

FISTIK KÜSPESİNDEN ANAEROBİK FERMANTASYONLA BİYOHİDROJEN VE BİYOGAZ ELDE EDİLMESİ VE OPTİMUM pH'NİN BELİRLENMESİ

Mustafa GÜMÜŞ^{1*}, Mustafa ASLAN², Harun TÜRKMENLER³

¹⁻³Adıyaman Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Adıyaman, 02040, Türkiye

²Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Şanlıurfa, 63100, Türkiye

Geliş tarihi: 18.03.2021 Kabul tarihi: 25.05.2021

ÖZET

Artan nüfus ve gelişen teknoloji ile birlikte enerjiye duyulan ihtiyaç da hızla artmaktadır. Çevre kirliliği giderek önemli bir sorun haline gelmekte ve mevcut enerji rezervleri de hızla tükenmektedir. Hidrojen enerjisi çevre dostu, yenilenebilir bir enerji kaynağı olması sebebiyle bilimsel çalışmaların en önemli araştırma alanlarından biri haline gelmiştir. Bu çalışmada fıstık küspesinin hidrojen ve biyogaz potansiyeli araştırılmıştır. Çalışma oda koşullarında gerçekleştirilmiş; hidrojen ve biyogaz verimini etkileyen önemli faktörlerden biri olan pH'ın beş farklı değeri denenmiş ve optimum pH değeri saptanmıştır. Verimin en yüksek olduğu pH=6 değerinde elde edilen biyogaz miktarı gram fıstık küspesinde 55.54 ml olarak hesaplanmıştır. Çalışmada biyohidrojen miktarının hesaplanması için gaz kromatografi (GC) cihazı kullanılmış ve veriler kaydedilmiştir. Fıstık küspesinden biyohidrojen eldesi için optimum pH değeri 6 olarak belirlenmiş ve bu pH'da gram başına elde edilen maksimum hidrojen miktarı 5.99 ml olarak ölçülmüştür. Araştırmada fıstık küspesinin hidrojen potansiyeline sahip olduğu ve enerji elde etmede alternatif bir kaynak olabileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyohidrojen; fermantasyon; enerji; fıstık küspesi

OBTAINING BIOHYDROGEN AND BIOGAS FROM PEANUT PULP BY ANAEROBIC FERMENTATION AND DETERMINING THE OPTIMUM pH

ABSTRACT

With the increasing population and developing technology, the need for energy also is increasing rapidly. Environmental pollution is becoming an increasingly important problem and existing energy reserves are rapidly being depleted. Hydrogen energy has become one of the most important research areas of scientific studies as it is an environmentally friendly and renewable energy source. In this study, the hydrogen and biogas potential of peanut pulp was investigated. The study was carried out under room conditions; Five different values of pH, which is one of the important factors affecting hydrogen and biogas yield, have been tried and the optimum pH value has been determined. The amount of biogas obtained at pH = 6, which has the highest yield, was calculated as 55.54 ml per gram peanut pulp. In the study, gas chromatography (GC) device was used to calculate the biohydrogen amounts and the data were recorded. Optimum pH value for obtaining biohydrogen from peanut pulp was determined as 6 and the maximum amount of hydrogen obtained per gram at this pH was measured as 5.99 ml. In the study, it was determined that peanut pulp has hydrogen potential and can be an alternative source of energy.

Keywords: biohidrojen; fermentation, energy; peanut pulp

* e-posta¹: mg-02@hotmail.com ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9335-2328> (Sorumlu Yazar)

e-posta²: mustafaaslan63@gmail.com ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7536-6435>

e-posta³: hturkmenler@adiyaman.edu.tr ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7603-7385>

1. Giriş

Gelişen teknoloji ile birlikte bir yandan enerji ihtiyacı artarken diğer taraftan enerji kaynakları hızla tükenmektedir. Dünyada en çok tüketilen enerji kaynaklarının başında da fosil yakıtlar gelmektedir. Hızla tükenen fosil yakıtlar aynı zamanda atmosferde sera gazı etkisi yaratarak önemli iklim değişikliklerine de sebep olmaktadır. Bu sebeple araştırmacılar alternatif enerji kaynağı olan biyogaz ve biyodizel gibi yenilenebilir kaynaklara yönelmişlerdir [1, 2]. Enerji elde etmede biyolojik yöntemler, çevre kirliliğine ve sera gazı etkisine sebep olmadıkları için alternatif yöntemlerdendir. Tarımsal, hayvansal, bitkisel vb. biyokütle kaynaklarından hidrojen elde edilmesi yenilenebilirlik ve sürdürülebilirlik açısından önemlidir [3]. Ayrıca biyolojik yolla hidrojen üretimi, düşük sıcaklık ve basınç değerlerinde çalışma imkânı sağladığından ucuz ve etkili bir yöntemdir. Bu sebeple biyohidrojen üretimi araştırmacıların dikkatini çekmektedir [4].

