

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**YARI SÜREKLİ BESLEMELİ TAM KARIŞIMLI REAKTÖRDE ENERJİ
BİTKİSİ DALLI DARIDAN BİYOGAZ ÜRETİMİ**

Hilal ÜNYAY

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2020

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**YARI SÜREKLİ BESLEMELİ TAM KARIŞIMLI REAKTÖRDE ENERJİ
BİTKİSİ DALLI DARIDAN BİYOGAZ ÜRETİMİ**

Hilal ÜNYAY

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2020

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YARI SÜREKLİ BESLEMELİ TAM KARIŞIMLI REAKTÖRDE ENERJİ
BİTKİSİ DALLI DARIDAN BİYOGAZ ÜRETİMİ**

Hilal ÜNYAY

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez
Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
FYL-2019-4728 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2020

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YARI SÜREKLİ BESLEMELİ TAM KARIŞIMLI REAKTÖRDE ENERJİ
BİTKİSİ DALLI DARIDAN BİYOGAZ ÜRETİMİ**

Hilal ÜNYAY

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 27/07/2020 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

ÖZET

YARI SÜREKLİ BESLEMELİ TAM KARIŞIMLI REAKTÖRDE ENERJİ BİTKİSİ DALLI DARIDAN BİYOGAZ ÜRETİMİ

HİHAL ÜNYAY

Yüksek Lisans Tezi, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Nuriye Altınay PERENDECİ
Temmuz 2020; 100 sayfa

Bu tez çalışmasının amacı, dallı darıdan metan üretimi amacıyla kullanılan kesikli proses (Biyokimyasal Metan Potansiyeli - BMP) ve yarı-sürekli beslemeli prosese organik madde yükleme hızının etkisinin ve proses parametrelerine ait cevaplarının incelenmesidir.

Yüksek lisans tezi kapsamında dallı darı bitkisinin karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Dallı darının %41.95 karbon (C) içerdiği belirlenmiştir. Hemiselüloz ve selüloz miktarının sırasıyla %36.24 ve %35.94 olarak bulunmuştur. Yüksek karbon, yüksek selüloz ve hemiselüloz miktarı (%72.18) dallı darının anaerobik fermantasyonu ile biyogaz üretiminde tercih edilebilirliğini göstermektedir. Genişletilmiş kimyasal formülü $C_{140}H_{244}O_{109}N_1$ olan dallı darının teorik metan potansiyeli (TBMP) 439.5 mLCH₄/gUKM olarak bulunmuştur.

Dallı darının spesifik biyokimyasal metan potansiyeli (BMP) testi, farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM_{dallı darı}/L.Gün) ve substrat/aşı oranlarında (1.1, 1.5 ve 2.2 gUKM_{dallı darı}/gUKM_{aşı}) yapılmıştır. 60 gün sonunda elde edilen spesifik metan üretim miktarları sırası ile 203.9, 190.5 ve 181.0 mLCH₄/gUKM olarak bulunmuştur. Organik madde yükleme miktarı arttıkça elde edilen spesifik metan üretim miktarının azaldığı gözlenmiştir. Bu değerler dallı darı TBMP değerinin sırasıyla %46, %43 ve %41'ine karşılık gelmektedir. 0.75 OLR'de üretilen 203.9 mLCH₄/gUKM miktarının %80'lik bölümü ilk 24 gün süresinde elde edilmiştir. Kesikli BMP testi 60 gün sürdürülmesine rağmen bu bulgu, dallı darıdan ekonomik metan üretimi açısından alıkonma süresinin 24-25 gün alınabileceğini de ortaya koymaktadır.

Kinetik katsayılarının tahmin edilebilmesi için farklı organik madde yükleme hızlarında çalıştırılan kesikli BMP testi metan üretim verileri Modifiye Gompertz, Cone, Reaction Curve ve Birinci Derece Kinetik model ile modellenmiştir. Tüm modellerde regresyon katsayıları (R^2) 0.992 ile 0.999 arasında hesaplanmıştır. Organik madde yükleme hızı arttıkça, hidroliz hız sabitleri (k) ve metan üretim hızı değerlerinin (R_m) azaldığı ve lag fazı (λ) süresinin uzadığı tespit edilmiştir.

Dallı darının yarı-sürekli beslemeli sistemde anaerobik fermantasyonu, BMP ile birebir aynı şartlar altında (besleme miktarı, SRT ve sıcaklık) gerçekleştirilerek substrat yükleme hızının yarı-sürekli anaerobik prostesteki spesifik metan üretimine olan etkisi incelenmiştir. 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarında, dallı darı'nın spesifik metan üretim değerleri sırasıyla 147.6, 156.9 ve 60.11 mLCH₄/gUKM

olarak hesaplanmıştır. Organik madde yükleme hızı 1.5 gUKM/L.gün'e çıkarıldığında, spesifik metan üretimi kritik bir şekilde düşmüştür. Bunun sebebinin, lignoselülozik yapıya sahip dallı darının hidrolizinin yavaş olması ve çok yüksek uçucu organik asit konsantrasyonları ölçülmesi bile asidogenesis aşamasında sistemi tamponlayacak alkalite kaynağının olmaması nedeniyle anaerobik fermantasyonun bozulmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Anaerobik proste görev alan mikroorganizma türlerinin tespit edilebilmesi amacıyla yarı sürekli anaerobik reaktörden alınan numunelerde DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, denature gradian jel elektroforezi ve dizileme işlemleri uygulanarak anaerobik proste görev alan mikrobiyal türlerin moleküler genetik tanımlama çalışmaları yapılmıştır. Yarı sürekli anaerobik reaktörün 270 gün süren işletiminde *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, *Methanothrix* ve *Metanometilovorans* arkeaları ve *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Spirochaetes* ve *Actinobacteria* bakterileri tespit edilmiştir.

1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında elde edilen metan üretimi, 0.75 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında elde edilen metan üretiminden %6 fazla olmasına rağmen, dallı darının bir atık olmadığı ve enerji üretimi için yetiştirilen bir bitki olmasından dolayı toplam ekonomik fayda göz önüne alındığında elde edilen spesifik metan verimi sonuçlarına göre düşük organik madde yükleme hızı (0.75 gUKM/L.gün) değerinin hem kesikli reaktörde hem de yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktörde çalıştırılmasının daha verimli olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Anaerobik parçalanma, Dallı darı, Enerji bitkisi, Kinetik modelleme, Metan potansiyeli, Mikrobiyal ekoloji.

JÜRİ:

Prof. Dr. N. Altınay PERENDECİ (Danışman)

Prof. Dr. Erkan ŞAHİNKAYA

Doç. Dr. Çiğdem MORAL

ABSTRACT

PRODUCTION OF BIOGAS FROM SWITCHGRASS ENERGY PLANT IN SEMI-CONTINUOUS STIRRED-TANK REACTOR

Hilal ÜNYAY

MSc Thesis in Environmental Engineering
Supervisor: Prof. Dr. N. Altınay PERENDECI
July 2020; 100 pages

The aim of this master of science thesis is to determine the effect of organic loading rate on the batch process as Biochemical Methane Potential (BMP) and semi-continuous stirred tank reactor (SSTR) process, along with the reactor working conditions, system responses and performance.

Characterization analysis of the switchgrass plant was performed within the scope of master of science thesis. It has been determined that switchgrass contains 41.95 % carbon (C). The amount of hemicellulose and cellulose was determined as 36.24% and 35.94%, respectively. High carbon, high cellulose and hemicellulose amount (72.18%) of switchgrass proves its preferability for biogas production by anaerobic digestion. The theoretical methane potential (TBMP) of switchgrass, whose extended chemical formula is $C_{140}H_{244}O_{109}N_1$, was found as 439.5 mLCH₄/gVS.

The biochemical methane potential (BMP) test of switchgrass was carried out at different organic loading rates (0.75, 1.0 and 1.5 gVS_{switchgrass}/L.Day) and substrate/inoculum ratios (1.1, 1.5 and 2.2 gVS_{switchgrass}/gVS_{inoculum}). The specific methane production amount obtained after 60 days of SRT were found as 203.9, 190.5 and 181.0 mLCH₄/gVS, respectively. It was observed that the amount of specific methane production decreased when the amount of organic loading rate was increased. These values correspond to 46%, 43% and 41% of the switchgrass TBMP value, respectively. 80% of the methane generation of 203.9 mLCH₄/gVS at 0.75 OLR was obtained in the first 24 days. Although the batch BMP test was continued for 60 days, this finding also reveals that the retention time can be taken 24-25 days in terms of economic methane production from switchgrass.

In order to predict the kinetic coefficients, the batch BMP test methane production datas are modeled with Modified Gompertz, Cone, Reaction Curve and First Order Kinetic model. Regression coefficients (R^2) in all models were calculated between 0.992 and 0.999. It was found that when the organic loading rate was increased, hydrolysis rate constants (k) and methane production rate values (R_m) were decreased and the lag phase (λ) time was increased.

Anaerobic fermentation in the SSTR system of switchgrass was performed under the same conditions (feed amount, SRT and temperature) with BMP, and the effect of organic loading rate on specific methane production in the semi-continuous anaerobic process was investigated. Specific methane production values of switchgrass were

calculated as 147.6, 156.9 and 60.11 mLCH₄/gVS, respectively, for the organic loading rates of 0.75, 1.0 and 1.5 gVS/L.Day. When the organic loading rate was increased to 1.5 gVS/L.Day, specific methane production decreased critically. The reason behind this phenomenon is thought to be due to the break down of anaerobic fermentation related to the slow hydrolysis of lignocellulosic structure of switchgrass and the lack of alkalinity source to buffer the system in the acidogenesis stage even if very high volatile organic acid concentrations were not observed.

Molecular genetic tools as DNA isolation, polymerase chain reaction, denature gradient gel electrophoresis and sequencing were performed for the samples taken from the semi-continuous anaerobic reactor in order to determine the microorganisms involved in the anaerobic digestion process of switchgrass. *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, *Methanothrix* and *Metanometilovorans* as archaea and *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Spirochaetes* and *Actinobacteria* as bacteria were observed during the 270 days of semi-continuous anaerobic reactor operation.

Although the methane production obtained at 1.0 gVS/L.Day OLR is 6% more than the methane production obtained at 0.75 gVS/L.Day OLR, considering the total economic benefit, it was concluded that it would be more efficient to operate the low organic matter loading rate (0.75 gVS/L.Day) in both the batch reactor and the semi-continuous feed anaerobic reactor (SSTR), since switchgrass is not a waste and it is a cultivated plant for energy production.

KEYWORDS: Anaerobic digestion, Energy plant, Kinetic modelling, Methane potential, Microbial ecommunity, Switchgrass.

COMMITTEE:

Prof. Dr. N. Altınay PERENDECI (Advisor)

Prof. Dr. Erkan ŞAHİNKAYA

Assoc. Prof. Dr. Çiğdem MORAL

ÖNSÖZ

Laboratuvar çalışma alanlarını sıkıcı ve tekdüze bulan üretim/proses sevdalısı bir Kimya Mühendisi bireyin fikirlerini bu denli değiştirebilen, kendisini iyi ve kötü yanlarıyla tanımasına olanak sağlayan yeri geldiğinde dakikaların geçmediği yeri geldiğinde en çok keyif alınan 3.5 yıl sürebildiğine şahit olduğum Çevre Mühendisliği Yüksek Lisans eğitim ve çalışma serüveninde emeği geçen olmazsa olmazlardan kısaca bahsetmek isterim.

İlk olarak bu yola adım atmamda ve süreçte maddi manevi destek olmaktan bir an bile vazgeçmeyen ‘oku kızım biz başka bişey istemiyoruz’ klasiğinde ama en değerli insanlar Melahat ÜNYAY, Fatma ÜNYAY ve Nihat ÜNYAY’a ve yakın geleceğin Veteriner Hekimi kardeşim İclal ÜNYAY’a da sonsuz teşekkürlerimi iletiyorum.

Yüksek lisans sürecinde sürekli dibimde olan, keyifli günlerimde keyfimi kaçırın canım sıkırken en çok orada olan sürekli arkamı toplayan, yüksek lisansa başladığımda bile beni yalnız bırakmayıp peşimden gelen hayat ve laboratuvar çalışma arkadaşım Kimya Mühendisi Kaya ÇAKMAK’a en içten sevgiler ve teşekkürler.

Laboratuvara geldiğim ilk günden son gününe kadar desteğini esirgemeyen kafama vura vura öğreten ve öğretmekten keyif alan, dayanışmanın gizli tanımını farketmemi sağlayan, sorduklarında beni yetiştirdi diye övündüğüm Dr. Elçin KÖKDEMİR ÜNŞAR hocama çok teşekkür ederim.

Yeri geldiğinde gece gündüz çalıştığımız, bu sırada hiçbir yardımını esirgemeyen kahve molalarımın vazgeçilmezi değerli laboratuvar arkadaşım Yüksek Çevre Mühendisi Alper İbrahim BAŞAR’a, kıvrak zekası ve pratik çalışma şekliyle bana farklı bir bakış açısı kazandıran değerli hocam Dr. Fatih YILMAZ’a ve diğer tüm Biyoteknoloji Laboratuvarı üyesi arkadaşlarıma destekleri için teşekkür ederim.

Son olarak bana benden çok inanan, bazen çok kızdırdığım halde bana pek kızamayan değerli danışmanım Prof. Dr. N. Altınay PERENDECİ hocama hiç düşünmeden tüm gücü ile sınırları her seferinde zorlayarak verdiği destekler, sağladığı tüm olanaklar adına sonsuz sevgilerimi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Enerji Çeşitleri ve Kullanım Alanları	3
2.2. Türkiye’de Enerji Yapısı.....	5
2.3. Biyokütle Enerjisi	6
2.3.1. Lignoselülozik Biyokütle: Selüloz, Hemiselüloz ve Lignin	8
2.3.2. Dalı Darı (<i>Panicum Virgatum L.</i>)	9
2.3.3. Dalı Darının Karakterizasyon Özellikleri	11
2.4. Anaerobik Parçalanma ve Mekanizması.....	14
2.4.1. Hidroliz	16
2.4.2. Asidojenesis	16
2.4.3. Asetojenesis	17
2.4.4. Metanojenesis.....	17
2.4.5. Anaerobik parçalanmada substrat olarak kullanılan biyokütle ve atıklar.....	17
2.5. Biyogaz	18
2.6. Dalı Darı Enerji Bitkisinden Metan Üretimi.....	20
2.7. Teorik Metan Potansiyeli	23
2.8. Anaerobik Parçalanma Prosesinde Görev Alan Mikroorganizma Türlerinin Tanımlanması	25
2.9. Reaksiyon Kinetikleri ve Modellemesi.....	26
2.10. Tez Çalışmasının Amacı	27
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Dalı Darı Enerji Bitkisinin Temini, Hazırlanması ve Öğütülmesi.....	29
3.2. Dalı Darı Karakterizasyon Analizleri	29
3.2.1. Toplam katı madde (TKM) analizi	30
3.2.2. Uçucu katı madde (UKM) analizi	30

3.2.3.	Toplam karbon (TK), toplam organik karbon (TOK) ve inorganik karbon (İK) analizi.....	30
3.2.4.	Toplam Kjeldahl azotu (TKN) analizi	30
3.2.5.	Toplam ve çözünmüş protein analizi	31
3.2.6.	Çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ) analizi	31
3.2.7.	Toplam indirgen şeker analizi.....	31
3.2.8.	Toplam şeker analizi	32
3.2.9.	Yapısal karbonhidrat analizi	32
3.2.10.	Asitte çözünen ve çözünmeyen lignin analizi.....	33
3.2.11.	Ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) analizi.....	33
3.2.12.	Van Soest fraksiyon (Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözünür madde (SOLU)) analizleri	33
3.2.13.	Elementel analizi.....	34
3.2.14.	İz element analizi	34
3.2.15.	Alt ve üst ısı değeri analizi.....	34
3.3.	Karakterizasyon Analizlerinin Yapılmasında Kullanılan Ekipmanlar.....	34
3.4.	Anaerobik Aşı Çamurun Temin Edilmesi.....	36
3.5.	Teorik Metan Potansiyelinin Hesaplaması	36
3.6.	Teorik Oksijen İhtiyacının Hesaplanması.....	36
3.7.	Biyokimyasal Metan Potansiyeli Testi (BMP)	37
3.7.1.	Makro ve mikro besin elementleri ve tampon çözeltisi	39
3.7.2.	Gaz miktarının belirlenmesi.....	40
3.7.3.	Biyogaz kompozisyonunun belirlenmesi ve hesaplanması.....	41
3.8.	Yarı-Sürekli Beslemeli Sistem Kurulumu ve Proses Düzenneği.....	42
3.9.	Yarı-Sürekli Beslemeli Reaktör İşletim Parametreleri	44
3.10.	Yarı-Sürekli Anaerobik Reaktör Performans Analizleri.....	45
3.10.1.	Toplam katı madde ve uçucu madde miktarı analizi	46
3.10.2.	Alkalite analizi	46
3.10.3.	Uçucu yağ asidi analizi (UYA).....	47
3.10.3.1.	Metil Tert Bütıl Eter (MTBE) ile sıvı-sıvı numune ekstraksiyonu.....	47
3.10.3.2.	UYA kompozisyonlarının belirlenmesi ve hesaplanması.....	50
3.11.	Mikroorganizma Tür Dağılımının Belirlenmesi	53
3.11.1.	DNA izolasyonu.....	53
3.11.2.	Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) amplifikasyonu.....	54

3.11.3. Denatüre gradian jel elektroforezi (DGEE)	55
3.12. Reaksiyon Kinetiği.....	56
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	59
4.1. Dallı Darı Karakterizasyon Analizlerine ait Sonuçlar	59
4.2. Anaerobik Aşı Çamurun Katı Madde Miktarı	61
4.3. Dallı Darının Teorik Metan Potansiyeli	62
4.4. Dallı Darının Teorik Oksijen İhtiyacı	63
4.5. Dallı Darının Biyokimyasal Metan Potansiyeli	63
4.6. Yarı-Sürekli Anaerobik Reaktör Sisteminde Biyogaz ve Metan Üretimi.....	66
4.7. Yarı-Sürekli Beslemeli Anaerobik Reaktör Sistem Performans Parametrelerinin Değerlendirilmesi	71
4.7.1. pH ve Sıcaklık	71
4.7.2. Toplam katı madde (TKM) ve uçucu katı madde (UKM)	72
4.7.3. Alkalite.....	73
4.7.4. Uçucu yağ asitleri.....	75
4.8. Yarı-Sürekli Beslemeli Anaerobik Reaktörde Mikroorganizma Türlerinin Dağılımı.....	77
4.8.1. MBRlerde dominant kültürlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar.....	77
4.9. Anaerobik Parçalanma Kinetik Model Sonuçları	82
5. SONUÇLAR.....	87
6. KAYNAKLAR.....	92
ÖZGEÇMİŞ	
ESERLER	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Yarı Sürekli Beslemeli Tam Karışimli Reaktörde Enerji Bitkisi Dalı Darıdan Biyogaz Üretimi**” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

...../...../.....

Hilal ÜNYAY



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
λ	: Lag fazı
μ_m	: Maksimum spesifik büyüme hızı
μm	: Mikrometre
A	: maksimum metan potansiyeli
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
GWh	: Gigawatt saat
K	: Hidroliz hız sabiti
kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
k_H	: Hidroliz hız sabiti
ktoe	: Kiloton eşdeğer petrol
Kw	: Kilowatt
L	: Litre
m	: Metre
M	: Molarite
m ³	: Metreküp
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
Mtep	: Milyon ton eşdeğer petrol

N : Normalite

R^2 : Regresyon katsayısı

R_m : Metan üretim hızı

rpm : Dakikada devir sayısı

sa : Saat

w/v : Birim hacimdeki kütle

w/w : Ağırlıkça oran

Tez yazımında ondalık sayı ayraçı olarak (.) kullanılmıştır.

Kısaltmalar

AIL	: Asitte Çözünemeyen Lignin
ALK	: Alkalite
Ar-Ge	: Araştırma Geliştirme
ASL	: Asitte Çözünebilen Lignin
BMP	: Biyokimyasal Metan Potansiyeli
BOE	: Varil Petrol Eşdeğeri
BSA	: Bovine Serum Albümin
CELL	: Selüloz
C:N	: Karbon azot oranı
çKOİ	: Çözünmüş Kimyasal Oksijen İhtiyacı
çİndŞeker	: Çözünmüş İndirgen Şeker
DNS	: Dinitro Salisilik Asit
F:M	: Substrat-Mikroorganizma oranı
GC	: Gaz Kromatografisi
HAc	: Asetik Asit
HEMI	: Hemiselüloz
HMF	: Hidroksimetil Furfural
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IAE	: Uluslararası Enerji Ajansı
KM	: Katı Madde
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
LIGN	: Lignin
MTBE	: Metil Tert Bütıl Eter

ODTÜ	: Orta Doğu Teknik Üniversitesi
OLR	: Organik Yükleme Hızı
Pro	: Protein
SOLU	: Çözünür Fraksiyon
SRT	: Çamur/Katı Alıkonma Süresi
TIK	: Toplam İnorganik Karbon
TK	: Toplam Karbon
TKM	: Toplam Katı Madde
TKN	: Toplam Kjeldahl Azotu
TOK	: Toplam Organik Karbon
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UKM	: Uçucu Katı Madde
UYA	: Uçucu yağ asidi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Enerji kaynaklarının gruplandırılması	3
Şekil 2.2. Dünya çapında birincil enerji kaynaklarının tüketim bazlı dağılımı.	4
Şekil 2.3. Fosil yakıt rezervlerinin miktarları ve öngörülen tükenme süreleri.....	5
Şekil 2.4. Lignoselülozik maddenin yapısı	8
Şekil 2.5. Kanlow türü dikili dallı darı görüntüsü.....	10
Şekil 2.6. Anaerobik parçalanma basamakları ve ürünler.....	15
Şekil 2.7. Mikroorganizma büyüme eğrisi	26
Şekil 3.1. (a) Parçalanmış ve kurutulmuş dallı darı, (b) Elekten geçirilmiş ve 0.5 mm boyuta öğütülmüş dallı darı.....	29
Şekil 3.2. (a) BMP reaktör konfigürasyonu, (b) BMP testi için hazırlanılmış reaktörler	37
Şekil 3.3. Gaz-su yer değiştirme prensibi ile çalışan biyogaz ölçüm düzeneği	41
Şekil 3.4. Varian Mikro-gaz kromatografisi cihazı.....	41
Şekil 3.5. Yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör sistemi	42
Şekil 3.6 Yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör sistemi	43
Şekil 3.7. Akış ölçer ve gaz toplama torbası.....	44
Şekil 3.8. UYA analizi için sıvı- sıvı MTBE ekstraksiyonu uygulama adımları.....	48
Şekil 3.9. Liner’da oluşan kirlilik birikimi, kirli ve temiz liner	48
Şekil 3.10. Numunenin MTBE ekstraksiyonu sonunda fazlarına ayrılması	49
Şekil 3.11. Standart asit karışımı ile yapılan kalibrasyon sonucu elde edilen uçucu organik asitlerin kalibrasyonu eğrileri, asetik (a), propiyonik (b), bütirik (c), n-valerik (d) asit.	52
Şekil 3.12. Farklı organik madde yükleme değerlerinde yarı sürekli anaerobik reaktörden numune alım günleri	53
Şekil 4.1. Farklı organik madde yükleme hızlarında (OLR) üretilen metan miktarlarının (mLCH ₄ /gUKM) zamanla değişimi	63
Şekil 4.2. Farklı organik madde yükleme hızlarında (OLR) üretilen biyogaz içerisindeki metan (%) zamanla değişimi	66
Şekil 4.3. Farklı organik madde yükleme hızlarında yarı sürekli anaerobik reaktör sisteminden üretilen biyogaz miktarları	67
Şekil 4.4. Farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen biyogazda metan (CH ₄) ve karbondioksit (CO ₂) miktarlarının (%) zamanla değişimi... ..	68
Şekil 4.5. Farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen metan gazı miktarının zamanla değişimi	69
Şekil 4.6. Farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen spesifik metan üretim veriminin (mLCH ₄ /gUKM) zamanla değişimi	69

