

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA ENDÜSTRİSİ ATIKSULARINDAN BİYOLOJİK
YÖNTEMLERLE HİDROJEN ELDESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Emre Oğuz KÖROĞLU

DOKTORA TEZİ

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Ahmet DEMİR

Mayıs, 2019

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GIDA ENDÜSTRİSİ ATIKSULARINDAN BİYOLOJİK YÖNTEMLERLE
HİDROJEN ELDESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Emre Oğuz KÖROĞLU tarafından hazırlanan tez çalışması 13.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Çevre Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet DEMİR

Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ahmet DEMİR, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Bestami ÖZKAYA, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Süleyman ÖVEZ, Üye

İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Eyüp DEBİK, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Barış ÇALLI, Üye

Marmara Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Ahmet DEMİR sorumluluğunda tarafımda hazırlanan “Gıda Endüstrisi Atıksularından Biyolojik Yöntemlerle Hidrojen Eldesi ve Değerlendirilmesi” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Emre Oğuz KÖROĞLU

İmza



Aileme

ve

biricik eşime

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince değerli tecrübelerini benimle paylaşan, kıymetli zamanını esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan, kurduğu her cümlenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ahmet DEMİR'e

Beni her konuda destekleyen, çalışma konusunun belirlenmesinde ve çalışmanın yürütülmesi sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini paylaşan ve değerli zamanını esirgemeyen hocam Prof. Dr. Bestami ÖZKAYA'ya,

Verdiği katkılarla tezimin gelişmesinde önemli rol oynayan, tez izleme komitesinde yer alan hocam Prof. Dr. Süleyman ÖVEZ'e

Tezimin yakıt hücresi çalışmaları kısmında imkanlarını bana açan, analizleri yapmamda büyük destek olan hocam Dr. Öğr. Üyesi Oğuz Kaan ÖZDEMİR'e,

Çalışmalarım boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen kadim dostlarım Hülya CİVELEK YÖRÜKLÜ'ye ve Aykut KARADENİZ'e,

Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan, bu hayattaki en büyük şansım olan değerli eşim Mehtap'a ve

Beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Emre Oğuz KÖROĞLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	VII
KISALTMA LİSTESİ	VIII
ŞEKİL LİSTESİ	X
TABLO LİSTESİ	XIII
ÖZET.....	XIV
ABSTRACT.....	XVII
1 Giriş.....	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.1.1 Biyolojik Hidrojen Üretimi	7
1.1.2 Karanlık Fermantasyonla H ₂ Üretimi ve Etki Eden Faktörler	9
1.1.3 Alglerden Biyohidrojen Üretimi.....	17
1.1.4 Entegre Hidrojen Üretim Prosesleri.....	19
1.1.5 Biyohidrojen Üretiminde Kullanılan Reaktör Tipleri.....	22
1.1.6 Hidrojenin PEM (Polimer Elektrolit Membran) Tipi Yakıt Hücrelerinde Elektrik Enerjisine Dönüştürülmesi	24
1.2 Tezin Amacı	26
1.3 Hipotez.....	27
2 Materyal ve Metot	28
2.1. Atıksu Karakterizasyonu	28
2.2 Uygun Mikrobiyal Türlerin Belirlenmesi ve Büyüme Ortamlarının Optimize Edilmesi	29
2.2.1 Asidojenik Bakterilerin Seçimi ve Zenginleştirilmesi	29
2.2.2 Mikroalglerin Temini, Zenginleştirilmesi ve Biyohidrojen Üretim Çalışmaları	30
2.3 Fermentörlerin Kurulumu ve İşletilmesi	33
2.4 Analitik Yöntemler	34
2.5 Biyohidrojen Saflaştırma Çalışmaları.....	35
2.6 Yakıt Hücresi Kurulumu ve Elektrokimyasal Analizler	36

3	Deney Sonuçları ve Değerlendirmeler	39
3.1	Mikroalg Çalışmaları	39
3.2	Karanlık Fermantasyon ile Biyohidrojen Üretiminin Optimizasyonu.....	44
3.2.1	Aşı Çamuruna Uygulanan Farklı Ön İşlem Metotlarının Biyohidrojen Üretimine Etkisinin İncelenmesi.....	44
3.2.2	Farklı Substrat Konsantrasyonlarının Biyolojik Hidrojen Üretimine Etkisinin İncelenmesi	50
3.2.3	Farklı Ön İşlem Uygulanmış Aşı Çamurlarında Hidrojen Üreten Mikrobiyal Kültürün Zenginleştirilmesi Çalışmaları	55
3.2.4	Zenginleştirilmiş Asidojenik Bakteriler ile Fermentörde Süt Endüstrisi Atıksuyundan Hidrojen Üretim Çalışmaları	59
3.3	Süt Endüstrisi Atıksularından Asidojenik Biyohidrojen Üretimi, Biyogaz Saflaştırma ve PEM Yakıt Hücresi Sistemlerinin Entegrasyonu	62
3.3.1	Süt Endüstrisi Atıksuyundan Biyohidrojen Üretimi.....	64
3.3.2	Silikon Hollow-Fiber Membran Kullanarak Biyohidrojenin Saflaştırılması.....	66
3.3.3	PEM Yakıt Hücresinde Biyohidrojenin Yakıt Olarak Kullanımı ve Yakıt Kompozisyonunun Etkilerinin İncelenmesi.....	68
4	Sonuç ve Öneriler.....	74
	Kaynakça.....	78
	Tezden Üretilmiş Yayınlar	90

SİMGE LİSTESİ

H	Kümülatif Hidrojeni
H_{\max}	Maksimum Kümülatif Hidrojen Üretimi
R_{\max,H_2}	Maksimum Hidrojen Üretim Hızı
λ	Alışma Süresi (Lag Fazı)
t	Fermantasyon Süresi
r_{H_2}	Hidrojen Üretim Hızı
$(P/L)_{i,j}$	Membrandan Geçen ve Geçemeyen Gaz Bileşenlerinin Akımları
α	Membranın İdeal Seçiciliği
V	Potansiyel
Hz	Frekans
HAc	Asetik Asit
HBu	Bütirik Asit
R^2	Korelasyon Katsayısı
Q_H	Hidrojen Desorpsiyonu İçin Yük
Ω	Direnç

KISALTMA LİSTESİ

AA	Asetik Asit
AFC	Alkaline Fuel Cell (Alkalin Yakıt Hücresi)
BA	Bütirik Asit
BESA	2-bromoethane sulfonic acid (2-bromoetan sülfonik asit)
BOİ	Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı
BOİ ₅	5 Günlük Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı
CV	Cyclic Voltammetry (Döngüsel Voltametri)
EASA	Electrochemical Active Surface Area (Elektrokimyasal Aktif Yüzey Alanı)
EES	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
FID	Flame Ionization Detector (Alev İyonizasyon Dedektörü)
GDT	Gaz Difüzyon Tabakası
HBS	Hidrolik Bekletme Süresi
HTB	Hidrojen Tüketen Bakteri
HÜB	Hidrojen Üreten Bakteri
KOİ	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
MCFC	Molten Carbonate Fuel Cell (Erimiş Karbonat Yakıt Hücresi)
MET	Membran Elektrot Takımı
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
ORP	Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli
ORR	Oxygen Reduction Reaction (Oksijenin İndirgenme Reaksiyonu)
OYH	Organik Yükleme Hızı
PAS	Peynir Altı Suyu
PDMS	Polidimetil Siloksan

PEM	Polimer Elektrolit Membran
PSA	Pressure Swing Adsorption (Basınç Salımlı Adsorpsiyon)
PSI	Photosystem I (Fotosistem I)
PSII	Photosystem I (Fotosistem II)
SOFC	Solid Oxide Fuel Cell (Katı Oksit Yakıt Hücresi)
TAP	Tris-Acetate-Phosphate (Tri-asetat Fosfat)
TAP-S	Sulfur-Free Tris-Acetate-Phosphate (Sülfürsüz Tri-asetat Fosfat)
TCD	Thermal Conductivity Detector (Termal İletkenlik Dedektörü)
TKTR	Tam Karışimli Tank Reaktör
UAKM	Uçucu Askıda Katı Madde
UYA	Uçucu Yağ Asidi
YAÇY	Yukarı akışlı anaerobik yataklı reaktör

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> ile fotobiyolojik hidrojen üretimi.....	18
Şekil 1.2 Verimli H ₂ üretimi için mümkün olan çeşitli entegrasyon yollarının şematik gösterimi	21
Şekil 2.1 <i>Chlamydomonas Resource Center</i> 'dan temin edilen CC-125- <i>C. reinhardtii</i> türü ve kültür ortamları.....	30
Şekil 2.2 <i>C. reinhardtii</i> türü ile TAP-S ortamında hidrojen üretim çalışmaları.....	32
Şekil 2.3 Fermentörde takip edilen çalışmaların şematik görünümü	33
Şekil 2.4 Biyoreaktörün işletme döngüsü (Hidrolik bekletme süresi 24 saat için örnek gösterim).....	33
Şekil 2.5 Biyohidrojenin saflaştırılması çalışmalarında kurulan deney düzeneği	35
Şekil 2.6 Membran elektrot takımları hazırlama çalışmaları (1) kaplanmamış membran, (2) kaplama düzeneği, (3) ısı altında spreyle katalizör kaplama, (4) katalizör kurutma işlemi, (5) kaplanmış membran.....	36
Şekil 2.7 Yakıt hücresi test sistemine bağlanan PEM yakıt hücresi görünümü	37
Şekil 3.1 CC-125- <i>C. reinhardtii</i> türünün zamanla çoğalması gösteren akım resimler	40
Şekil 3.2 Başlangıçta ve dördüncü günün sonunda CC-125- <i>C. reinhardtii</i> türündeki değişim.....	40
Şekil 3.3 CC-125- <i>C. reinhardtii</i> üretimi optik yoğunluk değerleri.....	41
Şekil 3.4 CC-125- <i>C. reinhardtii</i> türünün mikroskop görüntüleri.....	42
Şekil 3.5 Sülfürsüz ortamda <i>Chlamydomonas</i> hücrelerinin H ₂ üretim potansiyeli	43
Şekil 3.6 Ön işlem metotlarının biyohidrojen üretimine etkisinin incelenmesi için kurulan kesikli deney setleri.....	46
Şekil 3.7 Asit, baz, otoklav ve kaynatma ön işlemlerinde elde edilen biyolojik hidrojen üretimleri	47

Şekil 3.8 Kloroform, ultrasonik, donma-çözme ve kimyasal (BESA) ön işlemlerinde elde edilen biyolojik hidrojen üretimleri.....	48
Şekil 3.9 Farklı substrat konsantrasyonlarında hidrojen üretiminin optimizasyonu çalışması.....	51
Şekil 3.10 Ultrasonik ön işleme tabi tutulmuş reaktörlerde farklı substrat konsantrasyonlarının biyolojik hidrojen üretimleri.....	52
Şekil 3.11 BESA ile kimyasal ön işleme tabi tutulmuş reaktörlerde farklı substrat konsantrasyonlarının biyolojik hidrojen üretimleri.....	53
Şekil 3.12 Donma-çözme ön işlemine tabi tutulmuş reaktörlerde farklı substrat konsantrasyonlarının biyolojik hidrojen üretimleri.....	54
Şekil 3.13 Zenginleştirme çalışmalarında elde edilen kümülatif biyogaz hacimleri ..	56
Şekil 3.14 Uçucu yağ asidi analizi sonuçları	57
Şekil 3.15 Her bir deneysel sette toplanan biyogazın içerik analizi sonuçları	58
Şekil 3.16 Her bir deneysel sette gözlemlenen mikrobiyal kültürün değişimi	58
Şekil 3.17 Farklı süt endüstrisi atıksularından biyohidrojen üretimi (düz kırmızı çizgiler mevcut setteki ortalama üretimi ifade etmektedir)	59
Şekil 3.18 BESA ile ön işleme tabi tutulmuş mikrobiyal kültür ile kümülatif hidrojen üretimi (7 gKOİ/L süt endüstrisi atıksuyu, pH: 5,5-6, 10 mM BESA, deneysel data, (Biyogazdaki H ₂ fraksiyonu, modellenen data)	64
Şekil 3.19 Farklı işletme basınçlarında elde edilen konsantre akımındaki H ₂ konsantrasyonu ve CO ₂ /H ₂ seçiciliği (seçicilik CO ₂ /H ₂ , (■) H ₂ içeriği)....	66
Şekil 3.20 CO ₂ ve H ₂ için farklı işletme basınçlarında elde edilen silikon geçirgenlik katsayıları	67
Şekil 3.21 Farklı yakıt oranları için 500 mVs ⁻¹ tarama hızında alınan döngüsel voltametri eğrileri	70
Şekil 3.22 Farklı yakıt oranları için ölçülen ve modellenen Nyquist eğrileri ve empedans modelleri.....	71

Şekil 3.23 Farklı yakıt oranları için yakıt hücresinde elde edilen polarizasyon ve güç yoğunluğu eğrileri..... 72



TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1.1 Farklı süt ürünlerinin kompozisyonu	2
Tablo 1.2 Süt endüstrisi atıksularının karakterizasyonu (Kolev Slavov, 2017)	4
Tablo 1.3 Biyolojik hidrojen üretim yöntemlerinin substrat ve ürünlerinin karşılaştırılması	8
Tablo 1.4 Fermantatif H ₂ üretimi ile entegre edilen farklı proseslerin detayları	20
Tablo 2.1 Süt endüstrisi atıksuyu karakterizasyonu	28
Tablo 2.2 Aşı çamuruna uygulanan ön işlem metodları ve prosedürleri	29
Tablo 2.3 TAP besiyeri içeriği.....	31
Tablo 3.1 Aşı çamuruna uygulanan ön işlem metodları ve prosedürleri	45
Tablo 3.2 Deneysel verilerin Gompertz modeline uygulanması sonucu elde edilen model parametreleri.....	49
Tablo 3.3 Deneysel verilerin Gompertz modeline uygulanması sonucu elde edilen model parametreleri.....	55
Tablo 3.4 Farklı atık su oranlarında hidrojen üretimi çalışmasında elde edilen sonuçlar	60
Tablo 3.5 Süt endüstrisi atıksuyundan biyohidrojen üretiminde elde edilen kinetik ve analitik parametreler.....	65

Gıda Endüstrisi Atıksularından Biyolojik Yöntemlerle Hidrojen Eldesi ve Değerlendirilmesi

Emre Oğuz KÖROĞLU

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Ahmet DEMİR

Gıda ve içecek endüstrisindeki önemli sektörler genel itibariyle, et ve et ürünleri, unlu mamuller, süt ürünleri, sebze ve meyveler, yağlar, şekerli ve çikolatalı ürünler, alkollü ve alkolsüz içecekler, hazır yemekler ve bebek mamalarından oluşmaktadır. Bu sektördeki endüstrilerin çoğu, oluşan atıksu hacmi, organik kirliliği ve kullanılan su miktarı bakımından önemli endüstriler arasında yer almaktadır. Çünkü üretim, hazırlama ve tüketim sırasında çok miktarda katı atık ve yüksek oranda organik madde içeren kuvvetli karakterde atıksular ortaya çıkmaktadır.

Yüksek düzeyde organik madde içeriğine sahip bu endüstrilerin atıksularının arıtılmasında konvansiyonel yöntemler tek başına kullanıldığında yetersiz kalmakta, deşarj standartlarına ulaşmakta zorluklar yaşanmaktadır. Konvansiyonel yaklaşımda yüksek organik madde içeren atıksuların arıtımı sırasında deşarj limitlerini sağlamada problemler yaşanması sebebiyle enerji verimliliği yüksek alternatif arıtma teknolojilerinin yaygınlaştırılması çevrenin korunması ve ülke ekonomisi açısından önem arz etmektedir.

Bu tez çalışmasında, süt endüstrisi gibi ülkemizde üretim miktarı ve kirlilik yükü oldukça yüksek endüstri grubunda yer alan endüstriden kaynaklanan atıksular, biyohidrojen üretiminde ve atıksu arıtımında kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada, enerji verimliliği yüksek bir sistemde kuvvetli endüstriyel atıksuların arıtımı ve deşarj standartlarının sağlanması hedefiyle biyolojik hidrojen üretiminin gerçekleştirildiği karanlık fermantasyon ve fotobiyoliz prosesleri incelenmiştir. Farklı proseslerin birlikte kullanılması ile konvansiyonel sistemlere nazaran enerji (hidrojen) üretim veriminin artırılması, üretilen enerjinin yakıt hücrelerinde doğrudan elektrik enerjisine dönüştürülmesi, sera gazı salınımının azaltılması, yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımı ve atıksuların deşarj standartlarına ulaşabilecek düzeyde arıtımı araştırılmıştır. Yenilenebilir ve alternatif enerji kullanan, geri kazanıma yönelik önerilen arıtma sisteminin geliştirilmesi ile endüstriyel atıksuların yüksek verimlilikte enerji geri kazanımı konusundaki uygulamaların artırılmasının sağlanacağı ve ülkemiz koşullarında sistemin ekonomik olarak uygulanabilme potansiyelinin belirleneceği bu tez çalışmasında özetle;

- Kuvvetli karakterde atıksuların üretildiği gıda endüstrisi atıksuları için karanlık fermantasyon ve fotobiyoliz prosesleri ile biyohidrojen üretimi ve optimizasyonu,
- Karanlık fermantasyon prosesinden üretilen H_2/CO_2 gazının gaz ayırıcı sistemle ayrılması ve
- Hidrojenin PEM tipi yakıt hücresinde doğrudan elektrik enerjisine dönüştürülmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalar neticesinde süt endüstrisi atıksularının biyohidrojen üretimi için oldukça uygun bir kaynak olduğu, membran sistemlerinin biyogaz saflaştırmada yüksek verimde CO_2 giderimi sağladığı, üretilen biyohidrojenin değerlendirilmesi için PEM tipi yakıt hücrelerinin en uygun teknoloji olduğu, alglerden biyohidrojen üretiminin mümkün fakat alglerin atıksuları kullanarak hidrojen üretmesinde zorluklar yaşandığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında organik içeriği yüksek kuvvetli endüstriyel atıksuların arıtımının sağlanacağı; alternatif enerji kullanan, işletme maliyeti düşük sürdürülebilir bir arıtma sistemi geliştirilmesi ile atıksuyun katma değeri olan bir

ürüne dönüştürülmesi ve enerji/madde geri kazanımı sağlayarak ülkemize ekonomik ve çevreci bir katkı sağlamaya çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Süt endüstrisi atıksuyu, biyohidrojen, gaz saflaştırma, yakıt hücresi, mikroalg, geri kazanım



Hydrogen Production and Evaluation Using Biological Processes From Food Industry Wastewater

Emre Oğuz KÖROĞLU

Department of Environmental Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Advisor: Prof. Dr. Ahmet DEMİR

Important sectors of the food and beverage industry mainly include meat and meat products, bakery products, dairy products, fruits and vegetables, oils, sugar and chocolate products, alcoholic and soft drinks, and baby foods. Many of the industries in this sector are of considerable importance with regard to the amount of water used, and volume and organic content of wastewaters generated since large amounts of solid wastes and high-strength wastewaters are generated during production, preparation and consumption in food industry.

Conventional methods of treatment provide poor efficiency for these wastewaters containing high amounts of organic materials, thus achieving treatment objectives to meet discharge standards becomes difficult. For this reason, it is important that applications of energy-efficient alternative treatment techniques be broadened in the aspects of environmental protection and national economics.

This thesis aims treatment and biohydrogen production from milk/dairy industry that generated in high amounts in Turkey. The system will achieve strict discharge standards and comprise dark fermentation and photo-biolysis process for biohydrogen production. Compared to conventional processes, this process will provide several

benefits such as increased energy (hydrogen) production efficiency, direct use of biohydrogen in fuel cells to produce electricity, reduced greenhouse gas emissions and use of renewable energy sources, and meeting strict discharge standards. Also a renewable alternative energy source, successful application of this new treatment process will lead to a breakthrough in widening the full-scale use of these high energy-efficient systems in Turkey. This research will contribute to the applicability of energy-efficient systems and include the following packages:

- Biohydrogen production and optimization of dark fermentation and photo-biolysis process using high-strength food industry wastewater,
- Separation of H₂/CO₂ gas mixture produced in dark fermentation process through gas separation system,
- Converting hydrogen directly electricity in a PEM fuel cell.

As a result of experimental studies, it was found that dairy industry wastewater was a very suitable source for the production of biohydrogen, membrane systems provided high efficiency CO₂ removal in biogas purification, PEM fuel cells were the most suitable technology for the evaluation of produced biohydrogen, biohydrogen production was possible from algae, but there were difficulties in producing hydrogen by microalgae using wastewater.

As a result, in this thesis, the treatment of industrial wastewater with high organic content will be provided; by using alternative energy and developing a sustainable treatment system with low operating costs, it has been tried to make an economical and environmental contribution to our country by converting wastewater into a value added product and providing energy / material recovery.

Keywords: Dairy industry wastewater, biohydrogen, gas upgrading, fuel cell, microalgae, recovery

1.1 Literatür Özeti

Süt Endüstrisi Atıksularında Genel Durum

Gıda üretim faaliyetleri çok çeşitli olduğu için oluşan atıksuyun miktar ve bileşimi de kullanılan hammadde ve tesis içi prosesine göre farklılıklar göstermektedir. Günlük besin ihtiyacının karşılanmasındaki önemi nedeniyle süt üretimi bütün ülkelerin gıda üretim faaliyetleri içinde en başta gelmektedir. Süt endüstrisi tesislerinde besi çiftliklerinden gelen ham süt; işlenmiş süt, yoğurt ve ayran, peynir, tereyağı, dondurma, süt tozu ve tatlı üretiminde kullanılan son ürünlere dönüştürülmektedir. Üretim tesisindeki ekipmanların ve süt depolama sistemlerinin yıkanması, kalite-kontrol laboratuvarındaki analizler ve üretim sırasında kullanılan su nedeniyle süt endüstrisi tesislerinden önemli miktarda atıksu oluşmaktadır. Bu atıksuların karakterizasyonundan önce süt ve süt ürünlerinin kompozisyonu incelenirse kirletici kaynağının nasıl bir yük getirdiği daha iyi anlaşılabilir. Bu nedenle Tablo 1.1’de farklı süt ürünlerinin kompozisyonu verilmiştir.

Tablo 1.1 Farklı süt ürünlerinin kompozisyonu

Ürün	Kuru madde (%)	Yağ (%)	Protein (%)	Laktoz (%)	KOİ (g/kg)	BOİ (g/kg)	Kaynak
Yağlı Süt	11,5-12,5	3-4	3,3	4,8	192,9-218,6	135,5-156,2	(Kolev Slavov, 2017)
Az Yağlı Süt	8,3-8,47	0,02-0,06	3,3	4,7-4,9	112-115,3	72,4-75,1	(Kolev Slavov, 2017)
Ayran	7,7-8	0,4-0,86	3	4	104,5-111,9	72,4-75,1	(Kolev Slavov, 2017)
Lor Peyniri	6-6,2	0,05-0,2	0,75-1	4,5-4,8	72-77	51,6-55,9	(Kolev Slavov, 2017; Pesta vd., 2007)
Peynir	6,1	<0,01	0,5	4,7	-	-	(Pesta vd., 2007)
Krema	40,4-43	33-35	2	3	871-936	695-747	(Kolev Slavov, 2017)
Laktozsuz Süt Süzüntüsü	23,5-25	-	2,6-3,7	14-16	-	-	(Pesta vd., 2007)

Problemin Tanımı

Süt endüstrisi çok su tüketen endüstrilerden bir tanesidir. Temizlik, ısıtma, soğutma ve üretim olmak üzere her aşamada su tüketilen tesislerde işlenmiş süt hacminin 2-3 katı atıksu oluşmaktadır (Tocchi vd., 2013). Atıksu oluşumu tesis büyüklüğüne, uygulanan prosese, temizleme yöntemine, işletme koşullarına ve su birim fiyatına bağlı olarak değişmektedir. Literatürde çeşitli süt ürünleri üretim tesislerinde oluşan atıksu karakterizasyon değerleri Tablo 1.2'de verilmiştir.

Süt üretim tesislerinde oluşan yüksek kirliliğe sahip atıksuyun karakterizasyonu da, ham sütün özellikleri, üretim teknolojisi ve su geri kazanımına bağlı olarak değişmektedir. Süt endüstrisi atıksuyu yüksek miktarda renk, koku ile birlikte yüksek değerlerde KOİ ve BOİ₅, askıda katı maddeler, yağ ve gres ve az miktarda azot ve fosfor içerir (Latif vd., 2011; Rugele vd., 2013). Süt atıksuyu organik madde içeriği mevsimsel değişiklik göstermekle beraber, 1-10 g KOİ/L ile 0,3-0,9 g BOİ₅/L arasında değişmektedir (Tabatabaei vd., 2010). Peynir üretiminin yan ürünü olan peynir altı suyu süt endüstrisi atıksuyunun en önemli bileşenlerinden birisidir ve yüksek miktarda laktoz, çözülmüş protein, yağlar ve mineral tuzları içerir. Peyniraltı suyu 80 g KOİ/L içeriği ile kuvvetli bir atıksudur ve yüksek biyobozunur organik madde içeriği ile biyoenerji üretimi için ideal bir kaynaktır (Demirer vd., 2000; Vlyssides vd., 2013).

Tablo 1.2 Süt endüstrisi atıksularının karakterizasyonu (Kolev Slavov, 2017)

Proses	pH	g/L								Kaynaklar
		BOİ ₅	KOİ	Yağ Gres	Toplam Katı	Askıda Katı Madde	Toplan Azot	Toplam Fosfor	Alkalinite (CaCO ₃)	
Süt	4-11	0,24- 5,9	0,5- 10,4	0,02- 1,92	0,71-7	0,06-5,80	0,01-0,66	0-0,6	0,32-1,2	(Demirel vd., 2005; Sarkar vd., 2006; Tawfik vd., 2008)
Yoğurt	4,53	-	6,5	-	-	-	-	-	-	(Tezcan vd., 2013)
Tereyağı	12,08	0,22- 2,65	8,93	2,88	-	0,7-5,07	-	-	-	(Rosenwinkel vd., 2005)
Dondurma	5,1- 6,96	2,45	5,2	-	3,9	3,1	-	0,014	0,22	(Karadag vd., 2015; Yang vd., 2007)
Peynir	3,38- 9,5	0,59-5	1-63,3	0,33- 2,6	1,92-53,2	0,19-2,5	0,018- 0,83	0,005-0,28	-	(Demirel vd., 2005; Rosenwinkel vd., 2005)
Süzme Peynir	7,83	2,6	17,65	0,95	-	3,38	-	-	-	(Rosenwinkel vd., 2005)
Lor Peyniri	3,92- 6,5	27-60	50- 102,1	0,9-14	55-70,9	1,27-22,15	0,2-1,76	0,12-0,53	-	(Demirel vd., 2005; Doble vd., 2005)
Peynir Altı Suyu	5-9	0,59- 1,21	1,07- 2,18	-	-	0,08-0,44	-	-	-	(Britz vd., 2004)
Yıkama Suyu	10,37	3,47	14,64	3,11	-	3,82	-	-	-	(Rosenwinkel vd., 2005)

Üretim tesislerinde bulunan kalite kontrol laboratuvarında deneyler sırasında kullanılan kimyasal maddeler nedeniyle kirletici miktarı yüksek olan atıksu oluşur. Süt endüstrisi atıksuyunda nispeten az miktarlarda ağır metaller de bulunmaktadır (Chatzipaschali vd., 2012). Üretim sırasında kullanılan membran sistemlerinde oluşan süzüntünün bileşimi peynir altı suyuna (PAS) benzer şekilde yüksek miktarda KOİ içerir (Wang vd., 2009). Tesisteki ekipmanların yıkanmasından oluşan atıksuyun sıcaklığı 40–80 °C aralığındadır ve KOİ içeriği 2000 mg/L'den az olan organik madde temel olarak laktoz, yağlar ve proteinlerden oluşur (Ganesh vd., 2007). Süt endüstrisi atıksuyu çoğunlukla kolay bozunabilir organikler içermesine rağmen deterjanlar ve çözünmüş mikrobiyal ürünler nedeniyle inert organiklerde bulunmaktadır. Danalewich vd. (1998) 15 üretim tesisinde yaptıkları uzun dönemli çalışmada atıksu miktar, sıcaklık ve kirletici yükünün saat, gün ve mevsimsel olarak değişiklik gösterdiğini belirlemişlerdir. Atıksuyun pH değeri ise tesiste temizlik amacıyla kullanılan kostik ve asidik kimyasallara göre değişiklik göstermektedir. Belirtilen bu özellikleri sebebi ile süt endüstrisi atıksularının konvansiyonel arıtımında zorluklar yaşanmakta bu sebeple alternatif proseslerin kullanılması tercih edilmektedir.

Çözüm Önerileri

Gıda atıkları ve özellikle de süt endüstrisi atıksuları içerdikleri yüksek biyolojik bozunabilir organik madde ile yeterli arıtılmadan deşarj edildikleri takdirde çeşitli çevresel problemlere yol açmaktadır. Ülkemizde endüstriyel atıksuların çoğunluğu konvansiyonel sistemlerle arıtılmaktadır. Çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtma proseslerinden oluşan konvansiyonel sistemlerde temel amaç, kirletici bileşenlerin sıvı fazdan ayrı olarak yoğunlaştırılıp su ortamından uzaklaştırılmasıdır. Böylece enerji içeriği yüksek olan organik maddelerin uzaklaştırılmasıyla yenilenebilir enerji, geri kazanılmadan bertaraf edilmektedir.

Süt endüstrisi atıksuyununun arıtımı için çeşitli fiziko-kimyasal yöntemler uygulanmıştır. Bunlar arasında elektro-kimyasal, koagülasyon, adsorpsiyon ve

membran arıtma sayılabilir (Kushwaha vd., 2010; Tchamango vd., 2010). Süt endüstrisi atıksuyunda BOI_5/KOI değeri 0,5'den büyüktür ve yüksek biyobozunabilirlik değeri onu biyolojik arıtma için uygun kılar. Enerji verimliliği ve oksijen transferi yüksek olan Jet-loop gibi sistemler ile süt endüstrisi atıksuyunun aerobik arıtımında yüksek verim elde edilmiştir (Farizoglu vd., 2004). Bununla birlikte yüksek organik madde içeriği ile oksijen transferi için fazla enerji gereksinimi, oksijen aktarımındaki sınırlamalar ve fazla miktarda çamur oluşumuyla birlikte katı maddelerin çöktürme ve yönetiminin zor olması nedeniyle aerobik yöntemler pek uygun değildir.

Anaerobik arıtma yöntemleriyle kuvvetli atıksuların arıtılması sırasında daha az çamur oluştuğu gibi enerji içeriği zengin metan (CH_4) ve hidrojen (H_2) üretmek de mümkündür. Bu nedenle, süt endüstrisi atıksularından biyolojik yöntemlerle yenilenebilir enerji kazanımı da çözüm olarak düşünülmektedir. Bu çalışmada süt endüstrisi atıksularının arıtılmasında ve değerlendirilmesinde biyolojik hidrojen üretim prosesleri araştırılmıştır.

1.1.1 Biyolojik Hidrojen Üretimi

Enerji, modern günlük yaşamın ve endüstriyel faaliyetlerin sürdürülebilir olabilmesi için hayati bir öneme sahiptir. Ekonomik gelişme ve nüfus artışına paralel olarak hem ülkeler bazında hem de küresel ölçekte enerji üretimine olan talep hızlı bir şekilde artmaktadır. Mevcut üretim teknolojileriyle hidrokarbon içeren petrol, doğalgaz ve kömür gibi fosil yakıtları kullanarak enerji elde edilmektedir. Karbona dayalı teknolojilerde hidrokarbon bileşenlerinin bağ yapılarındaki enerji kazanılırken CO₂, NO_x, SO_x, partiküler madde vb. yan ürünlerin kontrolsüz şekilde atmosfere salınımı çok çeşitli çevresel sorunlara yol açmaktadır.