Biyokütleden hidrojen elde etmede biyokimyasal olaylar rol almakta ve bu dönüşümler için hidrojenaz denilen ve hidrojen üreten enzimler kullanılmaktadır. Bu enzimler karmaşık organik yapılı maddeleri hidrojene dönüştürmektedir. Enzimler ya saf kültür olarak temin edilmekte veya karışık kültürler ısıtma, alkali veya asidik ön işlem gibi saflaştırma yöntemleri ile diğer hidrojen tüketen bakterilerden arındırılmaktadır [5]. Hidrojen yandığında sadece su açığa çıktığı için çevre dostu bir yakıt olmasının yanı sıra gram hidrojen başına 122 kJ'lik bir enerji açığa çıkardığı için de önemli bir enerji kaynağıdır [6]. Biyokütle kaynaklarından fermantasyonla hidrojen üretimini etkileyen birçok faktör vardır. Bunların başında kullanılan biyokütle kaynağının içeriği gelmektedir. Biyohidrojen üretiminde organik atıkların kullanımı önemli bir avantajdır [7]. Literatürde pek çok çalışma göstermiştir ki farklı biyokütle kaynakları farklı organik içeriklere sahip olduklarından aynı koşullarda hidrojen verimleri farklılık göstermektedir. Bu sebeple kullanılacak biyokütle kaynağının kimyasal içeriği önemlidir [8]. Biyokütle uygulamaları fiziksel ve kimyasal ön işlemler de hidrojen verimini önemli ölçüde etkilemektedir. Bu işlemlerin başında ısıtma, alkali ve asidik ön işlemler gelmektedir. Bu parametreler dikkate alındığında önemli hidrojen verimi değişiklikleri de görülmüştür [9]. Fermantasyon ortamında da hidrojen verimini etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Çalışma parametrelerinin optimizasyonu gaz verimliliği açısından önemlidir [10]. Bunların başında sıcaklık ve pH gelmektedir. Hidrojen üretimi için biyolojik süreç pH'ya bağımlıdır [11]. Birçok çalışmada farklı pH'nın hidrojen verimini etkilediği bilinmektedir. Kullanılan biyokütle kaynağına göre farklı pH'larda elde edilen gaz verimleri de değişiklik göstermektedir. Literatür incelendiğinde biyohidrojen verimini etkileyen diğer faktörler ise; kullanılan mikrobiyal kültürün içeriği, biyokütle kaynağının fermantasyon ortamındaki farklı miktarları, biyokütlenin bekleme süresi ve mikroorganizmaların çoğaltılma koşulları şeklinde sıralanabilir [12-13].

Fıstık organik içeriği zengin bir biyokütle kaynağıdır. Fıstık kavlatma tesislerinde her yıl tonlarca atık küspe oluşmaktadır. Bu küspe kısmen hayvan yemi olarak kullanılırken önemli bir kısmı yakılarak ısınma amaçlı kullanılmaktadır. Bu durum hem atmosfere hem de ekonomiye zarar vermektedir. Bu çalışmada fıstık küspesinden kesikli bir reaktörde, karanlık fermantasyonla hidrojen gazı elde edilmesi ve gaz verimine pH'nın etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metod

2.1. Fıstık küspesine ön işlem uygulanması

şanlıurfa/Bozova fıstık kavlatma tesisleri atık deposundan temin edilen fıstık küspesinden elde edilecek hidrojen verimini arttırmak için küspe, öğütücüde öğütülmüş ve gözenek boyutu 0.25 mm olan elekten geçirilmiştir (Şekil 1). Öğütme işlemi kullanılan biyokütle kaynağının temas yüzeyini genişleterek fermantasyonda kullanılan mikroorganizmaların etkinliğini arttıracak ve fıstık küspesinde

bulunan hücre duvarının yapısını parçalayacaktır. Böylece mikroorganizmaların lignoselülözük yapıya ulaşması sağlanarak hidrojen ve biyogaz verimi arttırılacaktır [14].