Şekil 4.7. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen pH değerlerinin zamanla değişimi.....	72
Şekil 4.8. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen TKM ve UKM değerlerinin zamanla değişimi.....	73
Şekil 4.9. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen alkalite (mgCaCO_3/L) değerlerinin zamanla değişimi	74
Şekil 4.10. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen UYA/Alkalite oranlarının zamanla değişimi.....	76
Şekil 4.11. Reaktörlerden alınan numunelere ait GC-BacV3f ve 907R primerleriyle PZR sonucu	77
Şekil 4.12. Reaktörlerden alınan numunelere ait GC-Arc344f ve 915r primerleriyle PZR sonucu	78
Şekil 4.13. Reaktörlerden alınan bakteri numunelere ait DGGE sonrası BacV3f ve 907R primerleriyle PZR sonucu	78
Şekil 4.14. Reaktörlerden alınan arkea numunelerine ait DGGE sonrası Arc344f ve 915r primerleriyle PZR sonucu	79
Şekil 4.15. DGGE jelin yürütülmesi	79
Şekil 4.16. Reaktörlerden alınan bakteri (a) ve arkea (b) numunelerine ait DGGE jelleri	80
Şekil 4.17. Farklı organik madde yükleme miktarında (a: 0.75 OLR, b: 1 OLR ve c:1.5 OLR) deneysel metan üretim verileri ile model tahminlerinin karşılaştırılması.....	84
Şekil 4.18. 0.75 kg/L.gün organik madde yükleme hızında deneysel olarak ölçülen metan üretim miktarına karşı dört model ile tahmin edilen metan miktarları (a) Reaction Curve, (b) Modifiye Gompertz, (c) Cone ve (d) Birinci dereceden kinetik model	86

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye’deki elektrik üretiminin yıllara göre kaynak dağılımları (%).	6
Çizelge 2.2. Farklı lignoselülozik hammaddelerin kompozisyonları.....	9
Çizelge 2.3. Dallı darı TKM ve UKM miktarları.....	11
Çizelge 2.4. Dallı darı selüloz, hemiselüloz, lignin ve ekstrakte olabilen madde içerikleri	12
Çizelge 2.5. Dallı darı elementel analiz sonuçları.....	12
Çizelge 2.6. Dallı dariya ait yapısal karbonhidrat içeriği.....	13
Çizelge 2.7. Dallı darı iz element analizi literatür verileri.....	13
Çizelge 2.8. Çeşitli biyokütle ve atıklardan üretilebilen biyogaz miktarları ve metan yüzdeleri.....	18
Çizelge 2.9. Biyogazın genel özellikleri	19
Çizelge 2.10. Metan gazının genel özellikleri.....	19
Çizelge 2.11. Maksimum biyogaz verimi ve metan içeriği	20
Çizelge 2.12. Dallı darı’dan metan üretim potansiyeli konusunda yapılan çalışmalar ...	20
Çizelge 2.13. Literatürde dallı darı’nın yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör sistemde fermentasyonunu inceleyen çalışmalar	23
Çizelge 2.14. Çeşitli materyallerin Buswell eşitliği ile hesaplanmış teorik metan potansiyelleri	24
Çizelge 3.1. Yapısal karbonhidrat analizinde kullanılan HPLC cihazının NREL/TP-510- 42623 standardında belirlenen çalışma koşulları	32
Çizelge 3.2. Dallı darı karakterizasyon analizlerinde kullanılan ekipmanlar	35
Çizelge 3.3. BMP reaktörlerinde kullanılan aşı çamurunTKM ve UKM sonuçları	38
Çizelge 3.4. BMP testlerinde kullanılan F:M oranlarına tekabül eden organik madde yükleme hız (OLR) değerleri	38
Çizelge 3.5. 0.75, 1.0 ve 1.5 OLR’de çalışan BMP test reaktörlerine ilave edilen tüm bileşenlerin miktarları	39
Çizelge 3.6. BMP testi için gerekli makro elementler ve konsantrasyonları	39
Çizelge 3.7. BMP testi için gerekli mikro elementler ve konsantrasyonları.....	40
Çizelge 3.8. OLR değerlerine göre reaktöre eklenen numune miktarları ve toplam işletim süreleri.....	45
Çizelge 3.9. Yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör işletim parametreleri	45
Çizelge 3.10. Reaktörden alınan numunelerde incelenen parametreler, ölçüm sıklıkları ve analiz yöntemleri	46

Çizelge 3.11 Gaz kromatografi cihazında UYA analizi için kullanılan metot parametreleri	50
Çizelge 3.12. Kromatografi cihazı fırın sıcaklık programı	51
Çizelge 3.13. Gaz kromatografisinde standart UYA bileşenleri için elde edilen kalibrasyon eğrilerinin R^2 değerleri	52
Çizelge 3.14. PZR analizlerinde kullanılan primer çiftleri	55
Çizelge 3.15. DGGE jel prosedürü	56
Çizelge 4.1 Kanlow çeşidi dallı darı karakterizasyon analiz sonuçları.....	59
Çizelge 4.2. BMP reaktörlerinde kullanılan aşı çamura ait TKM ve UKM sonuçları....	61
Çizelge 4.3. Anaerobik aşı çamur TKM ve UKM analiz sonuçları.....	61
Çizelge 4.4. Dallı darının elementel içeriği	62
Çizelge 4.5. Farklı OLR değerlerinde anaerobik reaktörde ölçülen UYA ortalama konsantrasyonları (mg/L).....	75
Çizelge 4.6. Sekanslara ait BLAST sonuçları.....	80
Çizelge 4.7. Kinetik model sonuçları.....	83

1. GİRİŞ

Ülkelerin gelişimini ve yaşam kalitelerini üst düzeye çıkartabilmelerini sağlayan en önemli faktörlerden biri de tüketimi gün geçtikçe artan enerjidir. Talebin artması ile yeni enerji kaynakları arayışı da gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Tükenebilen kaynaklar yerine yenilenebilir ve sürdürülebilir enerji çalışmaları son yılların vazgeçilmez konusu olmuştur. Çevresel etkilerin, ekonomik yükün ve dışa bağımlılığın azaltılması avantajları ile yenilenebilir enerji her geçen gün yatırımların arttığı bir alan olarak değer kazanmaktadır. Türkiye, yenilenebilir enerjinin önemli bir rol oynadığı gelecek için yenilikçi bir enerji politikası izlemektedir. Bu kapsamda, 2009'da Kyoto Protokolünü imzalamış, AB'nin Yenilenebilir Enerji Direktifi'nden esinlenerek 2014'te "Türkiye için Ulusal Yenilenebilir Enerji Eylem Planı" ilan etmiş ve uluslararası iş birliğini kanıtlamıştır. Bu eylem planında, hükümetin yeniden tasarlanan enerji politikasının, yenilenebilir enerjinin rolü ve payına özel önem vermesi hedeflenmektedir. Plana göre, 2023 itibariyle Türkiye, yenilenebilir enerji kaynaklarının elektrik üretimi ve toplam enerji tüketimindeki payını sırasıyla %37.6 ve %20.5'e çıkarmayı hedeflemektedir.

1800'lü yıllarda dünyadaki enerji ve yakıt gereksiniminin büyük çoğunluğunu biyokütle enerjisi sağlamıştır. Sanayileşmenin ve fosil yakıt çağının başlaması ile biyokütle enerji kaynaklarının kullanımında düşüş gözlenmiş ve 1990'lı yıllarda tekrardan artış görülmeye başlanmıştır. Biyokütle enerjisi, fosil kaynakların yerine geçebilecek alternatif çevre dostu yenilenebilir bir kaynak olmasının yanı sıra sürdürülebilir olması, çevre yönetimi sağlaması, uygun maliyetli olması ve tarımsal alanda istihdam artışına vesile olması nedeni ile ilgi odağı haline gelmiştir. Saman, bagas, fındık, zeytin çekirdeği ve pirinç kabuğu gibi tarımsal atıklardan ve fil otu, sorgum ve dallı darı gibi enerji bitkilerine kadar oldukça geniş bir alanda hammadde çeşitliliği bulunmaktadır. Bunlara ek olarak alg, talaş, orman atıkları, katı atıklar ve belediye atıkları da biyokütle enerjisi üretiminde hammadde kategorisinde yer almaktadır. Biyokütle doğrudan yakıt olarak kullanılabilir. Fakat yakma yoluyla enerji üretimi ciddi hava kirliliği problemlerine sebep olabilmektedir. Biyokütleden çok çeşitli sıvı ve gaz yakıtlar üretilebilmektedir. Bunların tümü yanma sırasında temel olarak karbondioksit ve su buharı üreten karbon içeren yakıtlardır. Biyokütleden üretilen yakıtların başında biyoetanol, biyometan, biyohidrojen, biyodizel ve biyobutanol gelmektedir.

Hammaddelerden anaerobik parçalanma prosesi ile biyogaz üretimi, organik maddenin (karbonhidrat, protein, selüloz, hemiselüloz) çözünebilir organik bileşenlere dönüşümünü ve fermentasyon yolu ile biyogaz üretimini esas almaktadır. Üretilen biyogaz; karbondioksit (30-40%) ve metan (60-70%) ağırlıklı olup, ısınmada, soğutmada, elektrik üretiminde ve araçlarda motor yakıtlarına alternatif çevre dostu biyoyakıt olarak kullanıma potansiyeli olan gaz karışımıdır. Yüksek üretim verimi (14 ton/akre), geniş adaptasyon yelpazesi, pozitif çevresel faydaları, yenilenebilir kök sistemi, çok yıllık bitki olması ve az besin ihtiyacı ile yüksek dayanıklılıklara sahip olması nedeniyle enerji bitkisi dallı darı anaerobik parçalanma prosesi ile metan üretiminde kullanılabilecek bir hammadde olarak nitelendirilmektedir.

Tez çalışmasının amacı, dallı darıdan metan üretimi amacıyla kullanılan kesikli proses (Biyokimyasal Metan Potansiyeli- BMP) ve yarı-sürekli beslemeli prosese organik madde yükleme hızının etkisinin ve proses parametrelerine ait cevapların incelenmesidir.

Yüksek lisans tezi kapsamında öncelikle boyut küçültme ön işlemi uygulanan dallı darı bitkisinin karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Karakterizasyon analizleri kapsamında elde edilen elementel analiz verileri kullanılarak dallı darının teorik metan potansiyeli tespit edilmiştir. Kesikli BMP testi ve yarı-sürekli beslemeli reaktör aynı proses koşulları altında (sıcaklık, pH, organik yükleme hızı ve alıkonma süresi) dallı darının anaerobik fermantasyonu için çalıştırılmış ve her iki sistemde organik madde yükleme hızının spesifik metan üretim verimine etkisi incelenerek karşılaştırılmıştır. Dallı darının anaerobik parçalanmasında, organik madde yükleme hızının artırılmasının proses performansına etkileri izlenen durum değişkenleri (pH, uçucu organik asit (UYA), alkalite, UYA/Alk, biyogaz bileşenleri) vasıtasıyla değerlendirilmiştir. Anaerobik proste görev alan mikroorganizma türlerinin tespit edilebilmesi amacıyla yarı sürekli anaerobik reaktörden alınan numunelerde DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, denature gradian jel elektroforezi ve dizileme işlemleri uygulanarak anaerobik proste görev alan mikrobiyal türlerin moleküler genetik tanımlama çalışmaları yapılmıştır. Son olarak enerji bitkisi dallı darının anaerobik parçalanma kinetiği, Modifiye Gompertz modeli, Cone modeli, Reaction Curve modeli ve Birinci Derece Kinetik model ile incelenmiş ve organik madde yükleme hızının proses kinetiğine etkisi değerlendirilmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Enerji Çeşitleri ve Kullanım Alanları

Sosyal ve ekonomik açılardan bakıldığında enerji, ülkelerin gelişimini sağlayabilmeleri ve yaşam kalitelerini üst düzeye çıkarabilmeleri için gerekli olan en önemli faktörlerden biridir. Teknolojik ilerleme ile sanayileşmenin de artması enerji ihtiyacını arttırmaktadır. Aynı zamanda artan nüfus ile birlikte enerji kullanımı giderek artmış ve önem kazanmıştır (Koç ve Şenel 2013; Yağlı vd. 2016). Şekil 2.1’de enerji kaynakları kullanım ve dönüştürülebilirliklerine göre sınıflandırılmıştır.



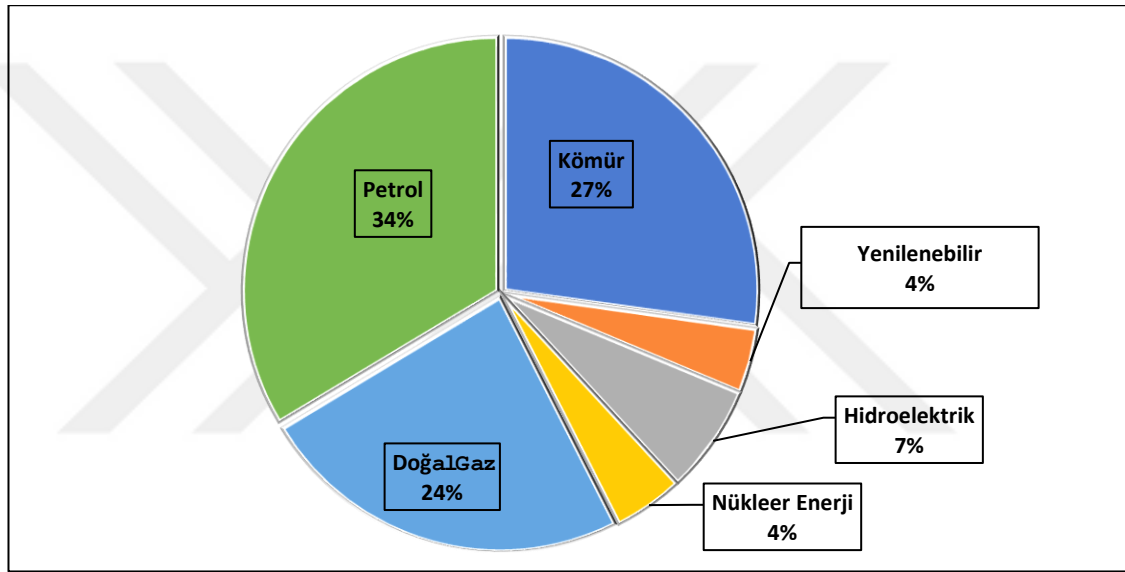
Şekil 2.1. Enerji kaynaklarının gruplandırılması (Koç vd 2018).

Şekil 2.1’den görüleceği üzere kullanılışlarına ve dönüştürülebilirliklerine göre enerji ikiye ayrılmaktadır. Kullanılışlarına göre enerji; yenilenebilen (tükenmez) ve yenilenemeyen (tükenir) enerji kaynakları olarak iki gruba ayrılmaktadır. Yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ihtiyacın sebebi sürdürülebilir olmasından kaynaklanmaktadır. Sürdürülebilirlik, 1987 yılında yayınlanan Brundtland Komisyon Raporunun tanımına göre, gelecek nesillerin kendi ihtiyaçlarını karşılayabilme kabiliyetinden ödün vermeden bugünün ihtiyaçlarının karşılanabilmesi hareketliliğidir. Toplum, çevre ve ekonomi olarak birbirinden bağımsız hareket edilemeyecek 3 temel başlık üzerine kurulmuştur (United Nations Report 1987).

Yenilenebilir enerji kaynakları başlıca rüzgâr, güneş, biyokütle, hidrojen, jeotermal ve hidrolik olarak sınıflandırılmaktadır. Doğal yollar ile elde edilen yenilenebilir enerji kaynakları için ayrıca bir hammadde üretimine veya dış ülkelere alma/sağlamaya ihtiyaç duyulmadığından ülkeye ekonomik fayda sağlamaktadır. Bunun yanı sıra yenilenebilir enerji, karbon salınımının azalmasında rol oynadığından dünya

genelinde her geçen gün yapılan yenilenebilir enerji yatırımları artmaktadır (Karagöl ve Kavaz 2017).

Fosil kaynaklı olan kömür, petrol ve doğalgaz enerjisi başlıca tüketilen enerji kaynakları arasındadır. Dünya, enerji ihtiyacının dörtte üçlük kısmından fazlası hala fosil kaynaklı yakıtlardan üretilmektedir. Şekil 2.2’de Dünya birincil enerji kaynaklarının tüketim bazlı dağılımı sunulmuştur. Şekil 2.2’den görüleceği üzere, enerji tüketimi %34 petrol, %24 doğal gaz, %27 kömür, %7 hidroelektrik, %4 nükleer enerji ve %4 yenilenebilir kaynaklardan oluşmaktadır. Fosil kaynak kullanımının artması küresel ısınma ve iklim değişikliğinde hızlı geçişlere sebep olmakla birlikte canlı sağlığı açısından da tehlike arz etmektedir. Küresel ısınmaya neden olan ve canlı sağlığını negatif yönde etkileyen sera gazı emisyon salınımları fosil kaynakların kullanılması ile artmaktadır (Mathiesen vd. 2015).

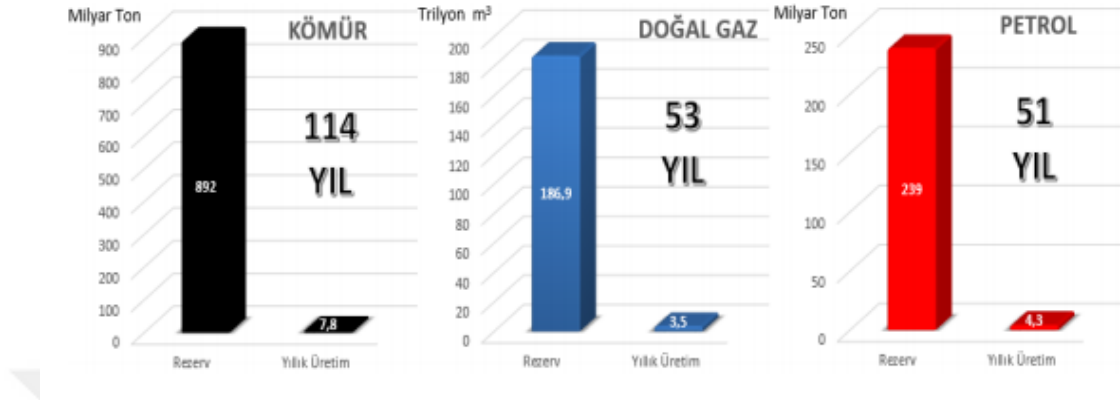


Şekil 2.2. Dünya çapında birincil enerji kaynaklarının tüketim bazlı dağılımı (BP 2019).

Fosil yakıtların günümüz tüketim hızıyla birkaç yüz yıl içinde sonlanacağı düşünülmektedir. Petrolün 45-50 yıl, doğal gazın 65-70 yıl ve kömürün 150-160 yıl sonra tükeneceği araştırmalar sonucu ortaya çıkan istatistiklere göre hesaplanmıştır (Yılmaz vd. 2017). Son yıllarda teknolojinin ilerleyişi, rüzgâr, güneş, jeotermal, hidrolik ve biyokütle gibi yenilenebilir enerji kaynaklarından daha verimli bir şekilde yararlanılmasını sağlamış olsa da bu enerji kaynakları halen sanayi ve ulaşımda kullanılan fosil yakıtların alternatifi olamamışlardır. Alternatif enerji kaynağı arayışında, biyoyakıt üretiminde büyük bir potansiyele sahip olan biyokütle enerjisi öne çıkmaktadır. Biyokütle, güneş enerjisini fotosentetik reaksiyonlar ile kimyasal enerjiye çeviren yenilenebilir hammadde kaynağı olarak tanımlanmaktadır (Gunaseelan 1997).

2018 yılında Dünya enerji tüketimi %2.9 artış göstermiştir. Bu artış 2010 yılından beri gözlenen en büyük artış olmakla birlikte son 10 yıllık ortalamayı neredeyse ikiye katlamıştır. Talep, tüm yakıtlar dahilinde artış göstermiş fakat özellikle doğal gaz ihtiyacında görülen artış dikkat çekmiştir. Dünya tüketimine bakıldığında doğal gaz için %43 ve yenilenebilir enerji için %18 oranında bir artış tespit edilmiştir. Dünya genelinde

tüketim miktarlarına göre enerji çeşitleri sıralandığında ilk sırayı petrol almakta, devamında kömür ve doğal gaz gelmektedir (BP 2019). Birincil enerji kaynakları arasında fosil kaynaklı enerji tüketimi %85 değerindeyken, yenilenebilir enerji tüketim payı ise sadece %4 civarındadır (BP 2019).



Şekil 2.3. Fosil yakıt rezervlerinin miktarları ve öngörülen tükenme süreleri

Fosil yakıtların tükenebilen yakıtlar sınıfında olmasından dolayı kaynak ve tüketim tespiti yapılarak kalan ömürleri hesaplanmaktadır. Şekil 2.3'te fosil yakıt rezervlerinin türlerine göre dünya genelinde tükenme ömürleri gösterilmektedir (ETKB 2017). Elde edilen sonuçlara göre petrol ve doğal gaz rezervlerinin kritik değerlere ulaştığı görülmektedir. 51 yıllık ihtiyaç enerjisine karşılık gelen dünya genelindeki petrol rezervleri 1.7 trilyon varil civarındadır. Aynı durum kömür rezervleri için ise 114 yıl kadar ihtiyacı karşılayabileceği ön görülmektedir. Kömür, rezerv miktarı en fazla olan fosil enerji kaynağı kategorisinde değerlendirilmektedir. Bu sebeplerle yeni kaynak arayışları yıllar öncesinden başlamış ve giderek artmaya devam etmektedir. Yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ilgi ve yatırım her geçen gün artmakta ve önem kazanmaktadır. Yenilenebilir enerji kaynaklarından birisi de karbon nötr olarak adlandırılan biyokütle enerjisidir.

2.2.Türkiye’de Enerji Yapısı

Türkiye gelişmekte olan bir ekonomi yapısına sahip olmakla birlikte son yıllarda hızla büyüyen bir enerji tüketimi göstermektedir. Örneğin, Uluslararası Enerji Ajansı 2018 (IEA) verisine ilişkin olarak, Türkiye’nin enerji tüketimi 1990’da 40.169 ktoe iken, 2000’de 57.908 ktoe, 2014’te 85.545 ktoe değerine ulaşmıştır. Artan demografik eğilimler, ekonomik büyüme ve kişi başına düşen gelirin artması, enerji tüketimini artırmakta ve Türkiye’nin enerji tüketiminin gelecek on yıla kadar yılda %4-6 civarında artacağı tahmin edilmektedir (Kaplan 2015). Diğer taraftan, ülkenin enerji üretimi enerji tüketimiyle karşılaştırıldığında yetersiz görünmektedir. Sonuç olarak, Türkiye’nin dış enerjiye bağımlılığı, özellikle 1990’lı yılların başlarında belirgin bir artış göstermiştir ve 2000’li yılların başından bu yana %70 civarında artmıştır (Türkiye Petrolleri (TP) 2017, ETKB 2018).

Türkiye’deki günlük elektrik üretiminin 23.3%’ü fosil kaynaklı ithal kömürden, 27.5%’i fosil kaynaklı doğal gazdan, 22.12%’si yenilenebilir hidroelektrik santrallerden

ve 16.96%'sı fosil kaynaklı linyit ve taş kömürü kullanılarak sağlanmaktadır. Bunların yanında elektrik üretiminin sadece %0.83'ü yenilenebilir enerji biyogazdan karşılanmaktadır. Elektrik üretimi için kullanılan kaynakların (taş kömürü, linyit, doğalgaz ve kömür) yarıdan fazlası ithal edilmekte ve bu durum Türkiye'nin enerji üreten ülkelere ekonomik bağımlılığını arttırmaktadır.

Bütün Dünya'da fosil yakıtlara olan bağımlılığın azaltılması için yenilenebilir enerji konusunda yapılan çalışmalar önem kazanmıştır ve çalışma alanları gelişerek artmaktadır. Türkiye'de toplam kurulu gücü 467.37 MW olan 82 adet biyogaz santrali bulunmaktadır ve yıllık elektrik üretimi 2.277GWh olarak bilinmektedir (Enerjiatlası 2018). 2019 yılının ilk 8 ayında akarsu, asfaltit kömür, atık ısı, hidroelektrik, biyokütle, doğal gaz, yakıt, güneş, ithal kömür, jeotermal, linyit, LNG, rüzgar ve taş kömürü gibi kaynaklarına ait toplam 90.403,40 MW kurulu güç bulunmaktadır (EMO 2019). Çizelge 2.1'de yıllara göre verilen birincil kaynaklardan üretilen elektrik enerjisi yüzdelerinin dağılımına bakıldığında doğal gaz kaynaklı elektrik üretiminde düşüş ve yenilenebilir elektrik üretiminde artış olduğu görülmektedir.

Çizelge 2.1. Türkiye'deki elektrik üretiminin yıllara göre kaynak dağılımları (%) (Turkstat 2018).

