürülmesi ve bunun sonucunda, UYA inhibisyonunun engellenmesidir. SM metodu uygulayabilmek için ilave su hacminin miktarı, suyun ilave edileceği süre ve başlangıç KOİ konsantrasyonu gibi temel parametrelerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu kapsamda SM etkisini incelemek amacıyla BBİDT kullanılmış ve sonuçlar Design Expert 10 yazılımı ile analiz edilmiştir. Deney tasarımı seyreltme saati (X_1 , 1-7. sa), ilave su hacmi yüzdesi (X_2 , % 0-200) ve başlangıç KOİ konsantrasyonu (X_3 , 5-95 g/L) bağımsız değişkenler olarak seçilmiş olup HÜV ve HÜH amaç fonksiyon olarak belirlenmiştir. Bu kapsamda BBİDT yöntemine göre 17 deneyden oluşan bir set tasarlanmıştır. Deneylerin tekrar edilebilirliğinin belirlenebilmesi amacıyla orta nokta 5 defa tekrar edilmiştir. Tablo 4.3'te ilgili deney değerleri ve amaç fonksiyonları için sonuçlar görülmektedir. HÜV 0.3-8.366 mL/mL_{çalışma hacmi} aralığında değişirken HÜH 0.66-16.34 mL H₂/mL sa aralığında değişim göstermiştir. Deney sonuçları Design Expert yazılımının önerdiği kuadratik model kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda HÜV için $R^2 = 0.80$ bulunurken HÜH için $R^2 =$

0.95 bulunmuştur. R^2 'nin 1'e yakın olması sonuçların birbiriyle uyumlu olduğunu göstermektedir. Eşitlik 4.1 ve 4.2'de HÜV ve HÜH için gerçek değerlerle oluşturulmuş model eşitliği, Eşitlik 4.3 ve 4.4'de kodlanmış değerlerle oluşturulan model eşitliği gösterilmiştir. Lineer katsayılar bakıldığında (b_1 , b_2 , b_3) bağımsız değişkenlerin HÜV ve HÜH'yi farklı oranlarda etkilediği görülmektedir.

$$\begin{aligned} H\ddot{U}V = & -0.46564 + 0.15861X_1 + 0.029947X_2 + 0.13943X_3 - 0.00163833X_1X_2 \\ & + 0.00234444X_1X_3 + 0.000153667X_2X_3 - 0.030833X_1^2 - 0.000150800X_2^2 - \\ & 0.000971111X_3^2 \end{aligned} \quad (4.1)$$

$$\begin{aligned} H\ddot{U}H = & -2.09497 + 0.38333X_1 + 0.039936X_2 + 0.33999X_3 - 0.00247500X_1X_2 \\ & + 0.00186481X_1X_3 + 0.000215778X_2X_3 - 0.026847X_1^2 - 0.000189587X_2^2 - \\ & 0.00222722X_3^2 \end{aligned} \quad (4.2)$$

$$\begin{aligned} H\ddot{U}V = & 6.29 - 0.40 X_1 + 0.092 X_2 + 3.02 X_3 - 0.49 X_1X_2 + 0.32 X_1X_3 + 0.69 \\ & X_2X_3 - 0.28 X_1^2 - 1.51 X_2^2 - 1.97 X_3^2 \end{aligned} \quad (4.3)$$

$$\begin{aligned} H\ddot{U}H = & 13 + 0.043 X_1 + 0.29 X_2 + 6.58 X_3 - 0.74 X_1X_2 + 0.25 X_1X_3 + 0.97 \\ & X_2X_3 - 0.24 X_1^2 - 1.9 X_2^2 - 4.51 X_3^2 \end{aligned} \quad (4.4)$$

Tablo 4.3: Box-Behnken istatistiksel deney tasarımı değer ve sonuç tablosu

Deney No	Değişkenlerin gerçek ve kodlanmış değerleri			Sonuçlar			
	X ₁ Seyreltme zamanı (saat)	X ₂ İlave Su Hacmi (%)	X ₃ KOİ Konsantrasyonu (g/L)	Y ₁ HÜV (mLH ₂ /mL)		Y ₂ HÜH (mLH ₂ / sa)	
				Deneysel Sonuç	Model Tahmini	Deneysel Sonuç	Model Tahmini
1	4.00 (0)	100.00 (0)	50.00 (0)	6.288	6.29	13.00	13.00
2	4.00 (0)	200.00 (+1)	95.00 (+1)	6.422	6.61	13.94	14.44
3	1.00 (-1)	100.00 (0)	5.00 (-1)	0.355	1.75	0.66	1.87
4	4.00 (0)	100.00 (0)	50.00 (0)	6.288	6.29	13.00	13.00
5	1.00 (-1)	100.00 (0)	95.00 (+1)	7.155	7.15	15.16	14.54
6	4.00 (0)	100.00 (0)	50.00 (0)	6.288	6.29	13.00	13.00
7	7.00 (+1)	0.00 (-1)	50.00 (0)	4.311	4.50	11.48	11.36
8	4.00 (0)	0.00 (-1)	95.00 (+1)	3.844	5.05	10.58	11.92
9	1.00 (-1)	0.00 (-1)	50.00 (0)	5.522	4.32	10.50	9.79
10	7.00 (+1)	200.00 (+1)	50.00 (0)	2.5	3.70	9.74	10.45
11	7.00 (+1)	100.00 (0)	95.00 (+1)	8.366	6.97	16.34	15.13
12	1.00 (-1)	200.00 (+1)	50.00 (0)	5.677	5.49	11.73	11.85
13	4.00 (0)	0.00 (-1)	5.00 (-1)	0.588	0.40	1.19	0.69
14	4.00 (0)	200.00 (+1)	5.00 (-1)	0.4	-0.80	0.66	-0.67
15	7.00 (+1)	100.00 (0)	5.00 (-1)	0.3	0.31	0.83	1.46
16	4.00 (0)	100.00 (0)	50.00 (0)	6.288	6.29	13.00	13.00
17	4.00 (0)	100.00 (0)	50.00 (0)	6.288	6.29	13.00	13.00

Tablo 4.4 ve Tablo 4.5’de HÜV ve HÜH sonuçları için varyans analizleri (ANOVA) gösterilmiştir. HÜV ve HÜH modeli için p değerinin <0.05 olması modelin “anlamlı” olduğunu göstermektedir. Bu tablolarda değişkenlere bakıldığında p değeri 0.05’ten küçük olan X_3 , X_2^2 , X_3^2 terimlerinin hidrojen üretimi üzerinde önemli olduğu görülmektedir.

Tablo 4.4: HÜV için varyans analizi tablosu

İstatistiksel Parametreler	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	105.70	9	11.74	8.40	0.0052	önemli
X₁-Seyreltme zamanı	1.31	1	1.31	0.93	0.3661	
X₂-ilave su hacmi	0.067	1	0.067	0.048	0.8326	
X₃-KOI konsantrasyonu	72.87	1	72.87	52.09	0.0002	
X₁X₂	0.97	1	0.97	0.69	0.4333	
X₁X₃	0.40	1	0.40	0.29	0.6091	
X₂X₃	1.91	1	1.91	1.37	0.2805	
X₁²	0.32	1	0.32	0.23	0.6449	
X₂²	9.58	1	9.58	6.85	0.0346	
X₃²	16.28	1	16.28	11.64	0.0113	
Residual	9.79	7	1.40			
Lack of Fit	9.79	3	3.26			
Pure Error	0.000	4	0.000			
Cor Total	115.50	16				

Tablo 4.5: HÜH için varyans analizi tablosu

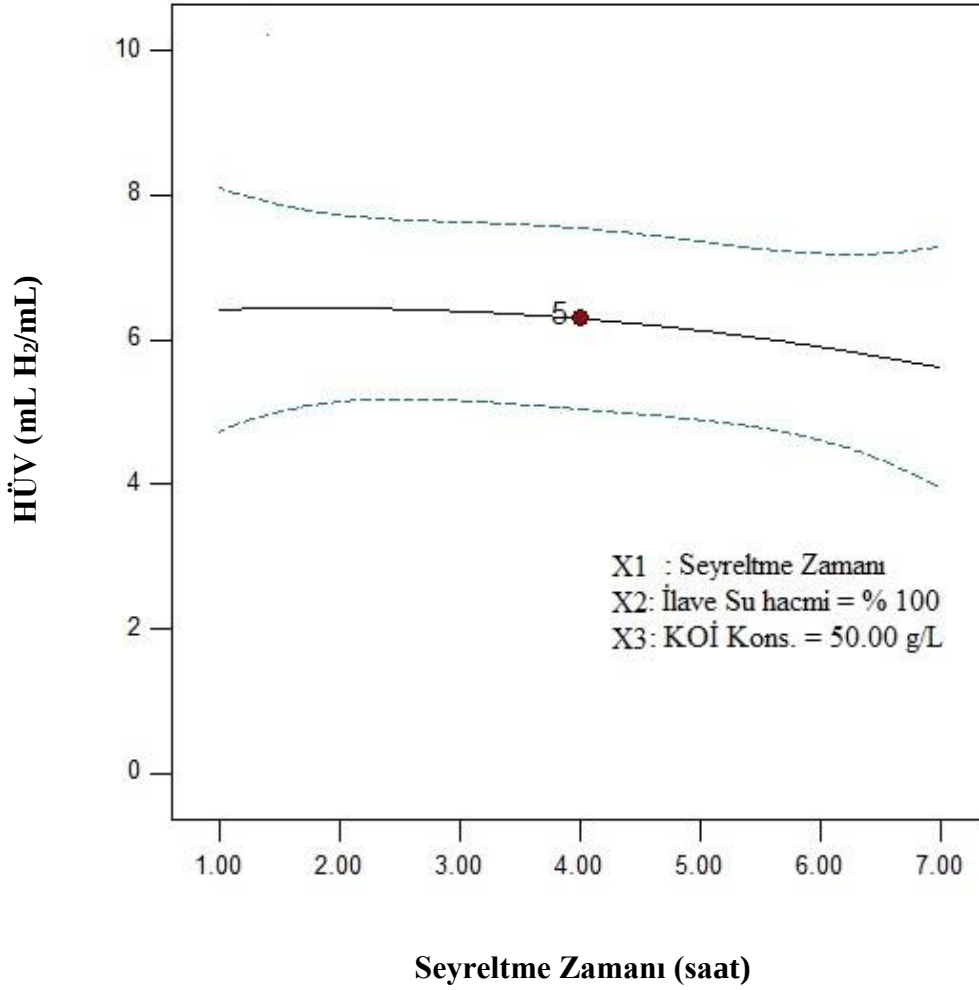
İstatistiksel Parametreler	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	460.07	9	51.12	40.49	< 0.0001	önemli
X₁-Seyreltme Zamanı	0.015	1	0.015	0.012	0.9171	
X₂-İlave su hacmi	0.68	1	0.68	0.54	0.4880	
X₃-KOİ konsantrasyonu	346.78	1	346.78	274.68	< 0.0001	
X₁X₂	2.21	1	2.21	1.75	0.2278	
X₁X₃	0.25	1	0.25	0.20	0.6676	
X₂X₃	3.77	1	3.77	2.99	0.1276	
X₁²	0.25	1	0.25	0.19	0.6723	
X₂²	15.13	1	15.13	11.99	0.0105	
X₃²	85.65	1	85.65	67.84	< 0.0001	
Residual	8.84	7	1.26			
Lack of Fit	8.84	3	2.95			
Pure Error	0.000	4	0.000			
Cor Total	468.91	16				