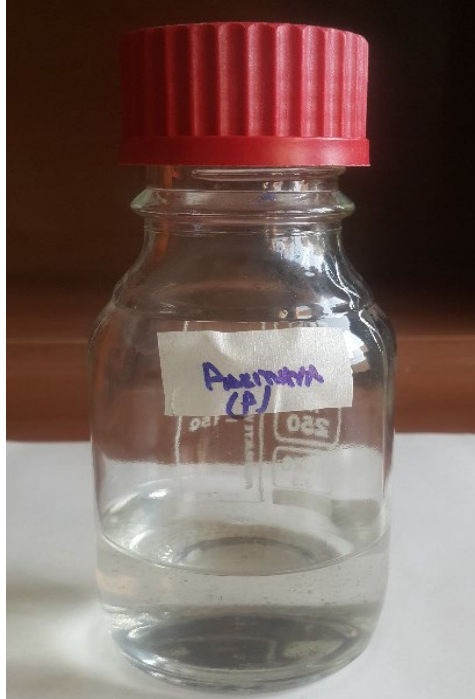
(a)

(b)

Şekil.1 Kullanılan fıstık küspesi (a) ve öğütölüp elekten geçirilmiş hali (b)

2.2. Kullanılacak aşı kültürü ve uygulanan ön işlemler

Karışık mikrobiyal kültür, Düzce’de bulunan Pakmaya firmasının anaerobik atık su arıtma tesisinin asidojenik fazından elde edilmiştir. Temin edilen aşı kültürü içerisinde hidrojen üreten bakterileri bulundurmasının yanı sıra hidrojen tüketen bakteriler de ihtiva ettiği için ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Isıtma işlemi hidrojen tüketen bakterileri inaktive ederken hidrojen üreten bakteriler canlılığını devam ettirebilmektedirler. Bu amaçla karışık aşı kültürü 100 °C sıcaklıkta 20 dakika süre ile ısıtılmıştır [3, 15-17] (Şekil 2).



Şekil 2. Karışık aşı kültürü

2.3. Hidrojen üretecek bakteri kültürüne iz elementlerin eklenmesi

Hidrojen üreten bakteriler, temin edilmiş olan aşı kültürü içerisinde pasif haldedirler. Bu bakteri popülasyonunu büyütmek için ortama iz elementlerden oluşan besin maddesi eklenmiştir. Park ve ark. [18]'nin yöntemine göre 0.96 g/L NH₄Cl, 0.22 g/L KH₂PO₄, 0.12 g/L MgSO₄.7H₂O, 0.01 g/L CaCl₂, 0.01g/L MnSO₄.H₂O ve 0.043 g/L FeCl₂ bileşenlerini içeren çözelti hazırlanarak fermantasyon başlatma aşamasında ortama 5 ml/ litre çözelti oranında eklenmiştir.

2.4. Biyogaz ve biyohidrojen için fermantasyon işleminin başlatılması

Fıstık küspesinden litrede 10 g katı madde olacak şekilde suyla karışım hazırlanmış ve pH'sı ölçülmüştür. Ölçülen pH değeri 6.5 bulunmuştur. Fermantasyon için 250 ml'lik serum şişelerinden 5 tane alınmış önce şişelere iz element çözeltisinden 0.5 ml; sonra 2.5 ml aşı ilave edilmiştir. Daha sonra üzerlerine fıstık küspesi karışımı eklenmiş ve şişedeki sıvı faz hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır. pH değerleri 1 M'lık NaOH ve HCl çözeltileri kullanılarak 4, 5, 6, 7 ve 8'e ayarlanmıştır [19] (Şekil 3).



Şekil 3. Beş farklı pH'ta hazırlanmış fermantasyon reaktörleri

Fermantasyon anaerobik ortamda gerçekleşeceği için şişelerin içinden azot gazı geçirilerek oksijenden arındırılmış ve şişeler kauçuk kapakla hava almayacak şekilde kapatılmıştır. Şişelerin toplam gaz basınçları HMG/01 basınç ölçer cihazı ile günlük olarak takip edilmiştir. Şişelerde üretilen hidrojen gazının analizi için Shimadzu GC-2010 marka GC kullanılmıştır. Çözeltiler çalkalayıcı ile sürekli karıştırılmıştır. GC'de Supel-Co 30mx0,32mm kolon ve TCD dedektör kullanılmıştır. Dedektörde taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 235 °C, kolon sıcaklığı 35 °C ve dedektör sıcaklığı 250 °C olarak ayarlanmıştır. Her gün şişelerden 500 µl gaz numunesi alınarak gaz kromatografi cihazına enjekte edilmiş ve elde edilen veriler bilgisayara kaydedilmiştir. Cihazdan alınan verilerle enjekte edilen biyogaz içeriğindeki hidrojen, metan ve korbondioksit miktarı hesaplanmıştır.

3. Araştırma Bulguları

Çalışmada kullanılan fıstık küspesinin Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) standart 5220B metodu baz alınarak 6.14 g/L olarak hesaplanmıştır. Fıstık küspesindeki toplam uçucu katı madde miktarını hesaplamak için 2540 nolu standart metod kullanılmış ve 16.25 mg/L olarak hesaplanmıştır.