Kaynak	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Kömür	27.9	29.1	28.6	26.1	28.8	28.4	26.6	30.2	29.1	33.7
Sıvı Yakıt	3.4	3.8	2.5	1.0	0.4	0.7	0.7	0.9	0.9	0.7
Doğal gaz	49.6	49.7	49.3	46.5	45.4	43.6	43.8	47.9	37.9	32.5
Hidroelektrik	18.7	16.8	18.5	24.5	22.8	24.2	24.7	16.1	25.6	24.5
Yenilenebilir	0.4	0.6	1.2	1.9	2.6	3.1	4.2	4.9	6.5	8.6

Türkiye, yenilenebilir enerjinin önemli bir rol oynadığı gelecek için yenilikçi bir enerji politikası izlemektedir. Bu sebeple 2009'da Kyoto Protokolünü imzalayarak ve AB'nin Yenilenebilir Enerji Direktifi nedeniyle 2014'te "Türkiye için Ulusal Yenilenebilir Enerji Eylem Planı" ilan ederek uluslararası iş birliğini kanıtlamıştır. Bu eylem planında, hükümetin yeniden tasarlanan enerji politikasının, yenilenebilir enerjinin rolü ve payına özel önem vermesi hedeflenmektedir. Plana göre, 2023 itibarıyla Türkiye, yenilenebilir enerji kaynaklarının elektrik üretimi ve toplam enerji tüketimindeki payını sırasıyla%37.6 ve%20.5'e çıkarmayı hedeflemektedir (ETKB 2014).

2.3. Biyokütle Enerjisi

Biyokütle enerjisi, 1800'lü yılların orta dönemlerine kadar dünyanın ihtiyacı olan enerji ve yakıt gereksiniminin büyük bir kısmını sağlamasına rağmen sanayileşmenin gelişmesi ve fosil yakıt çağının başlamasından dolayı biyokütle enerji kaynaklarının tüketimi ilk önce azalmış ancak daha sonra tekrar hız kazanarak kullanılmaya başlanmıştır. Bunun en önemli sebeplerinden birisi de 1970'lerin son döneminde yaşanan ilk petrol krizinin ardından birçok hükümet tarafından politika değişikliğine gidilmiş, petrol tüketiminde ve ithalatında azaltma uygulamaları yapılmış, yerli enerji kaynağı olmasından dolayı ve dışa bağımlılığın azaltılabilmesi amaçlanarak biyokütle enerjisi ön plana çıkarılmıştır. Örneğin, 1970 döneminin son yıllarında biyokütleden elde edilen enerjinin ABD enerji tüketimine 850.000 BOE/gün kadar olan katkısı toplan enerji

tüketiminin %2'lik kısmına tekabül ederken, bu miktar 1990'lara gelindiğinde, 1.400.000 BOE/gün miktarına çıkmıştır. Bu miktar toplam enerji tüketiminin %3.3'lük kısmına tekabül etmektedir ve bu oran giderek artmaktadır (Klass 1998).

Biyokütle enerjisi, fosil kaynakların yerine geçebilecek alternatif çevre dostu yenilenebilir bir kaynak olmasının yanı sıra sürdürülebilir olması, çevre yönetimi sağlaması, uygun maliyetli olması ve tarımsal alanda istihdam artışına vesile olması nedeni ile ilgi odağı haline gelmiştir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, petrol ve kömürden sonra birincil enerji kaynaklarından birisidir (Aggarwal 2013). Saman, bagas, fındık, zeytin çekirdeği ve pirinç kabuğu gibi tarımsal atıklardan ve fil otu, sorgum ve dallı darı gibi enerji bitkilerine kadar oldukça geniş bir alanda hammadde çeşitliliği bulunmaktadır. Bunlara ek olarak alg, talaş, orman atıkları, katı atıklar ve belediye atıkları da biyokütle enerjisi üretiminde hammadde kategorisinde yer almaktadır (Werther vd. 2000).

Biyokütle doğrudan yakıt olarak kullanılabilir. Fakat bu şekilde kullanımı ciddi hava kirliliği problemlerine sebep olmaktadır. Bu sebeple biyokütlenin çok kullanımlı yakıt formlarına dönüştürülmesi kullanım alanını genişletmekte ve kirlenmeyi minimuma indirmektedir. Biyokütleden çok çeşitli sıvı ve gaz yakıtlar üretilmektedir. Bunların tümü yanma sırasında temel olarak karbondioksit ve su buharı üreten karbon içeren yakıtlardır. Biyokütle, karbon dışı yakıt olan hidrojeni üretmek için de kullanılabilir. Ancak bu prosesi gerçekleştirebilen mevcut teknolojilerin tümü, uygulanamayacak kadar maliyetlidir (Abbasi ve Abbasi 2010). Biyokütleden üretilen yakıtların başında biyoetanol, biyometan, biyohidrojen, biyodizel ve biyobutanol gelmektedir. Tarımsal yenilenebilir enerji sektöründe biyogazın diğer (biyoetanol ve biyodizel) yakıtlara göre en önemli avantajı, üretiminde çok çeşitli organik hammaddelerin kullanılabilir olması ve diğer biyoyakıtlar ulaşım sektöründe yakıt olarak kullanılabilirken metanın ısı ve elektrik enerjisine dönüştürülebilir yakıt olmasıdır. Metan üretiminde ikinci nesil lignoselülozik biyokütle tercih edilmesinin nedenlerinden biri de karbon-nötr olarak kabul edilmesi ve tarımın asıl amacı olan biyoetanol üretiminin yanı sıra çiftçiye ikinci bir pazar kapısı açması ve biyoetanol talebi azaldığında yedek pazar olanağı yaratmasıdır (Jin vd 2012).

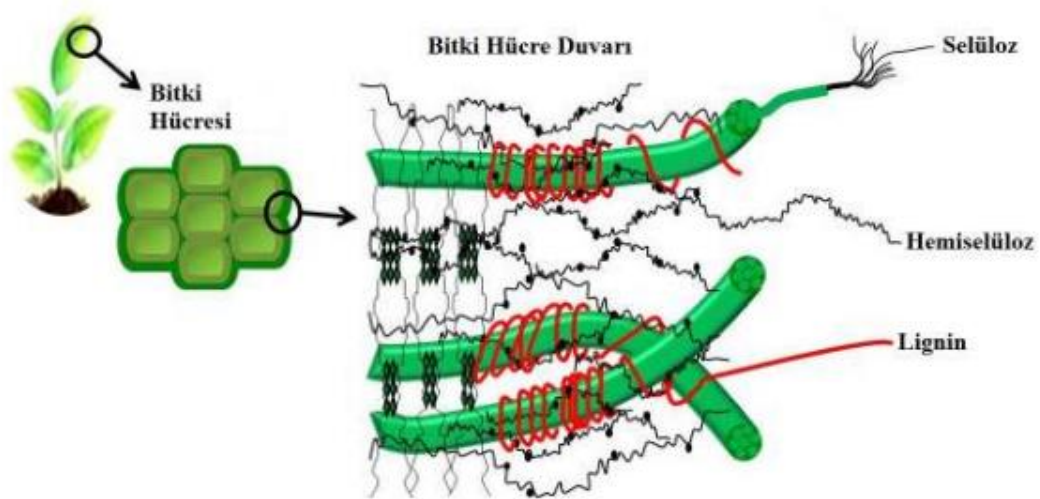
Hammaddelerden anaerobik parçalanma prosesi ile biyogaz üretimi, organik maddenin (karbonhidrat, protein, selüloz, hemiselüloz) biyokimyasal dönüşümler ile çözünebilir organik bileşenlere ve sonraki basamak olan mikrobiyal dönüşümle biyogaz üretimini esas almaktadır.

Anaerobik fermentasyon ile biyokütleden (bitkisel ve hayvansal atıklardan) üretilen biyogaz; karbondioksit (30-40%) ve metan (60-70%) ağırlıklı ısınmada, soğutmada, elektrik üretiminde ve araçlarda motor yakıtlarına alternatif çevre dostu biyoyakıt olarak kullanıma potansiyeli olan gaz karışımıdır. Dizel yakıt kullanan motorlara kıyasla gürültü seviyesinde gözle görülür bir azalma ve egzoz gazı emisyonlarından olan NO_x emisyonu gibi çevreyi negatif etkileyen atık gazda azalma sağlamaktadır (Aydın vd. 2017). 1m³ biyogaz 0.6m³ doğalgaza ve bu da 5500-6000 kcal yani 23 MJ/m³ enerjiye eşdeğerdir. Ayrıca metan enerji değeri standart şartlar altında (0°C, 760 mmHg basıncı) 35.8 kJ/L'tir.

2.3.1. Lignoselülozik Biyokütle: Selüloz, Hemiselüloz ve Lignin

Biyokütle enerjisi üzerinde yapılan çalışmalar sonucu enerji üretiminde kullanılan hammaddeler birinci, ikinci ve üçüncü nesil adı altında kategorize edilmiştir. Besin ve yem potansiyeli olan şeker/nişasta kökenli hammaddeler (buğday, şekerpancarı, mısır vb.) birinci nesil biyokütle olarak değerlendirilirken, besin ve yem değeri içermeyen, biyoenerji hammaddesi olarak kullanıldığında gıda ekonomisinde negatif yönde etki yaratmayan ve aynı zamanda tarımda yeni istihdamlara olanak sağlayan dallı darı, fil otu ve mısır sapı gibi lignoselülozik yapılı hammaddeler ise ikinci nesil biyokütle kategorisine girmektedir. Bu sebeple ekonomiye sağladığı faydalar nedeni ile odak noktası haline gelmiştir. Mikroalgler ise üçüncü nesil biyokütle olarak değerlendirilmektedir (Jin vd. 2012).

Selüloz, hemiselüloz ve ligninin birleşiminden oluşan tüm polimerlere lignoselüloz denilmektedir. Lignoselülozik biyokütle, bitki çeşitliliğinin neredeyse yarısını oluşturmaktadır ve yeryüzünde en bol bulunan organik yenilenebilir kaynaktır. Şekil 2.4'te lignoselülozik maddenin yapısı şematize edilmiştir. Selüloz, hemiselüloz ve lignin, lignoselülozik yapının içerisinde güçlü bağlar ile birbirlerine bağlıdırlar. Kovalent olmayan veya kovalent çapraz bağlarla kimyasal olarak bağlanırlar (Perez-Garcia ve Lippke 2006). Henüz tarım veya ormancılık faaliyetleri sonucu açığa çıkan yan ürünlerin sadece bir kısmı lignoselülozik materyal olarak kullanılmaktadır ve geri kalan kısmı iste atık olarak tanımlanmaktadır. Lignoselülozik materyalin büyük bölümünü selülozik yapı oluşturmakta ve bunu hemiselüloz ve lignin izlemektedir. Selüloz ve hemiselüloz, farklı şeker yapılarından oluşan makro moleküllerdir. Lignin ise fenolpropanoit precursor'dan sentezlenen aromatik bir polimerdir (Abbasi ve Abbasi 2010). Bitki içerisindeki kompozisyonları bitki türlerine göre değişiklik göstermektedir, Çizelge 2.2'de farklı lignoselülozik türlerin içerisinde bulunan bileşenlerin miktarları verilmiştir.



Şekil 2.4. Lignoselülozik maddenin yapısı (Tomme vd. 1995)

Çizelge 2.2. Farklı lignoselülozik hammaddelerin kompozisyonları (Abbasi ve Abbasi 2010; Triolo vd. 2011)

Hammadde	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)	Kül (%)
Arpa samanı	43	30	7	
Mısır sapı	46	35	19	
Pirinç samanı	40	18	7	
Yaprak	15-20	80-85	0	
Fil otu	22	24	23.9	6
Dallı darı	45	31.4	12	

Selüloz: Bitki hücre duvarının ana bileşeni olan selüloz ($C_6H_{10}O_5$)_n, D- glikoz moleküllerinin β - 1,4 bağları ile birbirine bağlanması ile oluşmaktadır. Kaynaklara bağlı olarak, farklı polimerizasyon derecelerinde tekrarlayan doğrusal glukoz zincirlerinden oluşan bir polisakarittir. Bu zincirler, selüloz liflerini oluşturmak üzere bir araya gelmektedirler. Selüloz mikro-lifleri genellikle bağımsızdır, fakat selülozun yapısını çoğunlukla kovalent bağlar, hidrojen bağları ve Van der Waals bağları oluşturmaktadır. Selüloz mikrofibrilindeki hidrojen bağları, zincirin "doğruluğunu" belirlemekte, fakat zincirler arasında bulunan hidrojen bağları selülozun yapısını, kristal ve amorf yapısını etkilemektedir. Glikoz moleküllerinin arasındaki bu kompleks bağların hidroliz ile parçalanmaları oldukça zor olduğundan enzimatik veya kimyasal ön arıtım işlemleri gerekli olmaktadır (Ratanakhanokchai vd. 2013).

Hemiselüloz: Hemiselüloz bitki yapısında en yoğun bulunan ikinci polimerik yapıdır. Selülozdan farklı heterojen polimerlerden oluşmasıdır. Temel olarak pentozlar (ksiloz ve arabinoz) ve heksozların (mannoz, galaktoz ve glikoz) heterojen polimerlerinde oluşmaktadır. Hidrolizasyonu selüloza göre daha kolay olan kısa zincirlerden oluşmaktadır ve moleküler kütlesi daha azdır (Saha 2003). Yapısal lokasyonda selüloz lifleri ve lignin arasında bulunmakta ve bütünlüğü sağlamaktadır. Lignine kovalent bağlar ile bağlanmaktadır.

Lignin: Bitki yapısında en çok bulunan üçüncü polimer yapıdır. Bitkinin hücre duvarlarında bulunmaktadır. Sert ve geçirimsizdir. Mikrobiyal saldırıya ve oksidatif strese karşı direnç sağlamakta ve hücre duvarını sararak burada çimento görevi görmektedir. Lignin, fenil-propan birimlerinin polimerizasyonu ile oluşan karmaşık bir yapıdır (Sánchez 2009). Fermentatif bakterilerin çoğalabilmek için kullandığı selüloz yapısında bulunan glikozu açığa çıkaracak olan enzimlerin selüloz yapısına ulaşabilmeleri için amorf yapılı lignin duvarını geçmeleri gerekmektedir. Lignin yapısını parçalayacak ön arıtım işlemleri büyük önem taşımaktadır.

2.3.2. Dallı Darı (*Panicum Virgatum L.*)

Dallı darı, birçok özelliğinden dolayı son yıllarda Amerika'da üzerinde çalışmalara başlanılan potansiyel biyoenerji bitkisidir. Yüksek üretim verimi (14 ton/akre), geniş adaptasyon yelpazesi, pozitif çevresel faydaları, yenilenebilir kök sistemi, çok yıllık bitki olması ve az besin ihtiyacı ile yüksek dayanıklılıklara sahip olması nedeniyle dikkat çekmektedir (Hu vd. 2011). Rocky Dağları'nın batısındaki ve 55° N enleminin kuzeyindeki bölgeler hariç, Kuzey Amerika'nın birçok bölgesinde bulunan çok

yıllık (10 yıl ve fazlası) ve sıcak mevsimlik bir bitkidir. Bir C₄ türüdür ve C₄ otlarının anatomik ve fizyolojik özelliklerine sahiptir (Boateng vd. 2006).

Birçok türden oluşan iki ana ekotipi bulunmaktadır. Alçak bölgelerde yetişen Alamo ve Kanlow türleri ile yüksek bölgelerde yetişebilen Trailblazer, Blackwell, Cave-in-Rock, Pathfinder ve Caddo türleri olmak üzere çeşitliliği çok olan bir lignoselülozik materyaldir (Hu vd. 2011). Morfolojik olarak 3.5 metre uzunluğunda kök yapısına ve 3 metre uzunluğuna kadar büyüeyebilen gövde yapısına sahiptir. Kimyasal bileşenlerinin popülasyona, büyüme evresine ve örneklenen morfolojik yapısına göre değiştiği rapor edilmiştir. Örneğin, Cave-in-Rock türü elementel analiz sonucu Kanlow ve Alamo türleri ile karşılaştırıldığında daha düşük oranda Cl, Mg, K ve Na bileşenleri olduğu görülmüştür (Lemusa vd. 2003). Kanlow türü dallı darıya ait tarlada yetişkin hali ile çekilmiş görüntüsü Şekil 2.5'te sunulmuştur.



Şekil 2.5. Kanlow türü dikili dallı darı görüntüsü

Dallı darının uzun kök sistemi sayesinde heyelana karşı toprak koruyucu özelliği de bulunmaktadır. Aynı zamanda uzun kök sisteminin bir diğer avantajı ise toprak yüzeyinde bulunan zengin organik materyalin kök ucunun ulaşabildiği kadar toprağın derinliklerine iletilmesini sağlamasıdır. Bu durum bölge toprağının verimliliğini önemli derecede arttırabilmektedir. Küresel ısınma açısından faydalı olabilecek karbondioksit tutulumunu sağlamaktadır. Yapılan bir çalışmada yılda 1.1 ton karbon miktarının dallı darı bitkisi sayesinde toprak altına depolandığı belirtilmiştir (Gebhart vd. 1994).

Dallı darı sahip olduğu yüksek karbon içeriği sayesinde yüksek yem ve enerji potansiyeli özelliği ile ön plana çıkmaktadır. David ve Ragauskas (2010)'ın yaptığı bir çalışmada dallı darının %48 karbon, %46 oksijen, %5.4 hidrojen ve %0.41 azot içerdiği belirtilmiştir. Fakat içeriğinde bulunan saponin bileşiklerinin dallı darı tüketen küçükbaş hayvanlarda karaciğer problemlerine sebep olduğu belirlenmiştir (Stegemeier vd. 2007). Kanlow türü dallı darının azot içeriği incelenmiş 9.9 g/kgTKM azot ile C:N oranı 55.98 olarak bulunmuştur (Jackowiak vd. 2011).

Özetle çok yıllık bir bitki olması, kuru ve verimsiz topraklarda yetişebilmesi, üretim veriminin yüksek olması, az besin ihtiyacının olması, yüksek adaptasyona sahip olması, selüloz ve hemiselüloz miktarının fazlalığı ve karbon içeriğinin fazla olması nedeni ile 1991 yılında Amerika Birleşik Devletleri Enerji Bakanlığı tarafından dallı darı bir enerji bitkisi olarak ilan edilmiştir (Wright ve Turhollow 2010). Bu saptamadan sonra dallı darıdan enerji üretimi ile ilgili konularda yoğun akademik çalışmalar yapılmaya başlanılmıştır.

2.3.3. Dallı Darının Karakterizasyon Özellikleri

Dallı darı karakterizasyonunun tespit edilebilmesi amacıyla genellikle toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), toplam Kjeldahl azotu (TKN), çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ), toplam indirgen şeker (DNS), ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid), toplam şeker (Anthrone), yapısal karbonhidratlar, asitte çözünen ve çözünemeyen lignin, inorganik karbon (İK), toplam karbon (TK) ve toplam organik karbon (TOK) analizleri yapılmaktadır. Karakterizasyon analizlerine ek olarak elementel kompozisyon (C, H, O, N) ve iz element kompozisyonu (Ca, K, Mg, Na, Fe, Al, Cu, Sr, Se ve Mn) analizleri de hammaddenin temel özellikleri hakkında önemli veriler sağlamaktadır.

Dallı darı karakterizasyonu için temel parametrelerden olan TKM ve UKM için literatür incelenmiştir. Yapılan farklı çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 2.3'te sunulmuştur.

Çizelge 2.3'te görüleceği üzere dallı darı TKM miktarı %90.90-%91.77 arasında değişirken, UKM miktarı daha geniş bir skalada %68.46-%84.20 tespit edilmiştir.

Çizelge 2.3. Dallı darı TKM ve UKM miktarları

Parametre	Değer (%)	Kaynak
Toplam Katı Madde (TKM)	91.70	Fahmi vd. 2007
Toplam Katı Madde (TKM)	97.77	Motasemi vd. 2014
Toplam Katı Madde (TKM)	91.60	Imam ve Capareda 2012
Toplam Katı Madde (TKM)	90.90	Sadaka vd. 2014
Toplam Katı Madde (TKM)	91.62	Carpenter vd. 2010
Uçucu Katı Madde (UKM)	68.46	Motasemi vd. 2014
Uçucu Katı Madde (UKM)	84.20	Imam ve Capareda 2012
Uçucu Katı Madde (UKM)	73.1 (Kuru Ağırlıkta)	Sadaka vd. 2014
Uçucu Katı Madde (UKM)	76.0 (Kuru Ağırlıkta)	Carpenter vd. 2010

Dallı darı bitkisine ait selüloz, hemiselüloz, lignin ve ekstrakte olabilen madde analiz sonuçları, literatürde bulunan çalışmalardan derlenerek Çizelge 2.4'te sunulmuştur. Çizelge 2.4'ten görüleceği üzere lignoselülozik yapının büyük çoğunluğunu selüloz ve hemiselülozun oluşturduğu, lignin miktarının daha az olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2.4. Dallı darı selüloz, hemiselüloz, lignin ve ekstrakte olabilen madde içerikleri

Parametre	Değer (%)	Kaynak
Selüloz	24.60	Frigon vd. 2012
Selüloz	31.66	Keshwani ve Cheng 2009
Hemiselüloz	37.40	Frigon vd. 2012
Hemiselüloz	25.04	Keshwani ve Cheng 2009
Ekstrakte Edilebilen madde	18.50	Imam ve Capareda 2012
Lignin	18.60	Liu vd. 2018
Lignin	15.97	Keshwani ve Cheng 2009
Lignin	21.36	Morinelly 2009
Lignin (Asitte çözünen)	1.80	Samuel vd. 2010
Lignin (Klason)	20.9	Samuel vd. 2010

Çizelge 2.4'ten görüleceği üzere dallı darı enerji bitkisinde selüloz ve hemiselüloz miktarı toplam %56-62 aralığında değişmektedir.

Literatürde mevcut çalışmalardan elde edilen dallı darı bitkisi elementel analiz değerleri Çizelge 2.5'te sunulmuştur. Yapılan çalışmalarda karbon miktarı %42.0-48.0 aralığında, oksijen %41.4-47.4 ve hidrojen %5.4-6.1 aralığında değişirken, azot miktarı %0.4 ve sülfür miktarı %0.1 civarında tespit edilmiştir.

Çizelge 2.5. Dallı darı elementel analiz sonuçları

Parametre	Değer (%)	Kaynak
Karbon (C)	48.0	David ve Ragauskas 2010
Karbon (C)	42.0	Imam ve Capareda 2012
Karbon (C)	48.0	Lemus vd. 2002
Hidrojen (H)	5.40	David ve Ragauskas 2010
Hidrojen (H)	5.4	Lemus vd. 2002
Hidrojen (H)	6.1	Imam ve Capareda 2012
Azot (N)	0.41	David ve Ragauskas 2010
Azot (N)	0.41	Lemus vd. 2002
Azot (N)	0.4	Imam ve Capareda 2012
Oksijen (O)	41.4	Lemus vd. 2002
Oksijen (O)	47.4	Imam ve Capareda 2012
Sülfür (S)	0.16	Lemus vd. 2002
Sülfür (S)	0.1	Imam ve Capareda 2012

Dallı darı yapısal karbonhidrat içeriğine ait literatür verileri Çizelge 2.6'da verilmiştir. Dallı darı yapısında büyük oranda glukoz ve ksilan bulunduğu gözlenmektedir. Glukoz miktarı %31-45 aralığında iken, ksilan miktarı %17-26 arasında değişiklik göstermektedir. Diğer yapısal karbonhidratlardan arabinan, mannan ve galaktan toplam miktarının %2.80'den az olduğu tespit edilmiştir.

Dallı darı iz element içeriği ile ilgili bulunan literatür verileri Çizelge 2.7'de sunulmuştur. Bitki yapısında en yoğun olarak K, Ca ve P iz elementlerine rastlanmıştır.

Çizelge 2.6. Dallı darıya ait yapısal karbonhidrat içeriği

Parametre	Değer (%)	Kaynak
Glukan	36.60	Suryawati vd. 2008
Glukan	34.50	Liu vd. 2018
Glukan	45.60	Samuel vd. 2010
Glukan	31.99	Xu vd. 2010
Ksilan	21.90	Liu vd. 2018
Ksilan	21.00	Suryawati vd. 2008
Ksilan	26.10	Samuel vd. 2010
Ksilan	17.90	Xu vd. 2010
Galaktan	1.00	Suryawati vd. 2008
Galaktan	1.10	Samuel vd. 2010
Galaktan	1.73	Xu vd. 2010
Arabinan	2.80	Suryawati vd. 2008
Arabinan	3.10	Samuel vd. 2010
Arabinan	1.87	Xu vd. 2010
Mannan	0.80	Suryawati vd. 2008
Mannan	0.50	Samuel vd. 2010

Çizelge 2.7. Dallı darı iz element analizi literatür verileri

Parametre	Değer (ppm)	Kaynak
Aluminyum (Al)	76	David ve Ragauskas 2010
Kalsiyum (Ca)	3512	David ve Ragauskas 2010
Potasyum (K)	10894	David ve Ragauskas 2010
Klor (Cl)	1596	David ve Ragauskas 2010
Fosfor (P)	3844	David ve Ragauskas 2010
Kükürt (S)	865	David ve Ragauskas 2010

Grigatti vd. (2004), dallı darı çeşitleri arasındaki karakterizasyon farklarını araştırdıkları çalışmalarında Alamo, Kanlow, Shawneé ve Trailblazer çeşidi dallı darıların TKN miktarlarını sırası ile 8.9 mg/g, 6.6 mg/g, 7.5 mg/g ve 6.4 mg/g olarak bulmuşlardır. Jackowiak vd. (2011), Kanlow çeşidi dallı darı ile gerçekleştirdikleri karakterizasyon analizlerinde TKN miktarını 0.99 mg/gTKM bulmuşlardır.