122 kJ/g enerji içeriği ile H₂ hidrokarbon yakıtlardan 2,75 kat ve CH₄'den 2,6 kat daha fazla yoğun enerji içermektedir (Dębowski vd., 2014). Sahip olduğu yüksek enerji içeriği ve kolayca elektriğe dönüştürülebilmesi nedeniyle fosil yakıtlara kıyasla H₂ daha verimli ve temiz bir enerji kaynağıdır. Ayrıca hidrojenin diğer elementlere bağlı olarak bulunması ise dünyanın her yerinde enerji üretimi için çok büyük rezerv bulunduğu anlamına gelmektedir. H₂ enerji kaynağı olduğu gibi birçok endüstriyel üretim faaliyetinde de kullanılmaktadır. Enerji elde etmek amacıyla H₂'nin kullanımı sırasında yan ürün olarak sadece su oluşması çevresel kirlenmeyi azaltıcı bir etkisi vardır. Ayrıca, hidrojen enerjisinin yaygınlaşması ile birlikte ülkelerin dışa bağımlılığı azalmakta, sera gazları emisyonu düşmekte, hava kirliliği önlenilmekte ve enerji üretim verimliliği artmaktadır. H₂ çok çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle üretilebilmektedir (Tablo 1.3).

Günümüzde H₂ üretimi için çoğunlukla kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemlerin hem maliyetli olması hem de çevre kirliliğine yol açmaları nedeniyle daha ucuz ve temiz alternatif üretim yöntemlerinin arayışına devam edilmektedir. Diğer yöntemlere kıyasla güneş ışığı ve organik atıkların kullanımına dayalı biyolojik yöntemler hem daha az üretim enerjisine ihtiyaç duymakta hem de doğaya daha az zarar vermektedir (Orozco-Pulido, 2012). Biyolojik yöntemlerden doğrudan/dolaylı fotoliz ve foto-fermantasyon prosesleri ışığa bağımlı oldukları için ya güneş ışığının olduğu günün kısıtlı zamanlarında

çalıştırılabilmekte ya da sürekli işletilebilmeleri için yüksek maliyetli yapay ışık kaynağına ihtiyaç duymaktadırlar.

Tablo 1.3 Biyolojik hidrojen üretim yöntemlerinin substrat ve ürünlerinin karşılaştırılması (Eroğlu vd., 2006)

Biyo-prosesler	Mikroorganizma	Substrat	Ürünler	Reaksiyon
Biyofotoliz Doğrudan Dolaylı	Algler Siyanobakteriler	Işık, H ₂ O, CO ₂	H ₂ , O ₂ , biyokütle	H ₂ O → H ₂ + (1/2)O ₂
Biyolojik CO- H ₂ O reaksiyonu	Fotosentetik bakteri	CO, H ₂ O	H ₂ , CO ₂ , biyokütle	CO + H ₂ O → H ₂ + CO ₂
Foto Fermantasyon	Fotosentetik bakteri	Işık Organik Atıklar	H ₂ , CO ₂ , biyokütle, organik asitler	Organik asitler + 6H ₂ O + ışık → 12H ₂ + 6CO ₂
Karanlık Fermantasyon	Fermentatif bakteriler	Organik Atıklar	H ₂ , CO ₂ , biyokütle, Yüksek organik asitler	C ₆ H ₁₂ O ₆ + H ₂ O → 4H ₂ + 2CO ₂ + 2CH ₃ COOH

Alternatif biyolojik yöntemler içerisinde karanlık fermantasyon daha az enerji gereksinimi ve farklı kaynaklardan üretilebilmesi nedeniyle daha çevreci yönüyle öne çıkmaktadır. Karbonhidratça zengin atıksulardan H₂ üretimine dair çok sayıda çalışmadan olumlu sonuçlar rapor edilmiştir. Karanlık fermantasyon diğer biyolojik yöntemlerden daha yüksek üretim hızına sahip olup ışık kaynağına ihtiyaç duymadan sürekli olarak çalıştırılabilmektedir. Karanlık fermantasyon prosesinde biyoreaktördeki anaerobik koşullarda organik maddelerin yapısındaki bağlı hidrojen atomları H₂ gazına dönüştürülerek enerji elde edilmektedir.

KOI'nin ancak üçte birinin H₂'e çevrilmesi ve geri kalan organik maddenin UYA ya da alkol formunda sistemden kaçışı karanlık fermantasyon proseslerinin en önemli dezavantajlarından bir tanesidir. Bazı çalışmalarda organik madde giderim verimini ve enerji üretimini artırmak amacıyla karanlık fermantasyon çıkış suyu H₂ üretimi için foto-fermantasyon biyoreaktöre, CH₄ üretimi için anaerobik biyoreaktöre veya doğrudan elektrik üretimi için mikrobiyal yakıt hücresine beslenmiştir (Das vd., 2008; Lakaniemi vd., 2011). Lalaurette vd.

(2009) asitle ön işlemden geçirilmiş mısır bitkisi atığını karanlık fermantasyonla birlikte mikrobiyal yakıt hücresini kombine ederek daha yüksek H₂ üretim verimine ulaşmışlardır. Lakaniemi vd. (2011) lignoselülöz yoğunluklu organik maddeyi önce H₂ üretimi sonra CH₄ üretimi için kullanarak enerji üretim verimini arttırmıştır. Zong vd. (2009) gıda atıklarını karanlık fermantasyonla H₂ üretiminde kullandıktan sonra ve çıkış akımını foto-fermantasyon biyoreaktöre besleyerek %80 seviyelerinde KOİ giderimi ve %50 oranında enerji üretim verimi elde etmişlerdir (Zong vd., 2009).

1.1.2 Karanlık Fermantasyonla H₂ Üretimi ve Etki Eden Faktörler

Karanlık fermantasyon ile H₂ üretimine etki eden işletme parametreleri; sıcaklık, substrat miktarı ve bileşimi, pH, hidrolik bekletme süresi (HBS), biyoreaktör teknolojisi ve nütrient bileşimi (Fe⁺², Ni⁺², azot bileşenleri vb.)'dir. Sürekli sistemlerde H₂ üretiminin maksimize edilebilmesi için öncelikle biyoreaktör işletme parametrelerinin optimize edilmesi gerekmektedir. Optimizasyon çalışmaları sırasında bir parametre değeri değiştirilirken diğerleri sabit tutulmaktadır ve sistem kararlı hale ulaşınca kadar sürdürülmektedir. Bununla birlikte çalışmalarda kararlı hal şartları için üniform bir tanım ve süre aralığı belirtilmemiştir. Genellikle H₂ üretim ve organik madde giderimi izlenerek standart sapma değerine göre kararlı hal belirlenmektedir. Bazı araştırmacılar standart sapma değeri %10'dan küçük olduğu durumu kararlı hal şartı olarak kabul ederken diğer bazı araştırmacılar ise standart sapmanın % 5'den küçük olması gerektiğini belirtmişlerdir (Ferreira Rosa vd., 2014; Kisielewska vd., 2013). Bazı araştırmacılar ise hidrolik bekletme süresinin (HBS)'nin belli bir süre işletilen reaktörde stabil çıkış suyu karakteristiği olduğunda kararlı hal oluştuğunu kabul etmişlerdir. Goblos vd. (2008) reaktörü HBS'nin en azından 5 kat çalıştırırken Gavala vd. (2006) ise 6-10 katı kadar çalıştırmışlardır (Gavala vd., 2006; Göblös vd., 2008).

pH

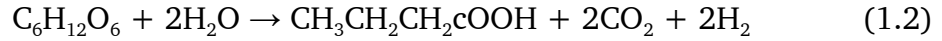
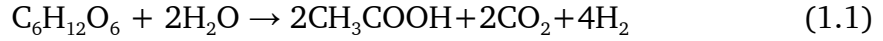
pH, mikrobiyal büyüme, enzim aktivitesi, H₂ üretim hızı, metabolik aktivite ve H₂ tüketen mikroorganizmaların büyümesinin önlenmesi üzerinde etkili bir parametredir. H₂ üretimi; 4,0'dan küçük, 8,0'dan büyük pH değerlerinde

durmaktadır (Gadhe vd., 2013; Yasin vd., 2013). Süt endüstrisi atıksuyundan H₂ üretimi ile potansiyeli, alıştırma süresi (lag fazı), H₂ üretim hızı ve verimi ortam pH'ına bağlı olarak değişmektedir (Ferchichi vd., 2005). Bu yüzden, sürdürülebilir biyohidrojen üretimi için reaktör içerisindeki pH'ın sürekli takip edilmesi ve optimum aralıkta tutulması gerekmektedir. Optimum çalışma pH'ı atıksu kompozisyonu ve mikrobiyal çeşitliğe bağlı olarak değişmektedir. Azbar vd. (2009) peynir altı atıksuyundan H₂ üretiminin pH 4,5-7,5 aralığında mümkün olduğunu ve üretim veriminin pH'a bağlı olduğunu belirlemişlerdir (Azbar vd., 2009). Çok yüksek ve düşük pH değerlerinde H₂ üretimi durabilmekte ve maksimum H₂ üretimi pH 5-6 aralığında olmaktadır (Gadhe vd., 2013). Farklı olarak Yang vd. (2007) ise peynir altı suyun (PAS)'dan H₂ üretimi için pH 4,0-5,0 değerlerinin uygun aralık olduğunu belirtmişlerdir. Ferchichi vd. (2005) seyreltilmiş yağlı PAS'dan H₂ üretiminde pH'ın etkisini incelemişler ve pH 5-9 aralığında organik madde gideriminin 97% oranında olduğunu ve maksimum H₂ üretiminin ise pH 6'da olduğunu belirlemişlerdir. Biyohidrojen üretimi sırasında pH ayarlaması reaktör içerisine pH probu daldırılarak yapılabileceği gibi besleme akımına alkali ya da asit kimyasalları ilavesiyle de sağlanabilir (Antonopoulou vd., 2008; Cota-Navarro vd., 2011). Bununla birlikte araştırmacılar pH probu ile donatılmış biyoreaktöre kıyasla alkali kimyasal ilaveli biyoreaktörlerin ürettikleri biyogaz içerisindeki H₂ oranının düşük ve biyogaz üretim hızının oldukça yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

H₂ Oluşum Metabolizması

Reaktör içerisinde UYA ve diğer yan ürünlerin dağılımı ve miktarları üretilen H₂ miktarını da doğrudan etkilemektedir. Karanlık fermantasyon ile H₂ üretimi sırasında organik maddenin KOİ eşdeğerinin ancak % 33'ü H₂'e çevrilebilmekte geri kalan kısım ise asetat, bütirat, propiyanat, laktik asit gibi uçucu yağ asiti (UYA) ve alkol formunda ara ürün olarak sistemi terk etmektedir (Bartacek vd., 2007). Reaktör içerisinde ara ürünlerin dağılım ve miktarları H₂ üretim verimini doğrudan etkilemektedir. En yüksek H₂ üretimi ara ürün olarak sadece asetat olduğu biyokimyasal süreçle elde edilmektedir.

Eşitlik (1.1) ve (1.2)'de görüldüğü gibi 1 mol glikozdan sadece asetat oluştuğunda 4 mol H₂ üretilirken, sadece bütirat oluştuğunda ise 2 mol H₂ üretilmektedir.



Sürekli çalışan sistemlerde oluşan ara ürünler hiçbir zaman saf bir bileşenden oluşmayıp karışık halde bulunmaktadır. Sistem performansının optimize edilmesi amacıyla reaktörde oluşan UYA ve diğer bileşenlerin oluşumu takip edilmeli ve H₂ tüketimine yol açan propiyonat oluşumu engellenmelidir. Karanlık fermantasyon biyoreaktörü içerisindeki pH kontrol edilerek biyogaz içerisindeki H₂ oluşumu artırılabilir gibi reaksiyon yan ürünleri de istenen alkol ya da UYA oluşumuna yönlendirilebilmektedir (Karadag vd., 2010a).

Castelló vd. (2011) karışık asit ve alkol üretiminin olduğu sistemlerde düşük H₂ veriminin olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek miktarda propiyonik asit ve diğer yağ asitlerinin birikimi H₂ üreten mikroorganizmaları inhibe ederken kütle transferini de olumsuz etkilemektedir. Yüksek oranda H₂ kısmi basıncı ise propiyonik asit birikimine yol açmaktadır (Kim vd., 2005). Propiyonik asit birikimi H₂ oluşum mekanizması ile reaktör stabilitesini olumsuz etkilemektedir. Ortamda etanol bulunması yüksek asiditeyi engellediği gibi H₂ üretim verimini artırıcı etki de yapmaktadır (Guo vd., 2008). Laktik asit üretiminin fazla olması H₂ üretimini olumsuz etkilerken bakteriler laktoz kullanımı için 24 saatten fazla süreye ihtiyaç duymaktadırlar (Yang vd., 2007).

Sıcaklık

Sıcaklık, mikrobiyal büyüme, metabolik mekanizma, enzim aktivitesini etkilediği gibi karışık kültürlerden H₂ üretim verimi ve mikrobiyal metabolizmayı etkileyen en önemli parametrelerden bir tanesidir. Anaerobik mikroorganizmalar çoğunlukla mezofilik (30-35 °C) veya termofilik (55 °C) sıcaklıklarda faaliyet göstermektedirler. Azbar vd. (2009) PAS'dan H₂ üretimine mezofilik ve termofilik sıcaklığının etkisini incelemişlerdir. Toplam biyogaz üretimi ve H₂ verimi 36 °C'de daha fazla olmasının sebebi 55 °C'de organik maddelerin daha

fazlasının UYA oluşumuna yönlendirilmesidir. Ayrıca Kargi vd. (2012) düşük KOİ değerinde PAS'dan H₂ üretiminin termofilik şartlarda daha fazla gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

H₂ üreten bakteriler çoğunlukla mezofilik ve termofilik şartlarda gerçekleşirken bazı bakteriler düşük sıcaklık değerlerinde yaşayabilmektedirler. Dębowski vd. (2014) 20 °C'de PAS'dan H₂ üretiminin mümkün olduğunu fakat küçük H₂ üretim veriminin büyük ölçekli sistemler için büyük bir engel olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca düşük sıcaklıklarda anaerobik mikroorganizmaların büyüme hızlarında oldukça düşük değerlerde olması dezavantaj oluşturmaktadır. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda anaerobik mikroorganizmaların başarılı aklımasyonu sonrasında ortam sıcaklığında işletilen farklı biyoreaktör sistemlerinde umut verici organik madde giderimi ve CH₄ üretimi sonuçları elde edilmiştir.

Substrat içeriği ve miktarı

Birçok endüstriyel atıksu içerdiği yüksek biyobozunur organik madde nedeniyle karanlık fermantasyon ile yüksek H₂ üretim potansiyeline sahiptir. Karbonhidrat, protein ve yağ bakımından zengin olan süt, zeytinyağı, bira vb. gıda endüstrisi atıksuları diğer endüstriyel atıksulardan daha yüksek biyobozunur organik madde içeriğine sahiptir (Kapdan vd., 2006). Kullanılan substrat içeriği ve biyoreaktörde faaliyet gösteren mikroorganizma türlerine bağlı olarak biyogaz bileşiminde başlıca H₂ ve CO₂ ile birlikte CO, CH₄, H₂S vb. bulunabilmektedir. Bugüne kadar süt endüstrine dair karanlık fermantasyon ile H₂ üretim çalışmaları gerçek atıksu kullanılarak yapıldığı gibi sentetik atıksu, süt tozu ve steril PAS kullanılarak da gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçları karbonhidratça zengin besinlerden H₂ üretiminin daha verimli olduğunu ve karbonhidrat miktarı ile H₂ üretimi arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermektedir (Chen vd., 2006).

Azot

Azot mikrobiyal hücre içerisinde protein, nükleik asitler ve enzimlerin sentezinde kullanılırken özellikle PAS arıtımında kısıtlayıcı faktör olarak ön plana çıkmaktadır. Bu yüzden araştırmacılar H₂ üretim sistemlerinin verimini artırmak

için çok çeşitli azot türevi kullanarak çalışmalar yapmışlardır. Stamatelatos vd. (2011), maya ekstraktının mezofilik H₂ üretimini 2,2 kat artırdığını belirlemişlerdir. Amonyak ilavesi de H₂ üretimine olumlu katkı yaparken bazı durumlarda inhibisyona yol açabilmektedir (Romão vd., 2014). Süt endüstrisi atıksuyu hayvan çiftliklerinde oluşan gübre vb. atık ve atıksuyu ile karıştırılarak gerekli azot ve diğer besin maddesi dengesi sağlanabildiği gibi alkalinite ihtiyacı da karşılanmış olur. Başka atık veya atıksu ile yapılan birlikte arıtım sırasında süt endüstrisi atıksu miktarının değişimiyle birlikte metabolik mekanizma ve H₂ üretim miktarı da değişmektedir. Azbar vd. (2009), 36 °C PAS'dan H₂ üretimini artırmak için atıksu bileşimini optimize etmişlerdir. H₂ verimi, H₂ üretim hızı ve metabolik mekanizmadaki değişikliklerin C/N oranına göre değiştiğini ve optimum oranın 27,5 olduğu belirlemişlerdir.

Demir

H₂ üretim enzimleri olan ferrodoksin ve hidrojenazın yapısında demir temel bileşendir. Ayrıca kobalt, nikel, kalsiyum, magnezyum, sodyum ve çinko ilavesi de H₂ üretimine olumlu katkı yapmaktadır. PAS'dan H₂ üretimi için demir konsantrasyonu 50-150 mg/l optimum aralık değer iken Romão vd. (2014) ise 27-30 °C'de H₂ üretimi için 600 mg FeSO₄/L ilavesi yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. Düşük sıcaklıklarda ise H₂ üretimini artırmak için daha fazla demir ilavesine gerek vardır H₂ (Zhang vd., 2006). Farklı atıksular için değişik optimum demir değerleri rapor edilmesinin sebebi atıksu bileşimindeki ve mikrobiyal çeşitlilikteki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Mikroorganizma Kültürü

Karanlık fermantasyon ile H₂ üretiminde saf ya da karışık bakteri kültürü kullanılabilir. Farklı biyolojik bozunma hızına sahip organik madde ve çeşitli inhibitör içeren atıklardan H₂ üretiminde karışık kültür bakteri kullanımıyla daha yüksek üretim performansı ve daha iyi proses stabilizasyonu elde edilebilmektedir. Karışık kültürlü karanlık fermantasyon biyoreaktör sistemlerinde H₂ üreten bakterilerle aynı substrata ilgisi olan ve H₂ tüketen diğer bakterilerde gelişebilmektedir. Yüksek H₂ üretim hızına ulaşabilmek için H₂ üreten bakteriler haricindeki mikroorganizmaların inaktif hale getirilmesi

gerekmektedir. Bu yöntemlerle endospor oluşturmamayan H₂ tüketen bakterilerin faaliyetleri durdurulmuş ve olumsuz koşullara dayanıklı *Clostridium* ve *Thermoanaerobacterium* gibi H₂ üreten bakteriler zenginleştirilmiş olur (Karadag vd., 2009).

Clostridium türleri mezofilik biyohidrojen sistemlerinde baskın tür iken *Thermoanebacteria* türleri termofilik sıcaklıklarda yaşamlarına devam edebilmekte ve olumsuz çevresel koşullara kolayca adapte olabilmektedirler (Fernández vd., 2014). Her iki türün farklı substratlardan etkili H₂ üretimi sağladığı rapor edilmiştir (Karadag vd., 2010b). Diğer yönden *Anaerotruncus*, *Megasphaera* ve *Pectinatus* türleride H₂ üretme yeneğine sahiptirler. Castelló vd. (2009), düşük H₂ veriminin ortamda *Megasphaera* ve *Pectinatus* gibi propiyonik üreten asitlerin varlığıyla ilgisi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca *Prevotella*, *Olsenella*, *Bulleidia*, *Mitsoukella* ve *Selenomonas* bakterileri de substrat tüketmekte fakat H₂ üretmemektedirler. Bazı araştırmacılar *Prevotella* ve *Sporolactobacillus* varlığında oluşan bakteriyosinlerin H₂ üretimini inhibe edici özelliği olduğunu belirtmişlerdir. Laktik asit bakterisinin H₂ üretimi üzerine etkileri için ise farklı bulgular elde edilmiştir. Mu vd. (2007), *Lactobacillus* türünün PAS'dan H₂ üretimini gerçekleştirdiğini belirtirken Castelló vd. (2011) ise *Lactobacillus* varlığında H₂ olmadığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Karadag vd. (2009) hem mezofilik hem de termofilik sıcaklıklarda *Lactobacillus* varlığında düşük H₂ veriminin olduğunu rapor etmişlerdir.

Biyohidrojen reaktör sistemlerinin performansında mikrobiyal çeşitlilik ve baskın bakteri türü önemli etkiye sahiptir. Baskın mikrobiyal tür metabolik ürünlerle beraber H₂ üretiminde etkindir. H₂ üretim çalışmaları genellikle başka kaynaklardan temin edilen mikroorganizmalar kullanılarak gerçekleştirirken bazı araştırmacılar süt endüstrisinin kendi içerisinde bulunan bakterileri kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar süt atıksularının çok farklı bakteri türü barındırdığını ve H₂ üretimi sırasında hızlıca çoğalarak önemli oranda H₂ üretimi oluşturduğunu belirlemişlerdir (Perna vd., 2013). Dışardan bakteri kaynağı kullanılmadan yapılan çalışma ile ekstra enerji ihtiyacı olmadığı gibi biyohidrojen üretiminin maliyetini de düşürmektedir. Kesikli sistem biyohidrojen çalışmalarında saf H₂ kültürü yaygın olmasına rağmen karışık kültür kullanımı

daha pratik, düşük maliyetli ve büyük ölçekli uygulamalar için daha uygundur. Fakat biyohidrojen sistemlerinde karışık kültür ile çalışırken kültür seçimi ve farklı mikrobiyal tür gelişimi önemlidir.

Castelló vd. (2009), biyohidrojen üretimini asit biyoreaktöründen ve kompost tesisinden elde ettikleri kültür ile yapmışlardır. Deneysel sonuçlar komposttan elde edilen kültürün H₂ üreten bakterilerce daha zengin olduğunu ve daha fazla verim sağladığını göstermiştir. Bununla birlikte karışık kültür içerisinde sülfat indirgeyen, asetojenik bakteri ve metan üreten bakteriler gibi H₂ tüketen bakteriler de bulunmaktadır (Saady, 2013). Sürdürülebilir enerji üretimi için biyoreaktörlerin devreye alınmasında H₂ üreten bakterilerin zenginleştirilmesi önem kazanmaktadır. Karışık kültüre ön işlem uygulanmasıyla H₂ tüketen bakteriler ortamdan uzaklaştırılırken metabolik mekanizma daha fazla H₂ oluşumuna yönlendirilmektedir. Ön işlem sırasında olumsuz koşullarda endospor oluşturan H₂ üreten bakteriler varlığını korurken diğer bakteriler ortamdan uzaklaşmaktadır.

Ön İşlemler

H₂-tüketen bakteriler çok çeşitli yöntemlerle reaktör ortamından uzaklaştırılabilmektedir. Sürekli H₂ üreten biyoreaktörde en pratik yöntem kısa süreli HBS'nde çalıştırılması ile yavaş büyüyen metan bakterileri sistemden kolayca uzaklaştırılabilmektedir. Yine de bazı durumlarda biyoreaktör yüzeyine yapışmış durumda olan metan bakterileri optimum şartlar oluştuğunda küçük HBS'lerde bile H₂ tüketmeye devam etmektedirler. Mohan vd. (2007), pH'ın 6.0'a ayarlanmasıyla metan bakterilerinin kolayca elimine edilebileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca sıcaklık şoku, asit veya baz kimyasalları ile muamele, havalandırma, dondurma ve çözündürme yöntemlerine ek olarak ortama kloroform, sodyum 2-bromoethanosülfanat veya 2-bromoethanosülfonik kimyasalları ilavesiyle karışık kültürden H₂-tüketen bakteriler uzaklaştırılabilmektedir (Wang vd., 2008).

Lee vd. (2009), çürütücü çamuruna uyguladıkları asitle ön işlem için HCl, HNO₃ ve H₂SO₄ etkisini araştırmışlardır. HNO₃ biyohidrojen üretimini önemli oranda azaltırken en çok verim HCl uygulaması ile sağlanmıştır. HCl işleminin verimi

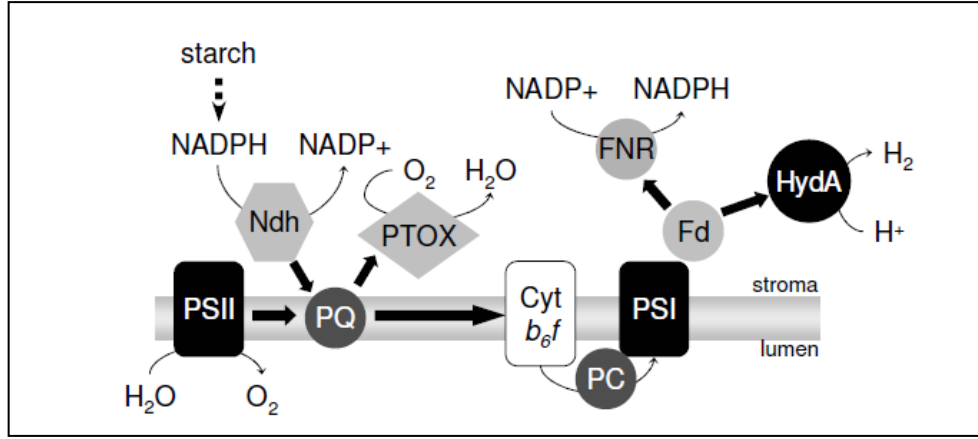
düşük pH değerlerinde daha fazla olmuş ve pH 2'de 3,2 kat daha fazla H₂ üretimi gerçekleşmiştir. HCl ile çamur içindeki bakteriler inaktif hale gelirken *Clostridium* türleri varlığını sürdürerek H₂ üretimini gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar metan bakterilerinin çok düşük pH şartlarında bile yaşamlarını sürdürdüğünü belirtirken biyoreaktör çalışma süresinin artmasıyla biyogaz içerisindeki metan içeriğinin de arttığını tespit etmişlerdir (Carrillo-Reyes vd., 2012). Araştırmacılar metan bakterilerini inhibe etmek için granüllerin parçalandıktan sonra ısıtılmasının daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Kolay uygulanması ve kimyasal yöntemlere kıyasla ucuz ve daha kısa sürede tamamlanması nedeniyle ısıtılma işlemleri H₂-tüketen bakterileri ortamdan uzaklaştırmak için daha çok tercih edilmektedir. Isıtılma işlemi çok farklı sıcaklıkta ve sürede tekil veya kombine bir şekilde uygulanabilmektedir. Cota-Navarro vd. (2011), anaerobik granülü 40 dakika süreyle kaynatırken Kisielewska vd. (2013), 1 saat süreyle ısıtmışlar, Song vd. (2010) ise çamuru 30 dakika kaynatmışlardır. Gadhe vd. (2013) ise anaerobik çamuru 90 °C'de 20 dakika ısıtırken Azbar vd. (2009), 85 °C'de 45 dk ısıtmışlardır. Biyohidrojen sistemlerinde H₂-tüketen bakterileri uzaklaştırmak için ısıtılma işlemi tek başına yeterli olmadığı durumlarda başka ön işlemleri ile kombine bir şekilde uygulanmıştır. Carrillo-Reyes vd. (2012), farklı ön işlemlerin ısıtılma işlemiyle kombine etkisini incelemişlerdir. Öncelikle anaerobik granülü 45 dakika süreyle kaynattıktan sonra basınç uygulayarak granülleri parçalamışlardır. Carrillo-Reyes vd. (2014), granül çamurun tekrarlı ısıtılmasının CH₄ üretimini engellediğini fakat YAÇY reaktöründe halen homoasetojen bakterinin varlığını sürdürdüğünü belirlemişlerdir. Sadece ısıtılma işlemine kıyasla granüllerin parçalanmasıyla daha fazla H₂ üretimi elde edilirken biyoreaktör içerisinde granül oluşumu gerçekleşmemiştir. Mohan vd. (2007), 100 °C'de 2 saat süreyle ısıtılma işlemi ve pH 3'de 24 saat süreyle asitle ön işlemleri birlikte dört defa uygulamışlardır. Ayrıca Mohan vd. (2008), tekli ve kombine asit işlemlerini incelemişlerdir. PAS'dan H₂ üretimi için ortofosforik asitle pH 5'de 24 saatlik muamele sonrasında, 2-bromoetan sülfonik asit sodyum tuz çözeltisi (BESA (2-bromoetan sülfonik asit), 0,2 g/l) ile 24 saatlik kimyasal ön işlemler ve 100 °C'de 1 saatlik ısıtılma işlemi verimlerinin karşılaştırılmasında bütün işlemler için H₂

üretiminde artış kaydedilmiştir. Tekil ön işlemler arasında kimyasal yöntemlerle 18 kat daha fazla H₂ verimi elde edilirken asitle ön işlem sonrası sadece 4 kat daha fazla H₂ üretimi sağlanmıştır. Kombine sistemlerde ise asit ve kimyasal ön işlemlerin birlikte uygulanması ile H₂ üretimi 16.1 kat daha fazla gerçekleşmiştir. Benzer şekilde Srikanth vd. (2010), 98 °C'de 1 saat süreyle ısıl işlem, BESA ile 24 saatlik kimyasal işlem ve pH 3'de 24 saatlik asitle ön işlemlerin birleştirilmesiyle süt atıksuyundan yüksek H₂ üretimi ve düşük substrat giderimi elde etmişlerdir. Buna karşılık 24 saatlik havalandırma ile O₂ şoku en düşük verimi sağlamıştır. Bununla birlikte ısıl işlem ve asitle muamele mikrobiyal popülasyonu azaltırken substrat gideriminin düşük olmasına yol açmıştır (Srikanth vd., 2010). Süt endüstrisi atıksuları laktik asit bakterileri açısından zengindir ve H₂ üreten sistemlerinde varlıklarını muhafaza ederek biyoreaktör performansını olumsuz etkilemektedirler. Laktik asit bakterilerini elimine etmek için 105 °C'de 15 dakikalık ısıl işlem tavsiye edilmektedir.

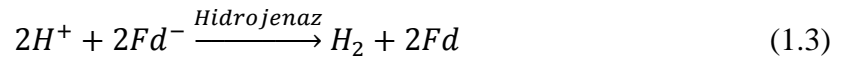
1.1.3 Alglerden Biyohidrojen Üretimi

Yeşil alg türlerinden biyohidrojen üretimi 1942 yılında başlamış olup, belirli metabolik ve fizyolojik koşullar altında hidrojen üretebilecekleri farklı araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır (Anandraj vd., 2019; Gaffron vd., 1942). Yapılan çalışmalarda mikroalgler tarafından hidrojen üretimindeki en önemli kısıtlamanın, O₂ varlığında hidrojenaz enziminin aktivitesinin inhibisyonu olduğu vurgulanmıştır (Chochois vd., 2010). Oksijenin etkisini önlemek için oksijene daha az hassas organizmaların tanımlanması, hidrojen ve oksijen döngülerinin ayrılması, ve fotosentezin (oksijen üretimi) solunuma (oksijen tüketimi) oranının değiştirilmesi çalışmaları başlamıştır. Bu sebeple günümüzde hidrojen üretiminde *Chlamydomonas reinhardtii* (*C. reinhardtii*) türü kullanılmaya başlanmıştır (Melis vd., 2000). Bu türle yapılan çalışmalarda ortamın sülfürden arındırılması ile fotosistem II (PSII)'nin kısmen ve geri dönüştürülebilir inhibisyonu sağlanmıştır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 *Chlamydomonas reinhardtii* ile fotobiyolojik hidrojen üretimi (Melis vd., 2000)

Bu durum, fotosistem II (PSII) için foto-koruyucu fonksiyona sahip olan D proteinlerinde meydana gelen geri dönüşümlü hasar nedeniyle O_2 'nin gelişimini sınırlamaktadır. Çünkü sülfatın yokluğunda, D proteinlerinin onarımı bozulur ve PSII'nin etkinliği progresif olarak azalır (Anandraj vd., 2019; Jorquera vd., 2008). Bu durumun solumum hızı üzerine bir etkisi olmayıp sadece anaerobik bir ortam oluşturmaktadır. Özet olarak yeşil algler fotosentezdeki güneş ışığının enerjisini, fotosistem II'nin (PSII) oksitleyici tarafındaki su moleküllerinden elektronları çıkarmak için kullanabilirler. Bu elektronların potansiyel enerjisi, önce PSII'de ve ardından fotosistem I'de (PSI), sıralı ışıkla tahrik edilen reaksiyonlarda artar. Böylece, suyun oksidasyonu ile açığa çıkan elektronlar PSI'nin indirgeyici tarafındaki Fe-S protein ferredoksinine taşınır. Yeşil algin kloroplastının stromasında yer alan "geri dönüştürülebilir hidrojenaz" indirgenmiş ferredoksininden gelen elektronları kabul eder ve bunları bir H_2 molekülü oluşturmak için $2H^+$ 'a verir (Melis vd., 2000). Bu sayede alglerden H_2 üretilmiş olur (Eşitlik (1.3)).