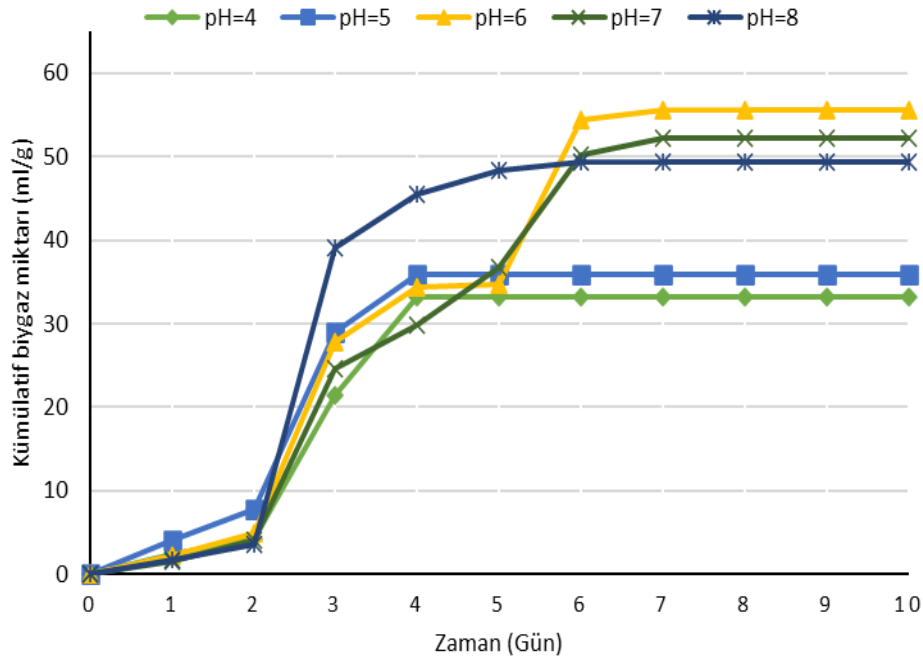
3.1. Kümülatif biyogaz veriminin pH'a bağlı olarak değişimi

Çalışma sonunda günlük takip edilen fermantasyon reaktöründeki toplam biyogaz üretimlerinin pH'ya göre değişimi Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. pH'ya bağlı olarak üretilen kümülatif biyogaz miktarı (ml/g)

		Kümülatif biyogaz miktarı (ml/g)				
Zaman(gün)		pH=4	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8
	1	2.42	4.1	2.15	1.6	1.8
	2	4.2	7.8	4.86	4.14	3.6
	3	21.4	29	27.74	24.66	39
	4	33.2	35.8	34.34	29.86	45.4
	5	33.2	35.8	34.74	36.66	48.4
	6	33.2	35.8	54.34	50.26	49.3
	7	33.2	35.8	55.54	52.14	49.4
	8	33.2	35.8	55.54	52.14	49.4
	9	33.2	35.8	55.54	52.14	49.4
	10	33.2	35.8	55.54	52.14	49.4

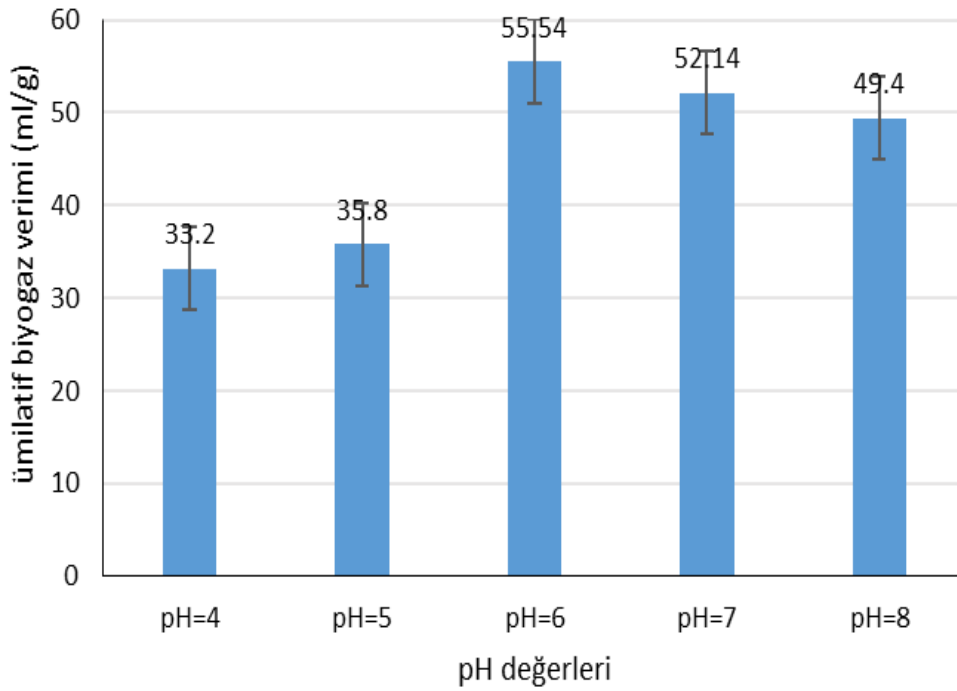
Çizelge 1, günlük olarak takip edilen basınç değişiminden yola çıkarak hesaplanan kümülatif biyogaz miktarının 10 gün boyunca elde edilen değerlerini göstermektedir. Bu değerler grafiğe aktarıldığında Şekil 4 elde edilmiştir.