Butkutė vd. (2013) yaptıkları çalışmada dallı darı bitkisinin çözünmüş indirgen şeker miktarını analiz etmişler ve sonucu 26.6-678 mg/gTKM aralığında bulmuşlardır. Adler vd. (2006), Cave in Rock çeşidi dallı darı bitkisinin suda çözülen karbonhidrat fraksiyonlarını detaylı olarak incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada dallı darıdan 9,6 mg glikoz/gTKM, 7.4 mg fruktoz/gTKM, 38.2 g sakaroz/gTKM olmak üzere toplam 55.2 mg/gTKM şekerin suya geçtiğini bulmuşlardır.

Jackowiak vd. (2011), Kanlow çeşidi dallı darı numunesinin KOİ değerini 350 mg/gTKM olarak ölçmüştür.

Dallı darının asitte çözünen lignin fraksiyonu farklı araştırmacılar tarafından %8.56 Fahmi vd. (2007), %3.7 Esteghlalian vd. (1997) ve %1.8 Samuel vd. (2010) olarak

ölçülmüştür. Asitte çözünmeyen (Klason) lignin fraksiyonu ise %20.9 Samuel vd. (2010), %25.6 Hu vd. (2011) ve %19.5 Esteghlalian vd. (1997) olarak ölçülmüştür.

Dallı darı kullanılarak yapılan Vans Soest fraksiyonu analiz sonuçları incelendiğinde Imam vd. (2012) %18.5 ekstrakte olabilen madde, %19.2 hemiselüloz, %32 selüloz ve %18,8 lignin bulurken, Perez vd. (2015) %8.5 ekstrakte olabilen madde, %36 hemiselüloz, %33 selüloz ve %20 lignin bulmuştur. Carpenter vd. (2010) %25.2 hemiselüloz, %31.1 selüloz ile %16,8 lignin ve Adler vd. (2006) %26.5-29.9 hemiselüloz, %28,6-34,8 selüloz ile %13-14.2 lignin sonuçlarını tespit etmişlerdir.

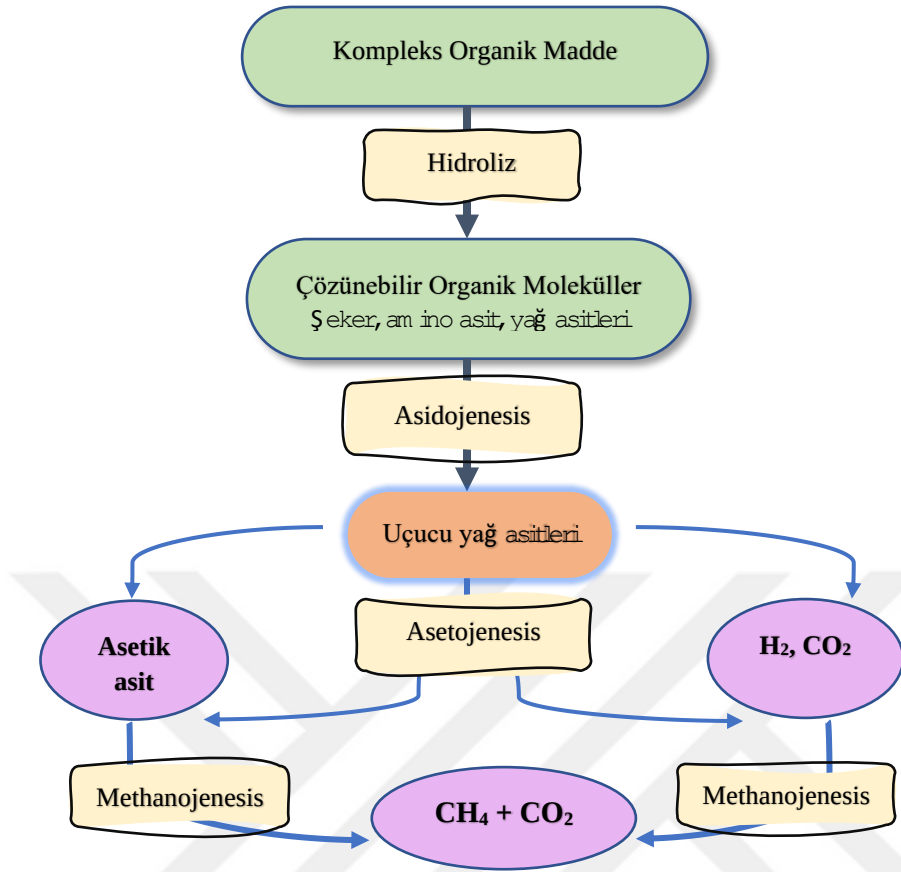
İz element sonuçları incelendiğinde sınırlı sayıda çalışma bulunmuş olup, Fahmi vd. (2007) dallı darıda 102 ppm Al, 6173 ppm Ca, 2 ppm Cu, 113 ppm Fe, 717 ppm K, 542 ppm Mg, 41 ppm Mn, 0 ppm Mo, 158 ppm Na olduğunu belirlemiştir.

2.4. Anaerobik Parçalanma ve Mekanizması

Anaerobik fermantasyon üç ana temel işlevi üstlenmektedir. Birincisi, biyokütlede bulunan enerjinin depolanıp taşınabilen kullanışlı bir yakıta (biyogaz) dönüştürülmesi sağlanmaktadır. İkincisi, organik atıklar kararlı toprak katkı maddelerine, yani değerli gübreye dönüştürülmektedir. Üçüncüsü ise organik maddelerin çevre üzerinde yaratacağı olumsuz etkileri azaltmayı amaçlayan bir atık işleme yöntemidir (Ziemiński 2012).

Biyogaz üretimi, anaerobik koşullar (oksijensiz) altında meydana gelen bir dizi biyokimyasal reaksiyonların sonunda sağlanmaktadır ve indirgenme işlemidir. Çeşitli anaerobik ve kısmen anaerobik bakterilerin simbiyotik etkileri sonucu, kompleks organik maddeler basit, kimyasal olarak stabilize edilmiş bileşiklere, özellikle de metan ve karbondioksit dönüştürülmektedir (Naik vd. 2010). Genel olarak bu işlem, sıvılaştırma ve çözünmeyen bileşiklerin hidrolizinden ve ara ürünlerin biyogaz karışımına dönüştürülmesinden oluşmaktadır (Lyberatos ve Skiadas 1999). Anaerobik metan fermantasyonu çeşitli bakterilerin görev alması ile hidroliz, asidojenesis, asetojenesis ve metanojenesis olmak üzere 4 ana basamakla tamamlanmaktadır

Anaerobik metan fermantasyonu prosesi sadece biyogaz üretiminde değil aynı zamanda atıkların (kanalizasyon atıkları, gübre, endüstriyel atıksu ve kentsel atıkların organik fraksiyonları) stabilizasyonunda kullanılan önemli bir prosestir (Claassen vd. 1999; Finstein 2010).



Şekil 2.6. Anaerobik parçalanma basamakları ve ürünler

Metan fermentasyonunun son basamağında bulunan arkeler zorunlu anaeroblardır. 0.01 mg/L kadar az miktarda oksijen bile arkelerin büyüme ve çoğalmalarına engel olmaktadır. Ortam sıcaklığı metan fermentasyonu için en önemli kriterlerden biridir. Organik materyalin anaerobik hidrolizi geniş bir sıcaklık yelpazesinde (10-60°C) gerçekleşebiliyor olmasına rağmen metanojenik arkelerin protein yapılarının sıcaklık dirençleri oldukça zayıftır ve optimum çalışma koşulları 35-37°C aralığındadır (Mashaphu 2005). Anaerobik parçalanma prosesinde pH bir diğer önemli parametredir. pH değeri, organik ve inorganik bileşiklerin çözünürlüğünü ve mikroorganizmaların düzgün çalışmasını etkilemektedir. Hidroliz bakterileri için optimum pH çalışma aralığı 5.2 ve 6.3 iken, metan arkeleri 6.8 ve 7.2 arasında sabit nötr koşullara ihtiyaç duymakta ve ufak değişimleri bile çoğalma ve aktivitelerini negatif yönde etkileyebilmektedir. Anaerobik parçalanma için en uygun pH aralığı 6.7-7.5 olarak belirlenmiştir (Bryant 1979; Lyberatos ve Skiadas 1999).

Anaerobik parçalanma sistemlerinde alkalite değeri (ALK) 1000 – 5000 mg CaCO₃/L aralığında değişkenlik gösterebilmektedir (Tchobanoglous vd. 2003). Sistemin stabilitesi UYA/ALK (Uçucu Yağ Asitleri/Alkalite) değeri hesaplanarak değerlendirilmektedir. Anaerobik arıtma sistemleri için, istenilen optimum UYA/ALK oranı 0.1-0.25 aralığındadır. Daha düşük oranların görüldüğü durumlarda mikroorganizmaların yeterli besini bulamadığı düşünülmektedir. Bu oranın 0.3 ve üzeri değerlere çıkması durumlarında sistemde bir problem olabileceği göz ardı edilmemelidir.

UYA/ALK oranının 0.8 seviyesinin üzerine çıkması, UYA değerindeki artış ve ALK değerindeki azalış sonucu pH'da sistemin dengesini etkileyebilecek ani bir düşme meydana gelmekte ve bu durum metanojenlerin inhibe olduğunu göstermektedir (WPCF 1987). Ortamın pH'sının belirtilen aralıklarda optimum seviyede olmasını sağlamak için sodyum bikarbonat, amonyum hidroksit, sodyum karbonat, sodyum veya potasyum hidroksit, kireç gibi kimyasallar kullanılarak sistemdeki alkalite ihtiyacı karşılanabilmektedir.

Anaerobik parçalanma prosesinde yeni hücrelerin üremesini desteklemek için mikro (iz elementler) ve makro nütrientlere (azot ve fosfor) gereksinim duyulmaktadır. Mikro ve makro nütrientler mikroorganizmanın temel bileşenleridir ve sistem içerisinde bulunan mikroorganizma hücrelerinin büyümesi ve yeni hücrelerin sentezi için ihtiyaç duyulan besin elementleridir (Khanal 2009). Anaerobik proste mikroorganizma hücrelerinin formülü $C_5H_7O_2N$ olarak kabul edilmektedir ve buna göre mikroorganizma sentezinde ihtiyaç duyulan azot ve fosfor miktarı hesaplanmaktadır (Speece ve McCarty 1964). Formüle göre biyokütle hücresinin kütlesi yaklaşık olarak %12 azot içermektedir. Biyokütlenin fosfor ihtiyacı, azot ihtiyacının $1/7 - 1/5$ 'ine karşılık gelmektedir. Azot kaynağı olarak; sıvı amonyak, üre ve amonyum klorür kullanılmaktadır. Aynı şekilde fosfor kaynağı olarak, fosfor tuzları ve fosforik azot kullanılmaktadır (Speece ve McCarty 1964).

2.4.1. Hidroliz

Proteinler, karbonhidratlar ve yağlar gibi makro-moleküler yapıların hidrolizi genellikle, anaerobik şartlar altında, metana dönüşüm prosesinde görev alan hücre dışı hidrolazlar (amilaz, proteaz ve lipaz) tarafından yapılmaktadır. Bu basamakta karbonhidratlar şekerlere, proteinler aminoasitlere ve yağlar uzun zincirli yağ asitleri ve gliserine dönüştürülmektedirler (Mashaphu 2005). Substratın selüloz olması durumunda selülozun zor parçalanabilir olmasından dolayı Hidroliz, fermentasyonun hız sınırlayıcı basamağı olarak adlandırılmaktadır. Hidroliz hızı, numunenin partikül büyüklüğü, pH, enzim üretimi, enzimlerin partiküllere adsorpsiyonu ve difüzyon gibi parametrelere bağlıdır. Katı atıkların parçalanması sırasında, organik bileşiklerin sadece %50'si biyolojik bozulmaya uğramaktadır. Bileşiklerin geri kalan kısmı, parçalanmalarına katılan enzimlerin eksikliği nedeniyle ayrışmadan birincil durumda kalmaktadır (Parawira vd. 2008). Fermantatif bakteriler, organik polimerleri hidrolize eden ve monomerleri alkole, yağ asitlerine ve H_2 'ye katabolize eden enzimleri salgılamaktadırlar. Protein hidrolizi sonucu açığa çıkan amino asitler ve peptitler anaerobik mikroorganizmalar için enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Mashaphu 2005).

2.4.2. Asidojenesis

Asidojenesis, organik maddenin uçucu yağ asitleri ve alkollerle heterojen bir popülasyon tarafından biyolojik olarak ayrışmasını içermektedir. Bu aşamada asidogen bakteriler, hidroliz ürünleri de dahil olmak üzere suda çözünebilen kimyasal maddeleri kısa zincirli organik asitlere (asetik, propiyonik, formik, bütirik ve pentanoik), alkollere (etanol ve metanol), aldehitlere, karbondioksite ve hidrojene dönüştürmektedir. Mikroorganizma popülasyonunun etkilerinden dolayı asidojenesis iki yönlü gerçekleşebilmekte ve hidrojenasyon ve dehidrojenasyon olarak adlandırılır. Temel

reaksiyonlar sonucu asetat, CO₂ ve H₂'nin yanı sıra yan ürünler de oluşmaktadır. Oluşan bu yan ürünler metanojenler tarafından substrat ve enerji kaynağı olarak direkt kullanılabilir. Laktat, etanol, propiyonat, bütirat ve daha yüksek uçucu yağ asitleri ile elektronların biriktirilmesi, çözeltideki hidrojen konsantrasyonunun artmasına karşın bakterilerin verdiği bir tepkidir. Bu durumda yan ürünler metanojenik bakteriler tarafından kullanılamaz ve asetojenesis basamağında görev alan hidrojen üreten bakteriler tarafından dönüştürülmelidirler (Claassen vd. 1999; Ntaikou vd. 2010).

2.4.3 Asetojenesis

Bu basamakta, asetojen bakteriler, asit faz ürünlerini metanojenler tarafından kullanılabilir olan asetatlar ve H₂'ye dönüştürmektedir. Asetojenesis basamağının bir sonucu olarak, bu işlemi gerçekleştiren mikroorganizmalar üzerinde toksik etkiler sergileyen hidrojen üretilmektedir. Bu nedenle, sintrofi olarak adlandırılan ve hidrojen tüketen metan bakterileri ile asetojenik bakteriler arasında simbiyotik bir ilişkinin kurulması gereklidir (Schink 1997).

Asetojenesis, biyogaz üretiminin verimini gösteren basamaktır. Çünkü metanın yaklaşık %70'i asetatların indirgenmesi sürecinde üretilmektedir. Sonuç olarak, asetatlar, anaerobik parçalanma prosesinin önemli bir ara ürünüdür. Asetojenesis basamağında, yaklaşık %25 oranında asetat oluşmakta ve atıkların parçalanma sürecinde yaklaşık %11 oranında hidrojen üretilmektedir (de Bok vd. 2005; Schink 1997).

2.4.4. Metanojenesis

Metanojen arkelerin, daha önceki basamaklarda oluşan asetik asit, H₂, CO₂, metanol, dimetil sülfür, metilamin gibi ürünleri kullanarak metan üretimini gerçekleştirdiği basamaktır. Sadece birkaç arke türü asetik asitten metan üretme potansiyeline sahipken, üretilen CH₄'ün büyük çoğunluğu asetik asidin heterotrofik metan bakterileri tarafından dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır (Demirel ve Scherer 2008). Bu basamakta metanın sadece %30'u, ototrofik metan arkeleri tarafından CO₂ indirgenmesi yoluyla üretilmektedir. Bu işlem sırasında, asidogenesis aşamasında kısa zincirli organik asitlerin oluşumuna neden olan asidojenlerin gelişmesi için optimum koşulları oluşturan H₂ kullanılmakta ve sonuç olarak asetojenik fazda oldukça düşük miktarlarda H₂ üretimi gerçekleşmektedir. Bu dönüşümlerin sonucunda, ortam CO₂ açısından zengin olabilmekte, çünkü CO₂'in yalnızca önemsiz bir kısmı metan haline dönüştürülmektedir. Metan üretiminin %70'i asetik asidin parçalanmasından elde edilmektedir (Griffin vd. 1998; Karakashev ve Angelidaki 2005).

2.4.5. Anaerobik parçalanmada substrat olarak kullanılan biyokütle ve atıklar

Biyogaz üretiminin biyoteknolojisi, genellikle çeşitli organik atık türlerinin, gıda endüstrisi atık sularının, atık su arıtma çamurlarının, hayvan dışkılarının veya belediye katı atıkların organik fraksiyonlarının parçalanmasını ifade etmektedir. Bazı ülkelerde bu amaçla yetiştirilen bitkiler de (mısır, pancar vb.) vardır. Biyokütle enerjisi çerçevesinde hammadde olarak odun (orman atıkları, enerji ormanları), karbonhidrat yoğun bitkiler (mısır, patates, buğday, pancar vb.), yağlı tohum bitkileri (ayçiçeği, soya, pamuk, kolza, vb.), elyaf bitkileri (kenevir, keten, sorgum, vb.), bitkisel atıklar (saman, kök, sap, kabuk

vb.) ve hayvansal atıklar ile endüstriyel ve şehirsal atıklar kullanılabilmektedir (Karaosmanoglu 2006). Çizelge 2.8’de çeşitli biyokütle ve atıklardan üretilen biyogaz verimi ve metan yüzdeleri verilmiştir. Besin ve yem potansiyeli olan birinci nesil olarak nitelendirilen şeker/nişasta kökenli hammaddelerden (buğday, şekerpancarı, mısır vb) üretilen biyoyakıt yerine ikinci nesil lignoselülozik biyokütleden (dallı darı, fil otu, mısır sapı vb) üretilen biyoenerji ürünleri gıda ekonomisini negatif yönde etkilememesi ve tarımda yeni istihdamlar sağlayabilmesi nedeniyle odak noktası haline gelmiştir. Metan üretiminde ikinci nesil lignoselülozik biyokütle tercih edilmesinin nedenlerinden biri de karbon-nötr olarak kabul edilmesi, tarımının asıl amacı olan biyoetanol üretiminin yanı sıra çiftçiye ikinci bir pazar kapısı açması ve biyoetanol talebi azaldığında yedek pazar olanağı yaratmasıdır. (Jin vd. 2014).

Çizelge 2.8. Çeşitli biyokütle ve atıklardan üretilen biyogaz miktarları ve metan yüzdeleri (YEGM)

Kaynak	Biyogaz verimi (Litre/kg)	Metan miktarı (%)
Sığır gübresi	90-310	65
Kanatlı gübresi	310-620	60
Domuz gübresi	340-550	65-70
Buğday samanı	200-300	50-60
Çavdar samanı	200-300	59
Arpa samanı	290-310	59
Mısır sapları ve atıkları	380-460	59
Keten ve kenevir	360	59
Çimen	280-550	70
Sebze atıkları	330-360	Değişken
Ziraat atıkları	310-430	60-70
Yerfıstığı kabuğu	365	---
Dökülmüş ağaç yaprakları	210-290	58
Algler	420-500	63
Atıksu çamuru	310-800	65-80

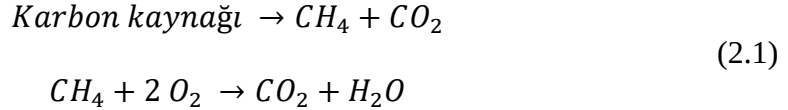
2.5. Biyogaz

Biyogaz, organik maddeyi parçalayan metanojenik anaerobik arkelerin reaksiyonları sonucunda üretilen bir gazdır. Genellikle organik madde açısından zengin olan yüksek yüklü atıksulardan, evsel katı atıklardan, tarımsal ve hayvansal atıklardan ve enerji bitkilerinden anaerobik fermentasyon ile üretilmektedir (Rulkens 2008).

Önemli bir yakıt kaynağı olan metan gazı metanojenezis basamağında üretilmektedir. Mekanik, elektrik ve ısı enerjisi üretiminde kullanılmaktadır (Pind vd. 2003). İçten yanmalı motorlarda yakıt olarak kullanılabildiğinin yanı sıra, metan gazı doğal gaz boru hatları üzerinden iletilerek ve mikrobiyal veya kimyasal yollarla metanole dönüştürülerek evlerde ve sanayide yakıt kaynağı olarak kullanılabilmektedir (Turley vd. 1981).

Biyogaz kompozisyonu parçalanma prosesinde kullanılan hammaddenin türüne bağlı olarak değişiklik göstermekte ve %60-70 CH₄, %30-40 CO₂, %0-1 hidrojen sülfid, %0-1 hidrojen, %0-2 nitrojen ve %2-7 su buharı içermektedir (De Graaf ve Fendler 2010).

Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), biyokütle içerisindeki organik madde miktarını dolaylı olarak belirtmektedir. Bu sayede teorik metan verimi hesaplanabilmektedir. Eşitlik (2.1) incelendiğinde, karbonun karbondioksit oksitlenebilmesi için 1 mol metan 2 mol oksijene ihtiyaç duyar. Bu denklem sonucu teorik olarak giderilen her 1 kg KOİ başına 0.35m³ metan üretilmektedir (Forgacs 2012).



1m³ metan gazının standart şartlardaki ısı değeri 35.800 kJ/m³ tür. Biyogaz CH₄ ve CO₂ karışımı olduğundan bu karışımın ısıtma değeri, bileşim yüzdesine bağlı olarak 2.200-30.000kJ/m³ olarak verilmektedir (Perendeci 1997). Çizelge 2.9 ve Çizelge 2.10'da biyogaz ve metana ait genel özellikler sunulmuştur (Deublein ve Steinhauser 2008).

Çizelge 2.9. Biyogazın genel özellikleri

Kompozisyon	%60-70 Metan (CH ₄) %30-40 Karbondioksit (CO ₂) Eser miktarda diğer gazlar
Enerji içeriği	6.0-6.5 kWsa m ⁻³
Yakıt eşdeğeri	0,60- 0,65 L petrol/m ³ biyogaz
Patlama limitleri	Hava ile %6-12
Tutuşma sıcaklığı	650-750°C (yukarıdaki metan içeriği ile)
Kritik basınç	75-89 bar
Kritik sıcaklık	-82.5°C
Normal yoğunluk	1.2 kg/m ³
Koku	Çürük yumurta (sülfür giderimi yapılmayan biyogazda hissedilmektedir)
Molar kütlesi	16.043 kg kmol ⁻¹

Çizelge 2.10. Metan gazının genel özellikleri

	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	Yoğunluk (kg L ⁻¹)
Kritik nokta	-82.9	45.98	0.162
Kaynama noktası (1 atm)	-161.52	-	0.4226

Metan verimi aynı hammaddenin farklı kimyasal içeriğine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Weiland (2010) yağlar, karbonhidratlar, proteinler ve lignin içeriklerinin maksimum biyogaz verimini ve metan içeriği yüzdesini incelemiştir, elde edilen sonuçlar Çizelge 2.11'de sunulmuştur. Yağlar ve proteinler, karbonhidratlardan daha yüksek metan üretme potansiyeline sahiptirler. Ayrıca lignin, anaerobik parçalanma koşulları altında çözünebilir değildir (Weiland 2010).

Çizelge 2.11. Maksimum biyogaz verimi ve metan içeriği (Weiland 2010)

İçerik	Biyogaz (Nm ³ t ⁻¹ TKM)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)
Yağ	1200-1250	67-68	32-33
Karbonhidratlar	790-800	50	50
Protein	700	70-71	29-30
Lignin	0	0	0

2.6. Dallı Darı Enerji Bitkisinden Metan Üretimi

Dallı darının selüloz ve hemiselüloz miktarı ile karbon içeriğinin fazla olması nedeniyle 1991 yılında Amerika Birleşik Devletleri Enerji Bakanlığı tarafından enerji bitkisi olarak ilan edilmiştir (Wright ve Turhollow 2010). Dallı darıdan etanol ve metan üretimi konularında akademik çalışmalar genellikle etanol üretimine odaklanmıştır. Bununla birlikte, dallı darıdan metan üretimi konusunda yapılan çalışmalar da bulunmaktadır. Dallı darı'dan metan üretim potansiyeli konusunda yapılan çalışmalar Çizelge 2.12'de sunulmuştur.