Tablo 4.4 ve Tablo 4.5'te lineer katsayılar incelendiğinde KOİ konsantrasyonunun HÜV ve HÜH üzerinde etkili olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Seyreltme zamanı ve ilave su hacmi için aynı durum söylenememektedir. Bu tablolarda etkileşim katsayılarına bakıldığında bu terimlerin hidrojen üretimi üzerinde etkisi olmadığı görülmektedir ($p > 0.05$). Kuadratik katsayılar bakıldığında

X_2^2 ve X_3^2 terimlerinin hem HÜV hem de HÜH üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$).

Eşitlik 4.1 ve 4.2’te model incelendiğinde lineer katsayıların HÜV ve HÜH üzerinde pozitif etki yaptığı ancak kuadratik katsayıların negatif etki yaptığı görülmektedir.

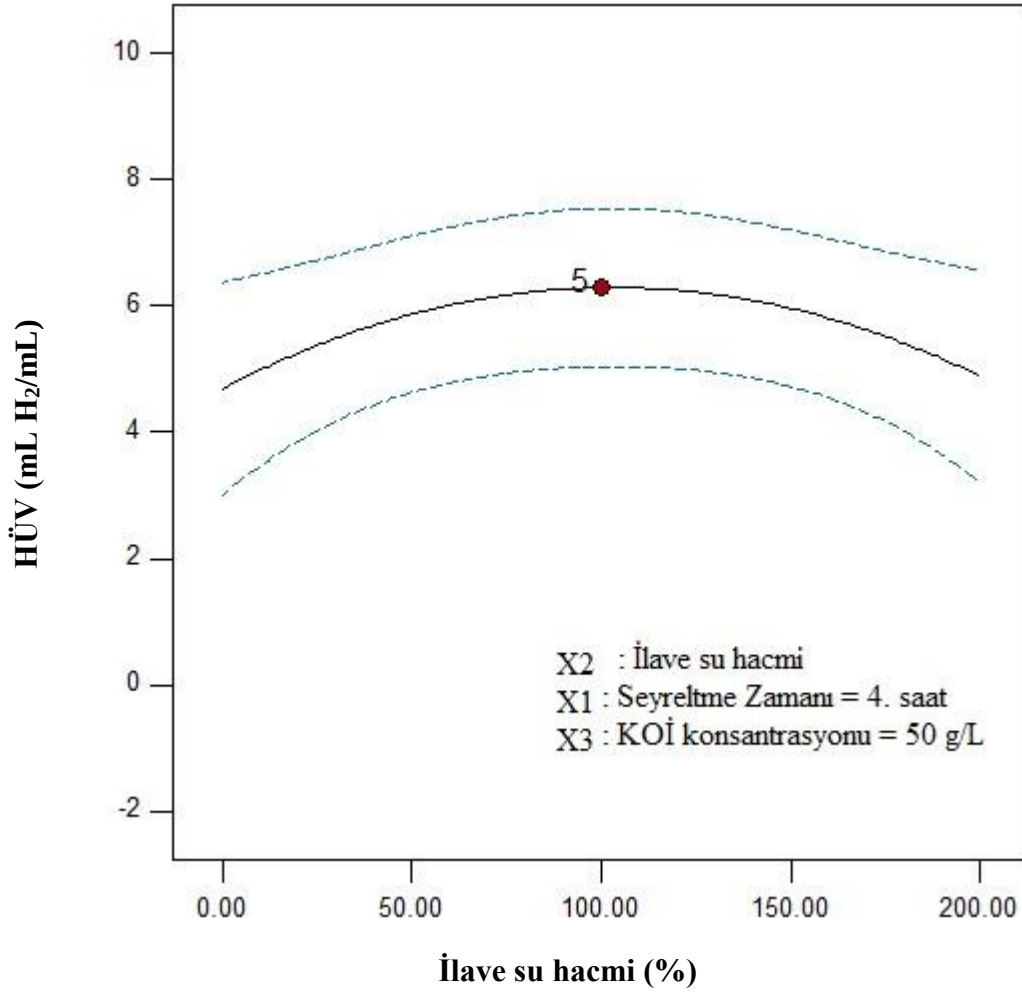
Şekil 4.8’de HÜV’nin seyreltme zamanına göre değişim grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.8: HÜV’nin seyreltme zamanına göre (saat) değişimi

Burada ilave su hacmi ile KOİ konsantrasyonunun sabit tutulduğu durumda seyreltme zamanının HÜV’yi nasıl etkilediği görülmektedir. Şekilden anlaşıldığı üzere seyreltme zamanının 1-7. saat aralığında değişimi HÜV üzerinde çok etkili olmamaktadır. 1 ve 7. saat aralığında UYA oluşumunda belirgin bir fark olmamış olabileceği bu duruma sebep olarak gösterilebilir.

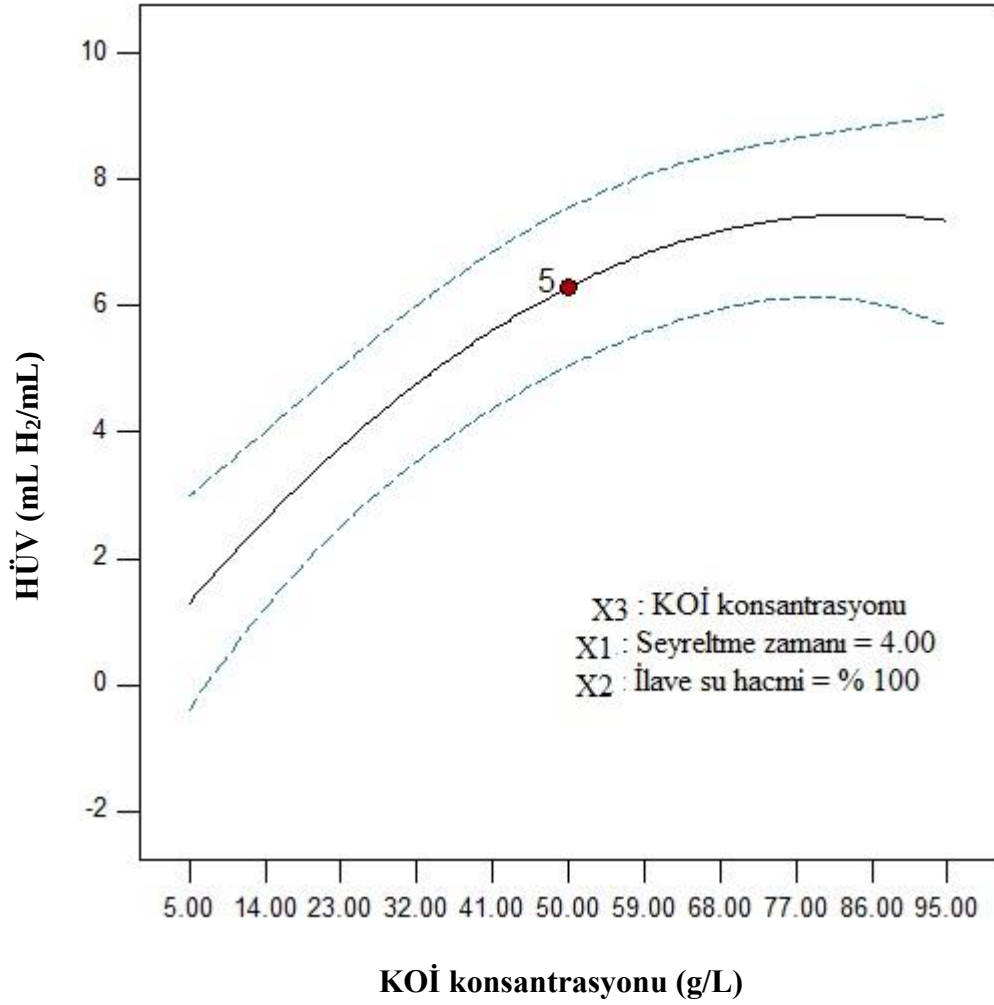
Şekil 4.9’da HÜV’nin ilave su hacmine göre değişim grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.9: HÜV'nin ilave su hacmine göre değişimi

Burada seyreltme zamanı ile KOİ konsantrasyonunun sabit tutulduğu durumda ilave su hacminin HÜV'yi nasıl etkilediği gösterilmiştir. İlave su hacmi seyreltme zamanı ile kıyaslandığında HÜV üzerinde daha etkili olmuştur. İlave edilen su oranı % 130 seviyelerine yaklaştıkça HÜV artmış ve bu seviyeden uzaklaştıkça HÜV değerinde düşüş olmuştur. İlave su hacmi düşük olduğunda ortamdaki UYA'ların yeterince seyreltilmemiş olduğu için inhibisyon etkisine devam etmesi, ilave su hacmi yüksek olduğu durumdada da UYA'larla birlikte şekerlerin, gerekli nütrientlerin seyreltilmiş olması bu duruma sebep olarak gösterilebilir.