Şekil 4. Kümülatif biyogaz miktarları (ml/g, pH=4-8)

şekil 4 incelendiğinde fıstık kúşpesinden biyogaz üretimi 3. günden sonra hızla artmış ve farklı pH'lar için maksimum verime ulaşma süreleri farklılık göstermiştir. 6. günde tüm pH değerlerinde biyogaz üretiminin durduğu gözlemlenmiştir. Kümülatif biyogaz değerinin maksimum olduğu pH değeri 6 olarak tespit edilmiştir. pH=6'nın üstündeki değerlerde kümülatif biyogaz veriminin düştüğu, pH=4 değerinde ise biyogaz veriminin minimum olduğu grafikte görölmektedir.

Farklı pH değerlerindeki maksimum biyogaz değerleri kıyaslandığında şekil 5 elde edilmiştir.



şekil 5. Farklı pH'larda maksimum biyogaz verimi

şekil 5 incelendiğinde pH'nın 6 olduğu fermantasyon ortamında fıstık kúşpesinin gramında maksimum değeri olan 55.54 ml biyogaz elde edilmiştir. pH=6'dan sonra bu değeri azaldığı görölmektedir. En düşük biyogaz verimi ise pH=4 değerinde 33.2 ml olarak hesaplanmıştır.

3.2. Kümülatif biyohidrojen veriminin pH'a bağlı olarak değışımi

Araştırma sonucunda GC'den ölçölen değerlerle hesaplanan kümülatif biyohidrojen üretimlerinin pH'ya göre değışımi çözelge 2'de verilmiştir.

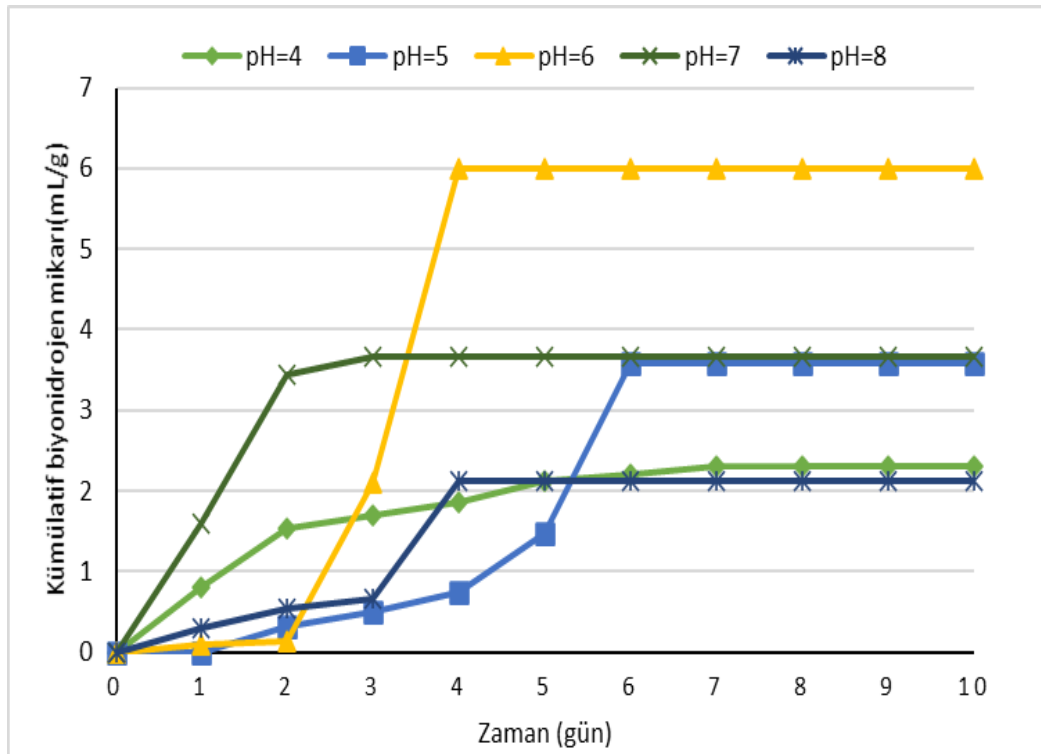
Çizelge 2. pH'a bağlı olarak üretilen kümülatif biyohidrojen miktarı (ml/g)