1.1.4 Entegre Hidrojen Üretim Prosesleri

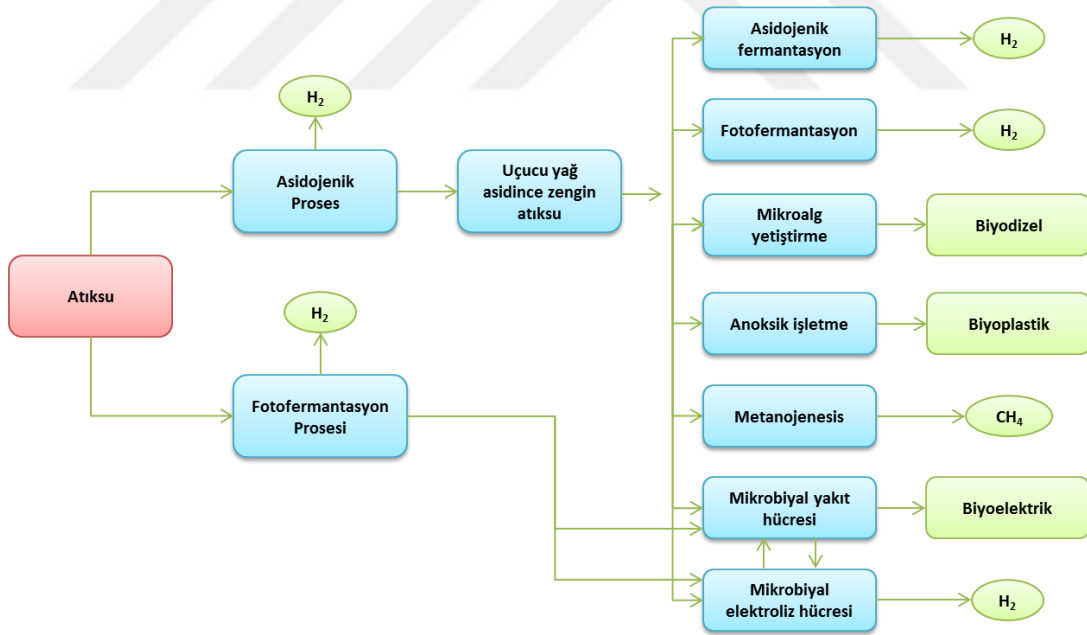
Bilindiği üzere asidojenik fermantasyon neticesinde asit (UYA) açısından zengin bir proses atığı oluşmaktadır ve bu asitçe zengin fraksiyonunun kullanılması ancak iki aşamalı enerji üreten (hibrit) proseslerin birbirine entegre edilmesiyle mümkün olmaktadır. Bu bağlamda kullanılan olası proses entegrasyonları Şekil 1.2'de gösterilmektedir. Literatürde yapılan çalışmalarda örneğin metan üretimi, ilave H₂ üretimi için asitojenik fermantasyon, ilave H₂ üretimi için fotobiyolojik prosesler, ilave H₂ üretimi için mikrobiyal elektroliz, biyoplastik üretimi, alg üretimi ve mikrobiyal yakıt hücreleri ile biyoelektrik üretimi gibi ikincil prosesler birincil karanlık fermantasyon ve H₂ üretim prosesi ile entegre edilmiştir (Tablo 1.4 ve Şekil 1.2). Başka proseslerle entegrasyon yaklaşımı, mevcut prosese ekstra bir ürün geri kazanımı sunması ve atıksu yükünün azaltılmasını kolaylaştırması sebebiyle tüm süreci ekonomik ve çevresel açıdan uygulanabilir kılmaktadır.

Tablo 1.4 Fermantatif H₂ üretimi ile entegre edilen farklı proseslerin detayları

Substrat	İlk Kademe	İkinci Kademe	Kaynaklar
Sorgum ekstraktı	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Metan	(Antonopoulou vd., 2012)
Melas	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Hidrojen (Foto-fermantasyon)	(Han vd., 2012; Özgür vd., 2010)
Alg (<i>Laminaria japonica</i>)	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Metan	(Jung vd., 2012)
Mısır sapı atığı	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Metan	(Cheng vd., 2012)
Meyve suyu endüstrisi atıksuyu	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Elektrik (Elektrofermantasyon)	(Gonzalez del Campo vd., 2012)
Mısır sapı	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon) ve Metan	(Cheng vd., 2012)
Organik atık	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Metan	(Kim vd., 2012)
H ₂ ve CH ₄ üretim reaktörü asitçe zengin atıksu	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Hidrojen (Foto-fermantasyon)	(Srikanth vd., 2009)
Sentetik Atıksu	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Biyoelektrik (Elektrofermantasyon)	(Mohanakrishna vd., 2010)
Şeker kamışı küspesi	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Hidrojen (Foto-fermantasyon)	(Wu vd., 2010)
Saman	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Metan	(Kaparaju vd., 2009)
Zeytin karasuyu	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Biyopolimer	(Ntaikou vd., 2009)
Organik atık	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Biyoplastik	(Venkateswar Reddy vd., 2014)
Organik atık	Biyoelektrik (Mikrobiyal yakıt hücresi)	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	(Chandrasekhar vd., 2015)
Meyve suyu endüstrisi atıksuyu	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Biyoelektrik (Mikrobiyal yakıt hücresi)	(Gonzalez del Campo vd., 2012)
Süt endüstrisi atıksuyu	Hidrojen (Karanlık Fermantasyon)	Mikroalg yetiştirme	(Chiranjeevi vd., 2017)

Henüz mikroalglerden doğrudan veya dolaylı biyofotoliz prosesleriyle biyohidrojen üretiminde ticari anlamda sürdürülebilir bir hidrojen üretimi gerçekleştirilecek büyük ölçekli bir çalışma yapılmamıştır. Bunun nedeni çözülmesi beklenen bazı teknik problemler olabilir ya da düşük H_2 verimi, hidrojenazların O_2 hassasiyeti, fotobiyoreaktörlerin yüksek maliyeti veya moleküler ve genetik çalışmalardaki teknolojik çıkmazlar olabilir.

Örneğin karanlık fermantasyonda *Escherichia coli* (*E.coli*) SR13 ile hidrojen üretim oranı 300 $LH_2/L/sa$ civarında iken doğrudan biyofotolizde *Chlamydomonas reinhardtii* ile hidrojen üretim oranı 0.012 $LH_2/L/sa$ civarındadır (Laurinavichene vd., 2006; Yoshida vd., 2005). Hidrojen üretim veriminin artırılması ve ticari anlamda bir ürün elde edilebilmesi açısından algler ile dolaylı biyofotoliz prosesini fermentatif bakteri kullanan karanlık fermantasyon prosesi ile entegre etmek iki prosesin dezavantajlarını ortadan kaldıracığı ve toplamda üretilen hidrojenin veriminin arttırılacağı araştırmacılar tarafından düşünülmektedir.



Şekil 1.2 Verimli H_2 üretimi için mümkün olan çeşitli entegrasyon yollarının şematik gösterimi

Önerilen bu entegre sistemler içerisinde CO_2 ile H_2 'nin ayrılacağı bir gaz ayırma sisteminin yapılması ile ayrılan CO_2 alglerin büyümesi için gerekli olan karbon kaynağı olarak da kullanılabilir. Bu strateji sadece biyofotoliz ile karanlık

fermantasyon arasında simbiyotik bir ilişki sağlamakla kalmayıp, enerji dönüşüm verimini arttırmakta ve entegre sistemde CO₂'nin faydalı kullanımını sağlamaktadır.

1.1.5 Biyohidrojen Üretiminde Kullanılan Reaktör Tipleri

Sürekli biyohidrojen üretim sistemleri H₂ üreten mikroorganizmaların reaktör içerisinde bulunduğu duruma göre askıda, granül yada biyofilm reaktörleri olarak sınıflandırılabilir. Biyohidrojen üretim çalışmaları CH₄ üreten biyoreaktörler kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. İki biyoenerji üretim sistemi arasındaki temel fark sadece mikroorganizmaların uygun çalışma koşullarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Anaerobik biyoreaktörlerin işletilmesinde en önemli noktalardan bir tanesi devreye alma aşamasıdır. Araştırmacılar H₂-üreten biyoreaktörlerin devreye alınması ve mikrobiyal organizmaların gelişimini sağlamak için farklı stratejiler uygulamışlardır. Biyoreaktörler genellikle farklı sürelerde kesikli sistemde çalıştırılarak mikroorganizmaların substrat ve çevresel koşullara aklımasyonu sağlanılmaktadır. Örneğin, Navarro vd. (2011), tam karışimli reaktörü 12 saat kesikli sistemde çalıştırırken, Ferreira Rosa vd. (2014), akışkan yatak reaktörü 76 saat süreyle ve Fernández vd. (2014), ise anaerobik filtreyi 2 gün süreyle kesikli sistemde çalıştırmışlardır. Daha sonra biyoreaktörler sürekli modda çalıştırılarak ve çevresel şartlar optimize edilerek reaktör performansı maksimize edilmektedir.

Tam Karışimli Tank Reaktör

Bugüne kadar yapılan karanlık fermentasyon ile H₂ üretim çalışmalarının çoğunluğu tam karışimli tank reaktörlerde (TKTR) gerçekleştirilmiştir. TKTR'de mikroroganizmalar askıda çoğalmaktadırlar. Fakat tam karışimli sistemlerde HBS'nin mikroorganizma alıkoyma süresine eşit olması sebebiyle çıkış akımı ile birlikte mikroorganizma kaçıışı olmakta ve biyoreaktör içerisindeki aktif H₂ üreten bakteri miktarı düşük kalmaktadır.

Araştırmacılar TKTR'ün 6 saatten daha fazla HBS'de çalıştırılmaya başlanmasını ve bekletme süresinin her yarım saat sonrası kademeli olarak azaltıldığında mikroorganizma kaçışının azaldığını ve mikrobiyal topluluk gelişiminin mümkün

olduğunu belirtmişlerdir (Cota-Navarro vd., 2011). Azbar vd. (2009), kısa HBS'nin termofilik sıcaklıkta (55 °C) H₂ üretimini geliştirdiğini fakat biyogazdaki H₂ içeriğinin HBS'den etkilenmediğini belirtmişlerdir. Diğer yandan, organik yükleme hızı (OYH) H₂-üretim hızında önemli bir değişiklik yapmazken OYH, 47 kg KOİ/m³.gün'den 21 kg KOİ/m³.gün'e düşürüldüğünde biyogaz içerisindeki H₂ oranı % 37'den %55'e yükselmiştir. KOİ giderme verimi farklı giriş KOİ ve HBS değerlerinde % 45'ler seviyesinde değişirken laktik ve formik asit ortamda en çok bulunan metabolik ürünlerdir.

Yukarı Akışlı Anaerobik Yataklı Reaktör

Yukarı akışlı çamur yataklı reaktör (YAÇY) gıda atıklarının anaerobik arıtımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü diğer reaktörlere kıyasla substrat ve mikroorganizmalar arasında daha iyi temas sağladığı gibi yüksek OYH'da stabil arıtma performansı sağlamaktadırlar (Chowdhury vd., 2010). Biyokütle başına yüksek OYH ve kısa HBS ile YAÇY'de yüksek H₂ üretimi gerçekleştirilirken reaktör içerisinde oluşan granüller başarılı arıtmada önemli paya sahiptirler. Sürekli H₂-üretim sistemlerinde granül çamurlar biyofilm sistemlere kıyasla daha fazla mikroorganizma içermektedir. Bununla birlikte H₂-üreten granül oluşumu için YAÇY reaktörleri daha uzun sürede devreye alınmaktadır.

Akışkan Yataklı Reaktör

Sahip olduğu yoğun mikroorganizma konsantrasyonu ve yüksek organik madde giderme verimi nedeniyle anaerobik atıksu arıtım çalışmalarında akışkan yataklı reaktörlerin kullanımı hızla yaygınlaşmaktadır. Yüksek hızlı su girişiyle veya biyogaz geri devriyle akışkan hale getirilen yatak malzemesiyle sağlanan geniş yüzey alanında gelişen biyofilm halindeki mikroorganizmalar kullanılarak organik maddelerin stabilizasyonu gerçekleştirilmektedir. Akışkan yataklı reaktörlerin en önemli avantajları düşük HBS ve yüksek OYH'da biyokütle kaybı olmadan işletilebilmesi, kütle transfer direncinin düşük olması ve yatak malzemesinde tıkanma probleminin olmamasıdır.

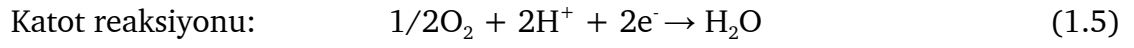
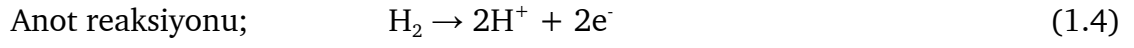
1.1.6 Hidrojenin PEM (Polimer Elektrolit Membran) Tipi Yakıt Hücrelerinde Elektrik Enerjisine Dönüştürülmesi

Hibrit sistemde üretilen H₂'nin sisteme entegre edilen PEM tipi yakıt hücresinde elektriğe dönüştürülmesi sürdürülebilir yönetim açısından oldukça önemlidir. Yakıt hücrelerinin en büyük avantajı, enerji dönüşümünün teorik veriminin, ısıyla elektrik üreten sistemlere nazaran yaklaşık iki kat daha fazla olmasıdır. Atıksulardan üretilen H₂'nin yakıt hücrelerinde yakıt olarak kullanılması da CO₂ emisyonunun azaltan bir unsur olarak görülmektedir. Ayrıca PEM yakıt hücrelerinin diğer yakıt hücrelerine göre; düşük sıcaklıklarda yüksek güç yoğunluğuna sahip olması, sistemin hızlı başlayabilmesi ve enerji talebine anında cevap verebilmesi gibi avantajları vardır. Bu sebeplerden dolayı PEM tip yakıt hücreleri otomotiv ve konut uygulamaları için en uygun yakıt hücresi olarak düşünülmektedir. PEM yakıt hücrelerinin kullanım alanında uygulanmasına yönelik araştırma geliştirme çalışmaları üzerine pek çok çaba sarf edilmiş ve ileri düzeyde çalışmalar başarıyla gerçekleştirilmiştir. Bu bölümde PEM tipi yakıt hücrelerinin bileşenlerinin genel özellikleri ve çalışma prensiplerinden bahsedilmiştir.

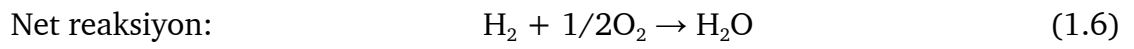
Yakıt hücreleri hidrojenle bulunan kimyasal enerjiyi elektrik enerjisine çeviren bir teknolojidir. Proses sonunda atık olarak sadece su buharı ve ısı oluşturmaktadır. Sistem basit bir pil gibi düşünülebilir. Pil ile yakıt hücresi arasındaki ayırım ise, pili sürekli şarj etmek gerekir fakat yakıt hücrelerinde şarj ihtiyacı yoktur.

Yakıt hücresinin en önemli kısımları genellikle proton değiştirici membranlardır. Membranın her iki tarafında anot ve katot elektrotları bulunur. Elektrotlar, beslenen yakıtın elektrot-membran yüzeyine ulaşması ve oluşan suyun hücre dışına atılmasını sağlayacak şekilde gözenekli yapıda olmalıdır. Elektrotlar, gaz difüzyon tabakası (GDT) ve bu tabakanın üzerine kaplanmış katalizörlerden oluşur. Katalizör olarak çoğunlukla platin veya platin alaşımları kullanılmaktadır. Fakat platin katalizörler önemli derecede maliyeti arttırmaktadır.

Yakıt hücresinin anot ve katot kısmında iki farklı reaksiyon meydana gelmektedir. Bunlar; anot bölgesinde beslenen ve yakıt olarak kullanılan hidrojenin yükseltgenme reaksiyonu, katot kısmında ise oksijenin veya havanın indirgenme reaksiyonudur (ORR).



PEM tipi yakıt hücresinin genel reaksiyonu anot ve katot reaksiyonlarının toplamından oluşmaktadır;



1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında; organik içeriği yüksek kuvvetli endüstriyel atıksuların arıtımını sağlayacak alternatif enerji kullanan, işletme maliyeti düşük sürdürülebilir bir entegre arıtma sistemi geliştirilmiştir. Atıksuyun katma değeri olan bir ürüne dönüştürülmesi ve biyohidrojen üretiminin gerçekleştirileceği bu çalışmanın ön plana çıkan temel amaçları;

- Kuvvetli organik içeriğe sahip süt endüstrisi atıksularından biyolojik yöntemler ile biyohidrojen üretimi,
- Biyohidrojen üretimine etki eden faktörlerin belirlenmesi ve verimi arttıracak çalışmaların yapılması,
- Karanlık fermantasyon ve fotobiyoliz prosesinin birlikte kullanılması ile hidrojen üretim veriminin artırılması,
- Karanlık fermantasyon neticesinde üretilen H₂/CO₂ karışımı biyogazdan, gaz saflaştırma teknolojileri ile biyogazdan CO₂'nin giderilmesi ve biyohidrojenin saflaştırılması,
- Karanlık fermantasyon neticesi açığa çıkan hidrojenin PEM tipi yakıt hücresinde elektrik enerjisine dönüştürülmesi ve bu sayede sıfır karbon emisyonlu temiz enerji üretiminin gerçekleştirilmesi ve
- Atıksuyun deşarj standartlarına ulaşabilecek şekilde enerji verimliliği yüksek bir sistemde arıtımı şeklinde sıralanabilir.

1.3 Hipotez

Avrupa Birliđi, enerji tüketiminin en az %20'sini yenilenebilir enerjiden karşılanması hedefini önermektedir. Bununla ilgili olarak 2020 yılı itibariyle üye ülkelerdeki araç yakıtı tüketiminin en az %10'unun yenilenebilir kaynaklardan (öncelikle biyoyakıt) karşılanması gerektiğini şart koymuştur. İklim değişikliği ve hava kalitesinin iyileştirilmesi için alınan önlemler, yenilenebilir enerji kaynaklarının ısı ve elektrik enerjisi üretimine ve yakıt olarak kullanımına olan ihtiyacı arttırmaktadır. Bu kapsamda enerji güvenliğini arttırmaya yönelik mevcut uygulama ve politikalar, biyoyakıt kullanımıyla iklim değişikliğini azaltmak, kırsal gelişimi ve tarımı desteklemeye yöneliktir. Fosil yakıtların alternatifi olarak sürekli gelişim gösteren önemli yakıt türü olarak öne çıkan hidrojen bugün dünyada en çevreci ve temiz yakıt olarak bilinmektedir. Son zamanlarda dikkat çeken uygulamalar ise fosil yakıtlar yerine temel enerji kaynakları ile biyokütleden hidrojen yakıtı üretilmesini öngörmektedir. Bu sebeple yenilenebilir biyokütleden hidrojen üretimi ve üretilen hidrojenin değerlendirilmesi, diğer teknoloji ve kaynaklara temiz ve çevreci bir teknoloji olma potansiyeline sahiptir.

2.1. Atıksu Karakterizasyonu

Biyohidrojen üretim çalışmalarında kullanılmak üzere süt endüstrisi atıksuyu İstanbul'da yer alan bir süt fabrikasından temin edilmiş olup karakterizasyonu Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 Süt endüstrisi atıksuyu karakterizasyonu

Parametre	Birim	Ortalama değer
BOİ	mg/L	3800
KOİ	mg/L	7000
AKM	mg/L	770
pH	-	5,5
TN	mg/L	340
Alkalinite	mgCaCO ₃ /L	820

Atıksu birer haftalık arayla, bir ay boyunca temin edilmiş ve stabil bir kompozisyon elde etmek için karıştırılarak buzdolabında +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Çalışmaların bazı bölümlerinde süt endüstrisini karakterize edecek sentetik atıksu kullanılmıştır. Hazırlanan sentetik atıksu 2,35-7 g/L glikoz, 0,5 g/L NH₄Cl, 0,25 g/L KH₂PO₄, 0,25 g/L K₂HPO₄, 0,3 g/L MgCl₂, 25 mg/L CoCl₂, 11,5 mg/L ZnCl₂, 10,5 mg/L CuCl₂, 5 mg/L CaCl₂, 15 mg/L MnCl₂, 16 mg/L NiSO₄, 50 mg/L FeCl₃ ve 0,2 g/L BES (2-bromoethanesulphonate) kullanılarak hazırlanmıştır (Mohanakrishna vd., 2010).

2.2 Uygun Mikrobiyal Türlerin Belirlenmesi ve Büyüme Ortamlarının Optimize Edilmesi

Bu kapsamda atıksuda bulunan besi maddelerini kullanabilen fermantatif/asidojenik bakteriler ve literatürde en yüksek H₂ üretim verimine sahip *C. reinhardtii* türünün çoğalma ortamlarının optimizasyonu yapılmıştır.

2.2.1 Asidojenik Bakterilerin Seçimi ve Zenginleştirilmesi

Karanlık fermantasyonda kullanılmak üzere bir gıda endüstrisi anaerobik arıtma tesisinden granüler çamur temin edilmiştir. Anaerobik arıtma tesisinden elde edilen granül çamurda metanojenlerin inhibe edilmesi ve hidrojen üreten asidojenik bakterilerin seçilmesi için bir dizi ön işlem uygulanmıştır. Literatür araştırmalarıyla belirlenen sekiz aşılı ön işlem metodu seçilmiş ve uygulanma yöntemleri Tablo 2.2’de gösterilmiştir (Bundhoo vd., 2015; Kannaiah Goud vd., 2014; Wang vd., 2017).

Tablo 2.2 Aşılı çamuruna uygulanan ön işlem metodları ve prosedürleri

Ön İşlem Metodu	Prosedür
Asit ile ön işlem (acid shock)	pH 3-4’te 24 sa bekletme (%40 Ort-P Asit ile 25 °C sıcaklıkla)
Baz ile ön işlem (base shock)	pH 10-11’de 24 sa bekletme (1N NaOH ile 25 °C sıcaklıkla)
Otoklav (autoclave)	121 °C’de 20 dk
Donma-Çözme (freze-thaw)	-20°C/25°C’de her biri için 6 sa olmak üzere 2 döngü
Ultrasonik ön işlem (ultrasonication)	20 kHz frekans, 140W, 20 dk (25 °C’de)
Kimyasal ön işlem (BESA)	10mM BESA 25 °C’de 24 sa bekletme
Kloroform (chloroform)	%1 v/v CHCl ₃ 25 °C’de 24 sa
Kaynatma (heat shock)	100 °C, 2 saat

Ultrasonik ön işlem için laboratuvar tipi Bandelin Sonopuls HD2200 (Germany) sonikatörü kullanılmıştır. Laboratuvar çalışmaları 100 ml'lik serum şişelerinde (aktif hacim 70 mL) ve 35 °C sıcaklıkta çalkalamalı inkübatörde, seyreltilmiş süt endüstrisi atıksuyu (KOİ: 1500 mg/L) ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan aşı çamurunun karakterizasyon çalışmaları yapılmış ve uçucu askıda katı madde oranı 0,113 gUAKM/gçamur olarak belirlenmiştir. Kurulan setlerde F/M oranında literatür çalışmaları dikkate alınmıştır. Örneğin Rittmann ve McCarthy (2001)'de karışık kültürün ($C_{4,9}H_{9,4}O_{2,9}N$) moleküler ağırlığını 129 g ve KOİ/ağırlık oranı 1,26 vermiştir. Buradan hareketle gUAKM/gçamur oranı 0,89 (1-0,113) ve gKOİ/gUAKM oranı 1,12 (1,26x0,89) hesaplanmıştır. Bu nedenle F/M oranı yaklaşık olarak 1 gKOİ/gUAKM olarak seçilmiştir. Şişelere 50 ml atıksu 10 ml nütrient çözeltisi ve 1 gKOİ/gUAKM olacak şekilde ön işleme maruz bırakılmış aşı çamuru eklenmiştir. Anaerobik şartların oluşması için azot gazından geçirilen şişeler kapatılarak 35°C sıcaklıkta inkübatöre yerleştirilmiştir. Oluşan biyogaz hacimleri gün içerisinde 2 kez ölçülerek, gaz kompozisyonu gaz kromatografisinde analiz edilmiştir.

2.2.2 Mikroalglerin Temini, Zenginleştirilmesi ve Biyohidrojen Üretim Çalışmaları

Hidrojen üretim çalışmalarında kullanılmak üzere, CC-125- *C. reinhardtii* türü ise; Chlamydomonas Resource Center, University of Minnesota'dan temin edilmiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Chlamydomonas Resource Center'dan temin edilen CC-125- *C. reinhardtii* türü ve kültür ortamları

Temin edilen CC-125- *C. reinhardtii* türü TAP (Tris-Acetate-Phosphate) ortamında aerobik şartlarda çoğaltılmıştır. TAP besiyeri içeriği ve hazırlanışı Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.3 TAP besiyeri içeriği

Tuz Çözeltisi (5 ml/L)		
NH ₄ Cl	100 g	Tüm çözeltiler 1 L içerisinde hazırlanır
CaCl ₂ .2H ₂ O	2 g	
MgSO ₄ .7H ₂ O	4 g	
Fosfat Çözeltisi (5 ml/L)		
K ₂ HPO ₄	288 g	Tüm çözeltiler 1 L içerisinde hazırlanır
KH ₂ PO ₄	144 g	
Asetat Çözeltisi (5 ml/L)		
CH ₃ COONa.3H ₂ O	300 g	Tüm çözeltiler 1 L içerisinde hazırlanır
İz Element Çözeltisi (1 ml/L)		
EDTA disodium salt	50 g/250 mL	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	20 g/100 mL	
H ₃ BO ₃	11,4 g/200 mL	
MnCl ₂ .4H ₂ O	5,06 g/50 mL	
CoCl ₂ .6H ₂ O	1,61 g/50 mL	
CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57 g/50 mL	
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	1,1 g/50 mL	
FeSO ₄ .7H ₂ O	4,99 g/50 mL	

Besiyerinin hazırlanmasına kültür ortamının sterilizasyonu için kullanılan malzemelerin otoklavlanması ile başlanmıştır. İçeriği tabloda belirtilen TAP sıvı besiyeri Merck Milipore Direct-Q-5 Ultrapure cihazından elde edilen çift distile su ile hazırlanmıştır. Hazırlanan kültür ortamındaki elementlerin son konsantrasyonları; 9,35 mM NH₄⁺, 22,12 mM K⁺, 0,27 mM Na⁺, 0,068 mM Ca⁺², 0,081 mM Mg⁺², 0,018 mM Fe⁺², 0,076 mM Zn⁺², 0,006 mM Cu⁺², 0,007 mM Co⁺², 0,026 mM Mn⁺² ve 0,006 mM Mo⁺⁶ olarak belirlenmiştir. Kültür ortamı ve alg türü steril erlenmayerlere koyularak 1000 lüks ışık şiddeti veren floresan ışık kaynağı ile sürekli aydınlık ortamda ve karıştırıcı üzerinde aerobik olarak çoğaltılmaya bırakılmıştır (Şekil 2.2).

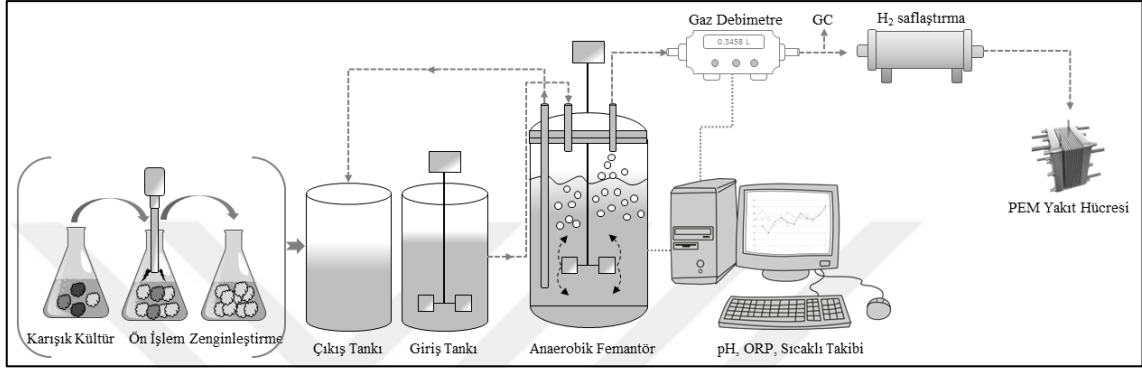


Şekil 2.2 *C. reinhardtii* türü ile TAP-S ortamında hidrojen üretim çalışmaları

Mikroalglerin TAP ortamında zenginleştirilmesinden sonra, hidrojen üretim çalışmaları için, sülfürsüz TAP-S besiyeri kullanılmıştır. TAP-S besiyerinin TAP besiyerinden farkı ise, sülfürsüz tuz çözeltileri ve sülfürsüz eser elementler içeriyor olmasıdır. Yani bu türle yapılan çalışmalarda ortamın sülfürden arındırılması ile fotosistem II (PSII)'nin kısmen ve geri dönüştürülebilir inhibisyonu sağlanmıştır. Bu durumun solunum hızı üzerine bir etkisi olmayıp sadece anaerobik bir ortam oluşturmaktadır.

2.3 Fermentörlerin Kurulumu ve İşletilmesi

Karanlık fermantasyon çalışmaları 5 L hacmindeki Electrolab Marka FerMac 320 model fermentörlerde gerçekleştirilmiştir. Fermentör tam karıştırımlı çalışmakta olup pH, ORP ve sıcaklık kontrolleri çevrim-içi olarak yapılabilmektedir. Fermentörde gerçekleştirilen çalışmaların şematik görünümü Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3 Fermentörde takip edilen çalışmaların şematik görünümü

Reaktöre beslenecek atıksu, su banyosu ile +4 °C'de çalıştırılan su banyosunda bekletilmekte ve buradan reaktöre beslenmektedir. Biyoreaktör, Watson Marlow-300 serisi peristaltik pompa ile kesikli beslemeli olarak işletilmiştir. Şekil 2.4'te biyoreaktörün işletme döngüsü verilmiştir.