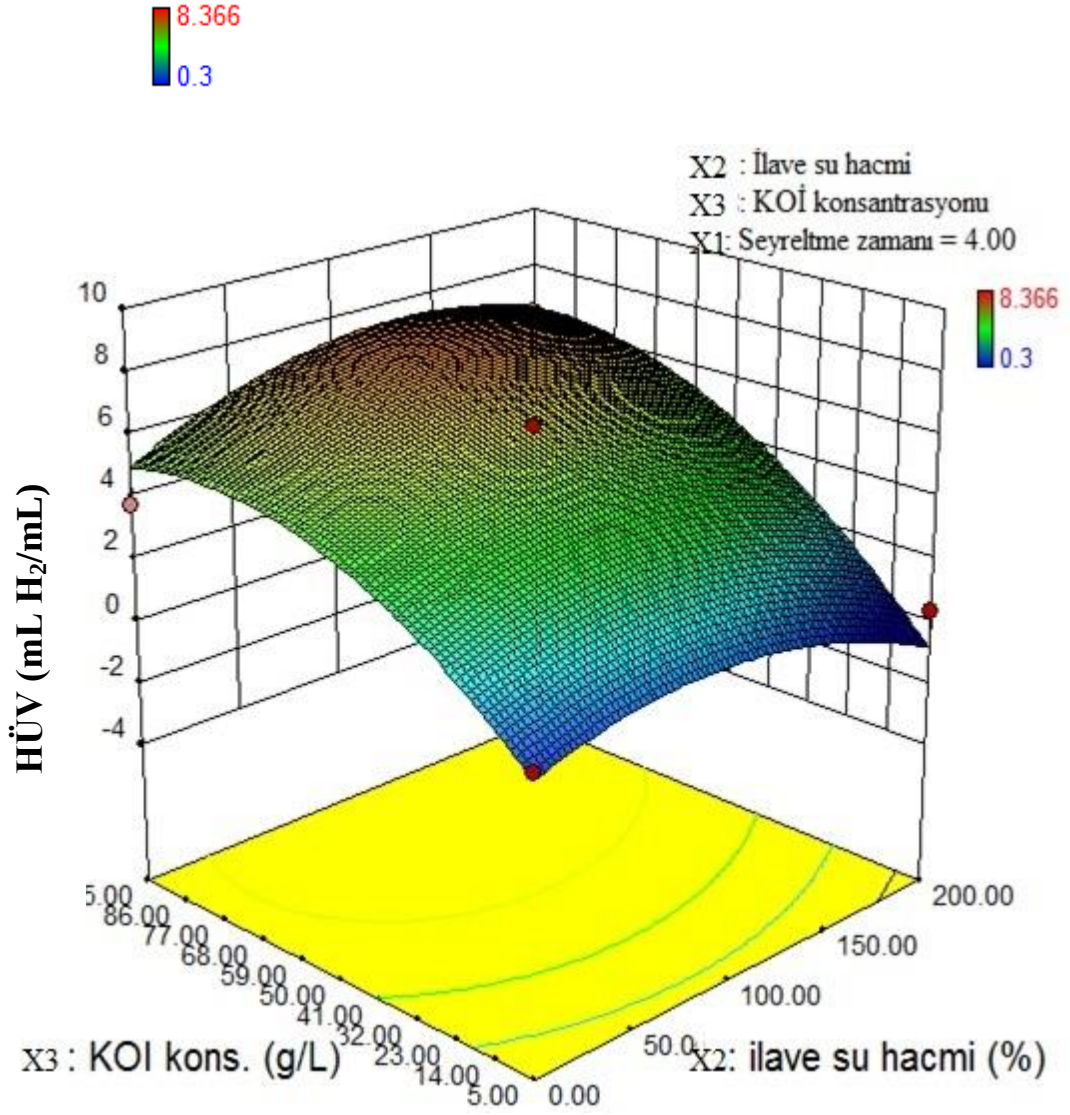
Şekil 4.10'da HÜV'nin KOİ konsantrasyonuna göre değişim grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.10: HÜV'nin KOİ konsantrasyonuna göre değişimi

Burada seyreltme zamanı ile ilave su hacminin sabit tutulduğu durumda KOİ konsantrasyonunun HÜV'yi nasıl etkilediği gösterilmiştir. 5-95 g/L KOİ aralığında HÜV incelendiğinde KOİ 85 g/L seviyelerine çıktıkça HÜV artmakta bu seviyelerden sonra ise düşüşe geçmektedir. Bu durumun nedeni düşük KOİ konsantrasyonlarında substrat limitlemesi olması, yüksek KOİ konsantrasyonlarında ise substrat ve ürün inhibisyonu gerçekleşmesidir.

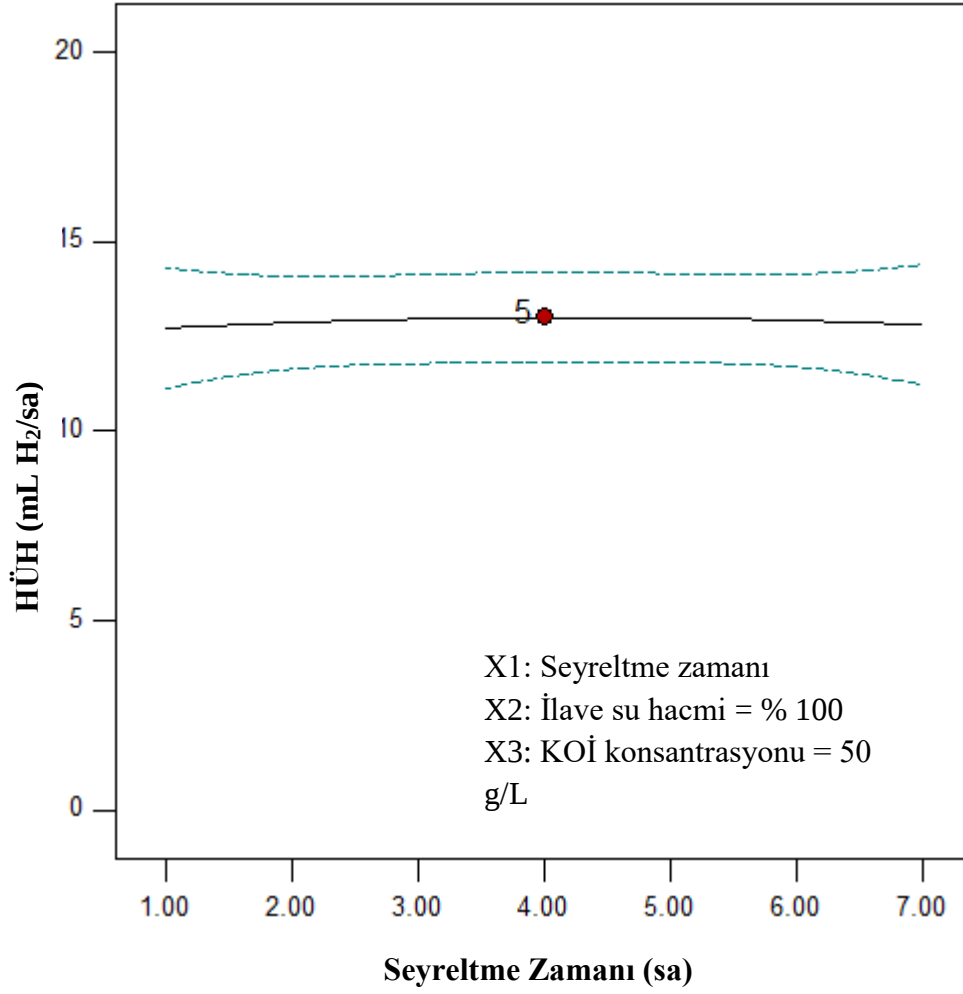
Şekil 4.11'de HÜV'nin KOİ konsantrasyonu ve ilave su hacmine göre değişimi üç boyutlu olarak gösterilmektedir.



Şekil 4.11: HÜV'nin KOİ konsantrasyonu ve ilave su hacmine göre değişimi

Burada şekil 4.9 ve şekil 4.10' ile uyumlu olarak KOİ konsantrasyonu ile ilave su hacminin HÜV'yi nasıl etkilediği görülmektedir. İlave su hacmi % 130, KOİ konsantrasyonu ise 85 g/L seviyelerine yaklaştıkça HÜV'de artış görülmektedir.

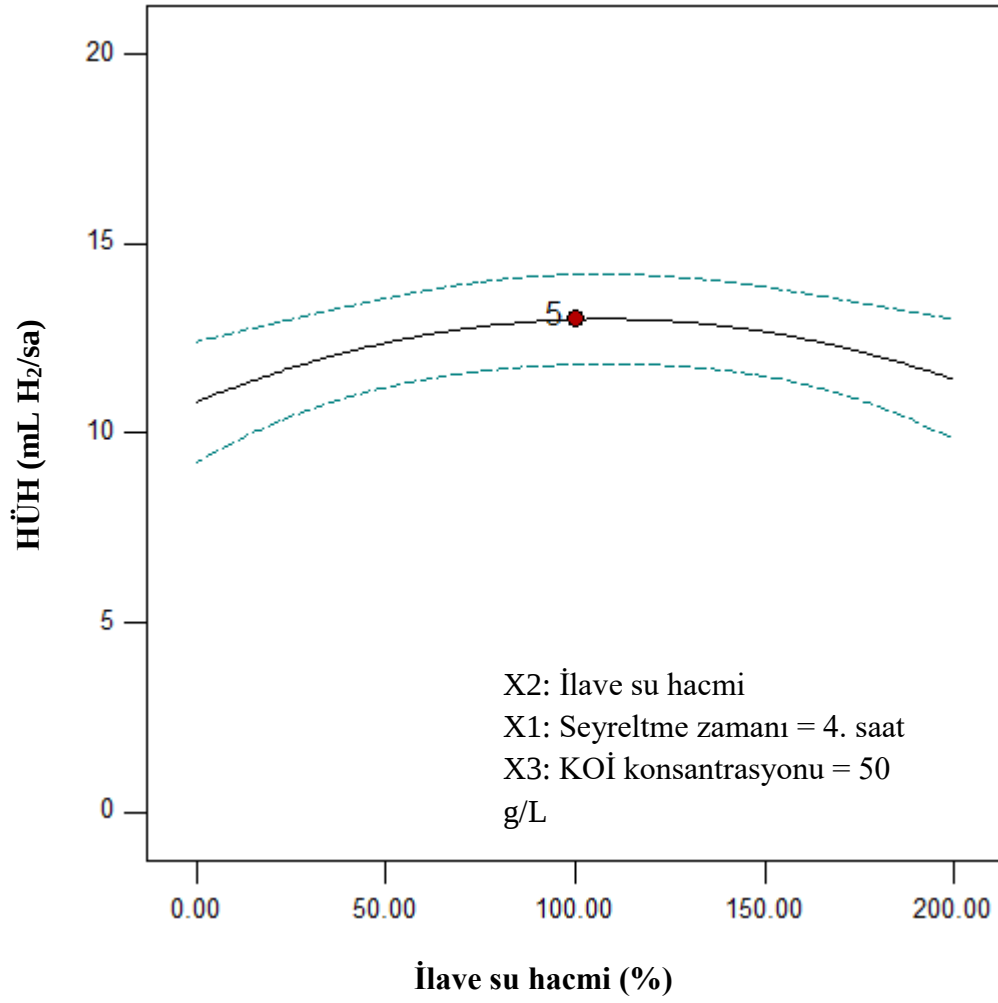
Şekil 4.12'de HÜH'nin seyreltme zamanına göre değişim grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.12: HÜH'nin seyreltme zamanına göre (sa) değişimi