		Kümülatif biyohidrojen miktarı (ml/g)				
		pH=4	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8
Zaman(gün)	1	0.80	0.00	0.10	1.60	0.30
	2	1.54	0.33	0.13	3.44	0.54
	3	1.70	0.50	2.10	3.67	0.67
	4	1.86	0.74	5.99	3.67	2.12

5	2.13	1.47	5.99	3.67	2.12
6	2.21	3.59	5.99	3.67	2.12
7	2.30	3.59	5.99	3.67	2.12
8	2.30	3.59	5.99	3.67	2.12
9	2.30	3.59	5.99	3.67	2.12
10	2.30	3.59	5.99	3.67	2.12

Çizelge 2- Devamı

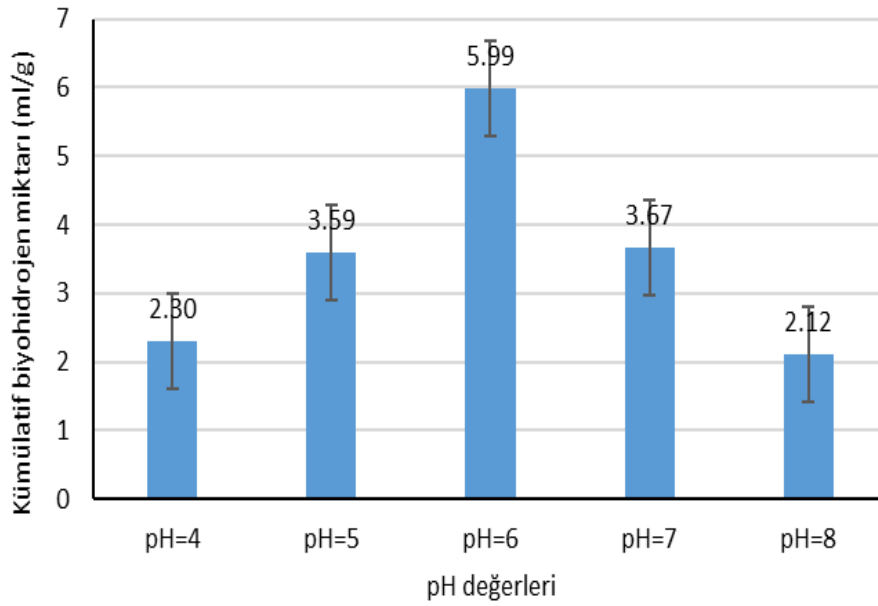
Çizelge 2, günlük olarak GC cihazından ölçülen değerlerle hesaplanmış farklı pH'lardaki kümülatif biyohidrojen miktarının 10 gün boyunca elde edilen değerlerini göstermektedir (Şekil 6).



Şekil 6. pH'a bağı kümülatif biyohidrojen gazı miktarları (ml/g)

Şekil 6 incelendiğinde fıstık küspesinden hidrojen üretiminin 6. gününde tüm pH değerlerinde durduğu gözlemlenmiştir. Kümülatif biyohidrojen değerinin maksimum olduğu pH değeri 6 olarak tespit edilmiştir. pH=6'nın üstünde değerlerde kümülatif biyohidrojen veriminin düştüğü, pH=8 değerinde ise biyohidrojen veriminin minimum olduğu grafikten anlaşılmaktadır.

Farklı pH değerlerindeki maksimum biyohidrojen değerleri kıyaslandığında şekil 7 elde edilmiştir.



Şekil 7. Farklı pH'lardaki maksimum biyohidrojen verimi değeri

Şekil 7 incelendiğinde pH'ın 6 olduğu fermantasyon ortamında fıstık küpsesinin gramında maksimum değer olan 5.99 ml hidrojen gazı elde edilmiştir. pH=6'dan sonra bu gaz veriminin düştüğü görülmektedir. En düşük biyohidrojen verimi ise pH=8 değerinde 2.12 ml olarak hesaplanmıştır.

Literatüre bakıldığında da kullanılan karışık bakteri kültürlerinde bulunan enzimlerin düşük pH seviyelerinde asetik asit, bütirik asit, laktik asit gibi organik asitler ürettiği belirtilmektedir. Açığa çıkan bu organik asitler ise hidrojen üreten hidrojenaz enzimlerini inhibe ederek enzim aktivitesini düşürdüğü saptanmıştır [20]. Bowles ve Ellefson [21] da *Clostridium acetobutylicum* bakterisine bütanolün etkisi üzerine yapmış olduğu çalışmada pH 5'in altında olduğunda hücre içi pH değerinin sabit tutulmasının zor olduğunu ve enzim aktivitesinin düştüğünü belirtmişlerdir.