Şekil 2.4 Biyoreaktörün işletme döngüsü (Hidrolik bekleme süresi 24 saat için örnek gösterim)

Reaktör, atıksu hacmi 3 L, sıcaklığı 35 °C, atıksu pH'sı 5,5-6 arasında ve farklı hidrolik bekletme sürelerinde işletilecek şekilde devreye alınmıştır. Atıksu pH'sı 1 N NaOH ve %40'lık orto-fosforik asit kullanılarak otomatik olarak Electrolab Yazılımı ile 5,5-6 aralığına ayarlanmıştır. Reaktör işletim esnasında oksidasyon-reduksiyon potansiyeli (ORP) değişimi ise çevrim-içi olarak izlenerek kaydedilmiştir. Reaktörde çıkan gaz hacmi ise online gaz ölçüm cihazı ile ölçülerek kaydedilmiştir.

2.4 Analitik Yöntemler

Reaktörlerde üretilen biyogaz 10L'lik Tedlar marka (Restek, ABD) gaz torbalarında biriktirilmiş ve biyogaz içerisindeki H₂ fraksiyonu Shimadzu GC2014 marka/model gaz kromatografisinde analiz edilmiştir. Gaz kromatografisi Termal İletkenlik Dedektörü (TCD) ile donatılmış olup, çalışmalarda, 2m uzunluğunda ve 1mm iç çapına sahip dolgulu kolon (Restek, ABD) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 10 mL/dk debisinde argon gazı kullanılmıştır. Kolon, detektör ve enjektörün çalışma sıcaklıkları sırasıyla 80, 200 ve 110 °C belirlenmiştir. Uçucu yağ asidi analizleri ise Alev İyonizasyon Dedektörü (FID) içeren Shimadzu GC2010 marka/model gaz kromatografisinde gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağ asidi analizleri öncesinde reaktörden alınan numuneler 0,45 mm çaplı şırınga filtreler (Restek, ABD) kullanılarak filtre edilmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalar neticesinde elde edilen biyogaz üretimlerinin modellenmesi için modifiye edilmiş Gompertz eşitliği kullanılmıştır.

$$H = H_{max} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{max,H_2} e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (2.1)$$

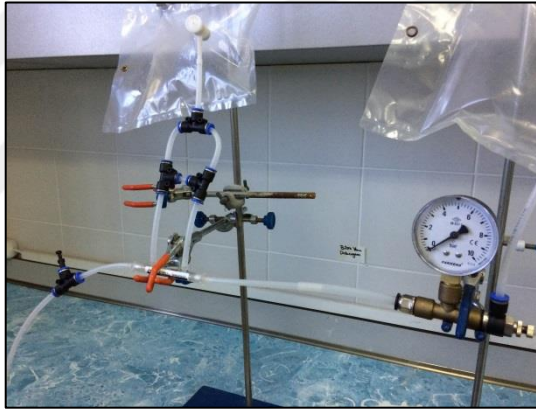
$$r_{H_2} = R_{max,H_2} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{max,H_2} e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] + \left[\frac{R_{max,H_2} e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] + 1 \right\} \quad (2.2)$$

Burada; H kümülatif hidrojen üretimi (mL/L), H_{max} maksimum kümülatif hidrojen üretimini (mL/L), R_{max,H₂} maksimum hidrojen üretim hızını (L/L/saat), λ lag süresini (saat), t fermantasyon süresini (saat), r_{H₂} hidrojen üretim hızını

(L/L/saat) göstermektedir. Model parametrelerinin elde edilmesi için, fermantatif hidrojen üretiminden elde edilen zamana karşı kümülatif hidrojen üretim deneysel verileri grafiğe geçirilmiş ve Excel kullanılarak lineer regresyonla kinetik katsayılar belirlenmiştir.

2.5 Biyohidrojen Saflaştırma Çalışmaları

Saflaştırma çalışmalarında 32 adet hollow-fiber içeren 10 cm² yüzey alanına sahip silikon hollow-fiber membran (Permselect PDMSXA, MedArray, ABD) kullanılmıştır (Şekil 2.5). Membranın işletimi esnasında besleme, süzüntü ve konsantre akımlarındaki gaz kompozisyonları sürekli olarak Shimadzu GC2014 marka/model gaz kromatografisinde analiz edilmiştir. Biyogaz, besleme basıncı 0,5-4 bar arasında değişecek şekilde hollow-fiber membrana peristaltik pompa (Watson Marlow, Belçika) yardımıyla beslenmiştir.



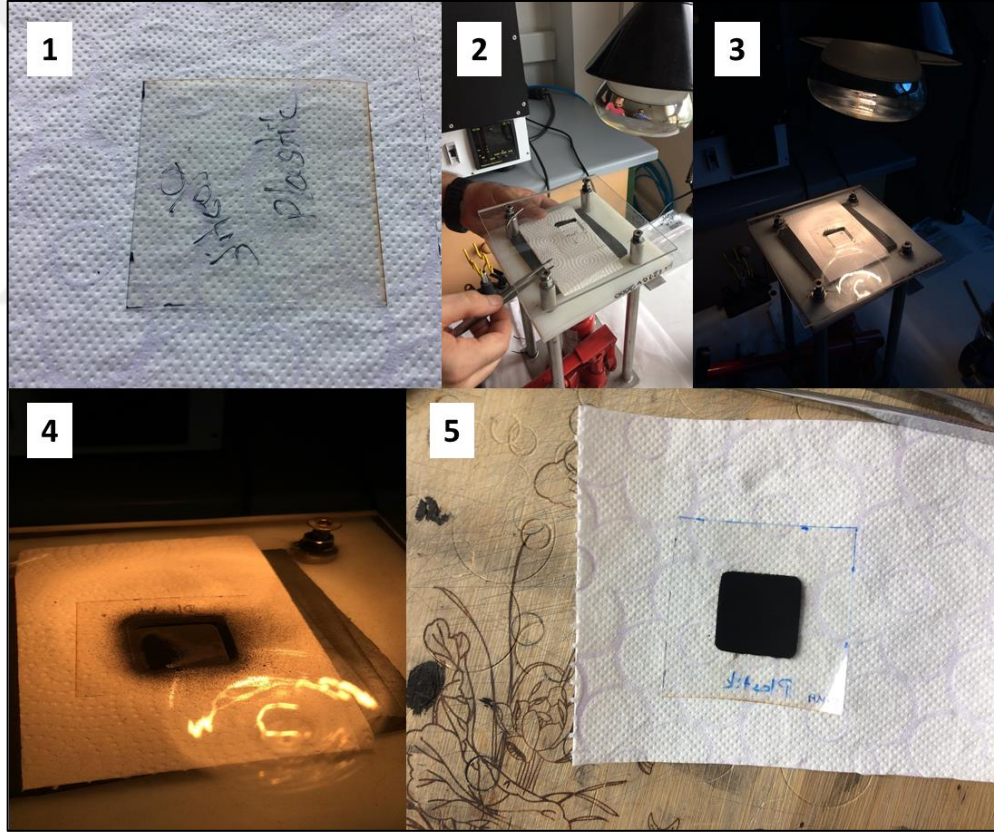
Şekil 2.5 Biyohidrojenin saflaştırılması çalışmalarında kurulan deney düzeneği
Membranın ideal seçiciliği (α) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\alpha_{i/j} = \frac{\left(\frac{P}{L}\right)_i}{\left(\frac{P}{L}\right)_j} \quad (2.3)$$

Burada, $(P/L)_{i,j}$ membrandan geçen ve geçemeyen gaz bileşenlerinin akımlarını ifade etmektedir. Gazların geçirgenlik katsayıları ise Ramírez-Morales vd., (2013)'te belirtildiği gibi hesaplanmıştır.

2.6 Yakıt Hücresi Kurulumu ve Elektrokimyasal Analizler

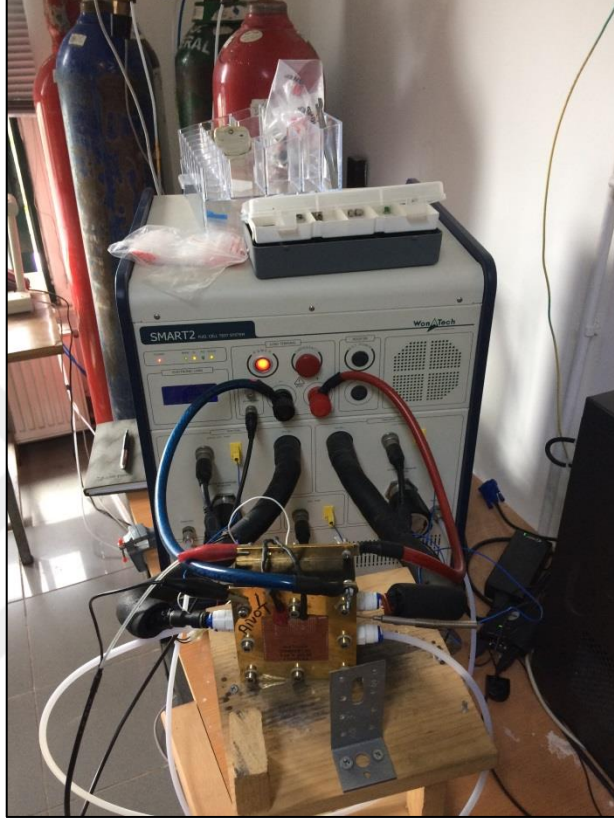
İlk olarak PEM yakıt hücrelerinde kullanılacak olan MET (membran elektrot takımı) hazırlanmıştır. Bu aşamada membran olarak “Nafion 211” membranı, Ticari Katalizör (%38 Pt/Vulcan XC Tanaka) ve karbon kağıt kullanılmış ve hazırlanacak olan MET alanı 5 cm² olarak belirlenmiştir. Çalışmada ticari katalizör belirlenen miktarda tartılmış; 1 mL deiyonize su & 1 ml izopropanol karışımı içerisine katılmıştır. Karışıma daha sonra %5’lik Nafion çözeltisi eklenmiş ve destek karışımı 20 dakika manyetik karıştırıcıda, 15 dakika ultrasonik banyoda, 1 dakika ultrasonik homojenleştiricide maksimum güçlerde karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım sprej yöntemi ile Nafion membran üzerine Şekil 2.6’da görüldüğü üzere kaplanmıştır.



Şekil 2.6 Membran elektrot takımları hazırlama çalışmaları (1) kaplanmamış membran, (2) kaplama düzeneği, (3) ısı altında spreyle katalizör kaplama, (4) katalizör kurutma işlemi, (5) kaplanmış membran

Kaplama işlemi ve sonrası membran ağırlığı tartılarak kaplanan katalizör miktarı bulunmuştur. Yapılan işlemler neticesinde membranın anot yüzüne 0,1085

mgPt/cm² katot yüzeyine ise 0,0974 mg Pt/cm² katalizör kaplandığı tespit edilmiştir. Hazırlanan membranların her iki tarafına karbon kağıt elektrotlar yerleştirilerek PEM yakıt hücresi kurulmuştur. Hazırlanan yakıt hücresi Şekil 2.7'de görüldüğü gibi yakıt hücresi test sistemine (WonATEch Smart 2) bağlanmıştır.



Şekil 2.7 Yakıt hücresi test sistemine bağlanan PEM yakıt hücresi görünümü

Yakıt hücresi test sistemine bağlanan PEM yakıt hücresinden ilk olarak azot gazı geçirilmiş (purge), daha sonra anota azot, katoda H₂ gazı beslenerek döngüsel voltametri analizi yapılmıştır. Bu işlem katalizörün aktif yüzey alanının belirlenmesi amacıyla yapılmış olup, döngüsel voltametri sonuçları değerlendirilerek aktif yüzey alanları hesaplanmıştır.

Yakıt hücresinin hazırlanmasından sonra, %100 saf H₂, %80 H₂ / %20 CO₂ (biyoreaktörden gelen saflaştırılmış hidrojen), ve %60 H₂ / %40 CO₂ (biyoreaktörden gelen ham biyogaz) gazları PEM yakıt hücresine beslenmiştir.

Elektrokimyasal aktif yüzey alanının belirlenmesi için döngüsel voltametri (cyclic voltammetry) ölçümleri Gamry Interface 1000 Epotentiostat cihazı kullanılarak

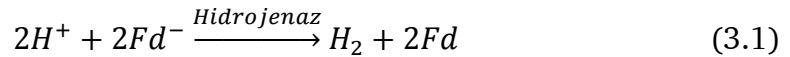
gerçekleştirilmiştir. Döngüsel voltametri eğrileri 500 mVs^{-1} tarama hızında 0-1,2 V potansiyelinde alınmıştır. PEM yakıt hücresinin katot elektrotu referans elektrot, anot elektrotu ise çalışan elektrot olarak belirlenmiştir. Döngüsel voltametri ölçümleri esnasında anot bölgesi saf hidrojen ve diğer gaz karışımları ile beslenmiş, katot bölgesi ise saf N_2 gazı ile beslenmiştir.

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EES) ölçümleri de Gamry Interface 1000 Epotentiostat cihazı kullanılarak 0,8 V'ta 37000 Hz - 0,1 Hz frekans aralığında gerçekleştirilmiştir. Empedans spektroskopisi sonuçları, Nyquist diyagramı şeklinde sunulmuş ve Simplex metodu kullanılarak uyarlanmıştır.

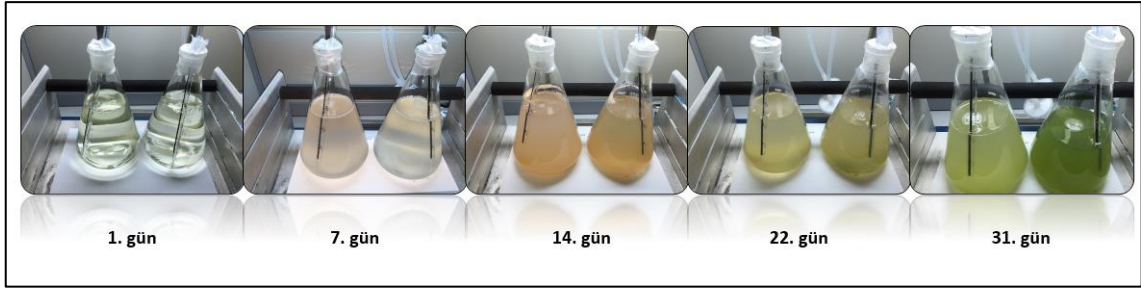


3.1 Mikroalg Çalışmaları

Bu türle yapılan çalışmalarda ortamın sülfürden arındırılması ile fotosistem II (PSII)'nin kısmen ve geri dönüştürülebilir inhibisyonu sağlanmıştır. Bu durum, fotosistem II (PSII) için foto-koruyucu fonksiyona sahip olan D proteinlerinde meydana gelen geri dönüşümlü hasar nedeniyle O₂'nin gelişimini sınırlamaktadır çünkü sülfatın yokluğunda, D proteinlerinin onarımı bozulur ve PSII'nin etkinliği progresif olarak azalır (Anandraj vd., 2019; Jorquera vd., 2008). Bu durumun solumum hızı üzerine bir etkisi olmayıp sadece anaerobik bir ortam oluşturmaktadır. Özet olarak yeşil algler fotosentezdeki güneş ışığının enerjisini, PSII oksitleyici tarafındaki su moleküllerinden elektronları çıkarmak için kullanabilirler. Bu elektronların potansiyel enerjisi, önce PSII'de ve ardından fotosistem I'de (PSI), sıralı ışıkla tahrik edilen reaksiyonlarda artar. Böylece, suyun oksidasyonu ile açığa çıkan elektronlar PSI'nin indirgeyici tarafındaki Fe-S protein ferrodoksinine taşınır. Yeşil algin kloroplastının stromasında yer alan "geri dönüştürülebilir hidrojenaz" indirgenmiş ferredoksininden gelen elektronları kabul eder ve bunları bir H₂ molekülü oluşturmak için 2H⁺ 'a verir (Melis vd., 2000).



Elde edilen bu veriler ışığında, bu çalışmada biyohidrojen üretimi için *C. reinhardtii* türü seçilmiş ve çalışmalar bu tür ile gerçekleştirilmiştir. Temin edilen CC-125- *C. reinhardtii* türünün çoğaltılması için, sıvı ortamdan alınan tür, TAP (Tris-Acetate-Phosphate) ortamına 10 ml/500 mL konsantrasyonlarında aktarılmıştır. Erlenler; oda sıcaklığında (25 °C), sürekli aydınlatmalı (1000 lüks ışık şiddetinde) ortamda ve 50 rpm karıştırma hızında, çalkalamalı karıştırma cihazına alınmıştır (Şekil 3.1).



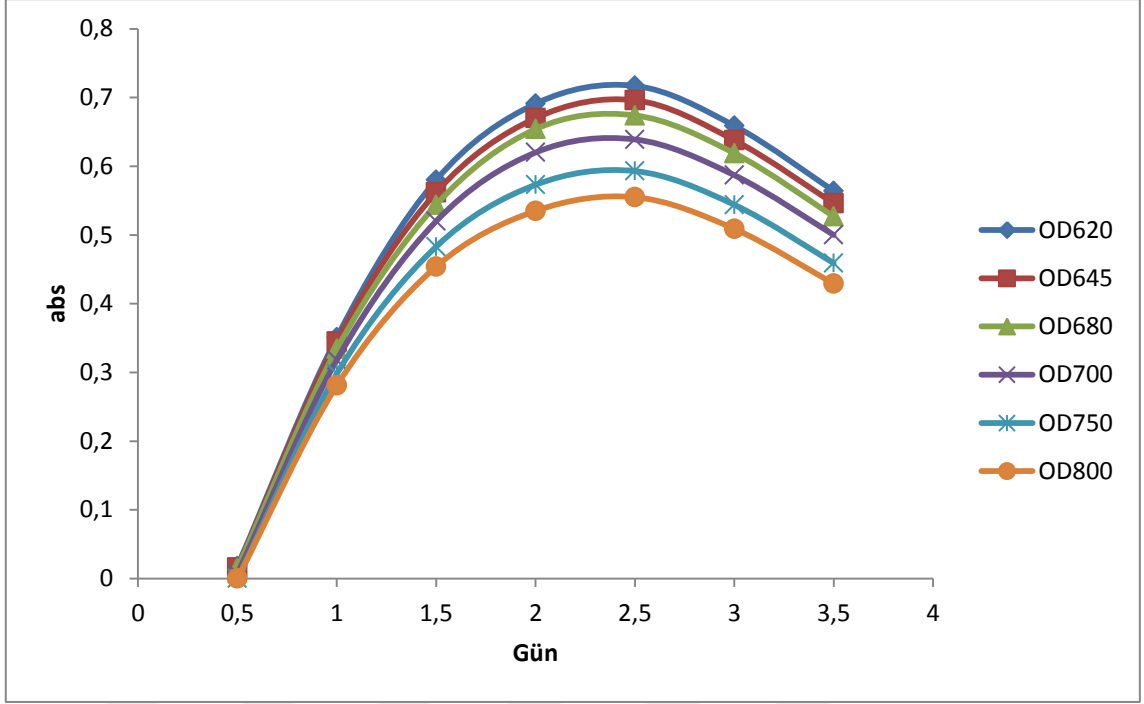
Şekil 3.1 CC-125-*C. reinhardtii* türünün zamanla çoğalması gösteren akım resimler

Yapılan ilk çalışmalarda CC-125-*C. reinhardtii* türünün diğer alg türlerine göre daha hızlı çoğaldığı görülmüştür. Daha sonra çoğaltılan mikroalg türlerinden tekrar TAP ortamına ekim yapılmıştır (Şekil 3.2). Bu işlemin başladığı günden itibaren optik yoğunluk ölçümleri yapılmıştır.



Şekil 3.2 Başlangıçta ve dördüncü günün sonunda CC-125-*C. reinhardtii* türündeki değişim

Optik yoğunluğunu ölçmek için kültürler homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra pipet yardımıyla günde 2 defa 2 ml alınarak saf su ile kalibre edilen spektrofotometrede 620, 645, 680, 700, 750 ve 800 nm dalga boylarında okuma yapılmıştır (Şekil 3.3).

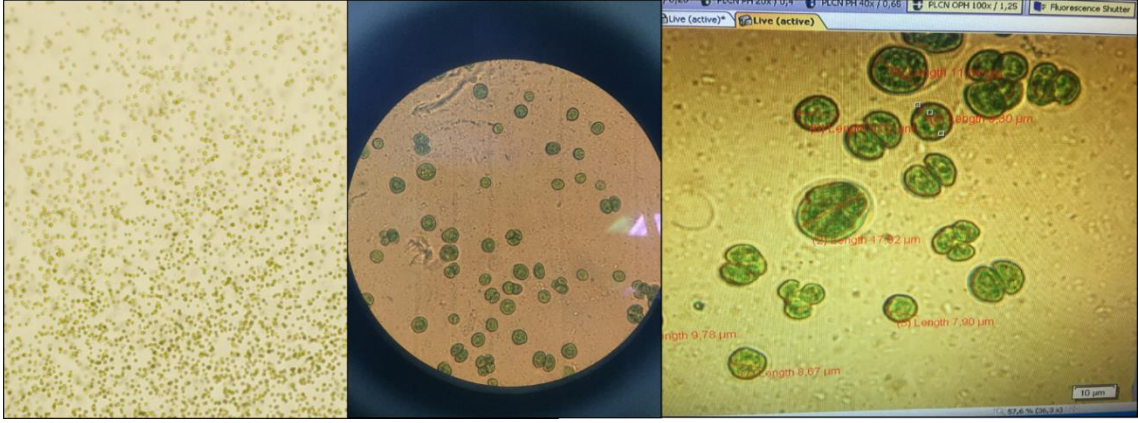


Şekil 3.3 CC-125-*C. reinhardtii* üretimi optik yoğunluk değerleri

İlk çoğaltılan mikroalglerin optik yoğunluğu 0,579 olarak tespit edilmiştir. İkinci set çoğaltma işleminde ise yeni numunenin optik yoğunluğu 0,05 olacak şekilde eski numunenin 10 kat seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

CC-125-*C. reinhardtii* 'nin üretim sürecinde elde edilen analiz sonuçları Şekil 3.3'te verilmiştir. Çalışma yaklaşık 1 hafta sürmüştür ve sonuçlar incelendiğinde yaklaşık 2,5 günde bu türün doygunluk değerine ulaştığı görülmüştür. Yapılan çalışmalar CC-125-*C. reinhardtii* türünün diğer alg türlerine göre daha hızlı çoğaldığı göstermiştir. Çoğaltılan mikroalg türleri hidrojen çalışmalarına başlamasına kadar sürekli olarak çoğaltılmaya devam edilmiştir.

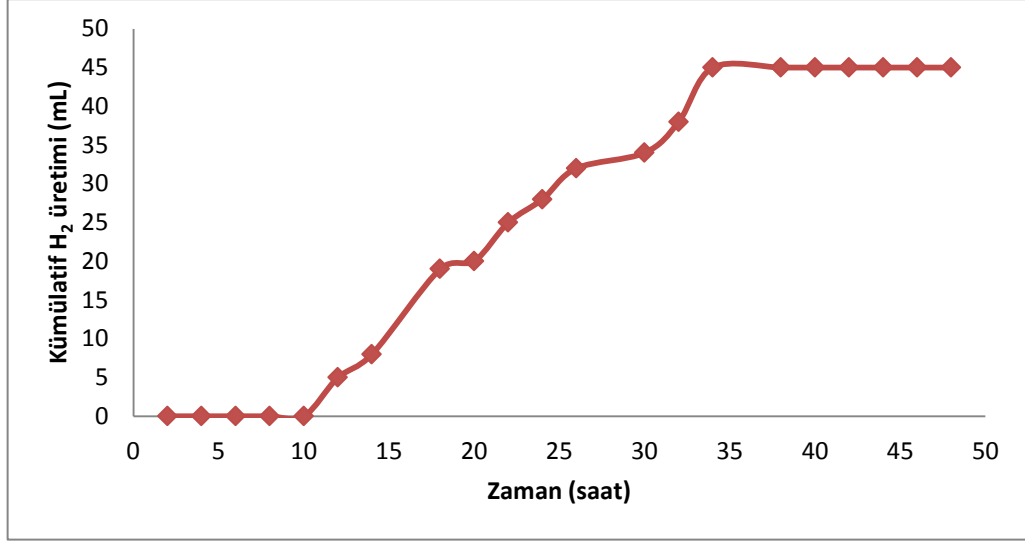
C. reinhardtii 'nin TAP ortamında çoğaltılması esnasında mikroalg hücre yoğunluğu "hücre kuru ağırlığı" olarak ölçülmüş ve büyüme doygunluğa ulaşana kadar takip edilmiştir. Zenginleştirme çalışmaları başladığı andan doygunluğa ulaştığı zamana kadar hücre kuru ağırlığı 0,12 g/L ile 1,9 g/l (3. gün) arasında ölçülmüş olup; 0-1. gün arasında 0,12-0,17 g/L aralığında, 2. günden çalışmanın sona erdiği zamana kadar ise artış gösterip 1,9 g/L değerine ulaşmıştır.



Şekil 3.4 CC-125-*C. reinhardtii* türünün mikroskop görüntüleri

Zenginleştirme çalışmalarının yürütüldüğü esnada *C. reinhardtii* türü, mikroskop altında incelenmiş ve başlangıçta 2-4 μm çapında olan alg türlerinin 4 gün gibi kısa bir sürede 15-20 μm boyutlarına ulaştığı gözlemlenmiştir (Şekil 3.4).

Yapılan bu çalışmalarda TAP besiyerindeki sülfür, çok düşük düzeylerde tutulmuş olup, sadece *Chlamydomonas* hücrelerinin bölünmesi, büyümesi ve yüksek yoğunluğa ulaşması için yeterli miktarlarda sağlanmıştır. Daha sonra hidrojen üretimi için, sülfürsüz TAP besiyeri (TAP-S) kullanılmış ve bu sayede hücre içerisindeki fotosentezin durdurulması ve artık oksijenin üretilmemesi sağlanmıştır. Ortamda kalan oksijenin ise algler tarafından tüketileceği (solunum ile) ve oksijensiz bir ortamın oluşacağı kabul edilmiştir. Bu oksijensiz ortam, hücrelerin hidrojenaz enzimi yardımı ile hidrojen üretimine başlaması için gerekli olduğundan bu süreçte ortamdaki oksijen konsantrasyonu ölçülmüş ve oksijenin ortamda kalmadığı tespit edildiği andan itibaren hidrojen üretimleri izlenmeye başlanmıştır. Sülfürsüz besiyerinin fotosentez üzerindeki etkisinin ve H_2 üretiminin incelendiği çalışmaya ait sonuçlar Şekil 3.5'te verilmiştir.



Şekil 3.5 Sülfürsüz ortamda *Chlamydomonas* hücrelerinin H₂ üretim potansiyeli

Bu çalışmada, zenginleştirilmiş 1,9 g/L yoğunluğundaki 500 mL alg kültürü, sürekli aydınlatma altında 48 saat inkübe edilmiştir. Hidrojen gazı üretimi fotobiyoreaktöre bağlanan debimetre ile zamana bağlı olarak ölçülmüş ve yaklaşık 10. saatten sonra hidrojen gazının oluşmaya başladığı tespit edilmiştir. 10. saat ile 25. saat arası hidrojen üretimi hızlı bir artış göstermiş ve kümülatif gaz hacmi yaklaşık 45 mL'ye ulaşmıştır. 25. saatten sonra hidrojen üretimi yavaşlamış ve 35. saatte tamamen sona ermiştir. Maksimum hacme ulaştığı anda üretilen gazın kompozisyonu gaz kromatografisinde analiz edilmiş ve toplam gaz içerisinde H₂ kompozisyonu %78 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen maksimum hidrojen konsantrasyonu 1,5 mmol H₂ (bu hesapta, hidrojenin hacimden molariteye çevriminde 25 °C'de 29,97 L/mol değeri kullanılmıştır (Melis vd., 2000)) olarak elde edilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda ise Melis vd. (2000) *C. reinhardtii* türü ile sülfürsüz ortamda yaptıkları çalışmada 4,67 mmol H₂, Volgusheva vd. (2015) ise 6 mmol H₂ verimlerine ulaşmışlardır.

Bu çalışma, birkaç gün boyunca sürekli işletilebilecek fotobiyolojik süreçte *C. reinhardtii* türü kullanarak H₂ gazı üretmenin mümkün olduğunu göstermektedir. Fakat sülfat içeriği olan bir atıksudan bu tür ile hidrojen üretiminde zorluklar yaşanacağı söylenebilir. Bu nedenle atıksu çalışmalarında önce sülfat giderimin yapılması daha sonra hidrojen üretim çalışmalarının gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bunun yanında diğer biyolojik hidrojen üretim

prosesleri ile karşılaştırıldığında *C. reinhardtii* türü ile H₂ üretim veriminin çok düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle uygun proseslerin seçiminde yüksek verimli teknolojilerin seçimi önem arz etmektedir.

3.2 Karanlık Fermantasyon ile Biyohidrojen Üretiminin Optimizasyonu

Çalışmanın bu bölümünde, karanlık fermantasyon prosesi ile süt endüstrisi atıksuyundan biyohidrojen üretimi için dört aşamalı bir yol izlenmiştir. İlk aşamada, karışık mikrobiyal kültürden, kültüre uygulanan farklı ön işlem metotlarıyla hidrojen üreten bakterilerin seçilmesi; ikinci aşamada, ilk aşamada seçilen mikrobiyal kültür ile farklı substrat konsantrasyonlarının hidrojen üretim verimine etkisi; üçüncü aşamada, ilk aşamada seçilen mikrobiyal kültürün zenginleştirilmesi; dördüncü aşamada ise üçüncü aşamada zenginleştirilen mikrobiyal kültürün, süt endüstrisi atıksuyuna alıştırılması ve süt endüstrisi atıksuyundan maksimum verimle hidrojen üretimi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 Aşı Çamuruna Uygulanan Farklı Ön İşlem Metotlarının Biyohidrojen Üretimine Etkisinin İncelenmesi

H₂ üretimi için başlıca mikroorganizma türleri; *Clostridium* türlerini veya cinsi türlerini içeren ortamlardır. *Clostridium spp.*'nin, anaerobik proseslerde CH₄ üretimi yerine biyo-H₂ üretiminde tercih edilmesinde, diğer bakterilerden ayrılan önemli bir özelliği vardır. Bu tür, sporulasyon denilen bir işlemde geçerek koruyucu uç sporlar oluşturma yeteneğine sahiptir. Bakteri yüksek sıcaklık, ultraviyole radyasyon, oksijen varlığı, asit ve baz, antibiyotikler ve dezenfektanlar gibi zararlı kimyasallar, kuruma, donma ve diğer birçok normal bakteri hücrelerini kolayca öldürebilecek, bakteri büyümesi için zararlı çevre şartlarına maruz kaldığında spor oluşturur. Özetlemek gerekirse, bu türün çevre şartları tekrar yaşanabilir hale gelene kadar tohumlar gibi, metabolik olarak inaktif uyuyan organları vardır. Oldukça zor şartlarda, dayanıklılık özelliği olmayan metanojenler gibi hidrojen tüketen bakterilerin (HTB) aksine çok dayanıklı olabilirler ve kolay parçalanmazlar. Ortam normal şartlara

döndürüldüğü zaman, çimlenme ve metabolizma işlemleri yeniden başlar ve sonuç olarak hidrojen ve diğer metabolik ürünler üretilebilir.

Tez çalışmasının bu bölümünde, metanojenik ve homoasetojenik bakteriler gibi, hidrojen tüketen bakterilerin (HTB) tersine, hidrojen üreten bakteri (HÜB) kültürü elde etmenin kolay ve etkili yöntemleri araştırılmış ve biyohidrojen üretimine etkileri incelenmiştir. Her ne kadar karışık mikroflora kullanımı, bakıldığında hem pratik hem de biyolojik olarak daha uygulanabilir olsa da, biyohidrojen üretiminde önemli sınırlamalar HTB ve HÜB' nin aktivitesinden ortaya çıkmaktadır. Bu bağlamda, ön arıtım HÜB'lerin üretilmesi için, anaerobik biyolojik hidrojen üretiminde en önemli konulardan biridir. Özellikle, metanojen aktivitesini durdurmak amacıyla karışık mikroflora çok çeşitli ön arıtım tekniklerinin uygulanmasının etkileri araştırılmıştır. Literatür araştırmalarıyla belirlenen sekiz aşılı ön işlem metodu seçilmiş ve uygulanma yöntemleri Tablo 3.1'de verilmiştir (Bundhoo vd., 2015; Kanniah Goud vd., 2014; Wang vd., 2017).