Burada ilave su hacmi ile KOİ konsantrasyonunun sabit tutulduğu durumda seyreltme zamanının HÜH'yi nasıl etkilediği görülmektedir. Seyreltme zamanı 1 ve 7. Saat aralığında HÜV'de olduğu gibi HÜH üzerinde de etkili olmamıştır.

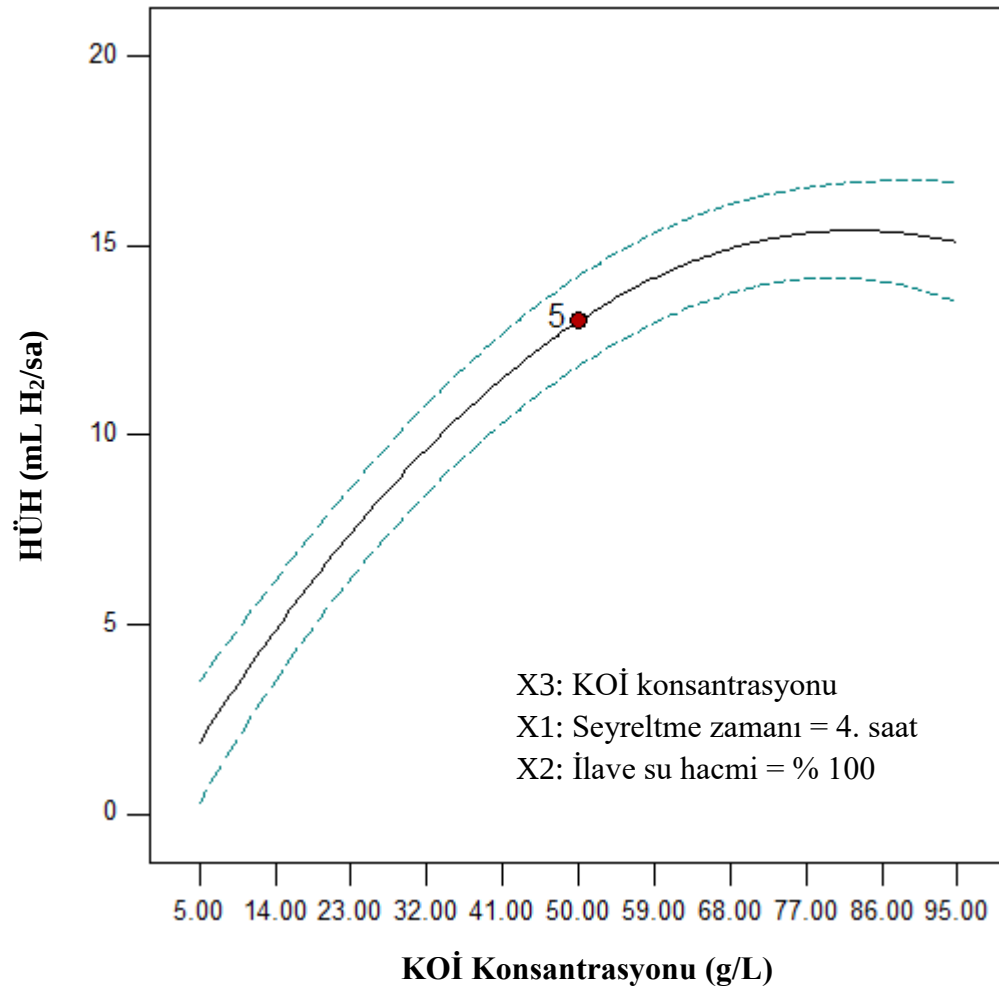
Şekil 4.13'de HÜH'nin ilave su hacmine göre değişim grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.13: HÜH'nin ilave su hacmine göre değişimi

Şekil 4.13'te ilave su hacmi % 130 seviyelerine yaklaştıkça HÜH'nin arttığı ve bu seviyeden uzaklaştıkça HÜH'nin azaldığı görülmektedir. İlave su hacmine göre HÜH'nin değişimi HÜV ile benzerlik göstermektedir.

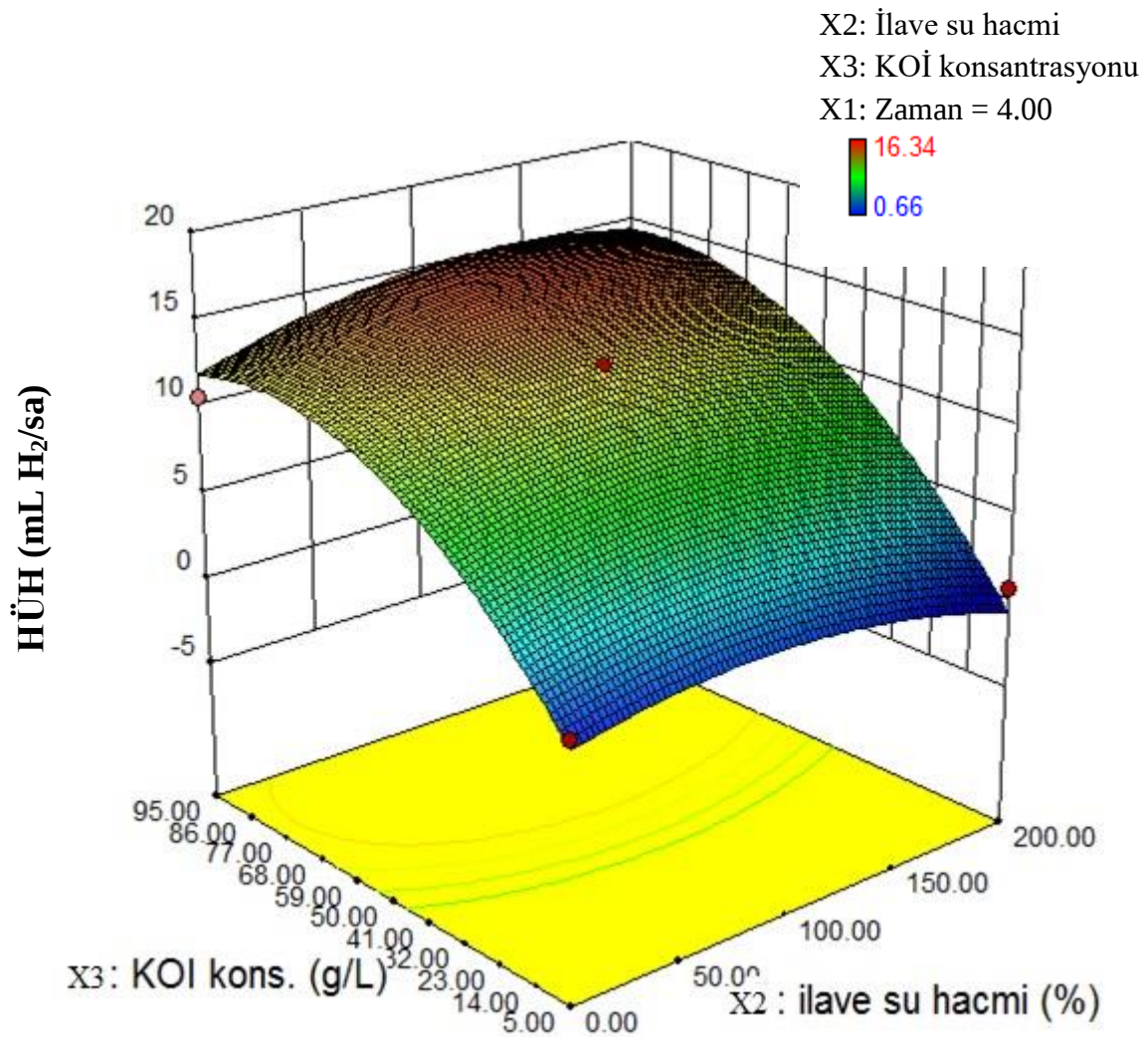
Şekil 4.14'te HÜH'nin KOİ konsantrasyonuna göre değişim grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.14: HÜH'nin KOİ konsantrasyonuna göre değişimi

Şekil 4.14'te KOİ konsantrasyonu 5 g/L'den 80-90 g/L'ye çıktıkça HÜH'nin arttığı ve bu konsantrasyonun üzerine çıktıkça HÜH'nin azalışa geçeceği görülmektedir.

Şekil 4.15'de HÜH'nin KOİ konsantrasyonu ve ilave su hacmine göre değişimi üç boyutlu olarak gösterilmektedir.



Şekil 4.15: HÜH'nin KOİ konsantrasyonu ve ilave su hacmine göre değişimi

Şekil 4.15'te KOİ konsantrasyonu ile ilave su hacminin ilişkisi şekil 4.14 ve şekil 4.15 ile uyumluluk göstermektedir. Burada, ilave su hacmi ve KOİ konsantrasyonunun sırasıyla % 130 ve 85 g/L seviyelerinde olduğu durumda maksimum HÜH'ye ulaşılabileceği görülmektedir.