Çizelge 2.12. Dallı darı'dan metan üretim potansiyeli konusunda yapılan çalışmalar

Substrat	Koşullar	Elde Edilen Sonuç	Kaynak
Dallı Darı	Kesikli reaktör; 1:12 F:M, 8% katı madde içeriği, 35°C'de 44 gün işletilmiştir.	Maksimum biyogaz miktarı 20.25 mL/g.UKM.gün değerine ulaşmıştır. %50.34 metan oranı ile en fazla 10.19 mLCH ₄ /gUKM.gün değeri elde edilmiştir. Kümülatif metan miktarı 135.31 mL CH ₄ /gUKM'dir.	Niu vd. 2015
Dallı Darı	Kesikli reaktör; 1:2 F:M, 125 mL çalışma hacminde ve 35°C'de 38 gün işletilmiştir.	Kümülatif metan üretim potansiyeli 112.4 mL CH ₄ /gUKM olarak belirlenmiştir.	Frigon vd. 2012
Dallı Darı	Kesikli reaktör; 1:4.5 F:M, ile 58 gün işletilmiştir. Bu süreç içerisinde 12 kez belli aralıklarla biyogaz ölçümü yapılmıştır.	11. günden sonra biyogaz üretiminin azaldığı gözlenmiş ve üretilen toplam metan miktarı 216 mLCH ₄ /gUKM olarak belirlenmiştir.	Barbanti vd. 2014
Dallı Darı	Katı ve sıvı anaerobik fermantasyon incelenmiştir. Katı fermantasyonda 18-19% KM içeren dallı darı ve sıvı fermantasyonda ise 5% KM içeren dallı darı kullanılmıştır. 1L kapasiteli kesikli reaktörler 30 gün mezofilik koşullarda çalıştırılmıştır.	Atıksu arıtma tesisinden temin edilen arıtma çamurunun aşısı olarak kullanıldığı kesikli anaerobik fermantasyon sisteminde toplam metan üretimi katı fermantasyonda 116.9 mLCH ₄ /gUKM iken, sıvı fermantasyonda 111.0 mLCH ₄ /gUKM olarak bulunmuştur.	Brown vd. 2012

Substrat	Koşullar	Elde Edilen Sonuç	Kaynak
Dallı Darı	500 mL çalışma hacmi olan reaktörlerde, 0:4, 3:1 ve 2:2 F:M oranında büyükbaş gübresi ile yapılan ko-fermantasyon çalışmasında metan verimleri F:M oranına göre incelenmiştir. Anaerobik aşı miktarı tüm şişelerde sabit 300 mL olarak kullanılmıştır.	Sırası ile toplam üretilen metan miktarı 88.9 mLCH ₄ /gUKM, 113.7 mLCH ₄ /gUKM ve 155.1 mLCH ₄ /gUKM olarak bulunmuştur. Dallı darının 3:1 ve 2:2 oranında eklendiği reaktörlerde, dallı darı bulunmayan (0:4) reaktöre göre sırasıyla 33% ve 74% oranında daha fazla metan üretildiği saptanmıştır.	Zheng vd. 2015
Dallı Darı	100:0, 80:20, 60:40, 50:50, 40:60, 20:80 ve 0:100 dallı darı ve atıksu arıtma çamuru karışımları ile yapılan ko-fermantasyonda 60 günlük metan verimleri incelenmiştir.	En yüksek kümülatif metan verimi 272.06 mLCH ₄ /gUKM olarak 60:40 karışım oranında elde edilmiştir. Dallı darı oranı 60%'ın üzerine çıktığı durumda metan veriminin azaldığı gözlenmiştir.	Ciggin 2016
Dallı Darı	Yiyecek atıkları dallı darı ile 1:0 1:1 ve 0:1 oranlarında karıştırılarak mezofilik (30 gün) ve termofilik (18 gün) koşullarda 4, 5, 6, 7 ve 8 gTKM/L yükleme miktarlarında metan üretim potansiyelleri incelenmiştir.	En yüksek metan verimi mezofilik ve termofilik koşullarda 5 gTKM/L besleme miktarı ile elde edilmiştir. 1:0, 1:1 ve 0:1 yiyecek atığı:dallı darı karışım oranlarında mezofilik koşullarda sırası ile 218, 234 ve 236 mLCH ₄ /gUKM ve termofilik koşullarda 176, 234 ve 147 mLCH ₄ /gUKM kümülatif metan miktarı elde edilmiştir.	Uma vd. 2020
Dallı Darı	6 gUKM/L dallı darı ile 1:1 F:M oranında (UKM bazında) 500 mL hacimde mezofilik koşullarda çalışılmıştır. Dallı darıya %4 NaOH ve %3 KOH ön arıtma uygulanarak metan üretim verimleri karşılaştırılmıştır.	Ham dallı darının kümülatif metan potansiyeli 46.3 mLCH ₄ /gUKM olarak ölçülmüştür. %4 NaOH ön arıtma ile muamele edilen dallı darıdan %325.9 bir artış ile 197.2 mLCH ₄ /gUKM metan üretim potansiyeli elde edilmiştir. %3 KOH ön arıtma sonrasında ise %278.8 bir verim artışı ile 175.4 mLCH ₄ /gUKM kümülatif metan üretim verimi tespit edilmiştir.	Shen vd. 2020
Dallı Darı	Atıksu arıtma tesisinden elde edilen anaerobik aşı ile 1:2 F:M (UKM bazında) karışım oranında 400 mL reaktör hacmi ile mezofilik koşullarda 50 gün süresince çalışılmıştır.	Ham ve enzimatik hidroliz ön arıtımı uygulanan dallı darıdan sırası ile 215 ve 402 mLCH ₄ /gUKM elde edilmiştir. Ön arıtım uygulanan dallı darının spesifik metan potansiyelinde ham'a göre %86'lık bir artış görülmüştür.	Başar vd. 2020

Gerçek ölçekte metan üretiminde kullanılması planlanan hammaddeden üretilebilecek biyogaz ve metan potansiyelinin tespit edilmesinde kesikli biyokimyasal metan potansiyeli (BMP) testi kullanılmaktadır. Kesikli BMP testinde hammadde anaerobik ve mezofilik koşullarda mikroorganizmalar tarafından parçalanmakta ve biyogaz üretilmektedir. Kesikli sistemlerin, sürekli ve yarı sürekli sistemlerden en önemli farkı, sistem çalıştırıldıktan sonra reaktöre dışarıdan müdahale yapılmamakta ve substrat ekleme ya da işlenmiş ürün çıkartma (besleme ve boşaltma) gibi herhangi bir işlem uygulanmamaktadır.

Kesikli sistemlerde konsantrasyon, sıcaklık, basınç ve yoğunluk gibi parametreler zamana bağlı değişkenlik gösterebilirken, tam karışimli yarı-sürekli reaktör sisteminde koşullar sabit kalmaktadır. Tam karışimli reaktörlerde tank içeriğinin her noktada homojen olması sağlanmaktadır ve sıcaklık, pH gibi parametreler reaktörün her noktasında eşit kabul edilmektedir. Kesikli sistemlerde karışım yapılmadığı durumda bazen reaktörün farklı bölümlerinde farklı reaksiyonlar gözlenebilmektedir. Bu reaksiyonlar ürün kalitesi açısından oldukça önemli rol oynamaktadırlar (Sean 2015).

Kesikli reaktör sistemlerinde tüm bileşenler reaktör içerisine konulmakta ve reaktör kapatılarak anaerobik fermantasyon başlatılmaktadır. Tam karışimli yarı-sürekli sistemlerde ise bileşenler reaktör içerisine konulmakta ve belirli aralıklarla reaktöre besleme yapılmaktadır. Bu sistemlerde besleme sürekli olmadığından, belirli saatler veya günler aralığında yapıldığından dolayı bu sistemlere yarı-sürekli beslemeli sistemler adı verilmektedir. Besleme ve çıkış miktarları reaktör çalışma hacmi seviyesinin sabit kalması için aynı olmalıdır.

Literatürde, dallı darının anaerobik parçalanmasını yarı-sürekli beslemeli tam karışimli reaktörler ile inceleyen sınırlı sayıda çalışma tespit edilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 2.13'te sunulmuştur.

Çizelge 2.13'ten görüleceği üzere, sadece dallı darının kullanıldığı yarı sürekli anaerobik reaktör sistemlerinde mezofilik (35°C) koşullar tercih edilmiş olup, SRT 30 gün civarında ve OLR 0.52-1.05 gUKM/L.gün aralığında işletilmiştir. Bu koşullarda, üretilen metan miktarı 120-328 mLCH₄/gUKM.Gün aralığında ölçülmüştür.

Yapılan çalışmalardan sadece dallı darının kullanılması durumunda elde edilen metan miktarının, dallı darının ko-fermantasyonu sonunda elde edilen metan miktarından düşük olduğu görülmektedir.

Ayrıca, sınırlı sayıdaki bu çalışmalardan yarı sürekli sistem kullanılarak elde edilen metan miktarının, kesikli sistem kullanılarak elde edilen metan miktarlarından yüksek olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 2.13. Literatürde dallı darı'nın yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör sistemde fermentasyonunu inceleyen çalışmalar

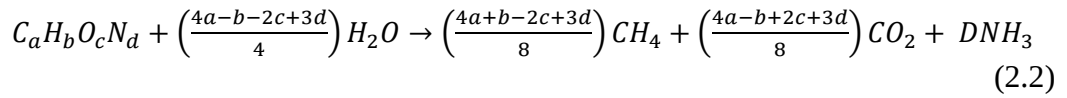
Substrat	Koşullar	Elde Edilen Sonuçlar	Kaynak
Dallı Darı	1L çalışma hacmine sahip reaktör, 30 gün SRT'de 0.52 gUKM/L.gün OLR ile iki günde bir besleme yapılarak işletilmiştir. İnce öğütülmüş (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darının metan üretim verimleri karşılaştırılmıştır. Atıksu arıtma tesisinden alınan arıtma çamurları ile birlikte anaerobik parçalanma verimleri incelenmiştir.	Lokal bir atıksu arıtma tesisinden alınan %72 birincil ve %28 ikincil arıtma çamurları ile dallı darının birlikte anaerobik parçalanabilirliği incelenmiştir. Metan üretim verimi ince öğütülmüş (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darı içeren koşullarda 296 ve 14 mLCH ₄ /gUKM olarak elde edilmiştir.	Jin vd. 2014
Dallı Darı	1L çalışma hacminde, 30 gün çamur yaşında (SRT) ve 1.05 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızı (OLR) değerinde iki günde bir besleme yapılarak işletilen sistemde ince öğütülmüş (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darının metan üretim verimleri karşılaştırılmıştır. Büyükbaş hayvan atıklarını işleyen tesisten alınan aşı çamuru ile anaerobik parçalanabilirlik prosesi incelenmiştir.	Bir önceki çalışmalarından farklı olarak büyükbaş hayvan atıklarını işleyen anaerobik reaktörden alınan aşı çamuru ile anaerobik fermentasyon uygulanmıştır. Dallı darı metan üretim verimi ince öğütülmüş (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darı içeren koşullarda 252 ve 328 mLCH ₄ /gUKM olarak elde edilmiştir.	Jin ve Bierma 2014
Dallı Darı	1 L çalışma hacmine sahip ve 30 SRT'de çalıştırılan yarı sürekli reaktörlerde %2 ve %4 (w/v) dallı darı ve arıtma çamuru karışımının birlikte anaerobik parçalanabilirliği incelenmiştir.	0.52 gUKM/L.gün yükleme hızında (%2 w/v) 296 mLCH ₄ /kgUKM metan verimi elde edilirken, 1.05 gUKM/L.gün yükleme hızında (%4 w/v) 306 mLCH ₄ /kgVS metan verimi elde edilmiştir.	Jin vd. 2012

2.7. Teorik Metan Potansiyeli

Metan üretim potansiyelinin tespitinde kesikli BMP testi haricinde farklı teorik metotlar da kullanılabilir. Bu metotlar arasında en yaygın olarak kullanılan substratın elementel analiz içeriklerine göre değişen metan üretim potansiyelinin hesaplanmasında kullanılan stokiyometrik eşitliği temel alan Buswell eşitliğidir (Thomsen vd. 2014).

Buswell eşitliği, materyalin elementel bileşimi olan karbon (C), oksijen (O), hidrojen (H) ve azot (N) elementlerine dayalı kimyasal kompozisyonunu ele alarak oluşturulan stokiometrik eşitlik ile teorik metan potansiyellerinin hesaplanması için geliştirilmiştir (Symons ve Buswell 1933). Bu stokiometrik formül, Symons ve Buswell (1933) tarafından, karbonhidratların anaerobik fermantasyonunun teorik ve laboratuvar çalışmalarından elde edilmiştir. Buswell denklemi, organik materyalin (örneğin, $C_nH_aO_bN_c$) tamamen CH_4 ve CO_2 'ye indirgendiği varsayımına dayanmaktadır. Anaerobik arıtmanın diğer bir ürünü amonyaktır (Thomsen vd 2014).

Buswell Eşitliği, Eşitlik 2.2'de verilmiş olup, Eşitlik 2.3'te görülen B_U , nihai metan potansiyelini ifade etmektedir.



$$B_U = 22.4 \times \frac{\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} + \frac{3d}{8}}{12a+b+16c+14d} \quad (2.3)$$

B_U değeri aynı zamanda teorik biyokimyasal metan potansiyeli (TBMP), elementel kompozisyonu belirlenen madde içeriğinin tümünün biyolojik olarak parçalanabilir ve metana dönüşebilir olduğunu ifade etmektedir ve nihai metan miktarı olarak tanımlanmaktadır. Her ne kadar elementel kompozisyonun ölçülmesi oldukça hızlı olduğu için Buswell Eşitliği ile metan potansiyelinin belirlenmesi avantajlı gözükse de Buswell Eşitliği maddenin tamamının organik olmadığı ve biyolojik olarak parçalanabilir ve parçalanamayan (kül ve lignin) kısımlar arasında bir ayrım yapılamadığı için bu eşitlik ile maddenin metan potansiyelinden daha yüksek değerler hesaplanmaktadır. Bir organik materyalin parçalanabilirliği %27-76 arasındadır (Lesteur vd. 2010). Buswell denklemi, çeşitli substratların BMP'sini hesaplamak için kullanılmıştır. Çizelge 2.14'te bazı substratlar ve teorik metan potansiyelleri incelenmiştir. Örneğin, protein, lipit ve karbonhidratın teorik metan potansiyelleri sırasıyla 496, 1018 ve 415 L kg^{-1} olarak hesaplanmıştır (Triolo vd. 2011).

Çizelge 2.14. Çeşitli materyallerin Buswell eşitliği ile hesaplanmış teorik metan potansiyelleri (Jingura ve Kamusoko 2017; Triolo vd. 2011; Shen vd. 2020 ; Uma vd. 2020)

Hammadde	Teorik Metan Potansiyeli (mLCH ₄ /kgUKM)
Delice otu silajı	443
Büyükbaş hayvan gübresi	389
Domuz gübresi	450
Darı	452
Saman	448
Dallı darı	360.5
Dallı darı	223.0

2.8. Anaerobik Parçalanma Prosesinde Görev Alan Mikroorganizma Türlerinin Tanımlanması

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) keşfedildiğinden bu yana biyoloji bilimi kökten değişmiştir. Bu teknik adını, DNA Polimeraz enzimi kullanılarak DNA'nın bir parçasını in vitro yöntemle çoğaltılmasından almaktadır. PZR sayesinde birkaç farklı düzenlemeyle üretilen DNA parçasının milyonlarca kopyası arasından, istenilen bir DNA parçasının bir tek veya birkaç kopyasını laboratuvar ortamında çoğaltabilmek mümkündür. PZR genetik işlemlerin geniş bir yelpazede değiştirebilmesine olanak sağlamaktadır. Yaygın kullanımı nedeniyle PZR'nin temel prensiplerini, genomun ve genlerin gelişmiş şekilde analizini nasıl modifiye ettiğini anlamak önemlidir (Garibyan ve Avashia 2013). PZR, özellikle moleküler biyoloji alanında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. PZR hedefli stratejiler ile İnsan Genom Projesi gibi kapsamlı araştırmalar yürütülmüş, tıbbi alanda da klinisyenler ve araştırmacılar tarafından gen dizileri, hastalıkların teşhisi gibi nitel-nicel ve genomik çalışmalarda kullanılmıştır. Yöntemin hassas ve hızlı olması büyük avantaj sağlamaktadır. Klasik PZR, mikrobiyolojide patojenlerin tespiti ve adli tıpta suçluların tanımlanması gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Bottero vd. 2003).

PZR, DNA kompleks havuzundan spesifik bir DNA parçasını çoğaltmaya olanak sağlayan basit ve neredeyse kusursuz, enzimatik bir işlemdir. PZR işlemini kavramsallaştıran Kary Mullis PZR yöntemini "DNA'nın yalnızca ilgilendiğiniz bir parçasını istediğiniz kadar almanıza olanak sağlıyor" şeklinde açıklamıştır. PZR yönteminde periferik kan, deri, saç, tükürük ve mikroorganizma olmak üzere farklı tipte hayvansal ve bitkisel kökenli materyal DNA kaynağı olarak kullanılmaktadır. PZR için gerekli olan DNA miktarının elde edilmesi ve yalnızca yeterli miktarda kopyanın analiz edilmesi geleneksel laboratuvar yöntemleri ile sağlanmaktadır. Bu nedenle PZR hassas bir yöntemdir (Bottero vd. 2003). PZR yöntemlerinde termal döngü cihazı kullanılmaktadır. Termal döngü belirli bir diziye sahip PZR örneğinin ısıtılması ve soğutulmasıdır. PZR'nin termal döngüsü; DNA erime sıcaklığı ve DNA replikasyon enzimleri için ısıtma ve soğutma reaksiyonlarının tekrar tekrar uygulanmasıyla ısıya dayanıklı DNA Polimeraz, primer dizi (tamamlayıcı hedef bölge) ve dNTP karışımı kullanılmasına dayanmaktadır. Böylelikle, milyonlarca kopya DNA'nın çoğaltılması sağlanmaktadır. Denatürasyon, bağlanma ve uzatma işlemleriyle hem orjinal DNA şablonuna ve hem de tamamlayıcı bölgeye bağlanabilen primer ile yeni iplikler sentezlenmesine devam edilmekte ve DNA yeni kopyalar üretmek için uzatılmaktadır. Sonuç olarak PZR primer dizileri içeren DNA parçaları üstel olarak artmaktadır (Arnheim ve Erlich 1992).

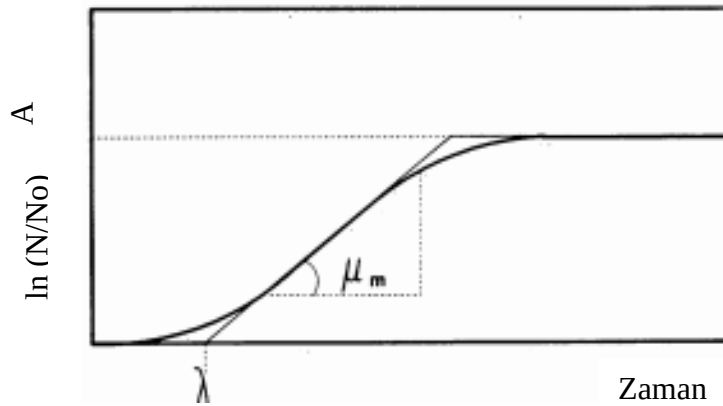
Literatürde, farklı organik atıkların anaerobik parçalanma prosesinde görev alan mikrobiyal türlerin belirlenmesi ve bu türlerin parçalanma rotasındaki rollerinin anlaşılması için moleküler tanımlama tekniklerinin kullanıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte, literatürde enerji bitkisi dallı darının anaerobik fermentasyonunda görev alan mikrobiyal türlerin tanımlandığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

2.9. Reaksiyon Kinetikleri ve Modellemesi

Metan üretim potansiyeli biyogaz tesislerinin dizaynında ve işletilmesinde önemli bir parametredir. Metan üretim potansiyelinin tespiti biyogaz tesisinin ekonomik fizibilitesini belirlemede kritik parametredir. Ancak, BMP analizinin süresi ve iş yüküne bağlı olarak substratların metan üretim potansiyellerini tespit etmek her zaman mümkün değildir. Bundan dolayı ekonomik getiri sağlayacak bir tesis dizaynı için metan üretiminin doğru tahmin edilmesi kritiktir (Yılmaz 2020). Metan üretiminin tahmin edilmesinde kinetik modeller yararlı bir araç olarak kullanılabilir. Bu bağlamda, kümülatif biyokimyasal metan üretim verileri ve biyokimyasal metan üretim profil değerleri kullanılarak kinetik katsayılar tespit edilmekte ve substratların uygunluğu değerlendirilebilmektedir.

Birinci dereceden modeller, çözünür substratlara kıyasla, lignoselülozik malzemelerden metan üretimini en uygun şekilde tarif eden yaygın modellerdir (Tong vd. 1990). Birinci dereceden modeller, üç farklı üretim fazına sahip sigmoidal tip modellerdir (Beuvink ve Kogut 1993).

Mikroorganizmalar üstel büyüme eğrisi gösterdiklerinden dolayı katlanarak çoğalmaktadırlar. Zamana karşı popülasyon eğrisinin $[y = \ln (N/N_0)]$ belirlenmesi ile formüle edilmektedir. Şekil 2.7’de görülen büyüme eğrisinin 3 fazı bulunmaktadır ve bu fazlar 3 ayrı parametre ile tanımlanmaktadır. Maksimum spesifik büyüme hızı; μ_m dönüm noktasındaki teğet olarak tanımlanmaktadır. Lag fazı; λ , teğetin x eksenine ile kesiştiği nokta olarak adlandırılmaktadır. Son olarak asimptot, $[A = \ln (N_\infty/N_0)]$ ulaşılan doyum noktası değeridir. N ise zamana bağlı mikroorganizma miktarını belirtmektedir.



Şekil 2.7. Mikroorganizma büyüme eğrisi

Şekil 2.7’de sunulan grafik sigmoidal bir grafikdir ve mikroorganizma büyüme evrelerini gösteren bir grafik tipik olarak t=0 sonrasında lag fazı, ardından üstel faz ve sonrasında durağan bir faz sergilemektedir. Bu durum aynı zamanda BMP analizinde üretilen kümülatif gaz eğrisi ile benzerlik göstermektedir. BMP grafiğinde gözlenen ilk faz olan yavaş gaz üretimi (lag fazı), bunu takip eden hızlı gaz üretimi (üstel faz) ve son olarak gaz üretiminin yavaşlaması ve sıfıra inmesi (asimptotik faz) mikrobiyal büyüme eğrisi ile benzerdir (Ware ve Power 2017).

Suda çözünmeyen substratların ilk parçalanması hidrolitik bakteriler aracılığı ile lag fazı sırasında gerçekleşmektedir. Substratın fiziksel olarak parçalanması ile substrat; asidojenik, asetojenik ve metanojenik bakterilerce parçalanmaya elverişli hale gelmekte ve gaz üretiminin üstel olarak gerçekleştiği ikinci evre görülmektedir. Geriye parçalanamayan substratların kaldığı ve gaz üretiminin sıfıra indiği asimptot fazı görülmektedir. BMP analizinin kümülatif gaz üretim eğrisinin bakteriyel büyüme eğrisi ile benzerlik göstermesi biyogaz üretiminin sigmoidal fonksiyonlara uygun olduğunun kanıtı niteliğindedir. Sigmoidal fonksiyonların kümülatif metan potansiyeli eğrisine uygulanması substratın anaerobik koşullar altındaki performansı hakkında; maksimum metan potansiyeline ulaşılması (A), maksimum metan üretim hızı (μ_m) ve lag fazı (λ) gibi bilgilere erişim sağlamaktadır (Ware ve Power 2017).

Sigmoidal bir büyüme eğrisini tanımlayan denklemlerin çoğunda, biyolojik anlamı olan parametreler (A , μ_m ve λ) yerine matematiksel parametreler (a , b , c , ...) kullanılmaktadır. Biyolojik anlamı olmadığı noktada parametrelerin başlangıç değerlerini tahmin etmek zordur. Ayrıca biyolojik parametrelerin, direkt olarak denklemden tahmin edilemediği ve matematiksel parametreler ile hesaplanması gerektiği durumlar için %95 güven aralığını sağlamak zordur. Bu nedenle tüm büyüme modelleri, matematiksel parametreleri, A , μ_m ve λ ile birleştirecek şekilde yeniden modifiye edilmiştir (Zwietering vd. 1990).