Tablo 3.1 Aşılı çamuruna uygulanan ön işlem metodları ve prosedürleri

Ön İşlem Metodu	Prosedür
Asit ile ön işlem (acid shock)	pH 3-4'te 24 sa bekletme (%40 Ort-P Asit ile 25 °C sıcaklıkla)
Baz ile ön işlem (base shock)	pH 10-11'de 24 sa bekletme (1N NaOH ile 25 °C sıcaklıkla)
Otoklav (autoclave)	121 °C'de 20 dk
Donma-Çözme (freze-thaw)	-20°C/25°C'de her biri için 6 sa olmak üzere 2 döngü
Ultrasonik ön işlem (ultrasonication)	20 kHz frekans, 140W, 20 dk (25 °C'de)
Kimyasal ön işlem (BESA)	10mM BESA 25 °C'de 24 sa bekletme
Kloroform (chloroform)	%1 v/v CHCl ₃ 25 °C'de 24 sa
Kaynatma (heat shock)	100 °C, 2 saat

Laboratuvar çalışmaları 100 ml'lik serum şişelerinde (aktif hacim 70 mL) ve 35°C sıcaklıkta çalkalamalı inkübatörde, seyreltilmiş süt endüstrisi atıksuyu (KOİ: 1500 mg/L (mevcut KOİ 7000 mg/L)) ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.6 Ön işlem metotlarının biyohidrojen üretimine etkisinin incelenmesi için kurulan kesikli deney setleri

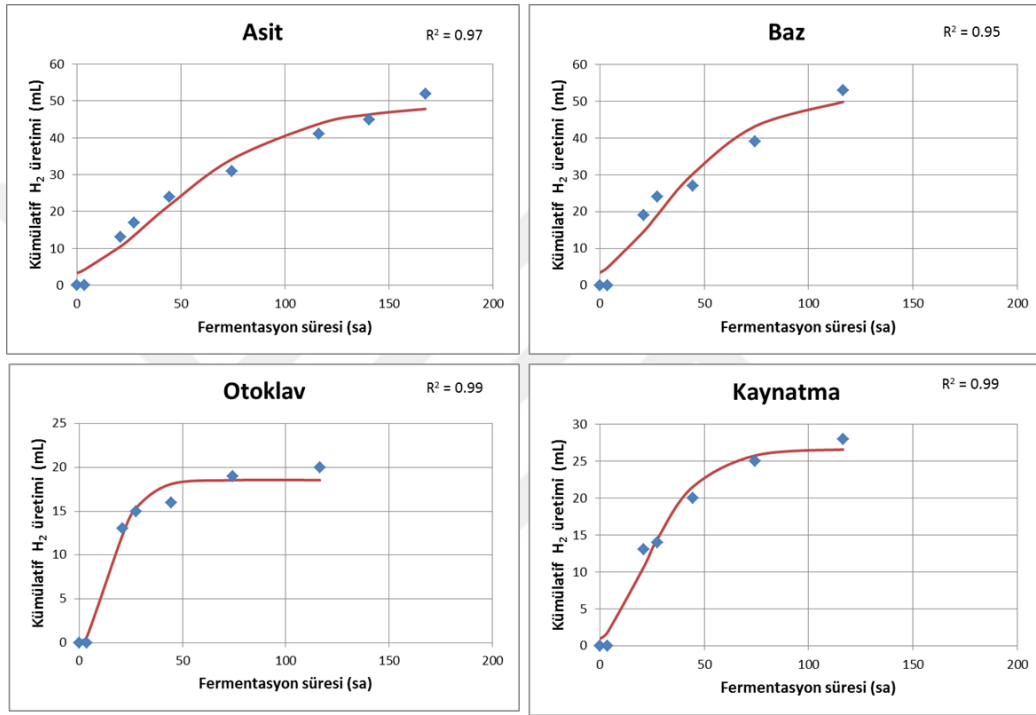
Kullanılan aşı çamurunun karakterizasyon çalışmaları yapılmış ve uçucu askıda katı madde oranı $0,113 \text{ g}_{\text{UAKM}}/\text{g}_{\text{çamur}}$ olarak belirlenmiştir. Kurulan setlerde F/M oranı literatür çalışmaları dikkate alınarak $1 \text{ g}_{\text{KOİ}}/\text{g}_{\text{UAKM}}$ olarak seçilmiştir. Şişelere 50 ml atıksu 10 ml nütrient çözeltisi ve $1 \text{ g}_{\text{KOİ}}/\text{g}_{\text{UAKM}}$ olacak şekilde ön işleme maruz bırakılmış aşı çamuru eklenmiştir. Anaerobik şartların oluşması için azot gazından geçirilen şişeler kapatılarak 35°C sıcaklıkta inkübatöre yerleştirilmiştir. Oluşan biyogaz hacimleri gün içerisinde 2 kez ölçülerek, gaz kompozisyonu gaz kromatografisinde analiz edilmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalar neticesinde elde edilen biyogaz üretim eğrileri her bir ön arıtım metodu için ayrı ayrı Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de gösterilmiştir. Kümülatif biyogaz üretim eğrileri yapılan kesikli çalışmalar ve analizler neticesinde modifiye edilmiş Gompertz eşitliği kullanılarak elde edilmiştir.

$$H = H_{max} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{max,H_2} e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (3.2)$$

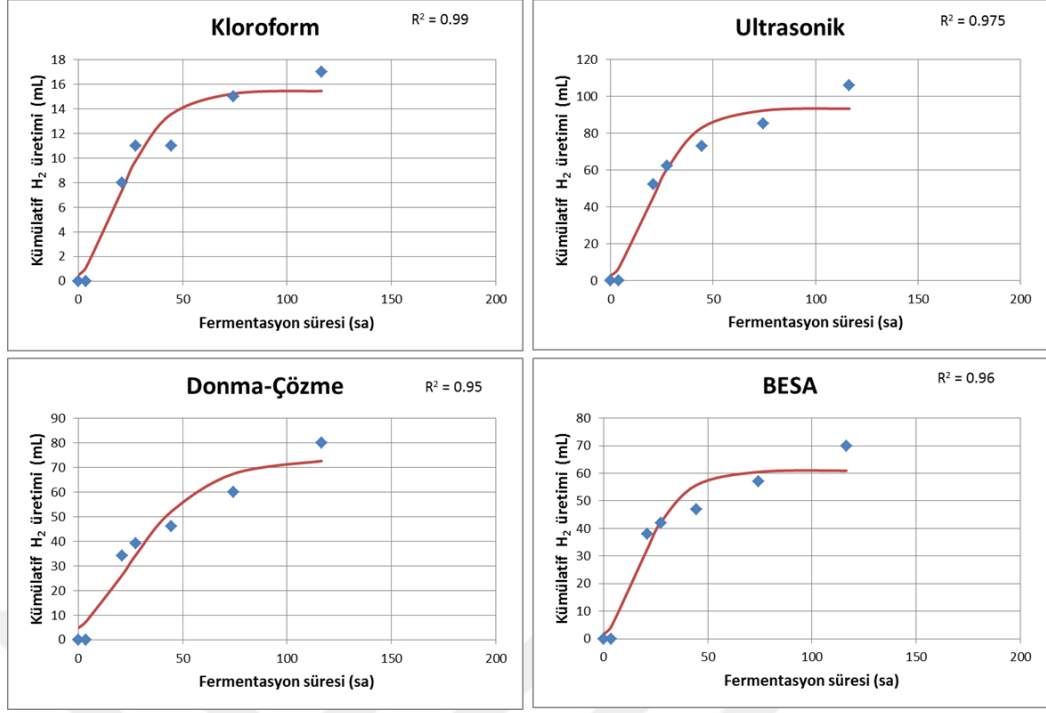
$$r_{H_2} = R_{max,H_2} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{max,H_2} e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] + \left[\frac{R_{max,H_2} e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] + 1 \right\} \quad (3.3)$$

Burada; H kümülatif hidrojen üretimini (mL/L), H_{\max} maksimum kümülatif hidrojeni (mL/L), R_{\max,H_2} maksimum hidrojen üretim hızını (L/L/saat), λ lag süresini (saat), t fermantasyon süresini (saat), r_{H_2} hidrojen üretim hızını (L/L/saat) göstermektedir. Model parametrelerinin elde edilmesi için, kesikli sistemde fermantatif hidrojen üretiminden elde edilen zamana karşı kümülatif hidrojen üretim deneysel verileri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 3.7 ve Şekil 3.8).



Şekil 3.7 Asit, baz, otoklav ve kaynatma ön işlemlerinde elde edilen biyolojik hidrojen üretimleri

Biyolojik hidrojen üretim verimlerinin karşılaştırıldığı bu çalışmalarda fermantasyon süresi her bir ön işlemde farklı sürmekle birlikte ortalama 110-160 saat sürmüş, elde edilen biyogaz hacimleri modifiye edilmiş Gompertz eşitliği kullanılarak grafiklere geçirilmiştir.



Şekil 3.8 Kloroform, ultrasonik, donma-çözme ve kimyasal (BESA) ön işlemlerinde elde edilen biyolojik hidrojen üretimleri

Sonuçlar incelendiğinde en yüksek üç hidrojen üretim potansiyelleri sırasıyla ultrasonik ön işlem, donma-çözme ve BESA ile kimyasal ön işlem olarak tespit edilmiştir. En düşük verimler ise otoklav ve kloroform ile ön işlemden elde edilmiştir. Kümülatif hidrojen üretimlerine kıyasla hidrojen üretim hızları arasında bazı farklılıklar tespit edilmiştir. En yüksek hidrojen üretim hızı ultrasonikte elde edilirken kümülatif hidrojen üretimlerinin tersine BESA ile kimyasal ön işlemin hidrojen üretim hızı donma çözmeye kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2 Deneysel verilerin Gompertz modeline uygulanması sonucu elde edilen model parametreleri

Ön İşlem	H_{max}	R_{max}	λ	H ₂ üretim hızı
	Nihai H ₂ üretim potansiyeli (mL/L)	H ₂ üretim hızı (mL/sa)	Lag süresi (h)	mmolH ₂ /L/sa
Asit	49,31	0,49	0	21,78
Baz	51,85	0,69	0	30,94
Otoklav	18,55	0,82	5,33	36,69
Kaynatma	26,65	0,61	3,49	27,12
Kloroform	15,46	0,42	3,3	18,72
Ultrasonik	93,38	2,63	3,55	117,63
Donma-çözme	73,55	1,26	0,15	56,14
BESA	60,95	1,85	3,27	82,77

Karanlık fermantasyon prosesinde hidrojen gelişiminin tanımlanmasında Gompertz denkleminin kullanılması yaklaşımında, deneysel olarak ölçülen hidrojen üretim verilerini Gompertz denklemine uydurmak için üç model parametresi (lag süresi, hidrojen üretim potansiyeli ve hidrojen üretim hızı) göz önünde bulundurulmaktadır. Bu yaklaşımda gözlenen ile öngörülen hidrojen üretim verileri arasında yüksek korelasyon katsayısı elde edildiği grafiklerden görülmekte ve üç model parametresinin karşılaştırılmaları Tablo 3.2’de gösterilmektedir. Uygulanan model, fermantasyonun durumunu nicel olarak açıklamak ve ana değişkenler arasındaki ilişkiyi tanımlamak için kullanılmıştır. Ayrıca, kinetik model ilerleyen çalışmalarda öngörülen ölçek büyütme çalışmalarında kullanılmak üzere, fermantasyon prosesinin analizi, tasarımı ve işletimi için faydalı bilgiler sağlamıştır.

Literatür çalışmaları incelendiğinde kaynatma işleminin (heat shock) sıkça kullanıldığı görülmektedir (Kim vd., 2003; Mu vd., 2007). Bu yöntemin bazı avantajları vardır, çünkü termal işlem çamurdaki çözünmeye yardımcı

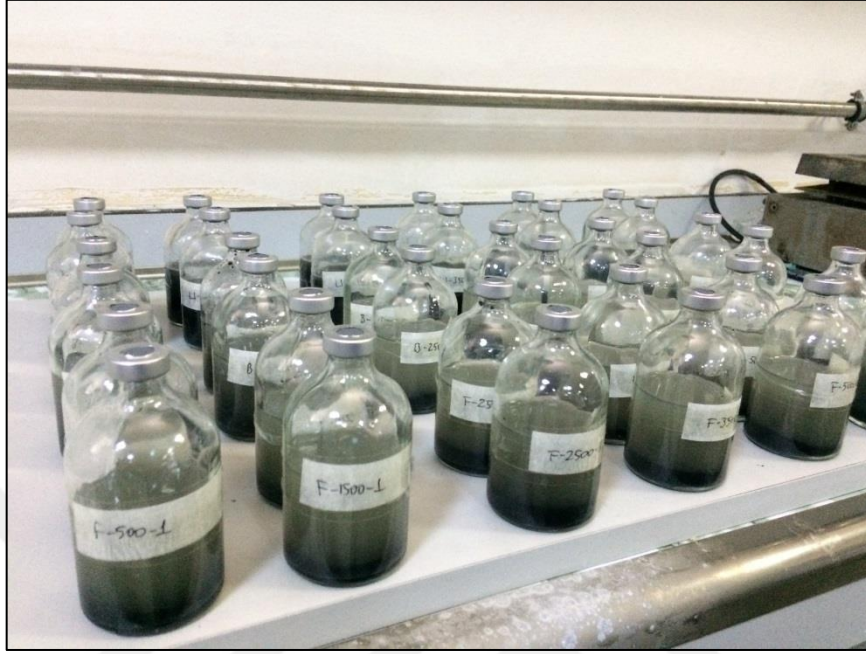
olmaktadır (Kim vd., 2003; Mu vd., 2007). Kotay (2009), yaptığı çalışmalarda birçok ön işlem arasından (asit, baz, ısı, donma/çözme, mikrodalga, ultrasonik, kloroform), kaynatmanın H₂ üretimini arttırdığını tespit etmiştir. Mu vd. (2007) ise üç ön arıtma yöntemini (asit, baz ve kaynatma) karşılaştırmışlardır ve onlar da kaynatmanın en iyi yöntem olduğunu görmüşlerdir. Fakat, termal ön işlemin yüksek enerjiye ihtiyaç duyması, biyolojik hidrojen üretiminde net enerji yüzdesini düşürdüğü için dezavantaja sahiptir.

Kloroform, sodyum 2-bromoethansulfonat (BESA) ve iyotpropan gibi kimyasal ön işlem yöntemleri H₂ üretimini etkilemeden metanojenik aktiviteyi seçici olarak inhibe etmektedir (Kotay, 2009; Zhu vd., 2006). Zhu vd. (2006), altı ön işlem yöntemini (asit, baz, kaynatma, havalandırma, 2-bromoethansülfonik asit ve iyotpropan) atıksu çamuruna uygulayarak HÜB'lerin verimlerini karşılaştırmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, iyotpropan yönteminin diğer ön işlem yöntemlerine göre en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir. Hu vd., (2007) ise üç ön işlem yöntemini (asit, kaynatma ve kloroform) karşılaştırmış ve kloroformun en iyi yöntem olduğuna karar vermişlerdir. Ancak, tüm çalışmalar incelendiğinde, kullanılan bu güçlü kimyasalların biyolojik hidrojen üretiminin sürekliliğine zarar verdiği kanısına varılmıştır.

3.2.2 Farklı Substrat Konsantrasyonlarının Biyolojik Hidrojen Üretimine Etkisinin İncelenmesi

Hidrojen üreten bakteriler (HÜB) için karbon ve enerji kaynağı sağlayabilen en genel substrat karbonhidratlar olup HÜB büyümesi ve fermantatif hidrojen üretimi için çok önemlidir. Karbonhidrat, protein ve yağ bakımından zengin olan süt, zeytinyağı, bira vb. gıda endüstrisi atıksuları diğer endüstriyel atıksulardan daha yüksek biyobozunur organik madde içeriğine sahiptir (Kapdan vd., 2006). Süt endüstrisi atıksuyu da içerdiği yüksek biyobozunur organik madde nedeniyle karanlık fermantasyon ile yüksek H₂ üretim potansiyeline sahiptir. Çalışma sonuçları karbonhidratça zengin besinlerden H₂ üretiminin daha verimli olduğunu ve karbonhidrat miktarı ile H₂ üretimi arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermektedir (Chen vd., 2006). Bu nedenle substrat parçalanması, HÜB'lerin büyümesi ve hidrojen üretim hızları üzerine substrat

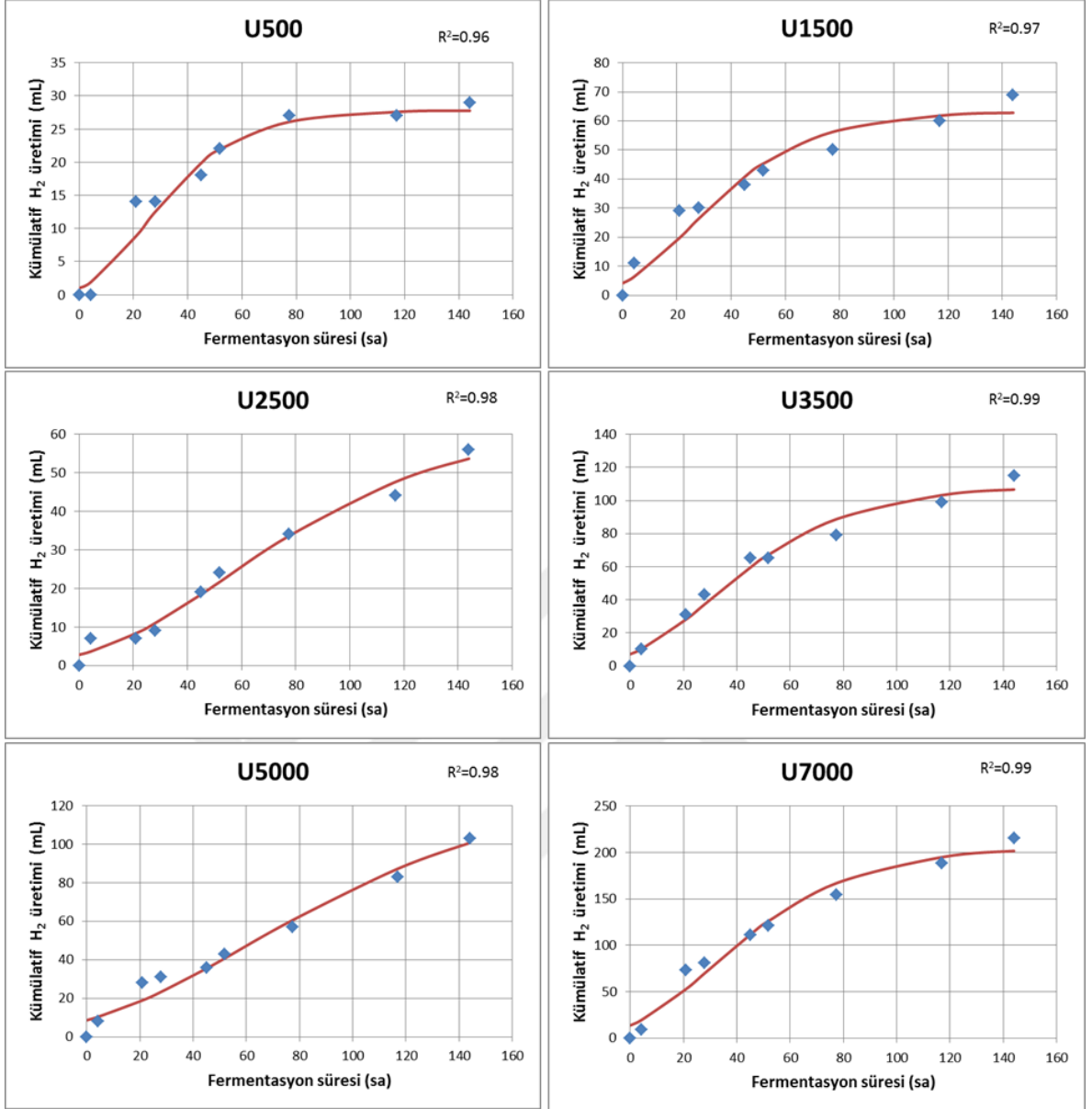
konsantrasyonunun etkisini tanımlamak için bazı kinetik modeller önerilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise ön işlem etkisinin incelenmesinde olduğu gibi modifiye edilmiş Gompertz modelinden faydalanılmıştır.



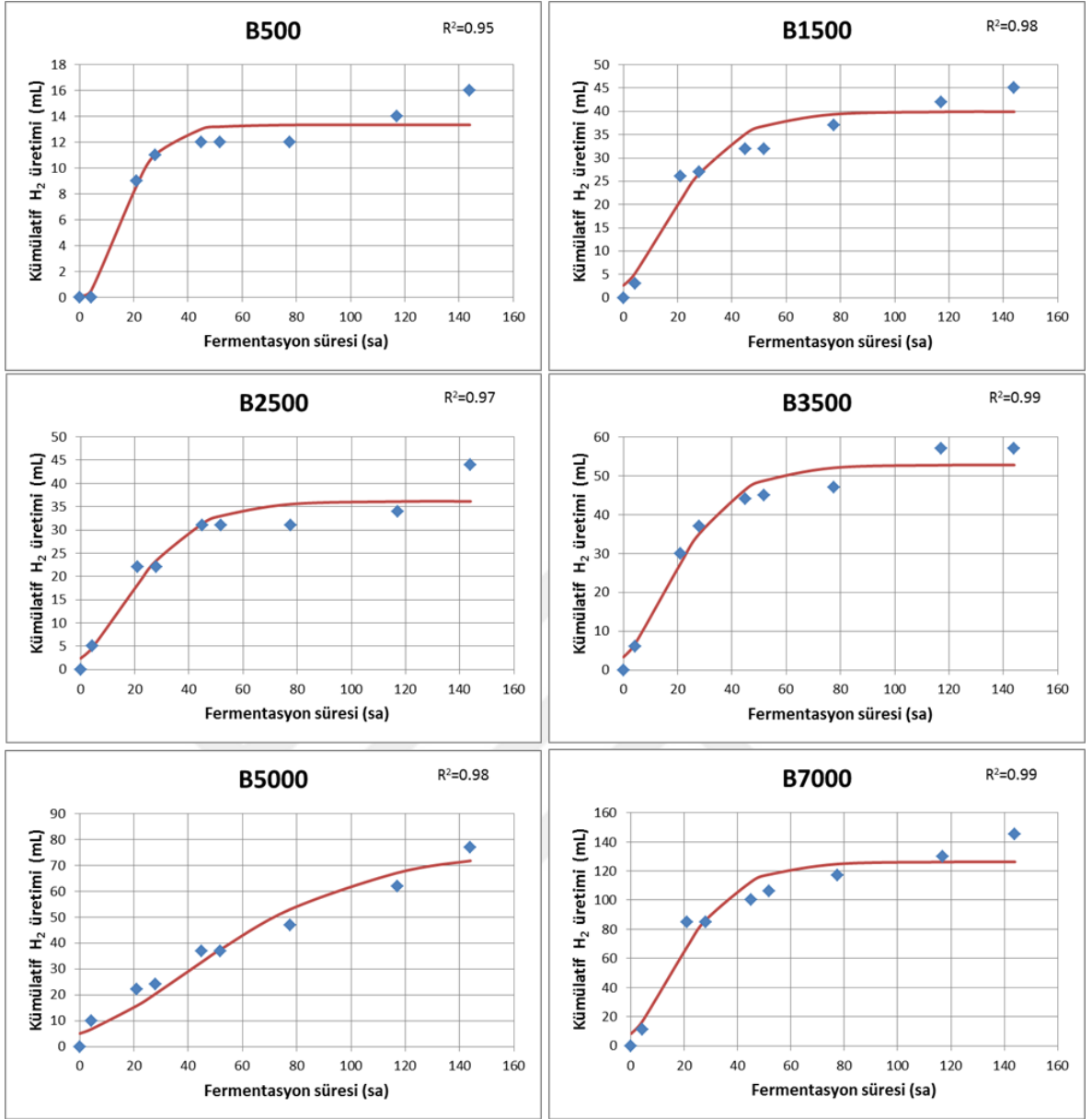
Şekil 3.9 Farklı substrat konsantrasyonlarında hidrojen üretiminin optimizasyonu çalışması

Çalışmada kullanılan atıksuyun KOİ değeri 7000 mg/L civarındadır. Bu atıksu farklı seyreltme oranları kullanılarak KOİ değerleri 500, 1500, 2500, 3500, 5000 ve 7000 mg/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Bir önceki çalışmada elde edilen sonuçlar dikkate alınarak, en yüksek verim elde edilen üç ön işlem metodu olan ultrasonik ile ön işlem, BESA ile kimyasal ön işlem ve donma-çözme ile ön işlem metotları ile farklı substrat konsantrasyonlarında deneysel setler hazırlanmıştır. F/M oranı bir önceki çalışmada seçildiği gibi $1 \text{ g}_{\text{KOI}}/\text{g}_{\text{UAKM}}$ seçilmiş, 50 mL atıksu ve 10 mL nütrient çözeltisine ilaveten ön işlem uygulanmış aşı çamuru eklenerek deneysel setler hazırlanmıştır (Şekil 3.9).

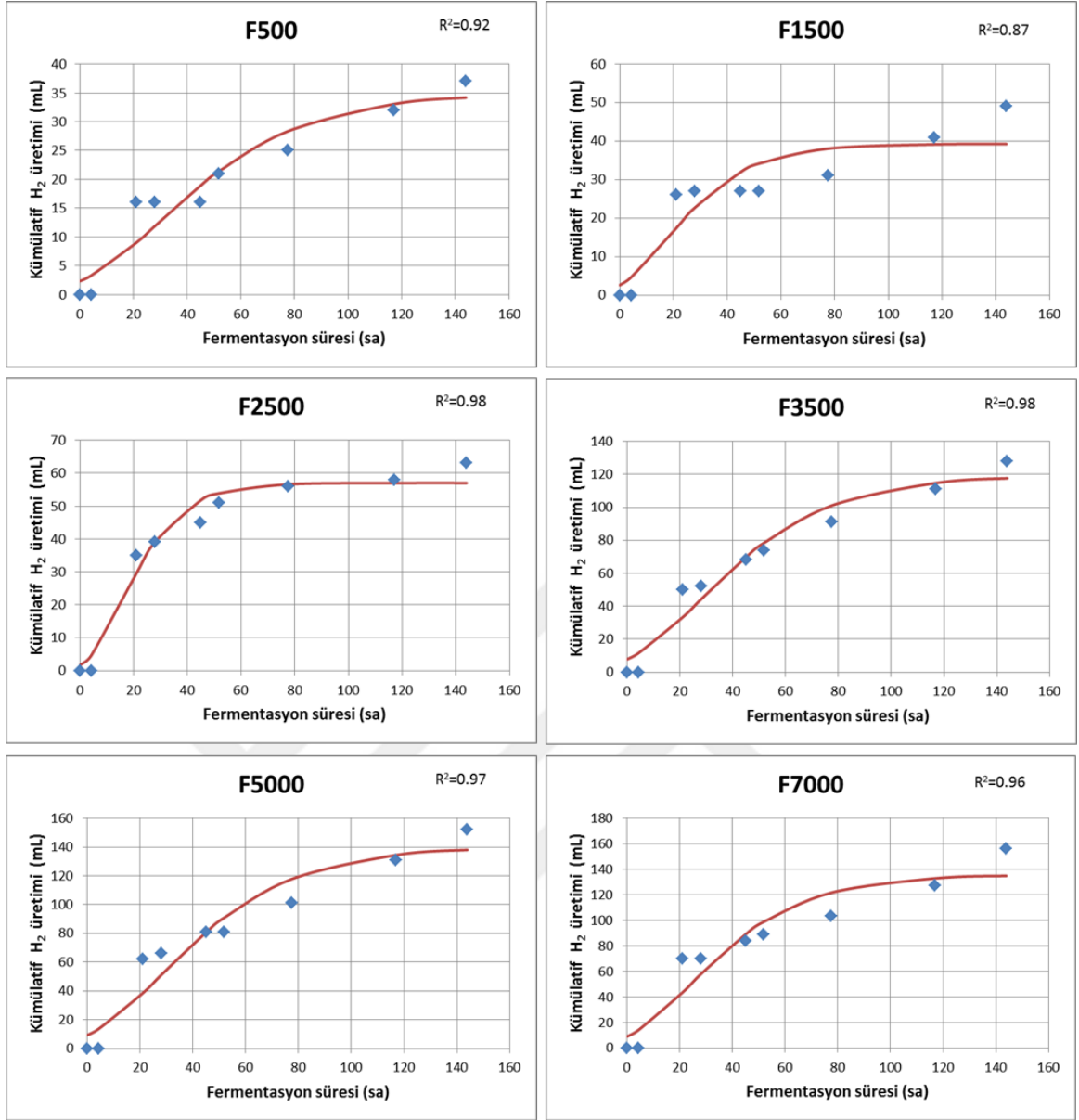
Yapılan deneysel çalışmalarda farklı substrat konsantrasyonları için hidrojen üretimlerinin kinetiği Gompertz modeli kullanılarak incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.10, Şekil 3.11 ve Şekil 3.12'de gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde nonlinear regresyon analizleri ile elde edilen korelasyon katsayısı tüm substrat konsantrasyonları için 0,87'den büyük olmuştur.



Şekil 3.10 Ultrasonik ön işleme tabi tutulmuş reaktörlerde farklı substrat konsantrasyonlarının biyolojik hidrojen üretimleri



Şekil 3.11 BESA ile kimyasal ön işleme tabi tutulmuş reaktörlerde farklı substrat konsantrasyonlarının biyolojik hidrojen üretimleri



Şekil 3.12 Donma-çözme ön işlemine tabi tutulmuş reaktörlerde farklı substrat konsantrasyonlarının biyolojik hidrojen üretimleri

Literatür çalışmaları incelendiğinde anaerobik fermantasyonda yüksek substrat konsantrasyonları fermantatif hidrojen üretimini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Süt endüstrisi atıksuyunun içeriğinin substrat inhibisyonuna yol açıp açmayacağıının incelendiği bu çalışma neticesinde elde edilen bulgular değerlendirildiğinde herhangi bir substrat inhibisyonu gözlenmemiş olup hidrojen üretim verimleri artan substrat konsantrasyonu ile doğrusal olarak artmıştır. Model neticesinde elde edilen model parametreleri Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3 Deneysel verilerin Gompertz modeline uygulanması sonucu elde edilen model parametreleri

S (mg/L)	H _{max}			R _{max}			λ (sa)			mmolH ₂ /Lsa		
	U	B	F	U	B	F	U	B	F	U	B	F
500	27,81	13,34	35,01	0,52	0,59	0,42	1,5	5,8	0	23,3	26,36	18,95
1500	63,33	39,93	39,29	0,94	1	0,83	0	0	0	42,03	44,68	36,99
2500	62,87	36,15	56,99	0,48	0,87	1,68	6,6	0	3,3	21,37	38,94	74,86
3500	109,08	52,82	119,46	1,34	1,33	1,58	0	0,2	0	59,67	59,35	70,65
5000	130,37	76,76	140,42	0,78	0,73	1,83	0	0	0	35,02	32,44	81,56
7000	206,51	126,24	135,75	2,5	3,26	2,07	0	0	0	111,6	145,7	92,27

Model yardımı ile hidrojen üretim verimi ve lag süresi belirlenerek proses hakkında öngörülebilir bulunmuş ve optimizasyonu sağlanmıştır. Yapılan çalışmalar bu model yardımı ile ölçülen ve öngörülen modeller arasındaki uyumun kalitesinin oldukça iyi olduğunu göstermiştir.