Fıstık küspesi kullanarak elde ettiğimiz biyogaz ve hidrojen verimi için optimum pH değeri 6 olarak tespit edilmiştir. Literatür değerlerine bakıldığında; Guo ve ark. [13] yemek atıklarından hidrojen elde edilmesi için yaptıkları çalışmada optimum pH değerinin 5 ile 6 aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Li ve Fang da [22] benzer şekilde fermentatif hidrojen üretimi için optimum pH'sı, bakteriyel büyüme için uygun olan pH aralığına karşılık gelen 5 ile 7 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Chu ve ark.[23] yaptıkları çalışmada bira mayası atık sularından biyohidrojen eldesi için saf kültür *C. Acetobutylicum* enzimi kullanmışlar ve pH=5.5 değerinde maksimum miktar olan 1.41 mol/mol heksoz'luk hidrojen gazı elde etmişlerdir.

Benzer şekilde Tapia-Venegas ve ark. [24] de farklı pH aralıklarında yapmış oldukları çalışmada maksimum hidrojen verimine pH=5.5 değerinde (2.7 mol H₂/mol gilikoz) ulaşmışlardır. Vijayaraghavan ve Ahmad [25] hurma yağı atıklarından elde ettikleri hidrojen gazı için optimum pH değerinin 5 olduğunu belirtmişlerdir.

Literatürdeki bu çalışmalar pH'ın hidrojen ve biyogaz üretiminde önemli bir faktör olduğunu ortaya koymuştur ancak değişen substrata bağlı olarak optimum pH değerleri de değişiklik göstermektedir [26]. Örneğin Li ve Chen'in [27] mısır sapından biyohidrojen eldesi üzerine yapmış oldukları çalışmada farklı pH değerleri denenmiş ve optimum pH'ın 7-7.5 aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Örneğın Liu ve Shen [28] substrat olarak nişasta kullandıkları çalışmada karışık bakteri kùltürleri ile hidrojen üretim verimi üzerinde 4 ila 9 arasında değişen pH'ın etkisini araştırmışlar; pH = 4'te üretilen organik asitlerin hidrojenaz enzimini inhibe etmesi sebebiyle hidrojen fermantasyonu gerçekleşmediğini söylemişlerdir.

4. Sonuç

Bu çalışmada fıstık küspesinden farklı pH'larda elde edilen biyogaz ve biyohidrojen verimleri araştırılmıştır. Araştırma verilerine göre hem biyogaz hem de biyohidrojen elde edilmesinde değişen pH değerlerine bağlı olarak gaz verimlerinin de değiştiği belirlenmiştir. pH=6 değerinde gaz verimlerinin maksimum olduğu tespit edilmiş, pH=6'nın üzerindeki değerlerde ise giderek verimlerin düştüğü görülmüştür. pH=4 ve pH=8 değerlerinde azalan biyogaz ve biyohidrojen verimleri yüksek veya düşük pH'larda kullanılan aşı kùltürünün aktifliğinin düştüğünü göstermektedir.

Sonuç olarak, fıstık küspesinin biyogaz ve biyohidrojen potansiyelinin değişen pH aralıklarındaki verimlerini araştırdığımız bu çalışmada 5 farklı pH aralığı denenmiştir. Anaerobik koşullarda gerçekleştirilen fermantasyon ortamında hem biyogaz hem de biyohidrojen verimi için optimum pH değeri 6 olarak ölçülmüştür. pH=6 değerinde biyogaz verimi gram substrat başına 55,54 ml olarak hesaplanırken biyohidrojen verimi ise gram substrat başına 5,99 ml olarak hesaplanmıştır.

Fıstık küspesinin kullanıldığı bu çalışma bu biyokùtle kaynağının hidrojen ve biyogaz üretimi için bir alternatif olabileceğini ortaya koymuştur. Çalışmada optimum pH koşulları belirlenmiş ancak fermantasyonu, sıcaklık, aşı kùltürüne uygulanan ön işlemler, mikrobiyal kùltürün içeriği, kullanılan substratın derişimi gibi faktörlerin de etkilediği bilinmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda fıstık küspesinden biyohidrojen ve biyogaz elde edilmesinde bu parametreler de dikkate alınarak daha yüksek verimde hidrojen ve biyogaz elde edilmesi üzerine araştırmalar yapılabilir.