Logistik, Gompertz, Richards, Feller, Gitzhugh, Cone, France, Causchy ve Weibull gibi modeller literatürde en çok rastlanılan model türleridir. Logistic, Gompertz, Richards, Feller ve Fitzhugh modellerinde başlangıç anındaki (sıfır noktasında) gaz miktarı sıfırdan farklıdır, $F(0) \neq 0$. Bu durum modeller nedeni ile oluşmuştur. Gerçekte kümülatif metan potansiyeli sıfır noktasından başlanarak hesaplanmaktadır. France, Cauchy ve Weibull modellerinde lag fazının (λ) bitimine kadar gaz üretiminin olmadığını varsayılmaktadır. Bu modeller için $t \geq \lambda$ kabul edilirken, Gompertz gibi lag fazı olmayan modellerde $t \geq 0$ ($\lambda = 0$) kabul edilmektedir (Pitt vd. 1999).

Ara ürün birikimi olmadığı durumlarda, metan üretimi yalnızca partikül organik maddenin hidroliz hızı ile temsil edebilmektedir. Hidroliz, lignoselülozik atıkların anaerobik parçalanmasında hız kısıtlayıcı aşamadır. Bu nedenle hidroliz hızının belirlenmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışmada Modifiye Gompertz modeli (Zwietering vd. 1990), Cone modeli (Pitt vd. 1999), Reaction Curve modeli ve birinci dereceden kinetik model (Llabrés-Luengo ve Mata-Alvarez 1987) ile anaerobik parçalanma prosesi değerlendirilmiştir.

2.10. Tez Çalışmasının Amacı

Ülkemizde tarımına son birkaç yılda araştırma amaçlı başlanılan ve selüloz ile hemiselüloz yoluyla yüksek miktarda karbon içeren enerji bitkisi dalı darının biyogaz üretiminde kullanımı henüz gerçek ölçekte uygulanmamaktadır. Bununla birlikte, yüksek enerji içeriği nedeniyle biyogaz üretiminde kullanılabilirliğinin tespit edilmesi amacıyla son yıllarda laboratuvar ölçekli çalışmalar artmıştır.

Bu tez çalışmasının amacı, dallı darıdan metan üretimi amacıyla kullanılan kesikli proses (Biyokimyasal Metan Potansiyeli - BMP) ve yarı-sürekli beslemeli prosese organik madde yükleme hızının etkisinin ve proses parametrelerine ait cevaplarının incelenmesidir.

Yüksek lisans tezi kapsamında öncelikle boyut küçültme ön işlemi uygulanan dallı darı bitkisinin karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Karakterizasyon analizleri kapsamında elde edilen elementel analiz verileri kullanılarak dallı darının teorik metan potansiyeli tespit edilmiştir. Kesikli BMP testi ve yarı-sürekli beslemeli reaktör aynı proses koşulları altında (sıcaklık, pH, organik yükleme hızı ve alıkonma süresi) dallı darının anaerobik fermantasyonu için çalıştırılmış ve her iki sistemde organik madde yükleme hızının spesifik metan üretim verimine etkisi incelenerek karşılaştırılmıştır. Dallı darının anaerobik parçalanmasında, organik madde yükleme hızının artırılmasının proses performansına etkileri izlenilen durum değişkenleri (pH, uçucu organik asit (UYA), alkalite, UYA/Alk, biyogaz bileşenleri) vasıtasıyla değerlendirilmiştir. Anaerobik proste görev alan mikroorganizma türlerinin tespit edilebilmesi amacıyla yarı sürekli anaerobik reaktörden alınan numunelerde DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, denature gradian jel elektroforezi ve dizileme işlemleri uygulanarak anaerobik proste görev alan mikrobiyal türlerin moleküler genetik tanımlama çalışmaları yapılmıştır. Son olarak enerji bitkisi dallı darının anaerobik parçalanma kinetiği, Modifiye Gompertz modeli, Cone modeli, Reaction Curve modeli ve Birinci Derece Kinetik model ile incelenmiş ve organik madde yükleme hızının proses kinetiğine etkisi değerlendirilmiştir.

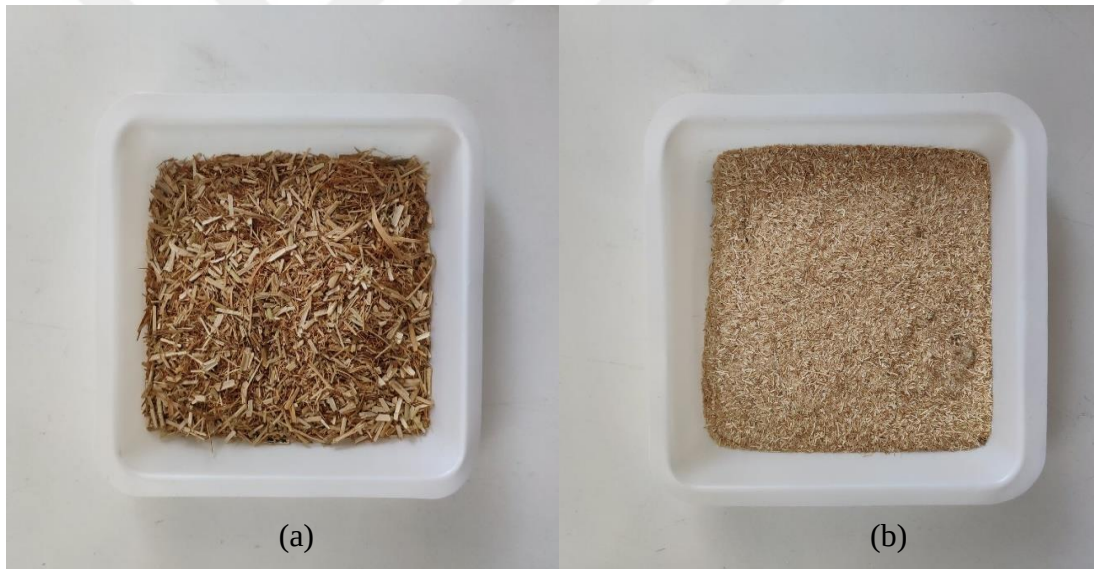
Literatürde, dallı darının yarı-sürekli beslemeli anaerobik fermantasyonunda organik madde yükleme hızının spesifik metan üretimi ve proses parametrelerine olan etkilerinin araştırıldığı, dallı darının yarı-sürekli beslemeli anaerobik parçalanma prosesinde rol alan mikrobiyal türlerin tespit edildiği ve reaksiyon kinetiğinin değerlendirilerek kesikli ve yarı sürekli sistemin karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu kapsamda, bu yüksek lisans tez çalışması bilimsel özgünlük ve güncel geçerlilik özelliklerini taşımaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Dalı Darı Enerji Bitkisinin Temini, Hazırlanması ve Öğütülmesi

Tez kapsamında hammadde olarak kullanılan dalı darının yetiştiriciliği Konya Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Makineleri ve Teknolojileri Mühendisliği ve Tarla Bitkileri Bölümleri tarafından araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır. Tez projesi kapsamında kullanılan numuneler Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesinden temin edilmiştir.

Yüksek lisans tezinde Kanlow çeşidi dalı darı kullanılmış olup bu çeşide ait numuneler kurutulduktan sonra homojenize edilmiştir. Kurutulan numuneler daha sonraki analizlerde kullanılmak üzere 0.5 mm boyutunda öğütülmüştür. Öğütme işlemi Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Makinaları bölümünde bulunan bilyalı değirmen kullanılarak yapılmıştır. Öğütülme işlemi tamamlanmış olan numuneler oda koşullarında muhafaza edilmiştir. Şekil 3.1’de parçalanmış ve kurutulmuş dalı darı numunesi ile elekten geçirilmiş ve 0.5 mm boyuta öğütülmüş dalı darı numunesi fotoğrafları sunulmuştur.



Şekil 3.1. (a) Parçalanmış ve kurutulmuş dalı darı, (b) Elekten geçirilmiş ve 0.5 mm boyuta öğütülmüş dalı darı

3.2. Dalı Darı Karakterizasyon Analizleri

Karakterizasyon analizleri kapsamında toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), toplam Kjeldahl azotu (TKN), çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ), toplam indirgen şeker (DNS), ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid), toplam şeker (Anthrone), yapısal karbonhidratlar, asitte çözünen ve çözünemeyen lignin, inorganik karbon (İK), toplam karbon (TK) ve toplam organik karbon (TOK) analizleri Mühendislik Fakültesinde Çevre Mühendisliği Bölümü, Çevre Biyoteknoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

Karakterizasyon analizlerine ek olarak elementel kompozisyon (C, H, O, N) ve iz element kompozisyonu (Ca, K, Mg, Na, Fe, Al, Cu, Sr, Se ve Mn) analizleri sırasıyla Orta Doğu Teknik Üniversitesi, AR-GE Eğitim ve Ölçme Merkezi laboratuvarında ve Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi ile Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü laboratuvarlarında hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Ayrıca, ısıl değer analizi Konya Çimento'ya ait İkincil Yakıtlar Girdi Kalite Kontrol Laboratuvarı'nda hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.

3.2.1. Toplam katı madde (TKM) analizi

Toplam katı madde (TKM) analizleri Standart Metot 2540-C prosedürüne göre yapılmıştır. TKM, numunenin 103-105°C'de etüvde (WTW Binder ED115) 24 saat bekletilmesi ve numunedeki suyun tamamen giderilmesi sonucunda elde edilen ağırlık kaybından hesaplanmaktadır (APHA 2005).

3.2.2. Uçucu katı madde (UKM) analizi

Uçucu katı madde (UKM), toplam katı maddenin organik kısmına karşılık gelmektedir. UKM analizi de 2540-C standart metoda göre yapılmıştır. TKM analizi sonrasında kalan numunenin 550°C'de kül fırınında 2 saat süresince yakılması sonrasında organik maddenin tamamen yanması ile elde edilen ağırlık kaybından hesaplanmaktadır (APHA 2005).

3.2.3. Toplam karbon (TK), toplam organik karbon (TOK) ve inorganik karbon (İK) analizi

Dalı darı numunesinin toplam organik karbon (TOK), toplam karbon (TK) ve inorganik karbon (İK) analizlerinde Shimadzu TOC-L analizörü kullanılmıştır. Katı örneklerin yakılmasında ise SSM – 5000 A Solid Sample Module kullanılmıştır. TOK değeri, TK ve İK içeriklerinin cihaz ile ölçülmesiyle hesaplanmıştır. TK ve İK değerlerinin farkı numuneye ait TOK değerini vermektedir.

3.2.4. Toplam Kjeldahl azotu (TKN) analizi

Kjeldahl azotu (TKN); amonyum azotu ve organik azotun toplamıdır. TKN tayini Standart Metot 4500'e göre yapılmıştır (APHA 2005). Yöntemin esası; numunede bulunan organik maddelerin amino azotunun, H₂SO₄, kjeldahl katalizörü (CuSO₄), potasyum sülfat (K₂SO₄) ve sıcaklık uygulanarak ekstraksiyon yardımı ile amonyum sülfata [(NH₄)₂SO₄] dönüştürülmesidir. Baz (soda) ilavesi yapılarak alkalinizasyon işlemi sağlandıktan sonra amonyak alkali ortamdan borik asit (H₃BO₃) ile destile edilmekte ve hidroklorik asit ile titrasyon yapılmaktadır. TKN analizi, Standart metotlara göre TKN analizinin katı atıklar için adapte edilmiş formu kullanılarak yapılmıştır (Buffiere vd. 2006).

TKN analizlerinde yakma, distilasyon ve titrasyonu otomatik olarak yapan Büchi Digest Automat K-438, Büchi Auto Kjeldahl Unit K-370 ve Radiometer TitraLab 840 kullanılmıştır. Numunelerin yakılmasında kullanılan sıcaklık programı 195°C- 30 dk., 250°C- 60 dk., 420°C- 200 dk., 50°C- 30 dk. ve soğutmadan oluşmaktadır.

3.2.5. Toplam ve çözünmüş protein analizi

Numune içerisindeki toplam ve çözünmüş protein konsantrasyonu analizi Lowry metodu ile yapılmıştır (Lowry vd. 1951). Numunenin peptidik bağ miktarını ölçen analizde protein konsantrasyonu mg/L BSA (Bovine serum albimun) eşdeğeri şeklinde ifade edilmektedir. Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için farklı konsantrasyonlarda standart BSA çözeltilerinin (0, 20, 40, 60, 80 ve 100 mg/L) absorbans değerleri 750 nm olan spektrofotometrede ölçülmüştür. Tuz ve folin çözeltileri reaksiyonununa 2 saat süresince karanlık bir ortamda maruz bırakılan numunelerin absorbansı spektrofotometre aracılığı ile 750 nm’de ölçülmüş ve kalibrasyon eğrisi kullanılarak numunede bulunan protein miktarı belirlenmiştir.

Katı halde bulunan dallı darı numunesi 1 g/L konsantrasyonunda hazırlanmış ve 30 dakika süresince karıştırılmıştır. Çözünmüş protein analizi bu karışımın 14500 rpm’de santrifüjlenmesinden sonra kalan süpernatant kısımdan yapılmıştır. Toplam protein analizinde ise direkt ham dallı darı numunesi kullanılmıştır.

3.2.6. Çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ) analizi

Çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı analizinde hazır test kitleri kullanılmıştır (Hach-Lange). Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) testi, %50 sülfirik asit çözeltileri içinde potasyum dikromat ile oksitlenebilen organik madde miktarının oksijen eşdeğeri miktarının ölçüsüdür. Kitlerin içerisinde katalizör olarak gümüş sülfat bulunmaktadır. Testin prensibi; numune içerisindeki oksitlenebilen organik maddelerin 2 saat 150°C’de ısıtıcı blokta (Lange LT200) oksitlenerek sülfirik asit-potasyum dikromat çözeltileri ile reaksiyona girmesine dayanmaktadır. Oksidasyon adımı tamamlandıktan sonra, tüketilen dikromat miktarı kolorimetrik olarak belirlenmektedir. Hach-Lange DR5000 model spektrofotometre ile 605 nm dalga boyunda çKOİ (mg/L) değerleri ölçülmüştür.

3.2.7. Toplam indirgen şeker analizi

Toplam indirgen şeker analizi için DNS metodu kullanılmıştır (Miller 1959). İndirgen şekerler serbest karbonil grubu içermektedir ve birçok reaktif indirgeme özelliğine sahiptirler. Tüm monosakkaritler ve bazı disakkaritler indirgen şekerlerdir. Alkali şartlar altında 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS), indirgen şekerler (glukoz, laktoz) ile reaksiyona girdiğinde 3-amino-5 nitrosalisilik asit açığa çıkmaktadır. Metoda göre 3mL numuneye 3 mL DNS eklenmesi ile elde edilen karışım 5 dakika süresince 100°C sıcaklıktaki su banyosunda bekletilmektedir. 5 dakikanın sonunda bir renk değişimine sebebiyet vermemek için su banyosundan çıkarılan numuneler direkt soğuk su dolu behere alınarak soğutulmaktadır. Tüplere 1 mL sodyum potasyum tartarat eklenerek vorteks yardımı ile homojen karıştırılması sağlanmakta ve numunelerin absorbansı, daha önce kalibrasyonu yapılmış metot ile spektrofotometrede 575 nm’de ölçülmektedir. İndirgen şeker miktarı analizinde, glukoz kullanılarak standart glukoz çözeltileri hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0, 200, 400, 600, 800, 1000 mg glukoz/L konsantrasyonları kullanılmıştır. Elde edilen veriler mg glukoz/L biriminde indirgen şeker miktarı olarak verilmiştir.

3.2.8. Toplam şeker analizi

Toplam şeker (glukoz) analizinde Anthrone metodu kullanılmıştır (Dreywood 1946). Yüksek sıcaklık (100°C) ve yüksek asit konsantrasyonu (%98 H₂SO₄) ile muamele gören polisakkaritlerin daha küçük yapı taşları olan monomerlerine parçalanması sonucunda beş karbonlu ve altı karbonlu (pentoz ve heksoz) şekerlerin furfural ve hidroksimetilfurfural'a (HMF) dönüşmesi sonucu oluşan ürünlerin anthrone ile verdiği reaksiyon sonucu ortaya çıkan renk değişiminin fotometrik ölçümü ile elde edilmektedir. Numunelerin toplam şeker miktarı, daha önce kalibrasyonu yapılmış metot ile spektrofotometrede 625 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0, 20, 40, 60, 80, 100 mg glikoz/L konsantrasyonları kullanılmıştır. Elde edilen veriler mg Glukoz/L biriminde toplam şeker miktarı olarak verilmiştir.

3.2.9. Yapısal karbonhidrat analizi

Yapısal karbonhidrat analizleri (Glukoz, Sellobiyoz, Ksiloz, Arabinoz, Galaktoz ve Mannoz) ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarı tarafından önerilen “*Biyokütlede Yapısal Karbonhidratların ve Ligninin Belirlenmesi (NREL/TP-510-42618 -2012)*” (Sluiter vd. 2006) prosedürüne göre yapılmıştır. Analizler, yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı ile yapılmıştır.

“*Biyokütlede Yapısal Karbonhidratların ve Ligninin Belirlenmesi (NREL/TP-510-42618 -2012)*” isimli analitik prosedürde numunenin hidroliz edilerek analize hazırlanması önerilmektedir. Hidroliz işlemi için 300 ± 10 mg dallı darı numunesi otoklav şişesine konulmuş ve 3,00±0.01 mL %72’lik H₂SO₄ eklenerek karıştırılmıştır. 1 saat 30°C’de asit ile dallı darının reaksiyona girmesi için bekletilmiş, sonrasında asit konsantrasyonu %4 olacak şekilde saf su eklenerek (84 mL) seyreltilmiştir. Elde edilen seyreltik asit ve dallı darı karışımı 1 saat 121°C’de otoklavlanmış ve soğutulmuştur. Otoklavlanarak hidrolize uğramış numuneler, vakum filtre düzeneğinden süzölmüştür. Filtreden geçen sıvı yeni bir cam şişede toplanmıştır. H₂SO₄ ekstraksiyonundan sonra CaCO₃ kullanılarak numune pH değeri 5-7 aralığına getirilmiştir. Nötralize edilen numuneler 0,22 µm filtreden süzülerek yapısal karbonhidrat analizi için HPLC viallerine alınmıştır. Yapısal karbonhidrat analizinde Dionex Ultimate 3000 HPLC cihazı kullanılmıştır. NREL/TP-510-42623 kodlu analitik prosedürde verilen HPLC çalışma koşullar Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Yapısal karbonhidrat analizinde kullanılan HPLC cihazının NREL/TP-510-42623 standardında belirlenen çalışma koşulları

Kolon	Aminex HPX-87P kolon, 300 x 7.8mm
Dedektör	Refraktif İndeks
Kolon Sıcaklığı	80°C
Dedektör Sıcaklığı	50°C
Mobil Faz	0.22 µm’den süzülen ve gazsızlaştırılan HPLC derecesindeki distile su
Akış Hızı	0.6 mL/dk
Analiz Süresi	35 dakika
Numune Hacmi	10-50 µL

3.2.10. Asitte çözünen ve çözünmeyen lignin analizi

Analiz, ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarınca hazırlanan “Biyokütlede Yapısal Karbonhidratların ve Ligninin Belirlenmesi (NREL/TP-510-4261)” (Sluiter vd. 2012) prosedürüne göre yapılmıştır.

Isıya dayanıklı ve darası alınmış olan şişeler numaralandırıldıktan sonra 0.3 g dallı darı numuneleri şişelere konulmuştur. %72’lik H_2SO_4 çözeltisinden 3.0 mL şişelere eklenmiş ve 1 dakika süresince karışım sağlanmıştır. Numune şişeleri, su banyosunda 30°C sıcaklıkta 1 saat inkübasyona tabii tutulmuştur. Su banyosundan çıkarılan şişelerin içeriğinin %4’lük asit oranına seyreltilmesi için üzerlerine 84 mL deiyonize su ilave edilmiştir. Şişe içerisindeki numuneler karıştırıldıktan sonra şişeler 1 saat süresince 121°C’de otoklavda bekletilmiştir.

Otoklav sonrası şişe içeriği vakum filtre düzeneği kullanılarak katı ve sıvı kısımlarına ayrılmıştır. Filtreden geçemeyen katı kısım sabit tartıma getirilen krozelere alınmıştır. Krozeler 105°C’de 24 saat kurutulmuş ve ağırlıkları tartılmıştır. Ardından kül fırınında 2 saat yakılmış ve tekrar tartılmıştır. Asitte çözünmeyen lignin ağırlığı (AIL) % olarak hesaplanmıştır.

Asitte çözünen lignin miktarının tespit edilmesi için ise filtrasyon sonrası kalan sıvı kısmın absorbansı, UV spektrofotometre kullanılarak 320 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Asitte çözünen lignin miktarı elde edilen absorbans değeri ile hesaplanmıştır.

3.2.11. Ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) analizi

Ekstrakte olabilen madde ve yağ analizi soxhlet metoduna göre yapılmıştır. Dalı darı numuneleri soxhlet kartuşlarına konarak petrolyum eter ile ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Buharlaşma noktası dikkate alınarak 70-80°C sıcaklık altında Heidolph 4000 rotary evaporatör kullanılarak petrolyum eterin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Evapore edilmiş numuneler 24 saat süresince 105°C sıcaklıkta kurutma işlemine tabii tutulmuş ve işlem sonrası ekstraksiyon balonlarının ağırlık ölçümleri yapılarak yağ ve ekstrakte olabilen madde miktarları belirlenmiştir (Bridoux vd. 1994).

3.2.12. Van Soest fraksiyon (Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözüner madde (SOLU)) analizleri

Çözüner madde (SOLU), Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI) ve lignin (LIGN) analizleri Van Soest metodu ile yapılmıştır (Van Soest 1963). Van Soest, sırası ile numunenin nötral ve asidik deterjan ile ardışık ekstraksiyonunun ardından güçlü asit ekstraksiyonu ile selüloz konsantrasyonunun belirlendiği bir analiz yöntemidir.

Darası alınmış Van Soest baglerinin içerisine konulan en az 0.5 g miktarındaki katı numuneler hazırlanan nötral deterjan solüsyonu ile 1 saat süresince kaynatılarak ekstraksiyona tabii tutulmuştur. Ardından saf su ile yıkanan numuneler deterjan çözeltisinden tamamen arındırılarak 24 saat süresince 105°C’de bekletilmiş ve tartımları yapılmıştır. Bu basamakta ekstrakte edilen madde miktarı ile SOLU değeri hesaplanmaktadır.

İkinci basamak olan HEMI tayininde, SOLU analizi sonrası kalan numuneye asit deterjanı çözeltisi ile 1 saat ekstraksiyon uygulanmakta ve numuneler deterjandan arındırılarak 24 saat 105°C’de kurutulmakta ve tartımları yapılmaktadır. HEMI; nötral deterjan ve asit deterjan ekstraksiyonu arasındaki farkın tespit edilmesiyle hesaplanmaktadır.

Üçüncü adımda ise numuneler %72 H₂SO₄ solüsyonu içerisinde 3 saat bekletilmekte ve yıkanarak 105°C’de 24 saat kurutulmakta ve tartımları alınmaktadır. Bu adımda CELL miktarı tespit edilmektedir.

LIGN ise CELL analizi sonrasında kalan numunenin UKM analizinin yapılması ile elde edilmektedir. Van Soest analizi, Gerhardt-FBS6 Van Soest Seti kullanılarak yapılmıştır.

3.2.13. Elementel analizi

Dallı darı numunelerinin elementel (C, H, N ve S) analizi, ODTÜ, AR-GE Eğitim ve Ölçme Merkezi laboratuvarında hizmet alımı yolu ile yaptırılmıştır. Elementel analizlerin yapılmasında LECO, CHNS-932 elemental analizör kullanılmıştır.

3.2.14. İz element analizi

Dallı darı numunesinin iz elementel (Ca, K, Na, Mg, Al, Fe, Cu, Mn, Sr ve Se) analizleri Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi laboratuvarından ve Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümünden hizmet alımı yolu ile yaptırılmıştır. İz elementlerin miktarları ICP-OES – PerkinElmer 7000DV ve ICP-MS PerkinElmer Elan DRC-e ile tespit edilmiştir.