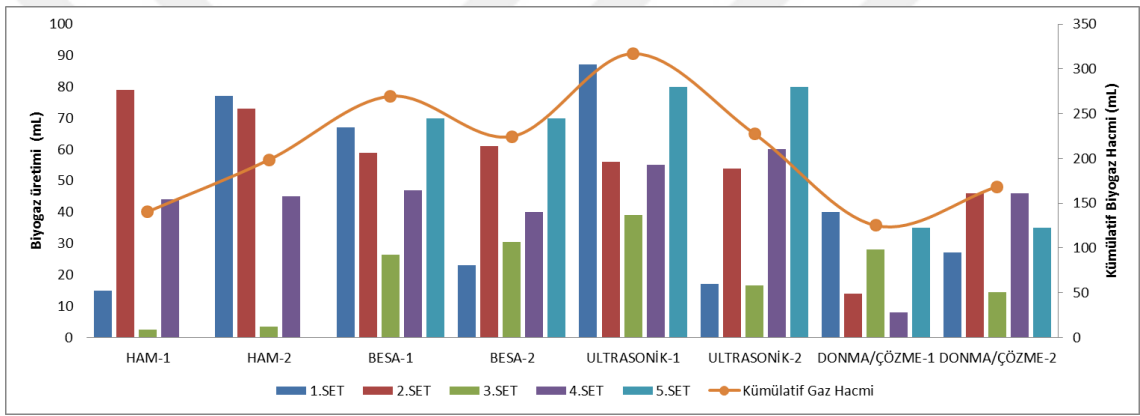
3.2.3 Farklı Ön İşlem Uygulanmış Aşı Çamurlarında Hidrojen Üreten Mikrobiyal Kültürün Zenginleştirilmesi Çalışmaları

Bir önceki çalışmada elde edilen sonuçlar dikkate alınarak, en yüksek verim elde edilen üç ön işlem metodu olan ultrasonik ile ön işlem, BESA ile kimyasal ön işlem ve donma-çözme ile ön işlem metotları ile hazırlanmış aşı çamurlarında hidrojen üreten bakterilerin zenginleştirilmesi için deneysel setler hazırlanmıştır. F/M oranı bir önceki çalışmada seçildiği gibi 1 gKOİ/gUAKM seçilmiş, 50 mL sentetik atıksu ve 10 mL nütrient çözeltisine ilaveten ön işlem uygulanmış aşı çamuru eklenerek deneysel setler hazırlanmıştır. Zenginleştirme çalışmaları Tolvanen vd. (2011) tarafından belirtilen deneysel tasarım kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Üç farklı ön işlem uygulanmış aşı çamurunun yanı sıra kontrol amaçlı ön işlem uygulanmamış çamurda deneysel sete dahil edilmiştir. Her bir set bir kontrol reaktörü içermekte olup deneysel çalışmanın tamamında toplamda 40 reaktör kurulmuştur. Anaerobik şartların oluşması için azot gazından geçirilen şişeler kapatılarak 35°C'de ki inkübatöre yerleştirilmiştir. Oluşan biyogaz hacimleri gün

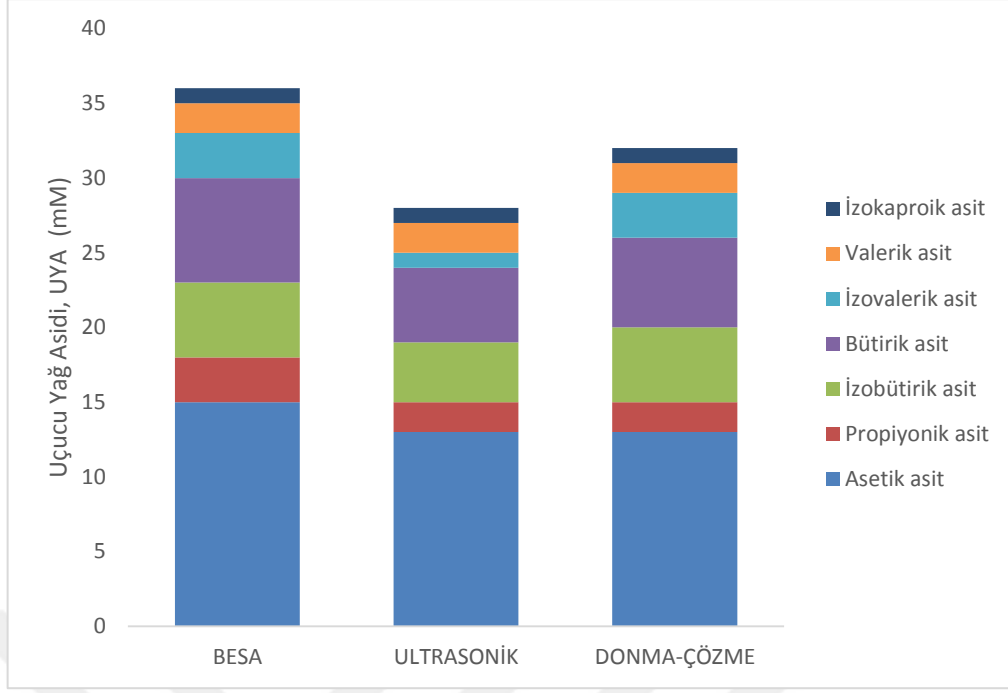
içerisinde 2 kez ölçülerek, gaz kompozisyonu gaz kromatografisinde analiz edilmiştir.

Bu çalışmada ilk sette kümülatif gaz hacminin maksimuma ulaştığı anda reaktörler çöktürmeye bırakılmış ve üst fazdan numune alınarak ikinci reaktöre aktarılmış ve 2. set bu şekilde kurulmuştur. Yani bir sonraki set bir önceki setten alınan numune ile kurulmuştur. Bu zenginleştirme yönteminin amacı hızlı büyüyen mikroorganizmaları (hidrojen üreten asidojenik bakteriler) bir diğer reaktöre aktararak saflaştırılmasını sağlamaktır. Elde edilen kümülatif biyogaz hacimleri Şekil 3.13'te verilmiştir.



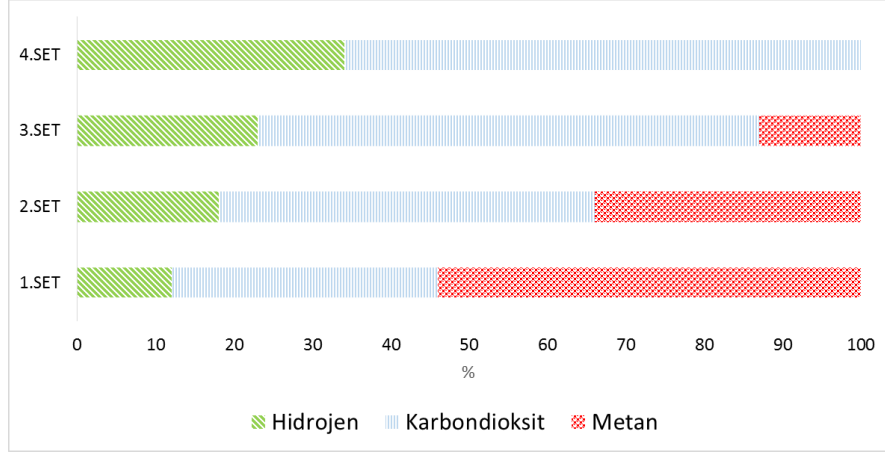
Şekil 3.13 Zenginleştirme çalışmalarında elde edilen kümülatif biyogaz hacimleri

En yüksek verimler BESA kimyasalı ve ultrasonik ile ön işlemden elde edilmiştir. Her bir sette yapılan uçucu yağ asidi analizi sonuçları Şekil 3.14'te verilmiştir.



Şekil 3.14 Uçucu yağ asidi analizi sonuçları

Uçucu yağ asit asitleri kompozisyonu incelendiğinde fermantasyonun asetik asit-fermantasyonu yönünde ilerlediği görülmektedir. Asetik asit konsantrasyonunun bütirik asit konsantrasyonundan fazla olması sistemin olması istendiği gibi gerçekleştirdiğini göstermektedir. Çünkü tam tersi durumda bütirik asit-fermantasyonunda hidrojen üretimi düşecek ve sistem verimi olumsuz yönde etkilenecektir. En iyi verim kümülatif biyogaz hacimleri, uçucu yağ asidi sonuçları ve gaz kromatografisi sonuçları ile karşılaştırılarak yorumlanmıştır. BESA ve ultrasonik ile ön işlemlerde elde edilen biyogaz hacimleri benzer elde edilmiş olup asetik asit konsantrasyonunun ve hidrojen üretim hızının BESA’da daha yüksek olmasından dolayı zenginleştirme işlemine BESA ile devam edilmiştir. BESA metodu ile hazırlanan 4 sette elde edilen gaz analizi sonuçları Şekil 3.15’te verilmiştir.



Şekil 3.15 Her bir deneysel sette toplanan biyogazın içerik analizi sonuçları

İlk sette metanojenik bakterilerin hala varlığından dolayı metan gözlemlenmiş olup, hidrojen üreten bakterilerin seçilmesi metodunun uygulanmasıyla metan oluşumunun sıfırlandığı ve hidrojen üretiminin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 3.16). Bu sonuçlar uygulanan metodun asidojenik bakterilerin seçimi ve zenginleştirilmesinde başarılı olduğunu göstermektedir.

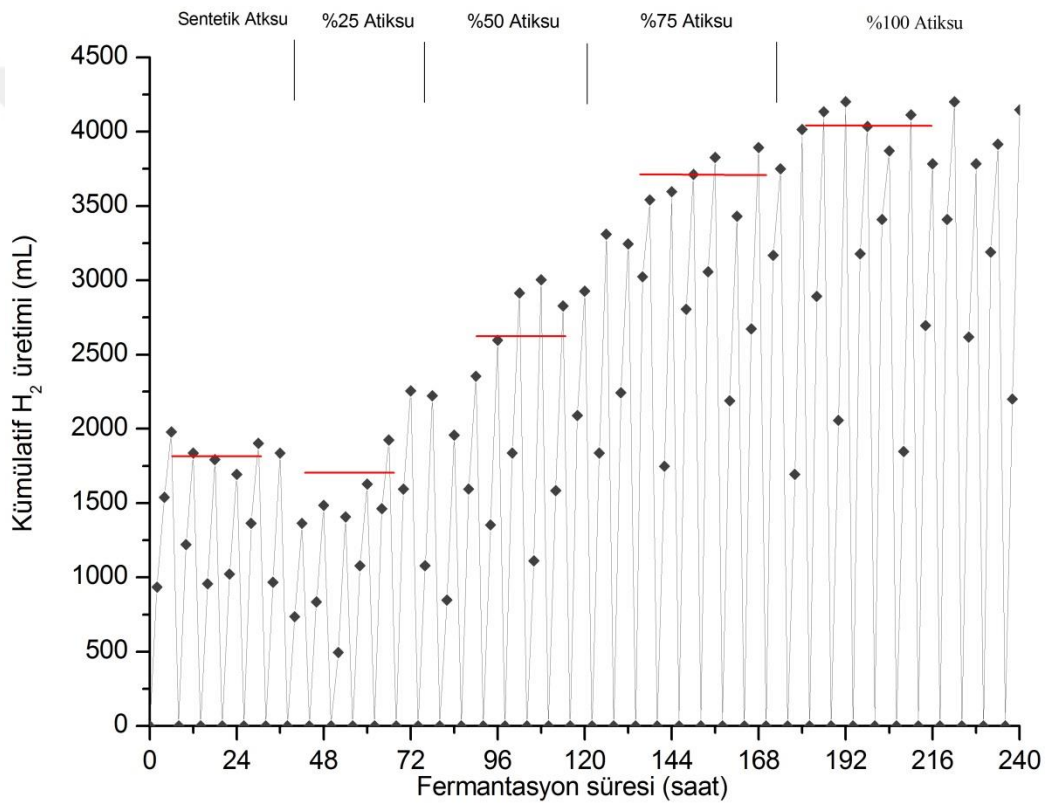


Şekil 3.16 Her bir deneysel sette gözlemlenen mikrobiyal kültürün değişimi

Yapılan bu çalışmalarda en son setten elde edilen mikrobiyal kültürler 1L'lik büyük reaktörlere alınarak zenginleştirme işlemi başlatılmıştır. Artık saf hale gelen asidojenik bakteriler steril koşullarda işletilmiş ve her gün düzenli olarak atıksu ile beslenmiştir.

3.2.4 Zenginleştirilmiş Asidojenik Bakteriler ile Fermentörde Süt Endüstrisi Atıksuyundan Hidrojen Üretim Çalışmaları

Bir önceki çalışmada elde edilen mikrobiyal kültürler fermentöre alınarak sentetik atıksu ile işletilmeye başlanmıştır. Reaktör hacmi 3 L olup hidroluk bekletme süresi çalışmanın başlarında 1 gün iken zamanla düşürülmüş ve yaklaşık 6 saat olarak belirlenmiştir. Reaktör 35°C sıcaklıkta ve pH'sı 5,5-6 arasında olacak şekilde işletmeye alınmıştır. Sıcaklık, pH ve ORP değerleri sürekli ölçülerek kayıt altına alınmıştır. İlk 36 saat reaktör sentetik atıksu ile işletilmiştir. Elde edilen biyohidrojen verimleri Şekil 3.17'de gösterilmiştir.



Şekil 3.17 Farklı süt endüstrisi atıksularından biyohidrojen üretimi (düz kırmızı çizgiler mevcut setteki ortalama üretimi ifade etmektedir)

İşletmenin 36. saatinin sonunda fermentör %25 oranında süt endüstrisi atıksuyu (%25 atıksu+%75 sentetik atıksu) ile beslenmeye başlanmıştır. Bu aşamada KOİ 3,63 g/L'ye yükselmiş ve maksimum hidrojen üretimi 1710±10 mL'ye ulaşmıştır. KOİ'nin yükselmesinin yanında H₂ veriminde sentetik atıksu ile beslendiği duruma göre düşüş gözlemlenmiştir. Bunun sebebi ise hidrojen üreten bakterilerin farklı bir substrat ile karşılaşmasından kaynaklanmaktadır ve atıksu

içerisindeki kompleks maddelerin biyolojik olarak bozunması nedeniyle stabil hale gelinceye kadar üretim hızı kademeli olarak azalmıştır. Fakat bu azalma, süt endüstrisi atıksuyunun hidrojen üretimi için uygun bir substrat olması nedeniyle sadece hafif bir şekilde gerçekleşmiştir. %25 süt atıksu ile yapılan yaklaşık 36 saatlik çalışmadan sonra, çalışmanın 42. saatinden sonra biyoreaktör sırasıyla %50 ve %75 oranında süt endüstrisi atıksuyu ile beslenmiş ve hidrojen üretim verimleri sırasıyla 2650±20 mL'den 3750±15 mL'ye yükselmiştir. Çalışmanın son aşamasında fermentör %100 oranında süt endüstrisi atıksuyu ile beslenmiş olup bu aşamada elde edilen en yüksek hidrojen verimi 4019±23 mL olmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4 Farklı atık su oranlarında hidrojen üretimi çalışmasında elde edilen sonuçlar

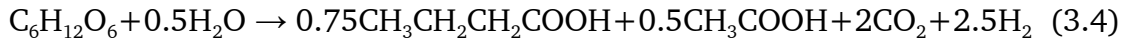
Set	KOİ (g/L)	Hidrolik Bekletme Süresi (saat)	HAc (mM)	HBu (mM)	HAc/HBu	Toplam H ₂ Üretimi (mL)	Substrat Giderim Verimi (%)
Kontrol ^a	2,5	6	34,13	39,05	0,87	1840±30	49
25%	3,63	6	14,1	18,13	0,78	1710±10	34
50%	4,75	6	17,5	23,43	0,75	2650±20	29
75%	5,88	6	12,6	16,5	0,76	3750±15	27
100%	7	6	16,2	21,54	0,75	4019±23	29

^akontrol deneyi biyoreaktörün sentetik atık su ile beslendiği aşamayı ifade etmektedir.

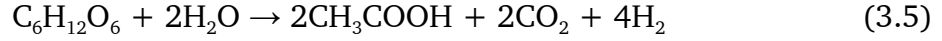
DeneySEL çalışmalarda tespit edilen baskın yan ürünler, önceki çalışmalarda olduğu gibi asetat ve butirat olmuştur. Bunların yanında eser miktarda propiyonik asit, izobütirik asit ve izovalerik asit de tespit edilmiştir. HAc/HBu oranı genellikle hidrojen üretiminde proses verimliliğinin bir göstergesi olarak kullanılır. Örneğin HAc/HBu 0,86 oranında hidrojen üretim verimi %85'lik bir termodinamik verimlilik ile 2,6 mol H₂/mol glikoz olabilir (Van Ginkel vd., 2005). Bu nedenle bu çalışmada HAc/HBu oranı da incelenmiştir.

Literatürde daha önce belirtildiği üzere, bütiratın baskın yan ürün olduğu şartlarda hidrojen üretiminin 2,5 mol H₂/mol glikoz değerini aşamayacağı bilinmektedir.

Bütirat-tipi fermantasyon



Asetat-tipi fermantasyon



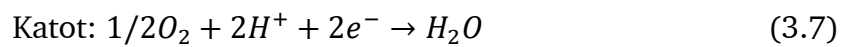
Bu çalışmada da bütiratın baskın yan ürün olduğu görülmektedir. Hidrojen üreten bakterilerin bütirat tipi fermantasyonu seçmelerinin nedeni ise eşdeğer bir bütirat oluşumu esnasında ortamın asetat oluşumuna kıyasla daha az asidik olmasından kaynaklanmaktadır (Khanal vd., 2008). Bunun yanında asetat ile daha yüksek verimde hidrojen üretilmektedir (4 molH₂/mol glikoz) (Hawkes vd., 2002; Khanal vd., 2008) ve yüksek konsantrasyonda üretilen hidrojenin kısmi basıncı elektron taşıyıcı NAD⁺'ların yenilenmesini etkilemektedir (Van Ginkel, 2005). Bu sebeple bütirat tipi fermantasyonun hidrojen üretimi için daha elverişli bir yol olduğu bildirilmiştir (Hallenbeck, 2005; Khanal vd., 2008).

Sonuç olarak süt endüstrisi atıksuyundan biyohidrojen üretimi kademeli olarak izlenmiş ve kısa bir süre içerisinde pH:5.5 ve 35°C sıcaklıkta maksimum verime ulaşılmıştır. Sonuçlar, uygun zenginleştirme yöntemi ile ve hidrojen üreten bakterilerin atıksuya alışması için uygun besleme stratejisi ile süt endüstrisi atıksularından 72 saat gibi kısa bir süre sonra hidrojen üretebileceğini kanıtlamıştır. Bu sebeple bu çalışma süt endüstrisi atıksuyundan hidrojen üretimi için uygun stratejinin belirlenmesi açısından bir rehber olarak kullanılabilir.

3.3 Süt Endüstrisi Atıksularından Asidojenik Biyohidrojen Üretimi, Biyogaz Saflaştırma ve PEM Yakıt Hücresi Sistemlerinin Entegrasyonu

Birçok endüstriyel atıksu içerdiği yüksek biyobozunur organik madde nedeniyle karanlık fermantasyon ile yüksek H₂ üretim potansiyeline sahiptir. Karbonhidrat, protein ve yağ bakımından zengin olan atıksular diğer endüstriyel atıksulardan daha yüksek biyobozunur organik madde içeriğine sahiptir (Kapdan vd., 2006). Bunlar arasında, yüksek karbonhidrat içeriğiyle süt endüstrisi atıksuyu sürekli H₂ üretimi için uygun bir substrattır, çünkü karbonhidrat bakımından zengin substratlardan hidrojen üretimi daha verimli gerçekleşmektedir (Karadag vd., 2014). Literatürde hidrojen üretimi için süt atık suyunun kullanıldığı ve araştırmacıların daha çok hidrojen üretmek için peynir altı suyu atık suyunu kullandığı çok sayıda çalışma bildirilmiştir (Karadag vd., 2014). Birçok çalışma atıksu içeriği, proses parametreleri, mikrobiyal kültür ve reaktör tipi gibi işletme parametrelerine odaklanmıştır, ancak hidrojenin değerlendirilmesi hakkında çok fazla araştırma yoktur.

Biyohidrojen prosesinden elde edilen hidrojen için verimli dönüşüm teknolojilerinden birisi yakıt hücresi teknolojisidir. Polimer elektrolit membran yakıt hücresi (PEMFC), katı oksit yakıt hücresi (SOFC), alkalın yakıt hücresi (AFC) ve erimiş karbonat yakıt hücresi (MCFS) gibi farklı tipte birçok yakıt hücresi hidrojenin değerlendirilmesi için kullanılabilir (Rahman vd., 2016). Ancak bu yakıt hücreleri arasında PEM yakıt hücresi, biyohidrojen değerlendirilmesi açısından en etkili teknolojilerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır, çünkü PEM yakıt hücreleri biyohidrojeni yakıt olarak kullanarak doğrudan elektrik enerjisi üretebilmektedir (Rahman vd., 2016). H₂'yi yakıt olarak kullanan PEM yakıt hücreleri için temel reaksiyonlar şu şekildedir;



Yakıt hücrelerinin hidrojenin değerlendirilmesi için en uygun teknoloji olmasına karşın uygulamada bazı zorluklarla karşılaşmaktadır. Bu zorluklardan en

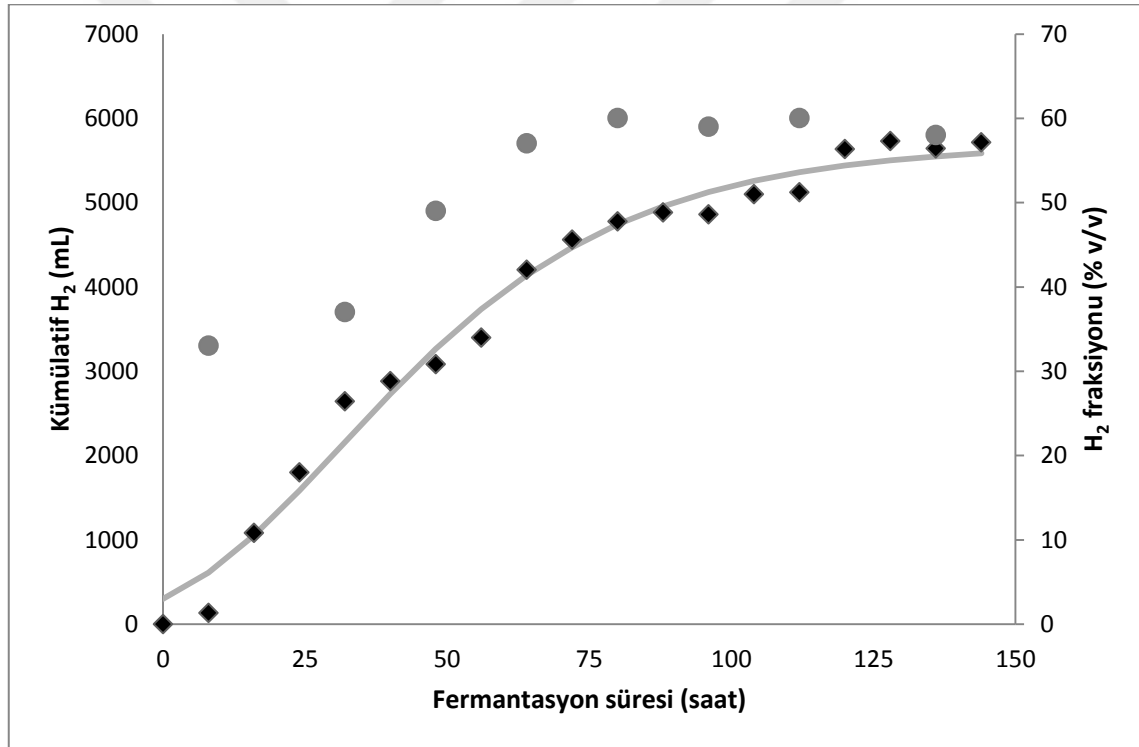
önemlisi karanlık fermantasyon neticesinde üretilen biyogazın kompozisyonudur. Çünkü üretilen biyogaz yüksek miktarda karbondioksit içermektedir ((~%40-70 (v/v)) ve ters su-gaz değişim reaksiyonu (reverse water-gas shift reaction) ile CO₂'den karbonmonoksit (CO) oluşumu, PEM yakıt hücrelerinin performansı üzerinde olumsuz etkiye sahiptir (Bellows vd., 1996; de Bruijn vd., 2002). Bunun yanında CO₂, hidrojenin yakıt hücresinde aktif platin bölgesine erişimini bloke ederek, yakıt hücresi performansını düşürmektedir (Bellows vd., 1996; de Bruijn vd., 2002). Literatürde CO₂'nin yakıt hücresindeki etkilerini araştıran çok sayıda çalışma (Bellows vd., 1996; de Bruijn vd., 2002), biyohidrojenin yakıt hücresi uygulamasını araştıran ise sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır (Laycock vd., 2018; Rahman vd., 2016; Razbani vd., 2013; Wei vd., 2010). Yapılan çalışmalar incelendiğinde, biyohidrojenin yakıt hücrelerinde yakıt olarak kullanımında bu zorluğun üstesinden gelmek için farklı teknolojiler kullanıldığı görülmüştür. Gaz saflaştırmanın, bu teknolojiler arasında en uygun çözümlerden birisi olduğu tespit edilmiştir. Buradaki ana amaç yakıt hücresi uygulamaları için biyogazdan CO₂ giderimi olmaktadır. Biyogazdan CO₂ giderimi için absorpsiyon, adsorpsiyon, filtrasyon ve biyolojik yöntemler gibi birçok teknik vardır ve bu teknikler için su ile temizleme (water scrubbing), basınç salınımlı adsorpsiyon (PSA), kimyasal ve fiziksel temizleme (chemical and physical scrubbing) ve membran ile ayırma gibi çeşitli teknolojiler geliştirilmiştir. Bu teknolojiler arasında membran ile ayırma prosesi biyohidrojenin saflaştırılması için dikkat çekmektedir (Bakonyi vd., 2013). Bu proste gaz saflaştırmak için genellikle gözenekli veya gözeneksiz membranlar, iyonik membranlar ve polimerik membranlar kullanılmaktadır (Bakonyi vd., 2018; Shao vd., 2009). Bunlarla birlikte, birçok araştırmacı, polidimetil siloksan (PDMS) membranlarının, asidojenik fermantasyon prosesi ile üretilen H₂ ve CO₂'yi ayırmada etkili bir materyal olduğunu belirtmişlerdir (Ramírez-Morales, 2013).

Elde edilen bilgiler ışığında, tez çalışmasının bu aşamasında, süt endüstrisi atıksuyundan sürekli sistemde biyohidrojen çalışmaları gerçekleştirilmiş ve polimerik membran kullanarak üretilen biyogaz saflaştırılmıştır. Saflaştırılmış ve saflaştırılmamış biyohidrojen PEM yakıt hücresinde yakıt olarak kullanılarak,

yakıt kompozisyonunun PEM yakıt hücrelerinden elektrik üretim performansına etkisi, performans kayıpları ve güç üretimleri değerlendirilmiştir.

3.3.1 Süt Endüstrisi Atıksuyundan Biyohidrojen Üretimi

Bu çalışmada BESA ile kimyasal ön işlem uygulanmış aşı çamuru ile süt endüstrisi atıksuyundan biyohidrojen üretimi incelenmiştir. Elde edilen kümülatif hidrojen üretimi verimleri, modifiye edilmiş Gompertz modeli kullanılarak fit edilmiştir ve sonuçlar Tablo 3.5'te verilmiştir. Şekil 3.18'de sürekli işletilen fermentörde elde edilen kümülatif hidrojen üretimleri verilmiştir. Karanlık fermantasyon prosesi esnasında substrat giderimi (KOİ olarak) %29 ve %42 arasında ve maksimum H₂ üretimi %42 substrat giderim verimi ile 5696,40 mL olarak elde edilmiştir.



Şekil 3.18 BESA ile ön işleme tabi tutulmuş mikrobiyal kültür ile kümülatif hidrojen üretimi (7 gKOİ/L süt endüstrisi atıksuyu, pH: 5,5-6, 10 mM BESA, (◆) deneysel data, (●) Biyogazdaki H₂ fraksiyonu, (—) modellenen data)

Biyogaz içerisindeki biyohidrojen konsantrasyonu gaz kromatografisi yardımıyla belirlenmiş, %33-%60 (v/v) aralığında değişmiş ve maksimum biyogaz içeriği %60 H₂ ve %40 CO₂ (v/v) olarak belirlenmiştir.

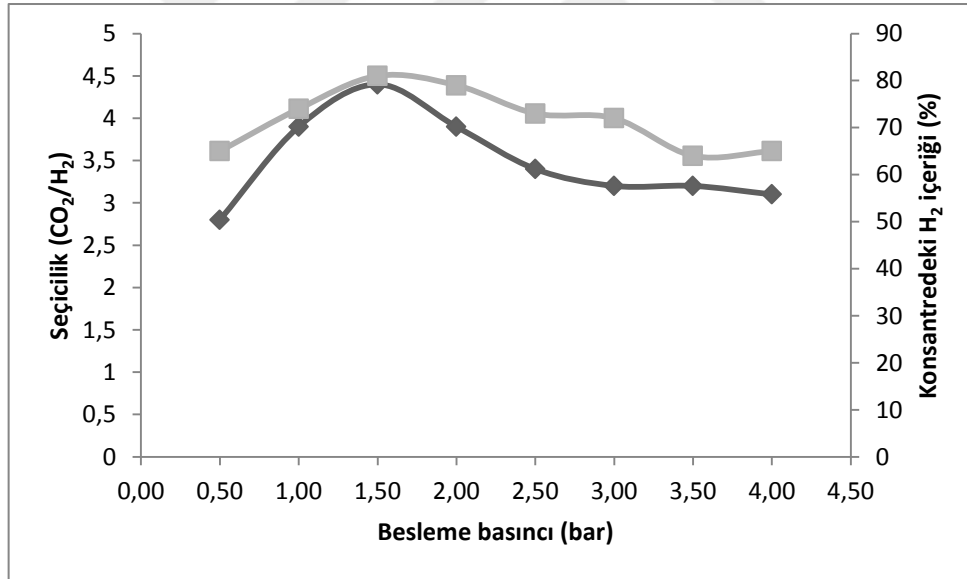
Tablo 3.5 Süt endüstrisi atıksuyundan biyohidrojen üretiminde elde edilen kinetik ve analitik parametreler

Kinetik parametreler (Modifiye Gompertz Eşitliği)	
H_{max} (mL)	5696,40
R_{max} (mL/sa)	72,71
λ (sa)	2,31
R^2	0,996
Çözünmüş metabolit konsantrasyonları	
HAc (mM)	37,13±2,1
HBu (mM)	45,34±2,3
HAc/HBu	0,82
Analitik Parametreler	
KOI giderimi (%)	42

Sürekli işletimde, hidrojenin yanında elde edilen baskın yan ürünler asetat (HAc), bütirat (HBu) ve eser miktarda propiyonik asit (<6 mM), izobütirik asit ve izovalerik asit olmuştur. Daha önceden de bahsedildiği gibi HAc/HBu oranı hidrojen üretiminde proses verimliliğini belirleyen bir parametre olarak bilinmektedir. Bu nedenle bu çalışmada da HAc/HBu oranı belirlenmiş ve HAc ve HBu konsantrasyonları sırasıyla 16,3-37,13 mM ve 17,4-45,34 mM aralığında değişmiştir. Elde edilen veriler neticesinde maksimum HAc/HBu oranı 0,82 civarında bulunmuş ve bu oran ne kadar yüksek olursa o kadar yüksek verimde H_2 elde edilebileceği tespit edilmiştir. Bu çalışmada da bütiratın baskın yan ürün olduğu görülmektedir. Hidrojen üreten bakterilerin bütirat tipi fermantasyonu seçmelerinin nedeni ise eşdeğer bir bütirat oluşumu esnasında ortamın asetat oluşumuna kıyasla daha az asidik olmasından kaynaklanmasındadır (Khanal, 2008). Bunun yanında asetat ile daha yüksek verimde hidrojen üretilmektedir (teorik olarak 4 mol H_2 /mol glikoz) (Hawkes vd., 2002; Khanal, 2008) ve yüksek konsantrasyonda üretilen hidrojenin kısmi basıncı elektron taşıyıcı NAD^+ ların yenilenmesini etkilemektedir (Van Ginkel vd., 2005). Bu sebeple bütirat tipi fermantasyonun hidrojen üretimi için daha elverişli bir yol olduğu bildirilmiştir (Hallenbeck, 2005; Khanal, 2008).