Kaynaklar

- [1] Swami SM, Chaudhari V, Kim DS, Sim SJ, Abraham MA. Production of hydrogen from glucose as a biomass simulant: integrated biological and thermochemical approach. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2008; 47(10):3645-3651.
- [2] Redwood MD, Orozco RL, Majewski AJ, Macaskie LE. An integrated biohydrogen refinery: synergy of photofermentation, extractive fermentation and hydrothermal hydrolysis of food wastes. *Bioresource technology* 2012;119:384-392.
- [3] Aslan M, Gümüş M, Türkmenler H. The effect of organic loading, protein and carbohydrate on biohydrogen production from soft shell of red pistachio, sugar beet pulp, and olive pulp cake. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* 2020;1-13.
- [4] Kraemer JT, Bagley DM. Improving the yield from fermentative hydrogen production. *Biotechnology letters* 2007;29(5):685-695.
- [5] Hallenbeck PC. Fundamentals of the fermentative production of hydrogen. *Water Science and Technology* 2005;52(1-2):21-29.
- [6] Zhang Y, Shen J. Enhancement effect of gold nanoparticles on biohydrogen production from artificial wastewater. *International journal of hydrogen energy* 2007;32(1):17-23.
- [7] Dursun N, Gülşen H. Biyohidrojen Üretim Yöntemleri ve Biyohidrojen Üretiminde Biyoreaktörlerin Kullanımı. *Journal of the Institute of Science and Technology*. 2019; 9 (1);66-75 .
- [8] Balat H, Kırtay E. Hydrogen from biomass–present scenario and future prospects. *International Journal of Hydrogen Energy* 2010;35(14):7416-7426.
- [9] Xu J, Deshusses MA. Fermentation of swine wastewater-derived duckweed for biohydrogen production. *International journal of hydrogen energy* 2015;40(22):7028-7036.
- [10] Dursun N , Gülşen H. Production and Areas of Use of Gas Biofuels and Optimization of Bioprocess Parameters Affecting the Production Efficiency . *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi* 2018;8(2/2):60-67.

- [11] Kamyab S, Ataei SA, Tabatabaee M, Mirhosseini SA. Optimization of bio-hydrogen production in dark fermentation using activated sludge and date syrup as inexpensive substrate. *International Journal of Green Energy* 2019;16(10):763-769.
- [12] Türkmenler H, Aslan M, Gümüş M. Zeytin Küspesi Çözeltilisinin Derişime Bağlı Biyogaz ve Hidrojen Potansiyelinin İncelenmesi. *Adıyaman Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 2018;5(8):147-155.
- [13] Guo XM, Trably E, Latrille E, Carrere H, Steyer JP. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: a review. *International journal of hydrogen energy* 2010;35(19):10660-10673.
- [14] Lin Z, Huang H, Zhang H, Zhang L, Yan L, Chen J. Ball milling pretreatment of corn stover for enhancing the efficiency of enzymatic hydrolysis. *Applied biochemistry and biotechnology* 2010;162(7):1872-1880.
- [15] Aslan M. Optimal operation conditions for bio-hydrogen production from duckweed. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* 2016;38(14):2072-2078.
- [16] Kırılı B. Continuous hydrogen production from waste materials in an up-flow packed bed reactor. Yüksek lisans tezi. İzmir:Dokuz Eylül Üniversitesi, 2014.
- [17] Karaosmanoğlu F. Biohydrogen production from hydrolyzed waste wheat by continuous dark fermentation process containing novel support material. Yüksek lisans tezi. İzmir:Dokuz Eylül Üniversitesi, 2015.
- [18] Park JH, Lee SH, Ju HJ, Kim SH, Yoon JJ, Park HD. Failure of biohydrogen production by low levels of substrate and lactic acid accumulation. *Renewable energy* 2016;86:889-894.
- [19] Zhu H, Parker W, Basnar R, Proracki A, Falletta P, Béland M, Seto P. Buffer requirements for enhanced hydrogen production in acidogenic digestion of food wastes. *Bioresource technology* 2009;100(21):5097-5102.
- [20] Deublein D, Steinhauser A. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*. John Wiley & Sons Press;2011.
- [21] Bowles LK, Ellefson WL. Effects of butanol on *Clostridium acetobutylicum*. *Applied and Environmental Microbiology* 1985;50(5):1165-1170.
- [22] Li C, Fang HH. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 2007;37(1):1-39.
- [23] Chu CY, Tung L, Lin CY. Effect of substrate concentration and pH on biohydrogen production kinetics from food industry wastewater by mixed culture. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013;38(35):15849-15855.
- [24] Tapia-Venegas E, Ramirez JE, Donoso-Bravo A, Jorquera L, Steyer JP, Ruiz-Filippi G. Biohydrogen production during acidogenic fermentation in a multistage stirred tank reactor. *international journal of hydrogen energy* 2013;38(5):2185-2190.
- [25] Vijayaraghavan K, Ahmad D. Biohydrogen generation from palm oil mill effluent using anaerobic contact filter. *International Journal of Hydrogen Energy* 2006;31(10):1284-1291.
- [26] Wang J, Wan W. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. *International journal of hydrogen energy* 2009;34(2):799-811.
- [27] Li D, Chen H. Biological hydrogen production from steam-exploded straw by simultaneous saccharification and fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy* 2007;32(12):1742-1748.
- [28] Liu G, Shen J. Effects of culture and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria. *Journal of bioscience and bioengineering* 2004;98(4):251-256.