Design Expert yazılımında optimizasyon çalışması yapılarak HÜV ve HÜH için uygun bağımsız değişkenler belirlenmiştir (X₁: 3. saat, X₂: % 130, X₃: 85 g/L). Bu koşullarda tahmin edilen HÜV değeri 7.56 mL H₂/mL (681.35 mL H₂) HÜH değeri ise 15.50 mL H₂/sa'dır. Bu koşulların doğrulanması için yapılan KF deneyi sonucunda HÜV ve HÜH için sırasıyla 7.7 mL H₂/mL (694.30 mL H₂) ve 21. 47 mL H₂/sa değerlerine ulaşılmıştır. Bu sonuçlar modelin uygulanabilirliğini göstermiştir. Şekil 4.16'da optimum koşullarda gerçekleştirilen deney ile seyreltme yapılmayan deney arasında zamana göre KH karşılaştırılması yapılmaktadır. Optimum koşullar ve seyreltme olmayan deney (85 g/L başlangıç KOİ konsantrasyonu, seyreltme yok) için sırasıyla 694.30 mL ve 304.3 mL H₂ KH değerlerine ulaşılmıştır.

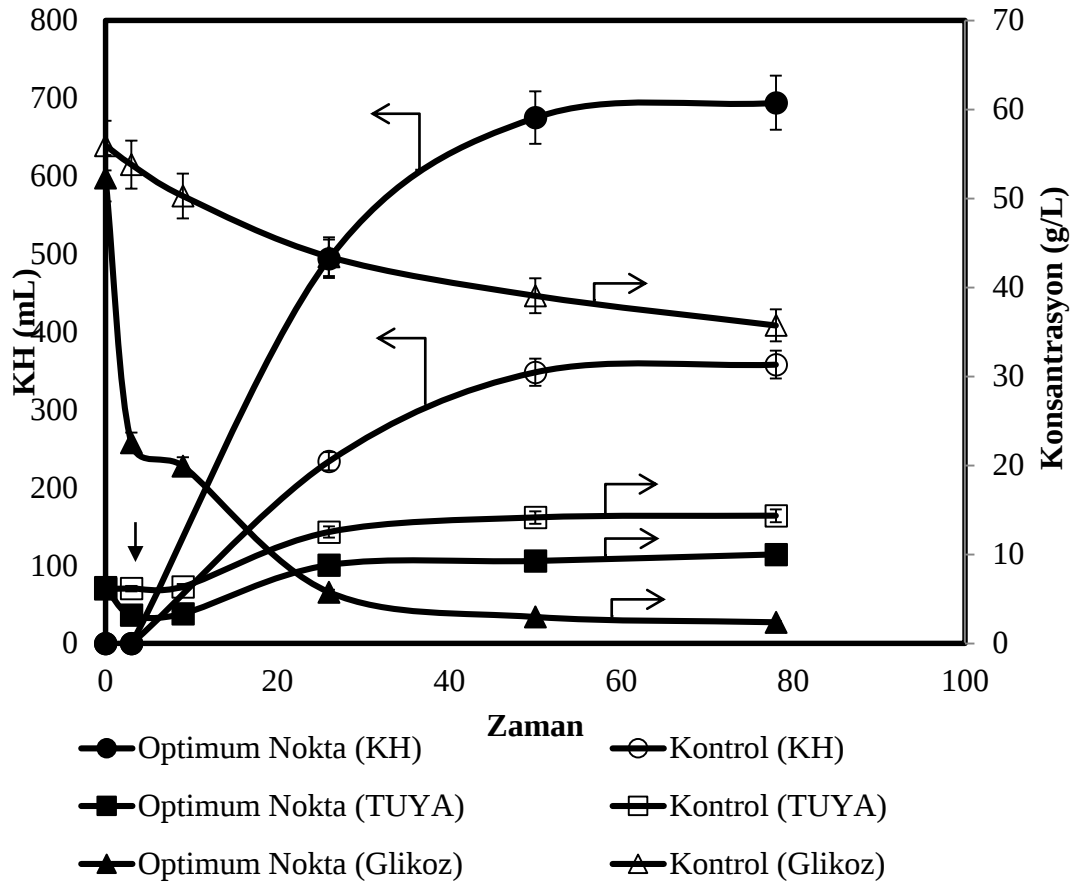
Tablo 4.6’da optimum ve seyreltme yapılmayan deney için başlangıç-çıkış glikoz TUYA sonuçları ve KH, HÜV, HÜH değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4.6: Optimum ve seyreltme yapılmayan deney için başlangıç-çıkış glikoz, TUYA konsantrasyonları ve KH, HÜV, HÜH değerleri

Deney Şişesi	KH (mL H₂)	HÜV (mL H₂/mL)	HÜH (mL H₂/sa)	Glikoz₀ (g/L)	Glikoz_ç (g/L)	TUYA₀ (g/L)	TUYA_ç (g/L)
Seyreltme olmayan	358.14	3.97	10.14	55.94	35.73	6.12	14.34
Optimum	694.30	7.71	21.47	52.27	2.37	6.28	9.99

Gerçekleştirilen deney sonucunda SM’nin optimum koşullarda HÜV ve HÜH’yi sırasıyla 1.93 kat ve 2.11 kat arttırdığı gözlemlenmiştir. Deneyin 3. saatinde seyreltme yapılması UYA konsantrasyonunu düşürerek ürün inhibisyonunu azaltmış ve KF performansını olumlu etkilemiştir. UYA inhibisyonunun azaltılması/engellenmesi HÜV ve HÜH’de artış sağlamıştır.

Şekil 4.16’de optimum nokta deneyi ile seyreltme olmayan deney için glikoz, TUYA konsantrasyonu ve KH’in zamana göre değişimi kıyaslanmıştır.



Şekil 4.16: Optimum ve seyreltme yapılmayan deney için glikoz, TUYA, KH değerlerinin zamana göre değişimi

Şekil 4.16’de görüldüğü üzere 3. saatte gerçekleştirilen seyreltme UYA konsantrasyonunu düşürmüş ve seyreltme olmayan deneye göre daha yüksek KH ve HÜH sağlamıştır. SM ürün inhibisyonunu engellediği gibi yüksek substrat konsantrasyonlarında hidrojen üretimine de olanak sağlayan bir strateji olmuştur ve bu sayede melastan yüksek glikoz/KOİ konsantrasyonunda hidrojen üretimi gerçekleştirilmiştir. Böylece hem yüksek miktarda KOİ giderimi sağlanmış hem de UYA inhibisyonu engellenerek daha yüksek miktarda (seyreltme yapılmayan deneye göre) hidrojen üretimi gerçekleştirilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında melastan karanlık fermantasyonla hidrojen üretiminde UYA inhibisyonunun engellenmesine yönelik araştırmalar yapılmıştır. Çözümüne yönelik olarak 4 aşamalı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada AYK'nın UYA'larla gerçekleştireceği reaksiyon düşünülerek AYK kullanılmış fakat beklenen sonuç gerçekleşmemiştir. İkinci aşamada demir iyonlarının UYA ile gerçekleştireceği reaksiyon gereği DT kullanılmış fakat bu çalışmada da UYA konsantrasyonunda düşüş görülmemiştir. UYA konsantrasyonları DT kullanılmayan deney ile yakınlık göstermiştir. Üçüncü aşamada İB'lerin UYA'ları bünyelerinde depolama ihtimali gözetilerek fermantasyon ortamına İB içeren çamur ilavesi yapılmış fakat bu durum KF performansını olumsuz etkilemiştir. Son olarak SM uygulamak üzere 3 bağımsız değişken belirlenmiş (X_1 : seyreltme zamanı, X_2 : ilave su hacmi, X_3 : başlangıç KOİ konsantrasyonu) ve amaç fonksiyonlarını incelemek üzere (HÜV, HÜH) BBİDT kullanılmıştır. Deney sonuçları Design Expert 10.0 yazılımı ile incelenerek optimum koşullar belirlenmiştir (X_1 : 3. saat, X_2 : %130, X_3 : 85 g/L). Bu koşullarda modelin öngördüğü HÜV ve HÜH değerleri sırasıyla 7.56 mL H_2 /mL (681.35 mL H_2) ve 15.50 mL H_2 /sa olarak hesaplanmıştır. Modelin uygulanabilirliğini test etmek amacıyla gerçekleştirilen doğrulama deneyinde HÜV ve HÜH değerleri sırasıyla 7.7 mL H_2 /mL (694.30 mL H_2) ve 21. 47 mL H_2 /sa olarak elde edilmiştir. Seyreltme yapılmayan durumda (kontrol) HÜV ve HÜH değerleri sırasıyla 3.979 mL/mL H_2 (358.14 mL H_2) ve 10.14 mL H_2 /sa olarak bulunmuştur. Optimizasyon sonucunda elde edilen sonuçlar hem modelin güvenilirliğini hem de SM metodunun hidrojen üretimine katkısını göstermiştir.

KF ile hidrojen üretiminde teorik verime ulaşamamasının nedenlerinden biri UYA'ların neden olduğu ürün inhibisyonudur. UYA inhibisyonunun azaltılması/engellenmesi KF performansını arttıracaktır. Bu alanda gerçekleştirilen araştırmaların devam etmesi, teknolojinin gelişmesi ve buna bağlı olarak maliyetlerin düşmesi pratikte elde edilen HÜV'yi teorik (maksimum) verime yaklaştıracaktır. Bu tez kapsamında elde edilen sonuçların geliştirilmesi amacıyla ileriye yönelik öneriler şöyle sıralanabilir:

- Daha farklı aşı kültürü araştırılıp tercih edilebilir,
- Seyreltme ile ilave edilen suyun kompozisyonu değiştirilebilir,
- Hidrojen üretimi sürekli işletme şartlarında gerçekleştirilebilir,
- UYA'yı fermantasyon ortamından uzaklaştırabilecek farklı yenilikçi adsorbanlar denenebilir,
- H₂ üretimi UYA'yı eş zamanlı ortamdan uzaklaştıracak membran sistemi ile entegre edilebilir,
- Aydınlık ve karanlık fermantasyon kombinasyonunun geliştirilmesi üzerine çalışmalar yapılabilir.

6. KAYNAKLAR

Alemahdi, N., Che Man, H., Abd Rahman, N., Nasirian, N. ve Yang, Y., “Enhanced mesophilic bio-hydrogen production of raw rice straw and activated sewage sludge by co-digestion”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 40(46), 16033–16044, (2015).