3.3.2 Silikon Hollow-Fiber Membran Kullanarak Biyohidrojenin Saflaştırılması

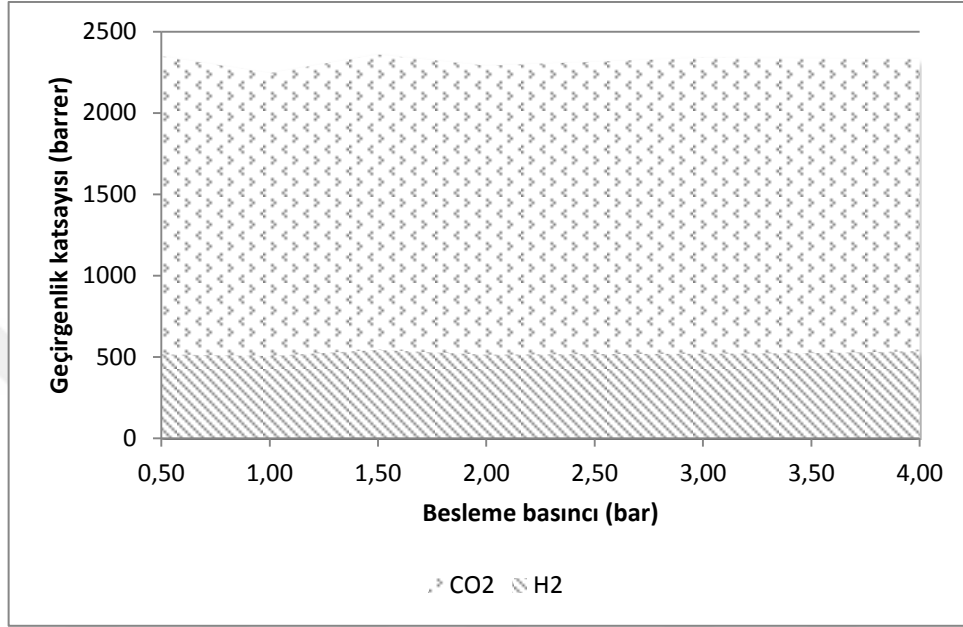
Bu çalışmada biyohidrojenin PEM yakıt hücresinde kullanımı öncesinde saflaştırılması (CO_2 'den arındırılması) için, yüksek CO_2 geçirgenliğine sahip silikon (PDMS) membran kullanılmıştır. Bir önceki fermantasyon çalışmasında elde edilen biyogazın içeriği %60 H_2 ve %40 CO_2 (v/v) belirlenmiş ve fermentörde üretilen bu biyogaz 10 L hacmindeki gaz torbalarında depolanmıştır. Membran prosesinin işletimi esnasında, membran girişi, konsantre ve süzüntü akımlarında gaz kromatografisi cihazı ile sürekli kompozisyon değişimi izlenmiştir. Biyogaz, PDMS hollow-fiber membrana peristaltik pompa yardımı ile 0,5-4 bar arasında değişen farklı basınçlarda beslenmiştir. PDMS membranın seçiciliği CO_2 'nin geçirgenlik değerinin H_2 'nin geçirgenlik değerine bölünmesiyle hesaplanmıştır ve PDMS membranın farklı basınçlara karşı gösterdiği seçiciliği Şekil 3.19'da verilmiştir.



Şekil 3.19 Farklı işletme basınçlarında elde edilen konsantre akımındaki H_2 konsantrasyonu ve CO_2/H_2 seçiciliği ((◆) seçicilik CO_2/H_2 , (■) H_2 içeriği)

Burada seçicilik değerinin 1 den büyük olması membranın CO_2 seçici membran olduğu, 1 den küçük olması ise membranın H_2 seçici bir membran olduğunu göstermektedir. Şekilde görüldüğü üzere CO_2/H_2 seçiciliği artan basınçla azalmış ve maksimum seçicilik 4,4 olarak 1,5 bar besleme basıncında elde edilmiştir.

Sonuçlar, besleme/konsantre akımındaki CO₂'nin H₂'ye göre kütleli fraksiyonu, süzüntü akımındaki fraksiyona göre 4 kat küçük olduğunu ve H₂ gazının konsantre akımında zenginleştirildiğini göstermektedir. Şekil 3.20'de gösterildiği üzere H₂ ve CO₂'nin silikon geçirgenlik katsayısı (1 Barrer=1 x 10⁻¹⁰ cm³ (STP) cm/cm² s cmHg) sırasıyla 543±38 ve 2360±115 barrer hesaplanmıştır.



Şekil 3.20 CO₂ ve H₂ için farklı işletme basınçlarında elde edilen silikon geçirgenlik katsayıları

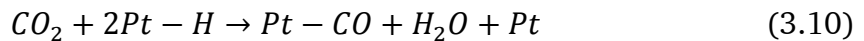
Geçirgenlik katsayıları arasındaki bu farklılık, CO₂'nin H₂'ye göre membranda daha fazla tercih edildiğini ve bu sayede H₂'nin PDMS membranda zenginleştirilmesinin daha kolay olacağını ifade etmektedir. Literatürde yapılan çalışmalarda en yüksek geçirgenlik değeri aynı tip PDMS membran kullanılarak elde edilmiş ve H₂ ve CO₂ için geçirgenlik katsayıları sırasıyla 569±65 ve 3285±160 barrer olarak %10 H₂ ve %90 CO₂ içeren gaz kompozisyonunda elde edilmiştir (Ramírez-Morales vd., 2013). Bakonyi vd. (2015) ise yaptıkları çalışmada, CO₂'nin H₂'ye göre seçiciliğinin, PDMS membranda, 3 bar basınçta, 3,7 kat daha fazla olduğunu belirtmiştir. Diğer bir araştırmacı da sentetik gazı (syngas) simüle ederek PDMS membranda geçirgenliklerini incelemiş ve H₂ ve CO₂ geçirgenliğini sırasıyla 950 ve 3200 barrer bulmuştur (Merkel vd., 2001). Ayrıca sentetik gaz içerisindeki bileşenlerin geçirgenlik katsayılarını incelediğinde 25 °C'de: N₂<H₂<CO₂<H₂S şeklinde sıralandığını tespit etmiştir. Barillas vd. (2011) ise bu çalışmaya benzer şekilde PDMS membran ile H₂ ve

CO₂ geçirgenliğini sırasıyla 813 ve 2848 barrer bulmuştur. Ayrıca CO₂/H₂ geçirgenliğini 3,5 bularak PDMS membranların diğer membranlara kıyasla daha fazla CO₂ seçici olduğunu vurgulamıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, PDMS membranın diğer polimerlere kıyasla yüksek CO₂ geçirgenliğine ve düşük basınç ve oda sıcaklığında çalışabilme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. Biyohidrojen saflaştırma çalışmalarına dayanarak, saflaştırılmış H₂ içeriği %60'dan %80'e yükseltilmiştir ve bir sonraki aşamada saflaştırılmış H₂, PEM yakıt hücresinde yakıt olarak kullanılmıştır.

3.3.3 PEM Yakıt Hücresinde Biyohidrojenin Yakıt Olarak Kullanımı ve Yakıt Kompozisyonunun Etkilerinin İncelenmesi

Yakıt hücrelerine beslenen yakıtlar içerisinde yer alan CO, NH₃, H₂S, CO₂ vb. kontaminantlar, yakıt hücrelerinin farklı bileşenlerini etkileyebilmekte ve performanslarını düşürmektedir. CO₂'de katalitik olarak karbonmonoksit (CO) dönüştürüldüğünde yakıt hücresi performansını etkileyen kirletici maddelerden birisidir. Çünkü CO₂, katalizör yüzeyini zehirleyerek elektrokimyasal aktif yüzey alanına (EASA) zarar verir, böylece hidrojenin aktif platin alanlarına ulaşmasını engeller (Rajalakshmi vd., 2003). Bu problemin ana nedeni CO-Pt etkileşiminin H-Pt etkileşiminden çok daha güçlü olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, katalizörün zehirlenmesi ile katalizör katmanındaki aktif bölgeler ve yakıt hücresi performansı azalır. Aşağıdaki reaksiyonlar genel olarak CO₂'nin yakıt hücresi üzerindeki etkilerini göstermektedir (Engström, 2014; Rajalakshmi, vd., 2003; Ralph vd., 2002).



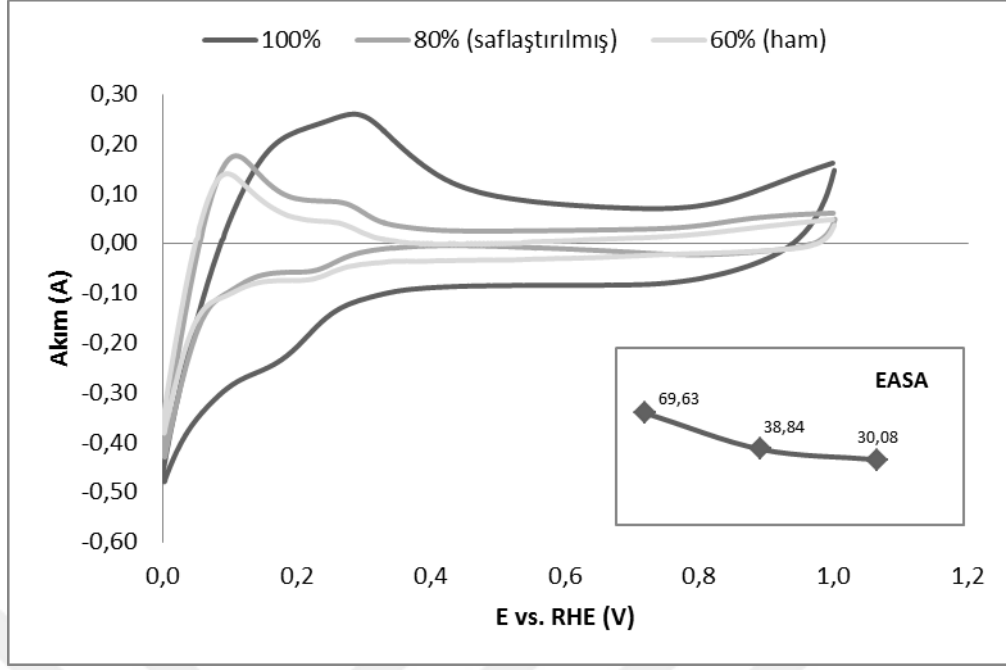
Rajalakshmi vd. (2003), 100/10 ila 100/50 arasında değişen H₂/CO₂ konsantrasyonlarındaki gazların yakıt hücresi performansı üzerindeki etkilerini araştırmış ve yakıt hücresinin sürekli CO₂'ye maruz kalmasının performansı saf H₂'ye kıyasla %10'a kadar düşürdüğünü tespit etmiştir. Wu vd. (2017), farklı konsantrasyonlardaki (%0 (v/v) ila %60 (v/v)) CO₂'nin PEM yakıt hücresinde

etkisini incelemiş ve artan CO₂ konsantrasyonunun yakıt hücresindeki maksimum gücü düşürdüğünü tespit etmiştir. Yaptıkları çalışmada maksimum güç üretiminin %10 ve %20 CO₂ konsantrasyonlarında 9,16 W ve 8,60 W olduğunu ve bu güç kaybının sebebinin katalizör tabakasının karbondioksit tarafından kaplanması ve karbondioksit tarafından hidrojen oksidasyonunu sınırlanması olarak belirtmişlerdir. de Bruijn vd. (2002), ise yaptıkları bir çalışmada 100/0 ila 60/40 arasında değişen H₂/CO₂ oranlarındaki yakıtın performansı neredeyse %30 oranında düşürdüğünü belirtmiş ayrıca platin-rutenyum katalizörünün kullanılmasının daha iyi CO₂ toleransı olacağını belirtmişlerdir. Fakat yapılan diğer çalışmalara bakıldığında rutenyumun kullanılmasının CO₂ toleransını arttırdığı ama rutenyum ile platine kıyasla daha düşük güç üretimi gerçekleşeceği görülmüştür (Janssen vd., 2005).

Bu çalışmada da CO₂'nin PEM yakıt hücresi performansındaki etkisinin araştırılması için üç farklı yakıt kullanılmıştır. Yakıt hücresi çalışmaları, sırasıyla, fermentörden direkt elde edilen, membran ile saflaştırma deneyinden elde edilen ve saf H₂ gazından elde edilen 60:40, 80:20 ve 100:0 oranlarında değişen farklı H₂:CO₂ hacim oranlarında gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.21'de ağırlıkça %38 Pt/C katalizörü içeren tek hücreli yakıt hücresinden farklı gaz karışımlarıyla elde edilen döngüsel voltametri (CV) eğrileri verilmektedir. Bu aşamada yakıt hücresinin elektrokimyasal aktif yüzey alanı (EASA) aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır (Ozdemir, 2019).

$$EASA \left(\frac{cm^2 Pt}{gPt} \right) = \frac{yük \left(\frac{Q_H}{\mu C} \right)}{210 \left(\frac{\mu C}{cm^2} \right) x elektrot yükü (gPt/cm^2)} \quad (3.11)$$

Burada EASA, katalizörün elektrokimyasal aktif yüzey alanını; Q_H (210 μC.cm⁻²), hidrojen desorpsiyonu için yükü; elektrot yükü, çalışan elektrot üzerindeki Pt miktarını ifade etmektedir. Şekil 3.21, 30 °C'de hücre sıcaklığında ve farklı yakıt konsantrasyonlarında çalışan membran elektrot takımı (MET) döngüsel voltametri sonuçlarını göstermektedir.

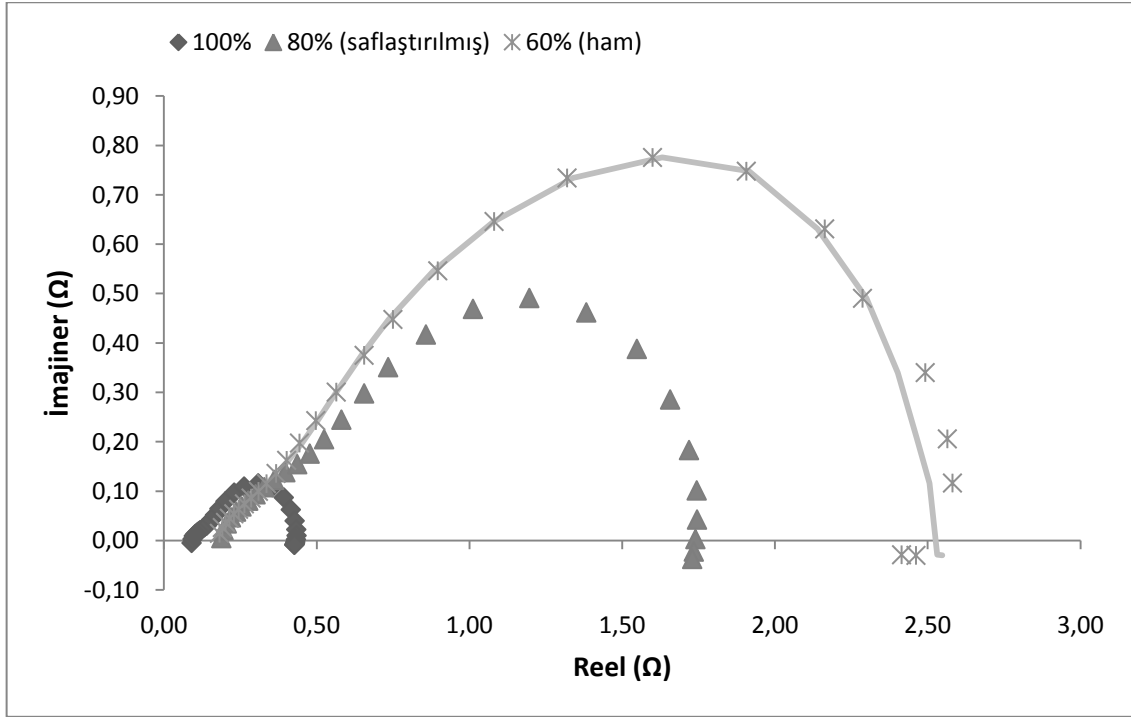


Şekil 3.21 Farklı yakıt oranları için 500 mVs^{-1} tarama hızında alınan döngüsel voltametri eğrileri

Sonuçlar, EASA'nın hesaplanmasından önce tarama hızı ile normalize edilmiştir. Çalışmada Pt yükleme oranı $100 \mu\text{g}_{\text{Pt}} \cdot \text{cm}^{-2}$ olarak sabitlenmiştir. Döngüsel voltametri sonuçları dikkate alınarak farklı yakıt konsantrasyonları için hesaplanan elektrokimyasal aktif yüzey alanları %100 , %80 and %60 (v/v) H_2 için sırasıyla $69,63 \text{ m}^2/\text{g-Pt}$, $38,84 \text{ m}^2/\text{g-Pt}$ and $30,08 \text{ m}^2/\text{g-Pt}$ bulunmuştur. Döngüsel voltammogramların, literatürdeki gibi tanımlanmış hidrojen adsorpsiyon/desorpsiyon, çift katmanlı kapasitans ve Pt oksidasyon/redüksiyon bölgelerine sahip olduğu açıkça gösterilmiştir. Ayrıca elde edilen veriler, saflaştırılmamış biyogazın yakıt olarak kullanıldığı durumda aktif bölgenin saf H_2 'ye oranla 1,8 kat azaldığını göstermektedir. Diğer taraftan saflaştırılmış biyogazın yakıt olarak kullanılmasıyla, saflaştırılmamışa kıyasla aktif bölgenin 1,3 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar artan CO_2 konsantrasyonunun, Pt-CO bağları nedeniyle, Pt katalizörünün aktif yüzey alanını azalttığını; bu nedenle yakıt hücresi performansının zamanla azaldığını göstermiştir.

Döngüsel voltametrimin yanı sıra PEM yakıt hücresinin karakterize edilmesi ve eşdeğer devre parametrelerinin belirlenmesi amacıyla elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EES) analizi yapılmıştır. Empedans spektroskopisi sonuçları

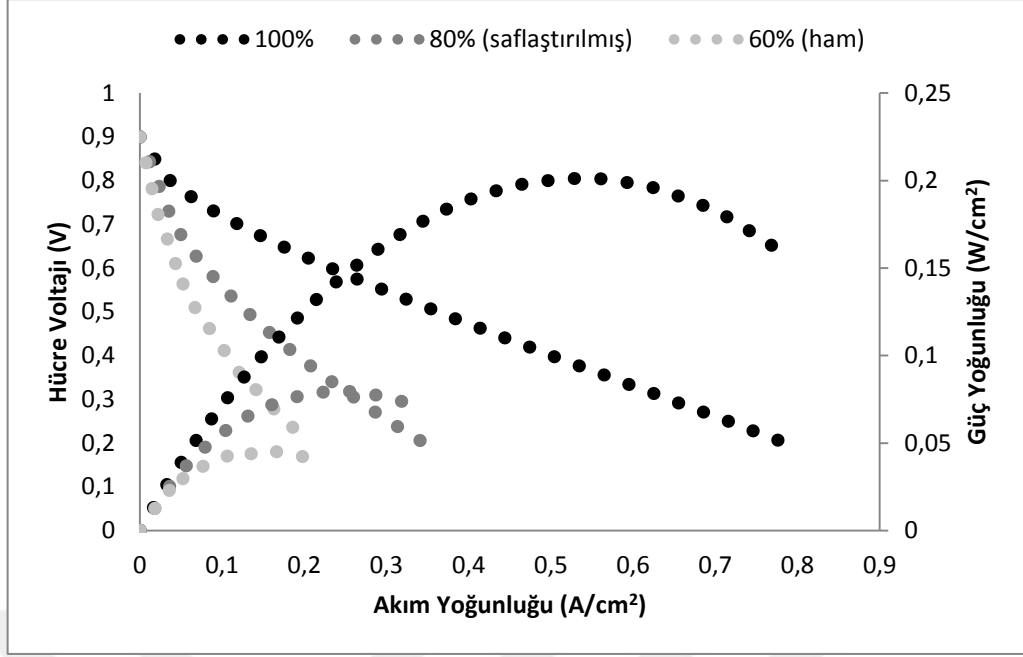
Simpleks metodu ile fit edilmiştir ve fit edilen sonuçlardan elde edilen eşdeğer devre Şekil 3.22'de gösterilmiştir.



Şekil 3.22 Farklı yakıt oranları için ölçülen ve modellenen Nyquist eğrileri ve empedans modelleri

Katalizör ve reaktant (H_2) arasındaki elektron transferini engelleyen polarizasyon dirençleri yarım dairenin çapından hesaplanmıştır. Tek hücreli test sisteminin polarizasyon dirençleri %100, %80 ve %60 (v/v) yakıt kompozisyonları için sırasıyla 0,3 Ω , 1,357 Ω ve 2,226 Ω bulunmuştur. Nyquist eğrilerinden ve fit edilen model sonuçlarından görüldüğü üzere, dirençler artan CO_2 konsantrasyonu ile artış göstermiştir. Ayrıca CO_2 konsantrasyonunun artmasıyla, aktif Pt katalizörleri üzerindeki CO adsorpsiyonu nedeniyle de bir indüktans döngüsünün gözlemlenmeye başlandığı görülmüştür.

Şekil 3.23'te ise farklı $H_2:CO_2$ oranları için yakıt hücresinde elde edilen güç yoğunlukları ve polarizasyon eğrileri görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde yüksek CO_2 oranlarının daha düşük güç üretimine neden olduğu açıkça görülmektedir.



Şekil 3.23 Farklı yakıt oranları için yakıt hücresinde elde edilen polarizasyon ve güç yoğunluğu eğrileri

Çalışmada elde edilen maksimum güç ve akım yoğunlukları; %100, %80 ve %60 (v/v) yakıt kompozisyonları için sırasıyla $0,2 \text{ W.cm}^{-2}$, $0,08 \text{ W.cm}^{-2}$, $0,045 \text{ W.cm}^{-2}$ ve $0,78 \text{ A.cm}^{-2}$, $0,33 \text{ A.cm}^{-2}$, $0,2 \text{ A.cm}^{-2}$ 'dir. Sonuçlar yakıt hücresinde daha fazla yakıt tüketildiğinde daha fazla akım oluştuğunun ve böylece yakıt hücresi veriminin arttığını göstermektedir (Razbani vd., 2013). Örneğin ham biyogaza göre saflaştırılmış biyogaz ile güç üretimi 1,8 kat artış göstermiştir. Razbani vd. (2013), biyohidrojeni %40 ila %60 değişen H_2 oranlarında simüle etmiş ve yakıt kompozisyonunun katı oksit yakıt hücresine (SOFC) etkisini araştırmıştır. Elde ettiği sonuçlara göre %60 H_2 %40 CO_2 oranındaki yakıt ile yaklaşık 17W güç üretiminin gerçekleştiğini ve azalan H_2 konsantrasyonu ile güç üretiminin azaldığını tespit etmiştir. Wei vd. (2010), ise biyohidrojen ile PEM yakıt hücresinde elektrik üretimini incelemiş, saflaştırdıkları $>90\%$ üzerindeki H_2 ile PEM yakıt hücresinde 0,65 V'ta 0,428W güç elde etmişlerdir. Araştırmacılar, biyohidrojenin saflığının ve neminin yakıt hücresi için önemli olduğunu ve ancak saflaştırmadan sonra biyohidrojenin elektrik üretiminde yakıt hücresinde değerlendirilebileceğini belirtmiştir. Elde edilen sonuçlar ve diğer araştırmacılar tarafından yapılan araştırmalar, biyohidrojeni saflaştırmanın yakıt hücresindeki

önemini göstermiştir. Bu nedenle, biyolojik proseslerle üretilen biyohidrojenin değerlendirilmesi için biyohidrojen saflaştırması gerektiği kanısına varılmıştır.



Bu tez çalışmasında süt endüstrisi atıksularının substrat olarak kullanıldığı biyohidrojen üretim sistemlerinde, atıkların organik içeriğinin azaltılırken sıfır karbon emisyonlu ve sürdürülebilir bir elektrik üretiminin sağlandığı gösterilmiştir. Tez çalışması kapsamında uygun mikrobiyal türlerin seçimi, işletme parametrelerinin optimizasyonu, entegre biyogaz saflaştırma sisteminin geliştirilmesi ve hidrojenden elektrik üretimi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalar farklı aşamalara ayrılmış ve her bir aşamada detaylı analizler yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

İlk aşamada *C.reinhardtii* türü zenginleştirilmiş ve hidrojen üretim potansiyeli incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda hidrojen üretimi hızlı bir artış göstermiş ve kümülatif gaz hacmi yaklaşık 45 mL'ye ulaşmıştır. Bu çalışma, birkaç gün boyunca sürekli işletilebilecek fotobiyolojik süreçte *C.reinhardtii* türü kullanarak H₂ gazı üretiminin mümkün olduğunu göstermektedir. Fakat sülfat içeriği olan bir atıksudan bu tür ile hidrojen üretiminde zorluklar yaşanacağı söylenebilir. Bu nedenle atıksu çalışmalarında önce sülfat gideriminin yapılması daha sonra hidrojen üretim çalışmalarının gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bunun yanında karanlık ve foto-fermantasyon gibi diğer biyolojik hidrojen üretim prosesleri ile karşılaştırıldığında *C.reinhardtii* türü ile H₂ üretim veriminin çok düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle uygun proseslerin seçiminde yüksek verimli teknolojilerin seçimi önem arz etmektedir.

İkinci aşamada karışık mikrobiyal kültürden asidojenik bakterilerin seçilmesi ve zenginleştirilmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada, temin edilen karışık kültüre farklı ön işlemler uygulanarak ortamda bulunan metanojenik ve diğer hidrojen tüketen bakterilerin ortamdaki uzaklaştırılması sağlanmıştır. Sonuçların verimliliğinin takibi için fermentasyon neticesinde üretilen biyogaz sürekli olarak analiz edilmiş ve biyogaz içeriğinde sadece hidrojen ve karbondioksit kalana kadar çalışmalar sürdürülmüştür. Elde edilen sonuçlar

incelendiğinde en yüksek üç hidrojen üretim potansiyelleri sırasıyla ultrasonik ön işlem, donma-çözme ve BESA ile kimyasal ön işlem kullanılan biyoreaktörlerde elde edilmiştir. Süt endüstrisi atıksuyunun içeriğinin substrat inhibisyonuna yol açıp açmayacağına incelendiği çalışmada ise elde edilen bulgular değerlendirildiğinde herhangi bir substrat inhibisyonu gözlenmemiş olup hidrojen üretim verimleri artan substrat konsantrasyonu ile doğrusal olarak arttığı tespit edilmiştir.

Üçüncü aşamada önceki çalışmalarda elde edilen mikrobiyal kültürler ile fermentör devreye alınmış ve mikrobiyal kültürlerin atıksuya alışma süreleri zamana bağlı olarak incelenmiştir. Sonuçlar, uygun zenginleştirme yöntemi ile ve hidrojen üreten bakterilerin atıksuya alışması için uygun besleme stratejisi ile süt endüstrisi atıksularından 72 saat gibi kısa bir süre sonra hidrojen üretebileceğini kanıtlamıştır. Bu sebeple bu çalışma süt endüstrisi atıksuyundan hidrojen üretimi için uygun stratejinin belirlenmesi açısından bir rehber olarak kullanılabilir.

Çalışmaların son aşamasında ise süt endüstrisi atıksuyundan sürekli sistemde biyohidrojen üretim çalışmaları gerçekleştirilmiş ve polimerik membran kullanarak üretilen biyogaz saflaştırılmıştır. Saflaştırılmış ve saflaştırılmamış biyohidrojen PEM yakıt hücresinde yakıt olarak kullanılarak, yakıt kompozisyonunun PEM yakıt hücrelerinden elektrik üretim performansına etkisi, performans kayıpları ve güç üretimleri değerlendirilmiştir. Karanlık fermantasyon prosesi esnasında substrat giderimi (KOİ olarak) %29 ve %42 arasında ve maksimum H₂ üretimi %42 substrat gideriminde 5696,40 mL olarak elde edilmiştir. Biyogaz içerisindeki biyohidrojen konsantrasyonu ise gaz kromatografisi yardımıyla belirlenmiş, %33-%60 (v/v) aralığında değişmiş ve maksimum biyogaz içeriği %60 H₂ ve %40 CO₂ (v/v) olarak belirlenmiştir. Gaz saflaştırma çalışmalarında ise PDMS membranın diğer polimerlere kıyasla yüksek CO₂ geçirgenliğine ve düşük basınç ve oda sıcaklığında çalışabilme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. Biyohidrojen saflaştırma çalışmalarına dayanarak, saflaştırılmış H₂ içeriği %60'dan %80'e yükseltilmiştir ve bir sonraki aşamada saflaştırılmış H₂, PEM yakıt hücresinde yakıt olarak kullanılmıştır. Yakıt hücresi çalışmaları ise, sırasıyla, fermentörden direkt elde edilen, membran ile

saflaştırma deneyinden elde edilen ve saf H₂ gazından elde edilen 60:40, 80:20 ve 100:0 oranlarında değişen farklı H₂:CO₂ hacim oranlarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, saflaştırılmamış biyogazın yakıt olarak kullanıldığı durumda aktif bölgenin saf H₂'ye oranla 1,8 kat azaldığını göstermektedir. Diğer taraftan saflaştırılmış biyogazın yakıt olarak kullanılmasıyla, saflaştırılmamışa kıyasla aktif bölgenin 1,3 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Elektrik üretim çalışmalarında ise elde edilen maksimum güç ve akım yoğunlukları; %100, %80 ve %60 (v/v) yakıt kompozisyonları için sırasıyla 0.2 W.cm⁻², 0.08 W.cm⁻², 0.045 W.cm⁻² ve 0.78 A.cm⁻², 0.33 A.cm⁻², 0.2 A.cm⁻² olmuştur. Sonuçlar yakıt hücresinde daha fazla yakıt tüketildiğinde daha fazla akım oluştuğunun ve böylece yakıt hücresi veriminin arttığını göstermiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlardan yüksek CO₂ oranlarının daha düşük güç üretimine neden olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ve diğer araştırmacılar tarafından yapılan araştırmalar, biyohidrojeni saflaştırmanın yakıt hücresindeki önemini göstermiştir. Bu nedenle, biyolojik proseslerle üretilen biyohidrojenin değerlendirilmesi için biyohidrojen saflaştırması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Yapılan bu çalışmaların yanı sıra literatürde bir çok çalışmada, karanlık fermantasyon ile gıda endüstrisi atıklarından asidojenik biyohidrojen üretiminin çevresel faydaları önlenen emisyonlar dikkate alınarak incelenmiştir. Mevcut prosesler için CO₂ emisyonu ve asidifikasyon potansiyeli açısından küresel ısınma potansiyeli diğer konvansiyonel proseslerle karşılaştırıldığında 0,5 kg CO₂/kg H₂ ve 0,3 g SO₂/kg H₂ ile daha düşük olduğu görülmüştür (Dincer vd., 2015; Parthasarathy vd., 2014). Sonuçlar incelendiğinde asidojenik biyohidrojen üretiminin iklim değişikliğinin azaltılmasına pozitif katkıda bulunduğu görülmüştür. Bu sebeple biyohidrojen tesislerinin kurulmasının, hidrojen üretimi ile yeni bir yenilenebilir enerji kaynağının sağlanması fosil yakıtlara olan bağımlılığı azaltmaya yardımcı olacaktır.