3.2.15. Alt ve üst ısı değer analizi

Dallı darı alt ısı değer (LHV) analizi Konya Çimento, İkincil Yakıtlar Girdi Kalite Kontrol Laboratuvarı’nda hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Alt ısı değer (LHV) tespit edilmesinde ASTM D5865 -10a metodu kullanılmıştır.

Üst ısı değer (HHV), elementel analiz sonuçları kullanılarak Dulong Eşitliği 3.1 yardımıyla hesaplanmıştır (Tchobanoglous, 1993).

$$\text{Üst Isıl Değer } \left(\frac{BTU}{Lb} \right) = 145 * C + 610 * \left(H - \frac{1}{8} * O_2 \right) + 40 * S + 10 * N \dots\dots\dots(3.1)$$

3.3. Karakterizasyon Analizlerinin Yapılmasında Kullanılan Ekipmanlar

Kanlow türü dallı dariya ait numunenin karakterizasyonunun tespit edilmesinde kullanılan ekipmanlar ve modelleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Dallı darı karakterizasyon analizlerinde kullanılan ekipmanlar

Analiz	Kullanılan Ekipman
TKM Analizi	WTW Binder ED115 Etüv Presica XB 220A ve XT 1220M Terazı
UKM Analizi	Protherm, PLF 120 Kül fırını Presica XB 220A ve XT 1220M Terazı
Toplam Karbon (TK), İnorganik Karbon (İK) ve Toplam Organik Karbon (TOK) Analizleri	Shimadzu TOC -L Shimadzu SSM-5000A
TKN Analizi	Presica XB 220A ve XT 1220M Terazı Buchi K-438 Digester Automat Yakma Ünitesi Buchi Kjelflex K-360 Distilasyon ve Titrasyon Cihazı Radiometer TIM 840 Titrasyon Cihazı Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Toplam Protein Analizi Çözünmüş Protein Analizi	Presica XB 220A ve XT 1220M Terazı HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre VELP Classic Vorteks Karıştırıcı H+P Labortechnik Variomag Power Direct Manyetik Karıştırıcı
Çözünmüş Kimyasal Oksijen İhtiyacı Analizi	Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı H+P Labortechnik Variomag Power Direct Manyetik Karıştırıcı HACH DRB200 Dijital Reaktör Bloğu HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre
Toplam İndirgen Şeker Analizi Toplam Şeker Analizi	Memmert WNB 14 Su Banyosu HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre VELP Classic Vorteks Karıştırıcı Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Yapısal Karbonhidrat Analizi	Thermo Scientific UltiMate 3000 HPLC
Asitte Çözünmeyen Lignin ve Asitte Çözünen Lignin	Memmert WNB 14 Su Banyosu Hirayama HICLAVE HV-50L Otoklav HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre Rocker 300 Vakum Pompası WTW Binder ED115 Etüv Protherm, PLF 120 Kül fırını Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Ekstrakte Olabilen Madde ve Yağ (Lipid) Analizi	Medline MS-E102 Isıtıcı Sepet Heidolph 4000 WB/G1 Rotary Evaporatör WTW Binder ED115 Etüv Presica XB 220A ve XT 1220M Terazı
Selüloz (CELL), Hemiselüloz (HEMI), Lignin (LIGN), Çözünür Madde (SOLU) Fraksiyon Analizleri	Gerhardt, FBS6 Van Soest Seti WTW Binder, ED115 Etüv Protherm, PLF 120 Kül fırını Presica XB 220A ve XT 1220M Terazı Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Elementel Kompozisyon (CHNS) Analizi	LECO- CHNS-932
İz Element (Ca, K, Na) Analizleri	ICP – OS – Perkinelmer 7000DV
İz Element (Mg, Al, Fe, Cu, Mn) Analizleri	ICP –MS Perkinelmer Elan drc-e

3.4. Anaerobik Aşı Çamurun Temin Edilmesi

Yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktörde ve biyokimyasal metan potansiyeli testinde kullanılan anaerobik aşı çamur Manavgat yakınlarında hayvan gübresinden anaerobik parçalanma prosesi ile biyogaz üretimi yapan bir biyogaz tesisinden (Rani Çiftliği) temin edilmiştir. Anaerobik aşı çamurun büyükbaş hayvan gübresi işleyen bir tesisten alınmasının sebebi; büyükbaş hayvan gübresi yapısında selüloz ve lignin bulunması ve büyük baş hayvan gübresinden biyogaz üretimi yapan anaerobik sistemde bulunan anaerobik çamurun yapısında hidrolitik fermantatif, asidojen ve metanojen mikroorganizmaların bulunması ve bu mikroorganizmaların selüloz hidrolizine ve selülozdan metan üretimine adapte olmuş mikrobiyal grupları içermesi ve sonuç olarak da sistemin kısa sürede devreye alınabileceğinin düşünülmesidir.

Temin edilen aşı çamur laboratuvar koşullarında muhafaza edilmiştir.

3.5. Teorik Metan Potansiyelinin Hesaplanması

Dallı darının teorik metan potansiyelinin hesaplamasında Buswell Eşitliği (Buswell ve Mueller 1952) kullanılmıştır. Buswell Eşitliği maddenin tamamının karbondioksit ve metan olarak parçalandığını varsaymaktadır. Buswell Eşitliği ve teorik biyokimyasal metan potansiyeli (TBMP) miktarının hesaplanmasında kullanılan eşitlik sırasıyla Eşitlik 3.2 ve Eşitlik 3.3'te verilmiştir.

$$C_aH_bO_cN_d + \left(\frac{4a-b-2c+3d}{4}\right)H_2O \rightarrow \left(\frac{4a+b-2c+3d}{8}\right)CH_4 + \left(\frac{4a-b+2c+3d}{8}\right)CO_2 + DNH_3.....(3.2)$$

$$TBMP = 22.4 \times \frac{\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} - \frac{3d}{8}}{12a+b+16c+14d}(3.3)$$

Dallı darı numunesi TBMP değeri Buswell Denklemi kullanılarak hesaplanmış ve mLCH₄/gUKM cinsinden tespit edilmiştir.

3.6. Teorik Oksijen İhtiyacının Hesaplanması

Dallı darı teorik oksijen ihtiyacının (TOİ) hesaplanmasında stokiyometrik denklik yardımıyla elde edilen eşitlik kullanılmıştır. Stokiyometrik denklik maddenin tamamının karbondioksit, su ve amonyuma parçalandığını kabul etmektedir. Stokiyometrik denklik ve teorik oksijen ihtiyacının hesaplanmasında kullanılan eşitlik sırasıyla Eşitlik 3.4. ve Eşitlik 3.5'te verilmiştir (Pellera ve Gidarakos 2016).

$$C_aH_bO_cN_dS_e + \left(a + \frac{b}{4} - \frac{c}{2} - \frac{3d}{4}\right)O_2 \rightarrow aCO_2 + \left(\frac{b}{2} - \frac{3d}{2}\right)H_2O + dNH_3.....(3.4)$$

$$TOİ = \frac{\left(2a + \frac{b}{2} - c - \frac{3d}{2}\right) \times 16}{(12a+b+16c+14d)} \times 1000(3.5)$$

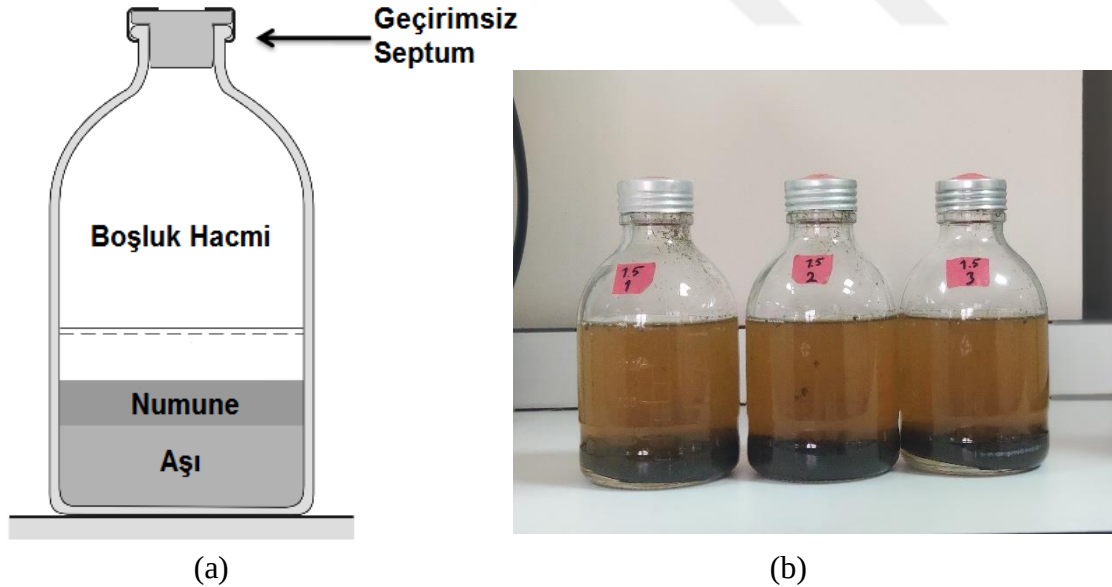
Dallı darı numunesi teorik oksijen ihtiyacı değeri stokiyometrik denklik kullanılarak hesaplanmış ve mgO₂/gUKM cinsinden tespit edilmiştir.

3.7. Biyokimyasal Metan Potansiyeli Testi (BMP)

BMP testi, organik biyokütlenin anaerobik ortamda aktif anaerobik mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanabilirliğini ve metan potansiyelini belirleyebilmek için kullanılan bir yöntemdir. BMP testinde temel amaç standart sıcaklık ve basınçta metan üretim veriminin tespit edilmesidir. Deney süresince üretilen gaz miktarı ve gaza ait kompozisyon ölçümleri yapılarak üretilen metan miktarı hesaplanmaktadır (Us 2010).

Kanlow türü dallı darının farklı organik madde yükleme hızlarında metan üretim potansiyelinin incelenmesi amacıyla BMP testleri Carrère vd. (2009) ve Us ve Perendeci (2012) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır.

Önerilen yöntemle göre BMP reaktörü içerisindeki aktif aşı konsantrasyonunun 3-5 gUKM/L ve substrat-aşı oranının ise 0,5 (katı numuneler için gUKM/gUKM, sıvı numuneler için gKOİ/gUKM) olması gerekmektedir. Ayrıca, deney süresince aşı çamur aktivitesinin devam etmesi için BMP reaktörüne uygun miktarda makro ve mikro besinler ve reaktörler içerisinde pH değişiminin tamponlanması amacıyla NaHCO_3 ilave edilmesi gerekmektedir. Numune, aşı ve gerekli besinlerin BMP reaktörüne ilave edilmesinden sonra ortamdaki oksijenin giderilmesi için N_2/CO_2 (%70/%30) gaz karışımının kullanılması önerilmektedir. Oksijenin giderilmesinden sonra BMP reaktörleri sızdırmaz septum kapak ile kapatılarak inkübatöre yerleştirilmiştir. Şekil 3.2’de (a) BMP testinde kullanılan reaktör konfigürasyonu (b) BMP testi için hazırlanmış reaktörler verilmiştir.



Şekil 3.2. (a) BMP reaktör konfigürasyonu, (b) BMP testi için hazırlanılmış reaktörler

Sistemde kullanılacak olan anaerobik aşı, Evrenseki yakınlarında faaliyet gösteren Rani büyükbaş hayvan çiftliğinden alınmış ve reaktörler içerisindeki konsantrasyonu 3 gUKM/L olacak miktarda reaktörlere eklenmiştir. Anaerobik reaktör içeriğinde istenilen aktif anaerobik çamur konsantrasyonunu ayarlayabilmek için

öncelikle anaerobik aşı çamurun TKM ve UKM analizleri yapılmıştır. Anaerobik çamurum TKM ve UKM analiz sonuçları Çizelge 3.3’de sunulmuştur.

Çizelge 3.3. BMP reaktörlerinde kullanılan aşı çamurunTKM ve UKM sonuçları

Analiz	Birim	Anaerobik Aşı Çamur
Toplam Katı Madde (TKM)	g/kg	32.96
Uçucu Katı Madde (UKM)	g/kg	21.11

BMP reaktörlerinde 21.11 gUKM/L anaerobik aşı çamur ile çalışılmıştır. BMP reaktörlerine eklenecek aşı miktarı Eşitlik 3.6’da verilen formül ile hesaplanmıştır.

$$Vb = \frac{Cxe * V}{Cx} \dots\dots\dots (3.6)$$

Eşitlik 3.6’da verilen Vb reaktörde bulunması gereken aktif aşı çamur hacmini, C_x, aktif aşı çamurun konsantrasyonunu (gUKM/L), C_{xe}, reaktör içerisinde olması beklenen aşı çamuru konsantrasyonunu (3.0 gUKM/L) ve V ise reaktör çalışma hacmini belirtmektedir.

BMP reaktörlerinde kullanılan Substrat:Aşı (S:I) ya da Besin:Mikroorganizma (F:M) oranı 1.1, 1.5 ve 2.2 olarak belirlenmiştir. Reaktörlere eklenecek olan numune miktarları Eşitlik 3.7 ile hesaplanmıştır.

$$Numune\ miktarı\ (g) = \frac{B * V * Cxe}{N_{UKM}} \dots\dots\dots (3.7)$$

Verilen eşitlikte B, F:M oranını (1.1, 1.5 ve 2.2 gUKM_{numune}/gUKM_{aşı}), N_{UKM} ise dallı darı numunesinin uçucu katı madde (gUKM/g) miktarını ifade etmektedir.

Kesikli BMP testi ve yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktör sistemi için metan üretim potansiyeli açısından doğru bir karşılaştırma yapabilmek amacıyla fermantasyon ortamlarına eşit miktarda dallı darı numunesi eklemesi yapılmıştır. Bu oranlar kesikli BMP testinde substrat:aşı oranı (F:M) olarak adlandırılırken, yarı-sürekli beslemeli reaktörlere eklenen dallı darı miktarı ise yükleme hızı (OLR) olarak belirtilmiştir. Çizelge 3.4’te kesikli BMP testlerinde kullanılan F:M oranlarına tekabül eden organik madde yükleme hızları (OLR) verilmiştir. Bundan sonraki anlatımlarda karşılaştırma kolaylığı sağlama açısından F:M yerine her iki sistem için de OLR değerleri kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. BMP testlerinde kullanılan F:M oranlarına tekabül eden organik madde yükleme hız (OLR) değerleri

Kesikli BMP Testi (F:M) (gUKM _{numune} /gUKM _{aşı})	Yarı-Sürekli Beslemeli Reaktör (OLR) (gUKM _{numune} /L.Gün)
1.1	0.75
1.5	1.0
2.2	1.5

Farklı organik madde yükleme hızlarının metan üretim potansiyeli üzerine etkisinin tespit edilmesi amacıyla BMP reaktörleri 0.75, 1.0 ve 1.5 OLR’de çalışacak şekilde hesaplanan dallı darı numuneleri BMP reaktörlerine ilave edilmiştir. BMP reaktörlerine dallı darı numuneleri dışında makro ve mikro element çözeltileri, tampon çözelti ve anaerobik aşı çamur ilave edilmiş ve her bir OLR için BMP testi üç tekrarlı çalışılmıştır. 0.75, 1.0 ve 1.5 OLR’de çalışan BMP test reaktörlerine ilave edilen tüm bileşenlerin miktarları Çizelge 3.5’ te verilmiştir.

Çizelge 3.5. 0.75, 1.0 ve 1.5 OLR’de çalışan BMP test reaktörlerine ilave edilen tüm bileşenlerin miktarları

OLR (gUKM _{numune} / L.Gün)	Dallı Darı Miktarı (g)	Makro Element (mL)	Mikro Element (mL)	Tampon Çözelti (mL)	Aşı (mL)	Su (mL)
0.75	1.53	5.7	4	20.8	56.8	309.09
1.0	2.04	7.6	4	20.8	56.8	306.08
1.5	3.06	11.4	4	20.8	56.8	303.93

BMP reaktörlerinde aşı aktivitesinin sürekliliğini sağlamak amacıyla mikro ve makro elementleri içeren çözeltiler ile pH’nın tamponlanması için NaHCO₃ çözeltisi eklenmiştir. İnkübasyon öncesinde her bir BMP reaktörüne %70 N₂ ve %30 CO₂ içeren gaz karışımı 1 dakika süreyle verilerek başlangıç koşullarının anaerobik olması sağlanmıştır. Deney süresince BMP reaktörlerinden gaz kaçaşının engellenmesi için kalın plastik septumlar ve alüminyum kapaklar kullanılmıştır. BMP reaktörleri, mezofilik koşullarda (36°C) inkübatörde inkübe edilmiş ve test süresince gaz hacmi gaz-su yer değiştirme prensibiyle çalışan gaz ölçüm sistemi ve gaz kompozisyonu ise gaz kromatografisi ile ölçülmüştür.

Aşıdan kaynaklanan metan üretiminin belirlenmesi amacıyla anaerobik aşı çamur şahit olarak kullanılmıştır. Ayrıca saf glikoz standart substrat kaynağı olarak kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.7.1. Makro ve mikro besin elementleri ve tampon çözeltisi

NH₄Cl (26.6 g/L), KH₂PO₄ (10 g/L), MgCl₂.6H₂O (6 g/L) ve CaCl₂.2H₂O (3 g/L) içeren stok makro element çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan stok çözeltiden her bir BMP reaktörü içerisine Çizelge 3.6’da verilen konsantrasyonlar sağlanacak şekilde makro element çözeltisi ilave edilmiştir.

Çizelge 3.6. BMP testi için gerekli makro elementler ve konsantrasyonları

Kimyasal	Konsantrasyon (mg/L)
NH ₄ Cl	172
KH ₂ PO ₄	65
MgCl ₂ .6H ₂ O	39
CaCl ₂ .2H ₂ O	19

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2 g/L), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.5 g/L), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.1 g/L), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1 g/L), ZnCl_2 (0.05 g/L), H_3BO_3 (0.5 g/L), Na_2SeO_3 (0.05 g/L), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.04 g/L), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.01 g/L) içeren stok mikro element çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan stok çözeltiden her bir BMP reaktörü içerisine Çizelge 3.7’de verilen konsantrasyonlar sağlanacak şekilde mikro element çözeltisi ilave edilmiştir.

Çizelge 3.7. BMP testi için gerekli mikro elementler ve konsantrasyonları

Kimyasal	Konsantrasyon (mg/L)
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	20
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1
ZnCl_2	0.5
H_3BO_3	0.5
Na_2SeO_3	0.5
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.4
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1

Reaktör içerisinde sağlanması hedeflenen optimum pH 7.0-8.0 aralığıdır. Reaktörlerde uçucu organik asit üretimi ve birikimi kaynaklı inhibisyon oluşumunun önlenmesi ve pH dengelemesi yapılmak üzere tampon ilavesi yapılmıştır. Bunun için 50 g/L NaHCO_3 stok çözeltisi hazırlanmış ve her BMP reaktörü içerisinde NaHCO_3 konsantrasyonu 2.6 g/L olacak şekilde stok NaHCO_3 çözeltisi ilave edilmiştir.

3.7.2. Gaz miktarının belirlenmesi

Reaktörlerde üretilen biyogaz miktarları gaz-su yer değiştirme prensibi ile çalışan sistem yardımıyla ölçülmüştür. Sistem, yer değiştirme (asidik tuz çözeltisi) sıvısı, dereceli silindir ve pompa bileşenlerinden oluşmaktadır. Gaz-su yer değiştirme prensibi ile çalışan biyogaz ölçüm düzeneği Şekil 3.3’te verilmiştir. Asidik tuz çözeltisi Masterflex marka peristaltik pompa yardımı ile silindire doldurulup boşaltılabilmektedir. Çözelti pH’sının 1 seviyesinde asidik olmasının nedeni CO_2 gazının sudaki çözünürlüğünü engellemek amaçlıdır. Asidik tuz çözeltisi Standart Metot 2720’ ye uygun olarak hazırlanmıştır (APHA 2005).

BMP reaktörlerinde oluşan biyogaz miktarı ölçülerek kaydedilmiştir. Anaerobik aşı çamur reaktörleri şahit olarak kullanılmış ve aşının ürettiği biyogaz miktarı numune içeren reaktörlerde üretilen biyogaz miktarından çıkarılarak net üretilen biyogaz miktarları hesaplanmıştır.



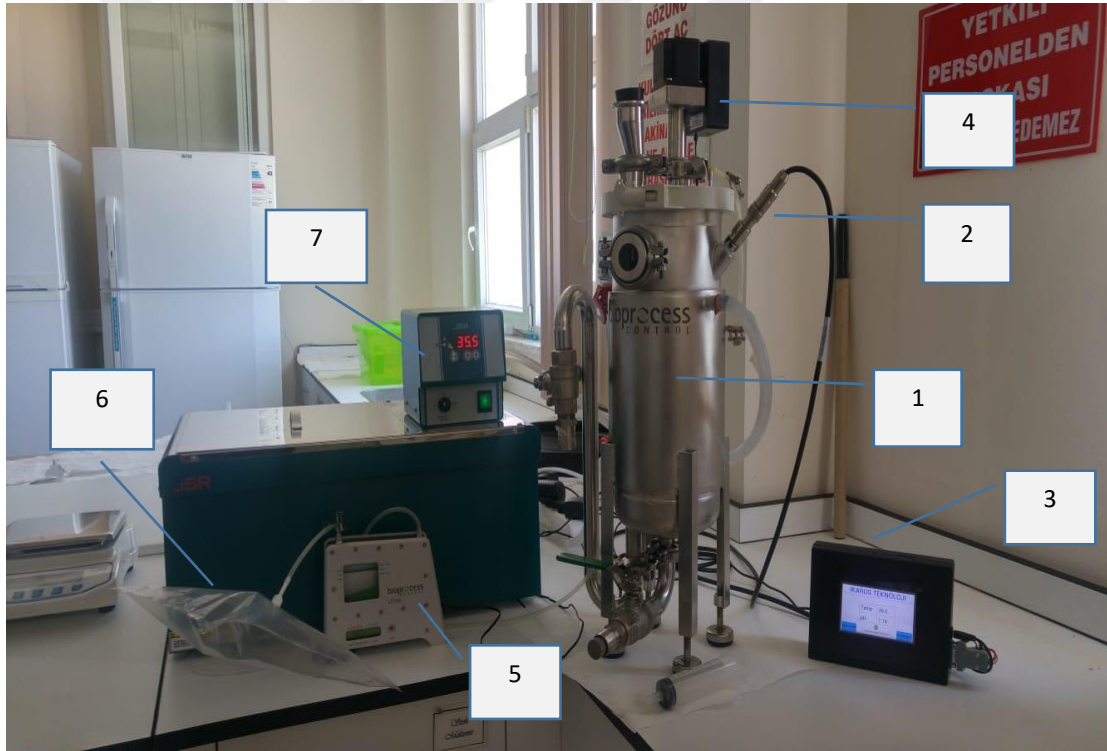
gazların yüzdeleri hesaplanabilmektedir. Metan gazının yüzde miktarının hesaplanmasında Eşitlik 3.8 kullanılmıştır.

$$\% \text{ Metan Miktarı} = \frac{0.995 \cdot A_1}{A_2} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3.8)$$

Eşitlikte kullanılan A_1 , numunedeki CH_4 gazının eğri alanını, A_2 değeri ise % 99.5 saflıktaki CH_4 gazına ait eğri alanını ifade etmektedir.

3.8. Yarı-Sürekli Beslemeli Sistem Kurulumu ve Proses Düzenegi

Dallı darıdan biyogaz/metan üretiminin tespit edilebilmesi amacıyla kullanılan yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör sistemine ait fotoğraf Şekil 3.5'ten görüleceği üzere anaerobik reaktör sistemi; bir adet ısıtma/soğutma ceketli içeren paslanmaz çelik reaktör, reaktör içeriğinin karıştırılması için mekanik karıştırıcı, reaktör içeriğinin pH ve sıcaklığının ölçülmesi için pH ve sıcaklık sensörleri, reaktörde mezofilik sıcaklığın sağlanabilmesi için su banyosu, üretilen biyogaz miktarının ölçülmesi için akış ölçer ve biyogaz bileşiminin belirlenmesi amacıyla gazın toplanmasında kullanılan gaz toplama torbasından oluşmaktadır.



Şekil 3.5. Yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör sistemi fotoğrafı: 1: Reaktör, 2: pH ve sıcaklık sensörleri, 3: pH ve sıcaklık takip cihazı, 4: Mekanik karıştırıcı, 5: Akış ölçer, 6: Gaz toplama torbası, 7: Su banyosu



Şekil 3.6 Yarı-sürekli beslemeli tam karışimli anaerobik reaktör sistemi; 1: pH ve sıcaklık sensörleri (Online), 2: Mekanik karıştırıcı, 3: Reaktör besleme girişi, 4: Reaktör numune çıkışı, 5: Reaktör gaz çıkışı hortumu

Reaktör içeriğinin karıştırılması için karıştırma hızı 100 rpm’de ve reaktör içi sıcaklık $36 \pm 1^\circ\text{C}$ ’de sabit tutulmuştur. Reaktöre dallı darı beslemesinin yapılabilmesi için 60 mL kapasiteli çam uçlu enjektörler kullanılmıştır.