Alkaya, E., Kaptan, S., Ozkan, L., Uludag-Demirer, S. ve Demirer, G. N., “Recovery of acids from anaerobic acidification broth by liquid-liquid extraction”, *Chemosphere*, 77(8), 1137–1142, (2009).

Andreasen, K. ve Nielsen, P. H., “Growth of *Microthrix parvicella* in nutrient removal activated sludge plants: Studies of in situ physiology”, *Water Res.*, 34(5), 1559–1569, (2000).

Argun, H. ve Dao, S., “Hydrogen gas production from waste peach pulp by dark fermentation and electrohydrolysis”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(27), 11568–11576, (2016).

Argun, H. ve Kargi, F., “Bio-hydrogen production from ground wheat starch by continuous combined fermentation using annular-hybrid bioreactor”, *Renew. Energy*, 35(12), 6170–6178, (2010).

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

Argun, H. ve Onaran, G. G. G. G., “Hydrogen gas production from waste paper by sequential dark fermentation and electrohydrolysis”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(19), 8057–8066, (2016).

Arslan, D., Zhang, Y., Steinbusch, K. J. J., Diels, L., Hamelers, H. V. M., Buisman, C. J. N. ve De Wever, H., “In-situ carboxylate recovery and simultaneous pH control with tailor-configured bipolar membrane electrodialysis during continuous mixed culture fermentation”, *Sep. Purif. Technol.*, 175, 27–35, (2017).

Azman, N. F., Abdeslahian, P., Kadier, A., Nasser Al-Shorgani, N. K., Salih, N. K.

- M., Lananan, I., Hamid, A. A. ve Kalil, M. S., “Biohydrogen production from de-oiled rice bran as sustainable feedstock in fermentative process”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(1), 145–156, (2016).
- Azwar, M. Y., Hussain, M. A. ve Abdul-Wahab, A. K., “Development of biohydrogen production by photobiological, fermentation and electrochemical processes: A review”, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 31, 158–173, (2014).
- Baruah, K. ve Hazarika, S., “Separation of acetic acid from dilute aqueous solution by nanofiltration membrane”, *J. Appl. Polym. Sci.*, 131(15), (2014).
- Basak, N. ve Das, D., “The prospect of purple non-sulfur (PNS) photosynthetic bacteria for hydrogen production: The present state of the art”, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23(1), 31–42, (2007).
- Batista, A. P., Moura, P., Marques, P. A. S. S., Ortigueira, J., Alves, L. ve Gouveia, L., “*Scenedesmus obliquus* as feedstock for biohydrogen production by *Enterobacter aerogenes* and *Clostridium butyricum*”, *Fuel*, 117, 537–543, (2014).
- Blinkova, E. V. ve Eliseev, E. I., “Dissolution of calcium carbonate in aqueous solutions of acetic acid”, *Russ. J. Appl. Chem.*, 78(7), 1064–1066, (2005).
- Chai, K. ve Ji, H., “Dual functional adsorption of benzoic acid from wastewater by biological-based chitosan grafted β -cyclodextrin”, *Chem. Eng. J.*, 203, 309–318, (2012).
- Chen, G., Lin, M. ve Fang, B., “Inhibition and in situ removal of organic acids during glucose/glycerol co-fermentation by *Lactobacillus reuteri*”, *Biochem. Eng. J.*, 99, 93–98, (2015).
- Das, D., “Hydrogen production by biological processes: a survey of literature”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 26(1), 13–28, (2001).
- Dhar, B. R., Elbeshbishy, E., Hafez, H. ve Lee, H.-S., “Hydrogen production from sugar beet juice using an integrated biohydrogen process of dark fermentation and microbial electrolysis cell”, *Bioresour. Technol.*, 198, 223–230, (2015).
- Dincer, I. ve Acar, C., “Review and evaluation of hydrogen production methods for better sustainability”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 40(34), 11094–11111, (2014).

Doi, T., Matsumoto, H., Abe, J. ve Morita, S., “Application of rice rhizosphere microflora for hydrogen production from apple pomace”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 35(14), 7369–7376, (2010).

DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. a. ve Smith, F., “Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances”, *Anal. Chem.*, 28(3), 350–356, (1956).

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

Eugene W. Rice, Rodger B. Baird, Andrew D. Eaton, L. S. C., “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, editör L. S. C. Eugene W. Rice, Rodger B. Baird, Andrew D. Eaton, *Am. Water Work. Assoc. Public Work. Assoc. Environ. Fed.*, (1), 1469, (2012).

Fonseca, B. C., Guazzaroni, M. E. ve Reginatto, V., “Fermentative production of H₂ from different concentrations of galactose by the new isolate *Clostridium beijerinckii* Br21”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(46), 21109–21120, (2016).

Freitas, A. F., Mendes, M. F. ve Coelho, G. L. V., “Thermodynamic study of fatty acids adsorption on different adsorbents”, *J. Chem. Thermodyn.*, 39(7), 1027–1037, (2007).

Genç, N., “Biyolojik Hidrojen Üretim Prosesleri”, *BAÜ FBE Derg.*, 11(2), 17–36, (2009).

Genç, N. ve Özbay, I., “Fermentative hydrogen production in batch experiments using molasses, potato processing industry wastewater and chocolate waste: Influence of acidic hydrolyzation”, *Asian J. Chem.*, 27(6), 2184–2188, (2015).

Gonzales, R. R., Sivagurunathan, P., Parthiban, A. ve Kim, S.-H., “Optimization of substrate concentration of dilute acid hydrolyzate of lignocellulosic biomass in batch hydrogen production”, *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 113, 22–27, (2016a).

Gonzales, R. R., Sivagurunathan, P. ve Kim, S.-H., “Effect of severity on dilute acid pretreatment of lignocellulosic biomass and the following hydrogen fermentation”,

Int. J. Hydrogen Energy, 41(46), 21678–21684, (2016b).

González, M. I., Alvarez, S., Riera, F. A. ve Álvarez, R., “Lactic acid recovery from whey ultrafiltrate fermentation broths and artificial solutions by nanofiltration”, *Desalination*, 228(1–3), 84–96, (2008).

Gonzalez Del Campo, A., Cañizares, P., Lobato, J., Rodrigo, M. A. ve Fernandez, F. J., “Electricity production by integration of acidogenic fermentation of fruit juice wastewater and fuel cells”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 37(11), 9028–9037, (2012).

Gokgoz, A., Yilmazli I.E., Gungor I., ve Yavuzer I., “Hydrogeology and Environmental Study at the Karahayit Geothermal Field (Western Turkey)”, *World Geothermal Congress*, Bali, Indonesia, 25-29 April (2010)

Han, W., Wang, X., Ye, L., Huang, J., Tang, J., Li, Y. ve Ren, N., “Fermentative hydrogen production using wheat flour hydrolysate by mixed culture”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 40(13), 4474–4480, (2015).

Hřbová, V., Melzoch, K., Rychtera, M. ve Sekavová, B., “Electrodialysis as a useful technique for lactic acid separation from a model solution and a fermentation broth”, *Desalination*, 162(1–3), 361–372, (2004).

Hsiao, C. L., Chang, J. J., Wu, J. H., Chin, W. C., Wen, F. S., Huang, C. C., Chen, C. C. ve Lin, C. Y., “Clostridium strain co-cultures for biohydrogen production enhancement from condensed molasses fermentation solubles”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 34(17), 7173–7181, (2009).

Ijmker, H. M., Gramblička, M., Kersten, S. R. A., van der Ham, A. G. J. ve Schuur, B., “Acetic acid extraction from aqueous solutions using fatty acids”, *Sep. Purif. Technol.*, 125(0), 256–263, (2014).

International Energy Agency, “Hydrogen Production and Storage. R&D Priorities and Gaps”, *Hydrog. Implement. Agreem.*, 13, 392–392, (2006).

Islam, M. S., Zhang, C., Sui, K.-Y., Guo, C. ve Liu, C.-Z., “Coproduction of hydrogen and volatile fatty acid via thermophilic fermentation of sweet sorghum stalk from co-culture of *Clostridium thermocellum* and *Clostridium thermosaccharolyticum*”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 42(2), 830–837, (2017).

- Jin, N., Jin, B., Zhu, N., Yuan, H. ve Ruan, J., “Disinhibition of excessive volatile fatty acids to improve the efficiency of autothermal thermophilic aerobic sludge digestion by chemical approach”, *Bioresour. Technol.*, 175, 120–127, (2015).
- Kargi, F., Eren, N. S. ve Ozmihci, S., “Effect of initial bacteria concentration on hydrogen gas production from cheese whey powder solution by thermophilic dark fermentation”, *Biotechnol. Prog.*, 28(4), 931–936, (2012).
- Kertes, A. S. ve King, C. J., “Extraction chemistry of fermentation product carboxylic acids”, *Biotechnol. Bioeng.*, 28(2), 269–282, (1986).
- Kim, S. H., Huang, Y., Sawatdeenarunat, C., Sung, S. ve Lin, V. S. Y., “Selective sequestration of carboxylic acids from biomass fermentation by surface-functionalized mesoporous silica nanoparticles”, *J. Mater. Chem.*, 21(32), 12103–12109, (2011).
- Kim, Y. H. ve Moon, S. H., “Lactic acid recovery from fermentation broth using one-stage electrodialysis”, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 76(2), 169–178, (2001).
- Kongjan, P., O-Thong, S. ve Angelidaki, I., “Biohydrogen production from desugared molasses (DM) using thermophilic mixed cultures immobilized on heat treated anaerobic sludge granules”, içinde International Journal of Hydrogen Energy, c. 36, ss. 14261–14269., (2011).
- Li, Q. Z., Jiang, X. L., Feng, X. J., Wang, J. M., Sun, C., Zhang, H. B., Xian, M. ve Liu, H. Z., “Recovery processes of organic acids from fermentation broths in the biomass-based industry”, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 26(1), 1–8, (2015).
- Liu, B. F., Ren, N. Q., Xie, G. J., Ding, J., Guo, W. Q. ve Xing, D. F., “Enhanced bio-hydrogen production by the combination of dark- and photo-fermentation in batch culture”, *Bioresour. Technol.*, 101(14), 5325–5329, (2010).
- López-Velandia, C., Moreno-Barbosa, J. J., Sierra-Ramirez, R., Giraldo, L. ve Moreno-Piraján, J. C., “Adsorption of Volatile Carboxylic Acids on Activated Carbon Synthesized from Watermelon Shells”, *Adsorpt. Sci. Technol.*, 32(2–3), 227–242, (2014).
- Mamimin, C., Jehlee, A., Saelor, S., Prasertsan, P. ve O-Thong, S., “Thermophilic

hydrogen production from co-fermentation of palm oil mill effluent and decanter cake by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(46), 21692–21701, (2016).