Biyolojik hidrojen üretiminin bu gibi avantajlarının yanında çeşitli dezavantajlarda tespit edilmiştir. Örneğin KOİ'nin ancak üçte birinin H₂'e çevrilmesi ve geri kalan organik maddenin UYA ya da alkol formunda sistemden kaçağı karanlık fermantasyon proseslerinin en önemli dezavantajlarından bir

tanesisidir. Bu nedenle atıksu arıtımı açısından yalnızca karanlık fermantasyon prosesinin yeterli olmayacağı, ardına ek bir arıtma prosesinin ilave edilmesiyle daha yüksek atıksu arıtma verimlerine ulaşılabileceği önerilmektedir. Bunun yanında H₂ tüketen bakterilerin ortamda bulunması verimi düşürmektedir. Bu nedenle yapılacak olan çalışmalarda daha yüksek verimler elde etmek için mikroorganizma kültürünün kontrol altında tutulması önerilmektedir.

Hidrojen üretim proseslerinde karşılaşılan en büyük problem hidrojenin depolanmasıdır. Bu problemin üstesinden gelmek için araştırmacılar farklı hidrojen taşıyıcılarının (NH₃ gibi) araçlarda kullanımını önermiştir. Fakat üretilen hidrojenin, NH₃ gibi hidrojen taşıyıcılarına çevrimi ek bir proses daha gerektirdiği için, biyolojik hidrojen üretimi çalışmalarında üretilen hidrojenin direkt yakıt hücrelerinde değerlendirilmesinin daha az maliyetli bir yöntem olacağı kanısına varılmıştır. Ancak burada da üretilen elektriğin depolanması önem arz etmektedir. Çünkü atıksu gibi yenilenebilir enerji kaynakları, süreklilik arz etmeyip, belirli periyotlarda ve zamanlarda, farklı miktarlarda oluşmaktadır. Bu nedenle, tez çalışmasında üretilen enerji gibi yenilenebilir enerji kaynaklarının yaşaması depolanmasına bağlıdır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında organik içeriği yüksek kuvvetli endüstriyel atıksuların arıtımının sağlanacağı; alternatif enerji kullanan, işletme maliyeti düşük sürdürülebilir bir arıtma sistemi geliştirilmesi ile atıksuyun katma değeri olan bir ürüne dönüştürülmesi ve enerji/madde geri kazanımı sağlayarak ülkemize ekonomik ve çevreci bir katkı sağlamaya çalışılmıştır.

- Anandraj, A., White, S. ve Mutanda, T. (2019). Photosystem I fluorescence as a physiological indicator of hydrogen production in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bioresource Technology*, 273, 313–319.
- Antonopoulou, G., Gavala, H. N., Skiadas, I. V. ve Lyberatos, G. (2012). ADM1-based modeling of methane production from acidified sweet sorghum extract in a two stage process. *Bioresource Technology*, 106, 10–19.
- Antonopoulou, G., Stamatelatou, K., Venetsaneas, N., Kornaros, M. ve Lyberatos, G. (2008). Biohydrogen and Methane Production from Cheese Whey in a Two-Stage Anaerobic Process. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(15), 5227–5233.
- Azbar, N., Dokgöz, F. T., Keskin, T., Eltem, R., Korkmaz, K. S., Gezgin, Y., ... Tutuk, F. (2009). Comparative Evaluation of Bio-Hydrogen Production From Cheese Whey Wastewater Under Thermophilic and Mesophilic Anaerobic Conditions. *International Journal of Green Energy*, 6(2), 192–200.
- Azbar, Nuri, Dokgöz, F. T. Ç. ve Peker, Z. (2009). Optimization of Basal Medium for Fermentative Hydrogen Production from Cheese Whey Wastewater. *International Journal of Green Energy*, 6(4), 371–380.
- Bakonyi, P., Nemestóthy, N. ve Bélafi-Bakó, K. (2013). Biohydrogen purification by membranes: An overview on the operational conditions affecting the performance of non-porous, polymeric and ionic liquid based gas separation membranes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(23), 9673–9687.
- Bakonyi, P., Nemestóthy, N., Lankó, J., Rivera, I., Buitrón, G. ve Bélafi-Bakó, K. (2015). Simultaneous biohydrogen production and purification in a double-membrane bioreactor system. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(4), 1690–1697.
- Bakonyi, Péter, Kumar, G., Bélafi-Bakó, K., Kim, S. H., Koter, S., Kujawski, W., ... Pientka, Z. (2018). A review of the innovative gas separation membrane bioreactor with mechanisms for integrated production and purification of biohydrogen. *Bioresource Technology*, 270(September), 643–655.
- Barillas, M. K., Enick, R. M., O'Brien, M., Perry, R., Luebke, D. R. ve Morreale, B. D. (2011). The CO₂ permeability and mixed gas CO₂/H₂ selectivity of membranes composed of CO₂-philic polymers. *Journal of Membrane Science*, 372(1–2), 29–39.
- Bartacek, J., Zabranska, J. ve Lens, P. N. L. (2007). Developments and constraints in fermentative hydrogen production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 1(3), 201–214.
- Bellows, R. J., Marucchi-Soos, E. P. ve Buckley, D. T. (1996). Analysis of Reaction

- Kinetics for Carbon Monoxide and Carbon Dioxide on Polycrystalline Platinum Relative to Fuel Cell Operation. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 35(4), 1235–1242.
- Britz, T. J., Schalkwyk, C. van ve Hung, Y.-T. (2004). Treatment of Dairy Processing Wastewaters. <https://www.semanticscholar.org/paper/Treatment-of-Dairy-Processing-Wastewaters-Britz-Schalkwyk/13992410a77e2a8bc3c5c27d6ed8597e4ce81d87> adresinden erişildi.
- Bundhoo, M. A. Z., Mohee, R. ve Hassan, M. A. (2015). Effects of pre-treatment technologies on dark fermentative biohydrogen production: A review. *Journal of Environmental Management*, 157, 20–48.
- Carrillo-Reyes, J., Celis, L. B., Alatraste-Mondragón, F. ve Razo-Flores, E. (2012). Different start-up strategies to enhance biohydrogen production from cheese whey in UASB reactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(7), 5591–5601.
- Carrillo-Reyes, J., Celis, L. B., Alatraste-Mondragón, F. ve Razo-Flores, E. (2014). Decreasing methane production in hydrogenogenic UASB reactors fed with cheese whey. *Biomass and Bioenergy*, 63, 101–108.
- Castelló, E., García y Santos, C., Iglesias, T., Paolino, G., Wenzel, J., Borzacconi, L. ve Etchebehere, C. (2009). Feasibility of biohydrogen production from cheese whey using a UASB reactor: Links between microbial community and reactor performance. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(14), 5674–5682.
- Castelló, E., Perna, V., Wenzel, J., Borzacconi, L. ve Etchebehere, C. (2011). Microbial community composition and reactor performance during hydrogen production in a UASB reactor fed with raw cheese whey inoculated with compost. *Water Science and Technology*, 64(11), 2265–2273.
- Chandrasekhar, K., Lee, Y. J. ve Lee, D. W. (2015). Biohydrogen production: Strategies to improve process efficiency through microbial routes. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 8266–8293.
- Chatzipaschali, A. A. ve Stamatis, A. G. (2012). Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey : Current Status and Prospects. <https://www.semanticscholar.org/paper/Biotechnological-Utilization-with-a-Focus-on-of-%3A-Chatzipaschali-Stamatis/aefcb80e6a8adb65f30800bfc79a8f0bacd70fca> adresinden erişildi.
- Chen, W.-H., Chen, S.-Y., Kumar Khanal, S. ve Sung, S. (2006). Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(15), 2170–2178.
- Cheng, H.-H., Whang, L.-M., Wu, C.-W. ve Chung, M.-C. (2012). A two-stage bioprocess for hydrogen and methane production from rice straw bioethanol residues. *Bioresource Technology*, 113, 23–29.

- Cheng, X.-Y. ve Liu, C.-Z. (2012). Enhanced coproduction of hydrogen and methane from cornstalks by a three-stage anaerobic fermentation process integrated with alkaline hydrolysis. *Bioresource Technology*, 104, 373–379.
- Chiranjeevi, P. ve Venkata Mohan, S. (2017). Diverse acidogenic effluents as feedstock for microalgae cultivation: Dual phase metabolic transition on biomass growth and lipid synthesis. *Bioresource Technology*, 242, 191–196.
- Chochois, V., Constans, L., Dauvillée, D., Beyly, A., Solivérès, M., Ball, S. ve Peltier, G. (2010). Relationships between PSII-independent hydrogen bioproduction and starch metabolism as evidenced from isolation of starch catabolism mutants in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10731–10740.
- Chowdhury, P., Viraraghavan, T. ve Srinivasan, A. (2010). Biological treatment processes for fish processing wastewater – A review. *Bioresource Technology*, 101(2), 439–449.
- Cota-Navarro, C. B., Carrillo-Reyes, J., Davila-Vazquez, G., Alatrisme-Mondragón, F. ve Razo-Flores, E. (2011). Continuous hydrogen and methane production in a two-stage cheese whey fermentation system. *Water Science and Technology*, 64(2), 367–374.
- Das, D. ve Veziroglu, T. N. (2008). Advances in biological hydrogen production processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(21), 6046–6057.
- de Bruijn, F. A., Papageorgopoulos, D. C., Sitters, E. F. ve Janssen, G. J. M. (2002). The influence of carbon dioxide on PEM fuel cell anodes. *Journal of Power Sources*, 110(1), 117–124.
- Dębowski, M., Korzeniewska, E., Filipkowska, Z., Zieliński, M. ve Kwiatkowski, R. (2014). Possibility of hydrogen production during cheese whey fermentation process by different strains of psychrophilic bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(5), 1972–1978.
- Demirel, B., Yenigun, O. ve Onay, T. T. (2005). Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review. *Process Biochemistry*, 40(8), 2583–2595.
- Demirer, G. N., Duran, M., Güven, E., Ugurlu, Ö., Tezel, U. ve Ergüder, T. H. (2000). Anaerobic treatability and biogas production potential studies of different agro-industrial wastewaters in Turkey. *Biodegradation*, 11(6), 401–405.
- Dincer, I. ve Acar, C. (2015). Review and evaluation of hydrogen production methods for better sustainability. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(34), 11094–11111.
- Doble, M. ve Kruthiventi, A. K. (2005). *Biotreatment of industrial effluents*. Elsevier Butterworth-Heinemann.
- Engström, A. (2014). Determination of acceptable contaminant levels for PEM fuel

cell stacks and poisoning mitigation strategies, 1–61.

- Eroğlu, E., Eroğlu, İ., Gündüz, U., Türker, L. ve Yücel, M. (2006). Biological hydrogen production from olive mill wastewater with two-stage processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(11), 1527–1535.
- Farizoglu, B., Keskinler, B., Yildiz, E. ve Nuhoglu, A. (2004). Cheese whey treatment performance of an aerobic jet loop membrane bioreactor. *Process Biochemistry*, 39(12), 2283–2291.
- Ferchichi, M., Crabbe, E., Gil, G.-H., Hintz, W. ve Almadidy, A. (2005). Influence of initial pH on hydrogen production from cheese whey. *Journal of Biotechnology*, 120(4), 402–409.
- Fernández, C., Carracedo, B., Martínez, E. J., Gómez, X. ve Morán, A. (2014). Application of a packed bed reactor for the production of hydrogen from cheese whey permeate: Effect of organic loading rate. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 49(2), 210–217.
- Ferreira Rosa, P. R., Santos, S. C. ve Silva, E. L. (2014). Different ratios of carbon sources in the fermentation of cheese whey and glucose as substrates for hydrogen and ethanol production in continuous reactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(3), 1288–1296.
- Gadhe, A., Sonawane, S. S. ve Varma, M. N. (2013). Optimization of conditions for hydrogen production from complex dairy wastewater by anaerobic sludge using desirability function approach. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(16), 6607–6617. doi:10.1016/j.ijhydene.2013.03.078
- Gaffron, H. ve Rubin, J. (1942). Fermentative And Photochemical Production Of Hydrogen In Algae. *The Journal of general physiology*, 26(2), 219–40.
- Ganesh, P. S., Ramasamy, E. V, Gajalakshmi, S., Sanjeevi, R. ve Abbasi, S. A. (2007). *Indian journal of biotechnology IJBT. IJBT Vol.6(2) [April 2007]. Council of Scientific and Industrial Research. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/3012> adresinden erişildi.*
- Gavala, H. N., Skiadas, I. V. ve Ahring, B. K. (2006). Biological hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor systems. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(9), 1164–1175.
- Göblös, S., Portörő, P., Bordás, D., Kálmán, M. ve Kiss, I. (2008). Comparison of the effectivities of two-phase and single-phase anaerobic sequencing batch reactors during dairy wastewater treatment. *Renewable Energy*, 33(5), 960–965.
- Gonzalez del Campo, A., Cañizares, P., Lobato, J., Rodrigo, M. A. ve Fernandez, F. J. (2012). Electricity production by integration of acidogenic fermentation of fruit juice wastewater and fuel cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(11), 9028–9037.

- Guo, W.-Q., Ren, N.-Q., Wang, X.-J., Xiang, W.-S., Meng, Z.-H., Ding, J., ... Zhang, L.-S. (2008). Biohydrogen production from ethanol-type fermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(19), 4981–4988.
- Hallenbeck, P. C. (2005). Fundamentals of the fermentative production of hydrogen. *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 52(1–2), 21–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16180405> adresinden erişildi.
- Han, W., Wang, B., Zhou, Y., Wang, D., Wang, Y., Yue, L., ... Ren, N. (2012). Fermentative hydrogen production from molasses wastewater in a continuous mixed immobilized sludge reactor. *Bioresource Technology*, 110, 219–223.
- Hawkes, F. ., Dinsdale, R., Hawkes, D. . ve Hussy, I. (2002). Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27(11–12), 1339–1347.
- Hu, B. ve Chen, S. (2007). Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(15), 3266–3273.
- Janssen, G. J. M. ve Lebedeva, N. P. (2005). Carbon dioxide poisoning on proton-exchange-membrane fuel cell anodes. *Ecn-Rx--05-073*, (October 2004), 6–7.
- Jorquera, O., Kiperstok, A., Sales, E. A., Embiruçu, M. ve Ghirardi, M. L. (2008). S-systems sensitivity analysis of the factors that may influence hydrogen production by sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(9), 2167–2177.
- Jung, K.-W., Kim, D.-H. ve Shin, H.-S. (2012). Continuous fermentative hydrogen and methane production from *Laminaria japonica* using a two-stage fermentation system with recycling of methane fermented effluent. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(20), 15648–15657.
- Kannaiah Goud, R., Sarkar, O. ve Venkata Mohan, S. (2014). Regulation of biohydrogen production by heat-shock pretreatment facilitates selective enrichment of *Clostridium* sp. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(14), 7572–7586.
- Kaparaju, P., Serrano, M., Thomsen, A. B., Kongjan, P. ve Angelidaki, I. (2009). Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept. *Bioresource Technology*, 100(9), 2562–2568.
- Kapdan, I. K. ve Kargi, F. (2006). Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(5), 569–582.
- Karadag, D., Köroğlu, O. E., Ozkaya, B., Cakmakci, M., Heaven, S. ve Banks, C. (2014). A review on fermentative hydrogen production from dairy industry wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(11).

- Karadag, D., Köroğlu, O. E., Ozkaya, B. ve Cakmakci, M. (2015). A review on anaerobic biofilm reactors for the treatment of dairy industry wastewater. *Process Biochemistry*, 50(2). doi:10.1016/j.procbio.2014.11.005
- Karadag, Dogan, Mäkinen, A. E., Efimova, E. ve Puhakka, J. A. (2009). Thermophilic biohydrogen production by an anaerobic heat treated-hot spring culture. *Bioresource Technology*, 100(23), 5790–5795.
- Karadag, Dogan ve Puhakka, J. A. (2010a). Direction of glucose fermentation towards hydrogen or ethanol production through on-line pH control. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10245–10251.
- Karadag, Dogan ve Puhakka, J. A. (2010b). Effect of changing temperature on anaerobic hydrogen production and microbial community composition in an open-mixed culture bioreactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(20), 10954–10959.
- Kargi, F., Eren, N. S. ve Ozmihci, S. (2012). Hydrogen gas production from cheese whey powder (CWP) solution by thermophilic dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(3), 2260–2266.
- Khanal, S. K. (2008). *Anaerobic biotechnology for bioenergy production : principles and applications*. Wiley-Blackwell. <https://www.wiley.com/en-ax/Anaerobic+Biotechnology+for+Bioenergy+Production%3A+Principles+and+Applications-p-9780813823461> adresinden erişildi.
- Kim, J. O., Kim, Y. H., Ryu, J. Y., Song, B. K., Kim, I. H. ve Yeom, S. H. (2005). Immobilization methods for continuous hydrogen gas production biofilm formation versus granulation. *Process Biochemistry*, 40(3–4), 1331–1337.
- Kim, J., Park, C., Kim, T.-H., Lee, M., Kim, S., Kim, S.-W. ve Lee, J. (2003). Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 95(3), 271–275.
- Kim, M.-S., Kim, D.-H., Cha, J. ve Lee, J. K. (2012). Effect of carbon and nitrogen sources on photo-fermentative H₂ production associated with nitrogenase, uptake hydrogenase activity, and PHB accumulation in *Rhodobacter sphaeroides* KD131. *Bioresource Technology*, 116, 179–183.
- Kisielewska, M., Wysocka, I. ve Rynkiewicz, M. R. (2013). Continuous biohydrogen and biomethane production from whey permeate in a two-stage fermentation process. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 33(4).
- Kolev Slavov, A. (2017). Dairy Wastewaters – General Characteristics and Treatment Possibilities – A Review. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 14–28.
- Kotay, S. M. (2009). Novel dark fermentation involving bioaugmentation with constructed bacterial consortium for enhanced biohydrogen production from pretreated sewage sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(17), 7489–7496.

- Kushwaha, J. P., Chandra Srivastava, V. ve Mall, I. D. (2010). Treatment of dairy wastewater by inorganic coagulants: Parametric and disposal studies. *Water Research*, 44(20), 5867–5874.
- Lakaniemi, A.-M., Hulatt, C. J., Thomas, D. N., Tuovinen, O. H. ve Puhakka, J. A. (2011). Biogenic hydrogen and methane production from *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta* biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 4(1), 34.
- Latif, M. A., Ghufuran, R., Wahid, Z. A. ve Ahmad, A. (2011). Integrated application of upflow anaerobic sludge blanket reactor for the treatment of wastewaters. *Water Research*, 45(16), 4683–4699.
- Laurinavichene, T. V., Fedorov, A. S., Ghirardi, M. L., Seibert, M. ve Tsygankov, A. A. (2006). Demonstration of sustained hydrogen photoproduction by immobilized, sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(5), 659–667.
- Laycock, C. J., Panagi, K., Reed, J. P. ve Guwy, A. J. (2018). The importance of fuel variability on the performance of solid oxide cells operating on H₂/CO₂ mixtures from biohydrogen processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 43(18), 8972–8982.
- Lee, M.-J., Song, J.-H. ve Hwang, S.-J. (2009). Effects of acid pre-treatment on biohydrogen production and microbial communities during dark fermentation. *Bioresource Technology*, 100(3), 1491–1493.
- Melis, A., Zhang, L., Forestier, M., Ghirardi, M. L. ve Seibert, M. (2000). Sustained Photobiological Hydrogen Gas Production upon Reversible Inactivation of Oxygen Evolution in the Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*, 122(1), 127–136.
- Merkel, T. C., Gupta, R. P., Turk, B. S. ve Freeman, B. D. (2001). Mixed-gas permeation of syngas components in poly(dimethylsiloxane) and poly(1-trimethylsilyl-1-propyne) at elevated temperatures. *Journal of Membrane Science*, 191(1–2), 85–94.
- Mohan, S. V. (2008). Fermentative hydrogen production with simultaneous wastewater treatment: Influence of pretreatment and system operating conditions. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67(11), 950–961.
- Mohan, S. V, Babu, V. L. ve Sarma, P. N. (2007). Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(4), 506–515.
- Mohanakrishna, G., Venkata Mohan, S. ve Sarma, P. N. (2010). Utilizing acid-rich effluents of fermentative hydrogen production process as substrate for harnessing bioelectricity: An integrative approach. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(8), 3440–3449.
- Mu, Y., Yu, H.-Q. ve Wang, G. (2007). Evaluation of three methods for enriching H₂-

- producing cultures from anaerobic sludge. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4), 947–953.
- Ntaikou, I., Kourmentza, C., Koutrouli, E. C., Stamatelatou, K., Zampraka, A., Kornaros, M. ve Lyberatos, G. (2009). Exploitation of olive oil mill wastewater for combined biohydrogen and biopolymers production. *Bioresource Technology*, 100(15), 3724–3730.
- Orozco-Pulido, R. L. (2012). Hydrogen production from biomass by integrating thermochemical and biological processes. <https://etheses.bham.ac.uk/id/eprint/3206/> adresinden erişildi.
- Ozdemir, O. K. (2019). A novel method to produce few layers of graphene as support materials for platinum catalyst. *Chemical Papers*, 73(2), 387–395.
- Özgür, E., Afsar, N., de Vrije, T., Yücel, M., Gündüz, U., Claassen, P. A. M. ve Eroglu, I. (2010). Potential use of thermophilic dark fermentation effluents in photofermentative hydrogen production by *Rhodobacter capsulatus*. *Journal of Cleaner Production*, 18, S23–S28.
- Parthasarathy, P. ve Narayanan, K. S. (2014). Hydrogen production from steam gasification of biomass: Influence of process parameters on hydrogen yield – A review. *Renewable Energy*, 66, 570–579.
- Perna, V., Castelló, E., Wenzel, J., Zampol, C., Fontes Lima, D. M., Borzacconi, L., ... Etchebehere, C. (2013). Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(1), 54–62.
- Pesta, G., Meyer-Pittroff, R. ve Russ, W. (2007). Utilization of Whey. *Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry* içinde (ss. 193–207). Springer US.
- Rahman, S. N. A., Masdar, M. S., Rosli, M. I., Majlan, E. H., Husaini, T., Kamarudin, S. K. ve Daud, W. R. W. (2016). Overview biohydrogen technologies and application in fuel cell technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 66, 137–162.
- Rajalakshmi, N., Jayanth, T. T. ve Dhathathreyan, K. S. (2003). Effect of Carbon Dioxide and Ammonia on Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell Stack Performance. *Fuel Cells*, 3(4), 177–180.
- Ralph, T. R. ve Hogarth, M. P. (2002). Catalysis for Low Temperature Fuel Cells. *Platinum Metals Review*, 46(3), 117–135. <https://www.ingentaconnect.com/content/matthey/pmr/2002/00000046/00000003/art00009> adresinden erişildi.
- Ramírez-Morales, J. E., Tapia-Venegas, E., Nemestóthy, N., Bakonyi, P., Bélafi-Bakó, K. ve Ruiz-Filippi, G. (2013). Evaluation of two gas membrane modules for fermentative hydrogen separation. *International Journal of Hydrogen Energy*,

38(32), 14042–14052.

- Razbani, O. ve Assadi, M. (2013). Performance of a biohydrogen solid oxide fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(31), 13781–13791.
- Rittmann, B. E. ve McCarthy, P. L. (2001). Environmental Biotechnology: Principles and Applications. *McGraw-Hill Series in Water Resources and Environmental Engineering*, 754.
- Romão, B. B., Batista, F. R. X., Ferreira, J. S., Costa, H. C. B., Resende, M. M. ve Cardoso, V. L. (2014). Biohydrogen Production Through Dark Fermentation by a Microbial Consortium Using Whey Permeate as Substrate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(7), 3670–3685.
- Rosenwinkel, K.-H., Austermann-Haun, U. ve Meyer, H. (2005). Industrial Wastewater Sources and Treatment Strategies. *Environmental Biotechnology* içinde (ss. 49–77). Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Rugele, K., Mežule, L., Daļeckā, B., Larsson, S., Vanags, J. ve Rubulis, J. (2013). Application of fluorescent in situ hybridisation for monitoring methanogenic archaea in acid whey anaerobic digestion. <https://www.semanticscholar.org/paper/Application-of-fluorescent-in-situ-hybridisation-in-Rugele-Mežule/a7a1557bba14e45d984d43850048a9b2c71b1f36> adresinden erişildi.
- Saady, N. M. C. (2013). Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: Unresolved challenge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(30), 13172–13191.
- Sarkar, B., Chakrabarti, P. P., Vijaykumar, A. ve Kale, V. (2006). Wastewater treatment in dairy industries — possibility of reuse. *Desalination*, 195(1–3), 141–152.
- Shao, L., Low, B. T., Chung, T.-S. ve Greenberg, A. R. (2009). Polymeric membranes for the hydrogen economy: Contemporary approaches and prospects for the future. *Journal of Membrane Science*, 327(1–2), 18–31.
- Song, W., Cheng, J., Zhou, J., Xie, B., Su, H. ve Cen, K. (2010). Cogeneration of hydrogen and methane from protein-mixed food waste by two-phase anaerobic process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(7), 3141–3146.
- Srikanth, S., Venkata Mohan, S., Lalit Babu, V. ve Sarma, P. N. (2010). Metabolic shift and electron discharge pattern of anaerobic consortia as a function of pretreatment method applied during fermentative hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10693–10700.
- Srikanth, S., Venkata Mohan, S., Prathima Devi, M., Lenin Babu, M. ve Sarma, P. N. (2009). Effluents with soluble metabolites generated from acidogenic and methanogenic processes as substrate for additional hydrogen production through photo-biological process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(4),

1771–1779.

- Stamatelatou, K., Antonopoulou, G., Tremouli, A. ve Lyberatos, G. (2011). Production of Gaseous Biofuels and Electricity from Cheese Whey. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(2), 639–644.
- Tabatabaei, M., Rahim, R. A., Abdullah, N., Wright, A.-D. G., Shirai, Y., Sakai, K., Hassan, M. A. (2010). Importance of the methanogenic archaea populations in anaerobic wastewater treatments. *Process Biochemistry*, 45(8), 1214–1225.
- Tawfik, A., Sobhey, M. ve Badawy, M. (2008). Treatment of a combined dairy and domestic wastewater in an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor followed by activated sludge (AS system). *Desalination*, 227(1–3), 167–177.
- Tchamango, S., Nanseu-Njiki, C. P., Ngameni, E., Hadjiev, D. ve Darchen, A. (2010). Treatment of dairy effluents by electrocoagulation using aluminium electrodes. *Science of The Total Environment*, 408(4), 947–952.
- Tezcan Un, U. ve Ozel, E. (2013). Electrocoagulation of yogurt industry wastewater and the production of ceramic pigments from the sludge. *Separation and Purification Technology*, 120, 386–391.
- Tocchi, C., Federici, E., Scargetta, S., D'Annibale, A. ve Petruccioli, M. (2013). *Process biochemistry. Process biochemistry*. Elsevier Science Pub. Co. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201600074488> adresinden erişildi.
- Tolvanen, K. E. S., Mangayil, R. K., Karp, M. T. ve Santala, V. P. (2011). Simple enrichment system for hydrogen producers. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(12), 4246–4248.
- Van Ginkel, S. W. ve Logan, B. (2005). Increased biological hydrogen production with reduced organic loading. *Water Research*, 39(16), 3819–3826.
- Venkata Mohan, S., Vijaya Bhaskar, Y., Murali Krishna, P., Chandrasekhara Rao, N., Lalit Babu, V. ve Sarma, P. N. (2007). Biohydrogen production from chemical wastewater as substrate by selectively enriched anaerobic mixed consortia: Influence of fermentation pH and substrate composition. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(13), 2286–2295.
- Venkateswar Reddy, M., Amulya, K., Rohit, M. V., Sarma, P. N. ve Venkata Mohan, S. (2014). Valorization of fatty acid waste for bioplastics production using *Bacillus tequilensis*: Integration with dark-fermentative hydrogen production process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(14),
- Vlyssides, A., Tsimas, E., Barampouti, E. M., Mai, S. ve Stamatoglou, A. (2013). Implementation of Fenton process on wastewater from a cheese-making factory. *Desalination and Water Treatment*, 51(13–15), 3069–3075.
- Volgusheva, A., Kukarskikh, G., Krendeleva, T., Rubin, A. ve Mamedov, F. (2015).

- Hydrogen photoproduction in green algae *Chlamydomonas reinhardtii* under magnesium deprivation. *RSC Advances*, 5(8), 5633–5637.
- Wang, J. ve Wan, W. (2008). Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(12), 2934–2941.
- Wang, J. ve Yin, Y. (2017). Principle and application of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(8), 4804–4823.
- Wang, S., Chandrasekhara Rao, N., Qiu, R. ve Moletta, R. (2009). Performance and kinetic evaluation of anaerobic moving bed biofilm reactor for treating milk permeate from dairy industry. *Bioresource Technology*, 100(23), 5641–5647.
- Wei, J., Liu, Z. T. ve Zhang, X. (2010). Biohydrogen production from starch wastewater and application in fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(7), 2949–2952.
- Wu, S. Y., Hsiao, I. C., Liu, C. M., Mt Yusuf, N. Y., Wan Isahak, W. N. R. ve Masdar, M. S. (2017). A novel bio-cellulose membrane and modified adsorption approach in CO₂/H₂ separation technique for PEM fuel cell applications. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(45), 27630–27640.
- Wu, X., Li, Q., Dieudonne, M., Cong, Y., Zhou, J. ve Long, M. (2010). Enhanced H₂ gas production from bagasse using adhE inactivated *Klebsiella oxytoca* HP1 by sequential dark-photo fermentations. *Bioresource Technology*, 101(24), 9605–9611.
- Yang, P., Zhang, R., McGarvey, J. A. ve Benemann, J. R. (2007). Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(18), 4761–4771.
- Yasin, N. H. M., Mumtaz, T., Hassan, M. A. ve Abd Rahman, N. (2013). Food waste and food processing waste for biohydrogen production: A review. *Journal of Environmental Management*, 130, 375–385.
- Yoshida, A., Nishimura, T., Kawaguchi, H., Inui, M. ve Yukawa, H. (2005). Enhanced Hydrogen Production from Formic Acid by Formate Hydrogen Lyase-Overexpressing *Escherichia coli* Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 6762–6768.
- Zhang, Y. ve Shen, J. (2006). Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(4), 441–446.
- Zhu, H. ve Béland, M. (2006). Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(14), 1980–1988.

Zong, W., Yu, R., Zhang, P., Fan, M. ve Zhou, Z. (2009). Efficient hydrogen gas production from cassava and food waste by a two-step process of dark fermentation and photo-fermentation. *Biomass and Bioenergy*, 33(10), 1458–1463.



Makaleler

1. Koroglu, E. O., Ozdemir, O. K., Ozkaya, B., & Demir, A. (2019). An integrated system development including PEM fuel cell/biogas purification during acidogenic biohydrogen production from dairy wastewater. International Journal of Hydrogen Energy.

Konferans Bildirileri

1. Köroğlu E.O., Özkaya B., Demir A., Atci E.B., Mohan S.V., "A Comparative Study on Inoculum Pretreatment for Hydrogen Production From Dairy Industry Wastewater", 2nd International Conference on Viable Energy Trends (InVenT-2017), Helsinki, Finlandiya, 28-30 Nisan 2017, pp.33-43
2. Köroğlu E.O., Özkaya B., Demir A., "Biohydrogen Upgrading Towards a Cleaner Energy Production ", 3rd International Hydrogen Technologies Congress (IHTEC-2018), Antalya, Türkiye, 15-18 Mart 2018, pp.116-116