Moreno-Andrade, I., Carrillo-Reyes, J., Santiago, S. G. ve Bujanos-Adame, M. C., “Biohydrogen from food waste in a discontinuous process: Effect of HRT and microbial community analysis”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 40(48), 17246–17252, (2015).

Noutsopoulos, C., Mamais, D. ve Andreadakis, A., “A hypothesis on *Microthrix parvicella* proliferation in biological nutrient removal activated sludge systems with selector tanks”, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 80(2), 380–389, (2012).

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

Ozmihci, S., Kargi, F. ve Cakir, A., “Thermophilic dark fermentation of acid hydrolyzed waste ground wheat for hydrogen gas production”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 36(3), 2111–2117, (2011).

Phanduang, O., Lunprom, S., Salakkam, A. ve Reungsang, A., “Anaerobic solid-state fermentation of bio-hydrogen from microalgal *Chlorella* sp. biomass”, *Int. J. Hydrogen Energy*, (2017).

Piera, M., Martínez-Val, J. M. ve José Montes, M., “Safety issues of nuclear production of hydrogen”, *Energy Convers. Manag.*, 47(17), 2732–2739, (2006).

Rebecchi, S., Pinelli, D., Bertin, L., Zama, F., Fava, F. ve Frascari, D., “Volatile fatty acids recovery from the effluent of an acidogenic digestion process fed with grape pomace by adsorption on ion exchange resins”, *Chem. Eng. J.*, 306, 629–639, (2016).

Reyhanitash, E., Zaalberg, B., Kersten, S. R. A. ve Schuur, B., “Extraction of volatile fatty acids from fermented wastewater”, *Sep. Purif. Technol.*, 161, 61–68, (2016).

Rocha, M. A. A., Raeissi, S., Hage, P., Weggemans, W. M. A., van Spronsen, J., Peters, C. J. ve Kroon, M. C., “Recovery of volatile fatty acids from water using medium-chain fatty acids and a cosolvent”, *Chem. Eng. Sci.*, 165, 74–80, (2017).

- Ruiz, H. a, Zambrano, M. a ve Giraldo, L., “Production and characterisation of activated carbon from oil-palm shell for carboxylic acid”, *Orient. J. Chem.*, 31(2), 753–762, (2015).
- Saratale, G. D., Chen, S. Der, Lo, Y. C., Saratale, R. G. ve Chang, J. S., “Outlook of biohydrogen production from lignocellulosic feedstock using dark fermentation - A review”, *J. Sci. Ind. Res. (India)*., 67(11), 962–979, (2008).
- Shah, M., Mondal, P., Nayak, A. K. ve Bordoloi, A., “Hydrogen from natural gas”, içinde Sustainable Utilization of Natural Resources, ss. 82–120., (2017).
- Sherif, S. A., Barbir, F. ve Veziroglu, T. N., “Principles of Hydrogen Energy Production, Storage and Utilization”, *J. Sci. Ind. Res. (India)*., 62(01–02), 46–63, (2003).
- Silva, J. P., Costa, A. L. H., Chiaro, S. S. X., Delgado, B. E. P. C., De Figueiredo, M. A. G. ve Senna, L. F., “Carboxylic acid removal from model petroleum fractions by a commercial clay adsorbent”, *Fuel Process. Technol.*, 112, 57–63, (2013).
- Sinha, P., Gaurav, K., Roy, S., Balachandar, G. ve Das, D., “Improvement of biohydrogen production with novel augmentation strategy using different organic residues”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 41(32), 14015–14025, (2016).
- Su, H., Cheng, J., Zhou, J., Song, W. ve Cen, K., “Combination of dark- and photo-fermentation to enhance hydrogen production and energy conversion efficiency”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 34(21), 8846–8853, (2009).
- Şentürk, İ. ve Büyükgüngör, H., “Anaerobik fermantasyonla biyohidrojen üretim verimine etki eden faktörler”, *SAÜ Fen Bil Der*, 19, 171–186, (2015).
- Tuna, E., Kargi, F. ve Argun, H., “Hydrogen gas production by electrohydrolysis of volatile fatty acid (VFA) containing dark fermentation effluent”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 34(1), 262–269, (2009).
- Valdez-Vazquez, I. ve Poggi-Varaldo, H. M., “Hydrogen production by fermentative consortia”, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 13(5), 1000–1013, (2009).
- Wang, X. ve Jin, B., “Process optimization of biological hydrogen production from molasses by a newly isolated *Clostridium butyricum* W5”, *J. Biosci. Bioeng.*, 107(2),

138–144, (2009).

Wang, Z., Luo, Y. ve Yu, P., “Recovery of organic acids from waste salt solutions derived from the manufacture of cyclohexanone by electrodialysis”, *J. Memb. Sci.*, 280(1–2), 134–137, (2006).

Weng, Y. H., Wei, H. J., Tsai, T. Y., Lin, T. H., Wei, T. Y., Guo, G. L. ve Huang, C. P., “Separation of furans and carboxylic acids from sugars in dilute acid rice straw hydrolyzates by nanofiltration”, *Bioresour. Technol.*, 101(13), 4889–4894, (2010).

Wicher, E., Seifert, K., Zagrodnik, R., Pietrzyk, B. ve Laniecki, M., “Hydrogen gas production from distillery wastewater by dark fermentation”, *Int. J. Hydrogen Energy*, 38(19), 7767–7773, (2013).

Yousuf, A., Bonk, F., Bastidas-Oyanedel, J. R. ve Schmidt, J. E., “Recovery of carboxylic acids produced during dark fermentation of food waste by adsorption on Amberlite IRA-67 and activated carbon”, *Bioresour. Technol.*, 217, 137–140, (2016).

Yu, B., Shan, A., Zhang, D., Lou, Z., Yuan, H., Huang, X., Zhu, N. ve Hu, X., “Dosing time of ferric chloride to disinhibit the excessive volatile fatty acids in sludge thermophilic anaerobic digestion system”, *Bioresour. Technol.*, 189, 154–161, (2015).

Zacharof, M. P. ve Lovitt, R. W., “Complex effluent streams as a potential source of volatile fatty acids”, *Waste and Biomass Valorization*, 4(3), 557–581, (2013).

Zhang, L., Ding, J., Li, Y., Liu, X., Jiang, J. ve Ren, N., “Effects of L-cysteine and Giant Panda Excrement on Hydrogen Production from Cassava Residues”, *J. Residuals Sci. Technol.*, 13(4), S227–S234, (2016).

Zhang, S., Kim, T. H., Lee, Y. ve Hwang, S. J., “Effects of VFAs concentration on bio-hydrogen production with *Clostridium bifermentans* 3AT-ma”, içinde *Energy Procedia*, c. 14, ss. 518–523., (2012).

Zhou, F., Wang, C. ve Wei, J., “Separation of acetic acid from monosaccharides by NF and RO membranes: Performance comparison”, *J. Memb. Sci.*, 429, 243–251, (2013).

EKLER

7. EKLER

EK A: AYK'nın KF ile hidrojen üretimine ve UYA inhibisyonuna etkisi

Tablo A. 1: Kontrol şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.33	35.98	20.72
1	7.01	150	160	0	0	50	0			
2	23.24	138	172	21.04	21.04	1000	246.58			
3	47.35	126	184	39.96	39.96	550	503.70			
4	71.28	114	196	39.96	39.96	100	557.09	7.20	17.61	0.63

Tablo A. 2: 5 g/L AYK konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.33	35.98	20.72
1	7.47	150	160	0.39	0.39	0	0.62			
2	22.57	138	172	11.10	11.10	735	100.67			
3	48.00	126	184	23.46	23.46	505	243.22			
4	71.56	114	196	23.46	23.46	35	250.80	7.48	19.69	1.16

Tablo A. 3: 10 g/L AYK konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.33	35.98	20.72
1	7.21	150	160	0.20	0.20	0	0.33			
2	23.18	138	172	23.08	23.08	945	257.80			
3	47.48	126	184	25.30	25.30	595	415.19			
4	71.32	114	196	25.30	25.30	0	415.19	7.30	18.10	1.32

Tablo A. 4: 15 g/L AYK konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.33	35.98	20.72
1	7.42	150	160	0.35	0.35	0	0.56			
2	23.57	138	172	18.70	18.70	780	178.02			
3	48.24	126	184	26.90	26.90	480	324.47			
4	72.11	114	196	26.90	26.90	15	327.30	8.31	22.39	1.16

Tablo A. 5: 20 g/L AYK konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.33	35.98	20.72
1	7.49	150	160	0.36	0.36	15	0.63			
2	24.07	138	172	20.87	20.87	700	182.04			
3	48.30	126	184	36.91	36.91	250	306.33			
4	72.15	114	196	36.91	36.91	5	307.72	7.80	21.28	1.15

EK B: DT'nin KF ile hidrojen üretimine ve UYA inhibisyonuna etkisi

Tablo B. 1: Kontrol şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.33	35.98	20.72
1	7.01	150	160	0	0	50	0			
2	23.24	138	172	21.04	21.04	1000	246.58			
3	47.35	126	184	39.96	39.96	550	503.70			
4	71.28	114	196	39.96	39.96	100	557.09	7.20	17.61	0.63

Tablo B. 2: 2.5 g/L DT konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.61	33.32	20.58
1	15.57	138	172	26.16	26.16	770	246.42			
2	40.11	126	184	26.75	26.75	730	445.92			
3	64.14	114	196	26.75	26.75	20	450.86	6.98	20.95	1.39

Tablo B. 3: 10 g/L DT konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.61	33.32	20.58
1	16.18	138	172	38.87	38.87	450	241.77			
2	40.30	126	184	38.87	38.87	555	382.74			
3	64.28	114	196	38.87	38.87	80	406.62	8.06	20.27	1.67

Tablo B: 4: 50 g/L DT konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.61	33.32	20.58
1	16.37	138	172	40.18	40.18	280	181.61			
2	40.50	126	184	40.18	40.18	55	203.16			
3	64.44	114	196	41.74	41.74	0	211.04	6.94	22.07	1.18

Tablo B. 5: 100 g/L DT konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.61	33.32	20.58
1	17.57	138	172	39.09	39.09	245	163.00			
2	42.01	126	184	39.09	39.09	640	397.82			
3	66.16	114	196	39.09	39.09	125	443.07	8.56	22.29	1.17

Tablo B. 6: 200 g/L DT konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.61	33.32	20.58
1	18.33	138	172	35.36	35.36	615	278.28	7.88		
2	42.41	126	184	38.61	38.61	535	495.07	8.40		
3	66.46	114	196	43.84	43.84	15	516.53	8.72	20.61	0.90

Tablo B. 7: 300 g/L DT konsantrasyon şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.61	33.32	20.58
1	18.54	138	172	36.12	36.12	720	316.71	6.30	21.95	6.17
2	43.03	126	184	51.07	51.07	560	564.77	4.96	19.13	1.12
3	67.03	114	196	51.07	51.07	40	582.44	7.00	21.23	0.67

EK C: İB'nin KF ile hidrojen üretimine ve UYA inhibisyonuna etkisi

Tablo C. 1: Kontrol şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0	1.33	35.98	20.72
1	7.01	150	160	0	0	50	0			
2	23.24	138	172	21.04	21.04	1000	246.58			
3	47.35	126	184	39.96	39.96	550	503.70			
4	71.28	114	196	39.96	39.96	100	557.09	7.20	17.61	0.63

Tablo C. 2: İB ilave şişesi için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	UYA (g/L)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)
0	0.00	150	160	0	0	0	0		22.80	
1	23.29	153	157	40.92	40.92	120	112.02			
2	47.13	141	169	41.80	41.80	17	122.55			
3	71.33	129	181	41.80	41.80	5	122.71		12.11	

EK D: SM'nin KF ile hidrojen üretimi ve UYA inhibisyonuna etkisi

Tablo D. 1: Orta nokta (X_1 : 4. saat, X_2 : % 100, X_3 : 50 g/L) ortalaması için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOI (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	5.04	170	440	0	0	0	0	25.06
2	25.31	158	452	25.71	25.71	680	287.98	
3	49.42	146	464	34.59	34.59	580	532.79	
4	73.43	134	476	36.03	36.03	65	566.00	16.27

Tablo D. 2: 2 numaralı şişe (X_1 : 4. saat, X_2 : % 200, X_3 : 95 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOI (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	5.26	260	350	0	0	0	0	31.24
2	26.36	248	362	22.52	22.52	945	294.33	
3	50.20	236	374	24.77	24.77	860	518.47	
4	74.19	224	386	24.77	24.77	285	578.89	23.10

Tablo D. 3: 3 numaralı şişe (X_1 : 1. saat, X_2 : % 100, X_3 : 5 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOI (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	1.39	170	440	0	0	0	0	2.56
2	24.22	158	452	0	0	30	0	
3	48.22	146	464	3.12	3.12	50	16.03	
4	72.51	134	476	6.11	6.11	30	32.47	1.97

Tablo D. 4: 4 numaralı şişe (X₁: 1. saat, X₂: % 100, X₃: 95 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOİ (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	1.09	170	440	0	0	0	0	45.94
2	24.34	158	452	31.51	31.51	260	224.35	
3	48.43	146	464	39.94	39.94	805	588.76	
4	72.56	134	476	42.26	42.26	90	644.55	22.20

Tablo D. 5: 5 numaralı şişe (X₁: 7. saat, X₂: % 0, X₃: 50 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOİ (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	7.29	80	530	0	0	0	0	46.47
2	27.00	68	542	23.29	23.29	420	224.05	
3	50.43	56	554	32.21	32.21	340	385.77	
4	73.38	44	566	32.21	32.21	10	388.70	34.84

Tablo D. 6: 6 numaralı şişe (X₁: 4. saat, X₂: % 0, X₃: 95 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOİ (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	5.20	80	530	0	0	0	0	94.01
2	26.23	68	542	7.85	7.85	250	62.17	
3	50.09	56	554	27.02	27.02	545	336.57	
4	74.03	44	566	29.10	29.10	50	346.14	82.71

Tablo D. 7: 7 numaralı şişe (X₁: 1. saat, X₂: % 0, X₃: 50 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOİ (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	2.01	80	530	0	0	0	0	49.10
2	24.58	68	542	21.58	21.58	530	231.33	
3	48.59	56	554	37.25	37.25	460	492.08	
4	73.09	44	566	37.25	37.25	15	497.45	35.89

Tablo D. 8: 8 numaralı şişe (X₁: 7. saat, X₂: % 200, X₃: 50 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOİ (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	7.24	260	350	0	0	0	0	16.12
2	26.51	248	362	39.08	39.08	125	190.32	
3	50.36	236	374	39.08	39.08	50	208.49	
4	74.29	224	386	39.08	39.08	45	225.56	10.45

Tablo D. 9: 9 numaralı şişe (X₁: 7. saat, X₂: % 100, X₃: 95 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOİ (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	7.37	170	440	0	0	0	0	45.48
2	27.11	158	452	27.66	27.66	745	311.09	
3	50.53	146	464	39.20	39.20	845	719.19	
4	74.44	134	476	39.20	39.20	95	753.70	24.66

Tablo D. 10: 10 numaralı şişe (X_1 : 1. saat, X_2 : % 200, X_3 : 50 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOI (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	1.52	260	350	0	0	0	0	16.25
2	24.46	248	362	22.22	22.22	855	270.41	
3	48.51	236	374	34.85	34.85	400	459.72	
4	73.04	224	386	37.88	37.88	95	511.58	9.92

Tablo D. 11: 11 numaralı şişe (X_1 : 4. saat, X_2 : % 0, X_3 : 5 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOI (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	4.45	80	530	0	0	0	0	5.46
2	25.23	68	542	4.59	4.59	10	25.33	
3	49.16	56	554	9.57	9.57	0	53.47	
4	73.23	44	566	9.57	9.57	0	53.47	3.90

Tablo D. 12: 12 numaralı şişe (X_1 : 4. saat, X_2 : % 200, X_3 : 5 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOI (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	4.39	260	350	0	0	0	0	1.88
2	25.09	248	362	2.04	2.04	25	7.89	
3	49.10	236	374	5.80	5.80	15	23.07	
4	73.17	224	386	9.09	9.09	0	36.12	1.22

Tablo D. 13: 13 numaralı şişe (X_1 : 7. saat, X_2 : % 100, X_3 : 5 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	Kümülatif VH ₂	KOİ (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0	
1	7.18	170	440	0	0	0	0	2.70
2	26.44	158	452	1.30	1.30	15	6.07	
3	50.26	146	464	5.29	5.29	40	26.85	
4	74.23	134	476	5.29	5.29	5	27.11	2.02

Tablo D. 14: Optimum deney şişesi (X_1 : 3. saat, X_2 : % 130, X_3 : 85 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	KH (VH ₂)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)	TUYA (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0		52.27	6.28
1	3.00	197	413	0	0	0	0	36.61	22.56	3.17
2	25.53	175	435	27.01	27.01	1390	493.97		5.76	8.79
3	49.41	163	447	32.39	32.39	465	675.20		2.96	9.25
4	78.04	151	459	34.24	34.24	35	694.30	25.90	2.37	9.99

Tablo D. 15: Seyreltme olmayan deney şişesi (Seyreltme yok, X_3 : 85 g/L) için veriler

Tarih	Zaman (Saat)	Vs (mL)	Vg (mL)	% CH _{2,i}	% CH _{2,i-1}	Vw (mL)	KH (VH ₂)	KOİ (g/L)	Glikoz (g/L)	TUYA (g/L)
0	0.00	90	520	0	0	0	0		55.94	6.12
1	3.00	80	530	0	0	0	0	86.42	53.80	6.17
2	27.00	58	552	20.89	20.89	540	233.90		43.45	12.51
3	50.34	46	564	29.71	29.71	215	348.28		39.07	14.14
4	78.38	34	576	30.36	30.36	10	358.14	73.36	35.73	14.34

EK E: BBİDT için model verileri

Tablo E. 1: HÜV için model verileri

			Düzeltilmiş	Tahmin edilen		
Model	Standart sapma	R ²	R ²	R ²	PRESS	
Lineer	1,781684	0,642741	0,560296	0,382353	71,34467	Tavsiye edilen
2FI	1,948987	0,671151	0,473841	-0,14835	132,6468	
Kuadratik	1,182718	0,915231	0,806241	-0,35631	156,6681	Tavsiye edilen
Kübik	0	1	1		+	Aliased

Tablo E. 2: HÜH için model verileri

			Düzeltilmiş	Tahmin edilen		
Source	Standart sapma	R ²	R ²	R ²	PRESS	
Lineer	3,056408	0,741015	0,681249	0,558508	207,0207	
2FI	3,394276	0,754301	0,606882	0,155981	395,7703	
Kuadratik	1,123603	0,981153	0,956922	0,698454	141,3983	Tavsiye edilen
Kübik	0	1	1		+	Aliased

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : M. Enes Mıynat

Doğum Yeri ve Tarihi : Rize – 12.05.1994

Lisans Üniversitesi : Pamukkale Üniversitesi

Elektronik posta : enesmiynat@gmail.com

İletişim Adresi : 05519577226

Konferans listesi :

• Argun H., Onaran G., Mıynat E., Görgül İ., Çalkaya A., Han H., Karaoğlu Z., Keskin N., Ören İ., Hydrogen Gas Production From Acid Hydrolyzed Waste Paper Towel, 2nd International Conference on Viable Energy Trends, 28-30 April 2017, Helsinki

• Argun H., Mıynat E., Görgül İ., Çalkaya A., Han H., Karaoğlu Z., Keskin N., Ören İ., Hydrogen gas production using hot spring microflora, International Congress on Advances in Bioscience and Biotechnology, October 25-29, 2017, Sarajevo