Şekil 3.6’da yarı-sürekli beslemeli tam karışimli anaerobik reaktör detaylı olarak verilmiştir.

Dallı darının anaerobik fermantasyonu sonucunda reaktörde üretilen biyogaz miktarı, akış ölçer (Bioprocess Control μ Flowmetre) kullanılarak tespit edilmiştir. Akış ölçerden geçen ve miktarı ölçülen biyogaz kompozisyonunun ($\%\text{CH}_4$ ve $\%\text{CO}_2$) belirlenmesi için biyogaz, gaz toplama torbasında toplanmıştır. Yarı sürekli beslemeli tam karışimli anaerobik reaktörde kullanılan akış ölçer ve gaz toplama torbası Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7. Akış ölçer ve gaz toplama torbası

Reaktörlere eklenecek aşı çamur miktarının belirlenebilmesi için alınan anaerobik aşı çamurun TKM ve UKM analizleri yapılmıştır. Yarı sürekli beslemeli tam karışimli anaerobik reaktörde kullanılması gereken aşı çamur miktarının tespit edilmesi için yapılan TKM ve UKM analizi sonucunda anaerobik aşı çamurun TKM ve UKM miktarı düşük bulunmuştur. Anaerobik aşı çamurun konsantre edilmesi ve istenilen katı madde oranına (%5-6) ulaşılabilmesi için anaerobik çamur santrifüj edilmiştir.

Yarı-sürekli sistem için 5L çalışma hacminde tam karışimli anaerobik reaktör %5.38 TKM içeren anaerobik aşı çamur ile devreye alınmıştır.

3.9. Yarı-Sürekli Beslemeli Reaktör İşletim Parametreleri

Yarı-sürekli sistemde çalışılacak dallı darı OLR değerleri, karşılaştırma yapabilmesi amacıyla BMP testindeki OLR değerleri ile aynı şekilde 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün olarak belirlenmiş ve organik madde yükleme hızlarına bağlı olarak reaktöre eklenmesi gereken dallı darı miktarları hesaplanmıştır. Hesaplama yapılırken ham dallı dariya ait UKM değeri (0.864 gUKM/g) kullanılmıştır. Besleme aralıkları bir gün alınarak iki günde bir besleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir yükleme hızı değerlendirmesinde 30'ar günlük adaptasyon ve stabilizasyon süreci sonrasında 60 günlük SRT süreleri ile çalışılmıştır.

Aşı çamur ile substrat adaptasyonunun sağlanması için anaerobik çamur dallı darı ile beslenmiş ve 30 gün süren bir çamur adaptasyon süreci yapılmıştır. Adaptasyon sağlanıp biyogaz üretiminin gözlenmesinin ardından 60 gün çamur bekleme süresi (SRT) ve 0.75 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızını sağlayabilmek için iki günde bir 8,68 g ham dallı darı beslemesi ile (4.34 g/Gün) yarı-sürekli beslemeli tam karışimli anaerobik reaktör işleme alınmıştır. Beslenen hacim miktarı kadar çamur sistemden çekilerek reaktör içerisinde sabit hacimde kalması sağlanmıştır. Çizelge 3.8'de OLR değerlerine göre reaktöre eklenen numune miktarları ve toplam işletim süreleri ile Çizelge 3.9'da yarı-sürekli beslemeli tam karışimli anaerobik reaktör sistemi işletim parametreleri verilmiştir.

Reaktöre eklenecek dallı darı miktarı Eşitlik 3.9'a göre hesaplanmıştır.

$$\text{Eklenecek Dallı Darı Miktarı} = V \times \frac{OLR}{UKM_{DallıDarı}} \dots \dots \dots (3.9)$$

Bu eşitlikte V: reaktör hacmi (L), OLR: Organik madde yükleme hızı (gUKM/L.Gün), $UKM_{DallıDarı}$: Dallı darı numunesinin UKM değeri (gUKM/gNumune).

Çizelge 3.8. OLR değerlerine göre reaktöre eklenen numune miktarları ve toplam işletim süreleri

Yükleme Hızı (gUKM/L.Gün)	Eklenen Dallı Darı Miktarı (g/Gün)	SRT (Gün)	Toplam İşletim Süresi (Gün)
0.75	4.34	60	90
1.0	5.79	60	90
1.5	8.68	60	90

Çizelge 3.9. Yarı-sürekli beslemeli tam karışımli anaerobik reaktör işletim parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Reaktör Hacmi	L	6.00
Alıkonma Süresi (SRT)	Gün	60
Dallı Darı TKM	g/kg	937.28
Dallı Darı UKM	g/kg	863.96
Çalışma Hacmi	L	5.00
Yükleme Hızı (OLR)	gUKM/L.Gün	0.75-1.0-1.5
Günlük Eklenen Dallı Darı Miktarı (UKM bazında)	gUKM	3.75-5.0-7.5
Günlük Eklenecek Dallı Darı Miktarı (TKM bazında)	gTKM	4.07-5.42-8.14
Günlük Eklenecek Dallı Darı Miktarı	g	4.34-5.79-8.68

Reaktör 6.8-7.4 pH aralığında, mezofilik sıcaklıkta ($36 \pm 1^\circ\text{C}$) ve 100 devir/dakika karışım hızında çalıştırılmıştır. Reaktör sıcaklığı 36°C olacak şekilde su banyosu (JSR Immersion Circulating Bath) ile sağlanmıştır. Sıcaklık ve pH değerleri her gün sürekli online olarak sıcaklık ve pH sensörü (Hamilton) ile ölçülerek kaydedilmiştir.

3.10. Yarı-Sürekli Anaerobik Reaktör Performans Analizleri

Yarı sürekli anaerobik reaktör performansının izlenmesi için reaktörlerden alınan numunelerde incelenen parametreler, ölçüm sıklıkları ve analiz yöntemleri Çizelge 3.10'da sunulmuştur.

Sıcaklık ve pH ölçümleri sürekli takip edilerek günlük veri alınmıştır. TKM, UKM, UYA ve alkalite analizleri 4 günde bir yapılmıştır. Alınan reaktör çıkışı numuneleri analizler öncesinde -18°C dondurucuda muhafaza edilmiştir. Toplanan biyogaz miktarları ve kompozisyonları günlük olarak ölçülmüştür. Günlük biyogaz

miktarı (mL) BioProcess Control μ Flow akış ölçer kullanılarak reaktörden çıkan gazın direkt akış ölçerden geçirilmesi ile takip edilmiştir. Akış ölçer cihazının çıkışına gaz toplama torbası bağlanarak reaktörden çıkan gaz gaz toplama torbasında toplanmış ve biyogaz kompozisyonu Bölüm 3.7.3’de verilen şekilde yapılmıştır.

Çizelge 3.10. Reaktörden alınan numunelerde incelenen parametreler, ölçüm sıklıkları ve analiz yöntemleri

Parametre	Analiz Sıklığı	Metot
Sıcaklık	Sürekli - Online	Ölçüm sensörü
pH	Sürekli - Online	Ölçüm sensörü
Toplam Katı Madde (TKM)	4 Günde Bir - Offline	Standart Metot (APHA)
Uçucu Katı Madde (UKM)	4 Günde Bir - Offline	Standart Metot (APHA)
Biyogaz Miktarı	Günlük - Online	Gaz debimetresi
Biyogaz Kompozisyonu (CH ₄ +CO ₂) (%)	Günlük - Offline	Varian Mikrogaz Kromatografi
Uçucu Yağ Asidi (UYA)	4 Günde Bir - Offline	Ekstraksiyon - Varian Gaz Kromatografi FID
Alkalite	4 Günde Bir - Offline	Standart Metot (APHA)

3.10.1. Toplam katı madde ve uçucu madde miktarı analizi

TKM ve UKM analizleri yarı-sürekli anaerobik arıtma prosesi süresince 4 günde bir TKM analizleri Standart Metot 2540-C prosedürüne göre yapılmıştır. TKM, numunenin 103-105°C’de etüvde 24 saat tutularak sabit tartıma getirilmesi sonucunda elde edilen ağırlık kaybı ile hesaplanmıştır (APHA 2005). UKM, toplam katı maddenin organik kısmına tekabül etmektedir. UKM analizi de aynı şekilde 2540-C standart metoda göre yapılmıştır. TKM analizi sonrası kalan numunenin 550°C’de kül fırınında 2 saat süresince yakılması ve sabit tartıma getirilmesi ile elde edilen ağırlık kaybı ile hesaplanmıştır (APHA 2005).

3.10.2. Alkalite analizi

Alkalite, numunenin asit nötralize kapasitesinin göstergesidir. Alkalite, doğal suların ve atık suların kullanımında ve arıtımında önemlidir. Birçok yüzey suyunun alkalitesi öncelikle karbonat, bikarbonat ve hidroksit içeriğinin bir fonksiyonu olduğundan, bu bileşenlerin konsantrasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Düzgün çalışan anaerobik çürütücüler tipik olarak 1000-5000 mgCaCO₃/L aralığında alkaliteye sahiptirler. (Tchobanoglous vd. 2003).

Alkalite analizinde standart metoda göre 0.1N sülfürik asit (H₂SO₄) titrasyon asidi kullanılması önerilmektedir. Alkalite analizi 50 mL numune ile yapılmaktadır. Fakat, 4000 rpm’de santrifüj edilen reaktör çıkış numunesi az miktarlarda olduğundan numune 10 kat seyreltilerek kullanılmıştır. Titrasyon işlemi, renk değişimi ile değil kalibrasyonu düzenli olarak kontrol edilen bir pH metre ile yapılmıştır. Distile su ile 10 kat seyreltilen 50 mL hacmindeki numuneler beherlere konularak asit eklemesi yapılmıştır. Numune, 0.1N H₂SO₄ ile pH 4.5 dönüm noktası değerine kadar getirilerek sarfiyat miktarı tespit edilmiş ve alkalite değeri Eşitlik 3.10’a göre hesaplanmıştır (APHA 2005).

$$Alkalite, mg \frac{CaCO_3}{L} = \frac{A \times N \times 50000}{mL \text{ numune}} \dots \dots \dots (3.10)$$

Burada, A = H₂SO₄ sarfiyat miktarını (mL) ve N= kullanılan H₂SO₄ asidinin normalitesini ifade etmektedir.

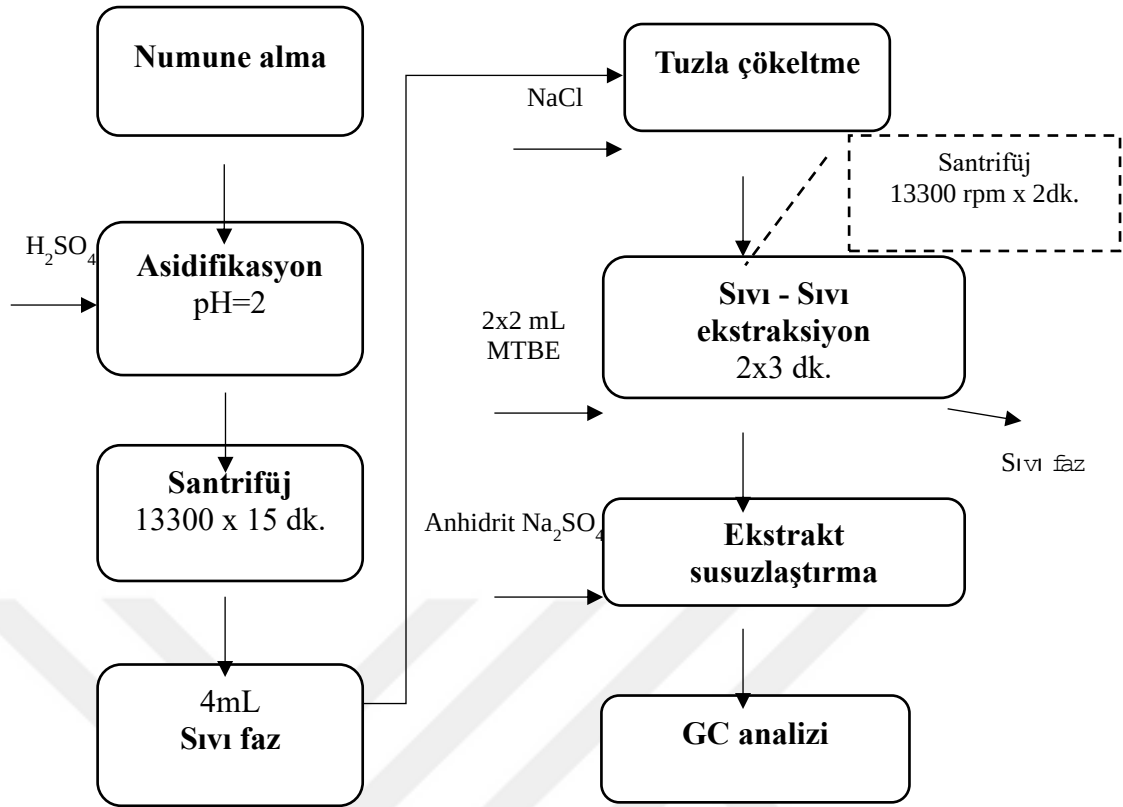
3.10.3. Uçucu yağ asidi analizi (UYA)

Yarı-sürekli anaerobik reaktör sisteminin stabilitesini takip etmek amacıyla uçucu yağ asidi (UYA) analizleri her 4 günde bir reaktör çıkışından alınan numunelerde tespit edilmiştir. Numunelerin içerisindeki UYA kompozisyonlarının belirlenebilmesi için GC-430 FID gaz kromatografisi kullanılmıştır.

Numuneler önce santrifüj edilmiş ve fosforik asit ile asitlendirilerek süzölmüş ve viallere aktarılmıştır. Kromatografi cihazına verilen numuneler santrifüj edilmesine rağmen GC liner ve kolonda kirlenme gözlenmiş ve alınan ölçümlerde tekrar edilebilirlik elde edilememiştir. Bunun üzerine literatür araştırması yapılmış ve numuneye Metil Tert Bütil Eter (MTBE) ekstraksiyonu uygulanarak kirleticilerin giderilmesi ile UYA ölçümlerinin yapılmasına karar verilmiştir.

3.10.3.1. Metil Tert Bütil Eter (MTBE) ile sıvı-sıvı numune ekstraksiyonu

Kromatografi cihazının yaptığı okumalarda tekrar edilebilir sonuçlar elde edilememiş ve numuneye bağlı olarak liner'da ve kolon girişinde kirlilik birikimi görülmüştür. Literatür incelemeleri sonucunda kromatografi öncesi numuneye sıvı-sıvı MTBE ekstraksiyonu yapılması uygun görülmüştür. Banel ve Zygmunt (2011)'un yapmış olduğu MTBE ekstraksiyonu metodu uygulanmıştır. Ekstraksiyonun amacı; organik materyalin numuneden ayrıştırılarak organik kısmın kullanılabilir olmasını sağlamaktır. Şekil 3.8'de UYA analizi için sıvı- sıvı MTBE ekstraksiyonu uygulama adımları verilmiştir. Şekil 3.9'da MTBE ile sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulanmamış numunenin kromatografi cihazına verilmesi sonucunda liner'da oluşan kirlilik birikimi görülebilmektedir.



Şekil 3.8. UYA analizi için sıvı- sıvı MTBE ekstraksiyonu uygulama adımları



Şekil 3.9. Liner'da oluşan kirlilik birikimi, kirli ve temiz liner

Yarı-sürekli anaerobik reaktörden alınan numunelerin (10 mL) pH değeri 1N H_2SO_4 kullanılarak pH 2'ye getirilmiştir. Ardından 15 dakika süresince 13300 rpm'de santrifüj edilmiştir. Cam tüplere alınan 4 mL süpernatant numune üzerine 2 mL Metil Tert Bütıl Eter (MTBE) eklenmiştir. Üzerine 1 g sodyum klorür (NaCl) eklenerek 2 dakika süresince vorteks yardımı ile karıştırılması sağlanmıştır. Genel olarak, inorganik tuzun eklenmesi organik bileşiklerin (analitler ve organik çözücü) sudaki çözünürlüğünü azaltmaktadır ve bu şekilde ekstraksiyonun geri kazanılmasını arttırmaktadır. Karışımı sağlanan numuneler 2 dakika süresince 4000 rpm'de santrifüj edilmiş ve faz ayrımı sağlanmıştır. Santrifüj işlemi sonrası oluşan faz ayrımı Şekil 3.10'da gösterilmektedir. Ekstraksiyon işlemi MTBE'nin yüksek derecede uçucu ve kanserojen yapısından dolayı çeker ocak altında yapılmıştır.

Santrifüj sonrası üst kısımda ayrılan organik faz pipet yardımı ile ayrı bir tüpe alınmıştır. Pipet ile alınan üst fazın hacmi daha sonra geri kazanım faktörünün (f) hesaplanmasında kullanılmak üzere not edilmiştir. Kalan kısma tekrar 2 mL MTBE eklenerek vorteks ve santrifüj işlemi aynı şekilde uygulanmıştır. Ayrılan üst fazın miktarı ölçülerek bir önceki üst fazın olduğu tüpe ilave edilmiştir. Ardından anhidrit sodyum sülfat (Na_2SO_4) eklenerek 2 dakika süresince vorteks ile karışımı sağlanmıştır.

Hazırlanan numuneler şırınga ve şırınga filtresi yardımı ile filtrasyona tabii tutularak 1.5 mL hacimli viallere aktarılmıştır. Uçucu yağ asitlerinin uçucu olmasından dolayı viallerin doldurulması sırasında üst kısımdaki boşluk hacmi olabildiğince az tutulmalıdır. Fakat kromatografik analiz sırasında numuneyi kolona iletmek üzere viallerin içerisine giren cam şırınganın bir hacim kaplayacağı öngörülerek tamamen de doldurulmamalıdır. Viallerdeki üst boğum kısmına kadar dolumu uygundur. Dolumu yapılan vialler gaz kromatografisinde ölçülmek üzere cihaza yerleştirilmiştir. 10 adet vial otomatik örnekleyici kapasitesine sahip olan Varian GC-430 gaz kromatografi cihazının kalibrasyonu her set ölçümünden önce yapılmıştır. Enjeksiyon kalibrasyonu ve şırınga kalibrasyonu günlük olarak yapılmıştır. Enjeksiyon bölümünde bulunan septum her 50-100 ölçümde bir değiştirilmiştir.



Şekil 3.10. Numunenin MTBE ekstraksiyonu sonunda fazlarına ayrılması

Ekstraksiyon analizinin başlangıcında kullanılan numune miktarı ile ekstraksiyon sonunda geri toplanan numune miktarının farklılık gösterdiği durumlarda, numune içerisindeki uçucu yağ asidi konsantrasyonu da buna bağlı olarak değişim göstermektedir. Kromatografi cihazının analizini yaptığı numune, ekstrakte edilmiş numunenin içerisindeki uçucu yağ asidi konsantrasyonu verirken, hesaplanması gereken ekstrakte edilmemiş ham numunenin içerisindeki uçucu yağ asidi konsantrasyonudur. Bu sebeple geri kazanım faktörü (f) Eşitlik 3.11’de verilen formül ile hesaplanmıştır. f faktörü her bir numune için farklı bir değerde olabilmekte ve her seferinde hesaplanması gerekmektedir. f faktörü daha sonra cihazda ölçülen uçucu yağ asidi miktarı ile çarpılarak ekstrakte edilmemiş ham numuneden elde edilen uçucu yağ asidi miktarı hesaplanmıştır.

$$f = \frac{\text{İki ekstraksiyon sonunda toplanabilen ekstrakte edilmiş toplam üst faz (mL)}}{\text{Ekstraksiyonda kullanılan numune miktarı (mL)}} \dots\dots\dots(3.11)$$

3.10.3.2. UYA kompozisyonlarının belirlenmesi ve hesaplanması

Banel ve Zygmunt (2011)’un MTBE ekstraksiyonu uygulanan numunelerin UYA analizinde kullandığı GC metodu tercih edilmiştir. Metot bilgileri Çizelge 3.11’de sunulmuştur.

Çizelge 3.11 Gaz kromatografi cihazında UYA analizi için kullanılan metot parametreleri

Varian GC-430 Gaz Kromatografisi İşletim Parametreleri	Miktar / Değer
Şırınga hacmi	10.0 µL
Enjeksiyon hacmi	5.0 µL
Taşıyıcı gaz	Helyum 28.0 mL/dk
Enjektör sıcaklığı	250°C
Fırın sıcaklığı	220°C
Dedektör sıcaklığı	250°C

Kromatografide WCOT Fused Silica 0.32mm/25m coating FFAP-CB uçucu yağ asidi kolonu kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyumun kullanılmasıyla birlikte yanıcı gaz olarak 30 mL/dk akış hızında H₂ gazı ve 300 mL/dk kuru hava kullanılmıştır. Kolon akış hızı ise 2.0 mL/dk olarak ayarlanmıştır.

Fırın sıcaklığı 60°C başlangıç sıcaklığına ayarlanmış ve kademeli olarak arttırılarak hedef sıcaklığa çıkarılması sağlanmıştır. 60°C ile başlayan fırının sıcaklığı 2 dakika sonra dakikada 10’ar derece artarak 220°C değerine ulaşmaktadır ve 1 dakikalık bekleme süresinin sonunda toplam analiz süresi 19 dk’da tamamlanmaktadır. GC’de kullanılan metodun fırın sıcaklık programı Çizelge 3.12’de sunulmuştur.

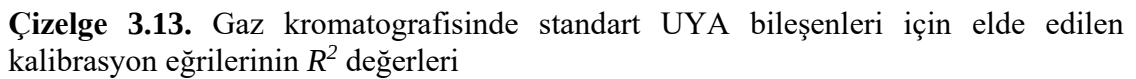
Çizelge 3.12. Kromatografi cihazı fırın sıcaklık programı

	Artış Hızı (°C/dk)	Hedef Noktası (°C)	Bekleme Süresi (dk.)
Başlangıç		60	2
Basamak 1	10	220	1

Analiz öncesinde kromatografi cihazına konsantrasyonu bilinen Supelco Analytical uçucu asit karışımı standardı ile kalibrasyon yapılarak kalibrasyon eğrisi çizdirilmiştir. Standart asit karışımı konsantrasyonları bilinen asetik asit, bütirik asit, formik asit, heptanoik asit, hekzanoik asit, izobütirik asit, izovalerik asit, 4-Metilvalerik asit, propiyonik asit ve valerik asit olmak üzere 10 farklı asit içermektedir. Yapılan 6 noktalı kalibrasyonda üçlü okumalar yapılmış ve Çizelge 3.13'te görülen regresyon katsayısı (R^2) değerleri elde edilmiştir. R^2 değeri eğrinin eğimini veren 0 ile 1 arasında değerler alan bir katsayıdır. R^2 değeri eğer tüm noktaların üzerinden geçiyorsa 1 değerini almaktadır. Regresyon sayısı bağımlı ve bağımsız değişkenlerin arasındaki ilişkiyi ifade etmektedir. Standart karışımın içerisinde 10 adet asit olmasına rağmen 9 adet veri alınmıştır. Bunun sebebi formik asidin FID dedektörü tarafından görülememesinden kaynaklanmaktadır.

6 noktalı kalibrasyonda, konsantrasyonu bilinen standart uçucu yağ asidi karışımına sıvı-sıvı MTBE ekstraksiyonu işlemi yapılmış ve 2 kat, 5 kat, 10 kat, 20 kat, 40 kat ve 100 kat seyreltik olacak şekilde MTBE ile seyreltilerek kromatografide okutulmuştur. Standartların ekstraksiyonu sırasında numunelere uygulandığı gibi geri kazanım faktörü hesaplanmış ve kalibrasyon sonrası elde edilen asit konsantrasyonu okumaları ile çarpılarak asıl okunması gereken değer olarak cihaza tanımlanmıştır.

R^2 hesaplamasında kullanılan 1.dereceden polinomial ($y = bx + a$) denklemde, x değeri mg/L UYA'yı, y değeri kromatografide okunan pik alanını ifade etmektedir. Kalibrasyon eğrisi (0,0) noktasından geçmek üzere ayarlanmıştır. Standart asit karışımı ile yapılan kalibrasyon sonucu elde edilen uçucu organik asitlerin kalibrasyonu eğrileri Şekil 3.11'de sunulmuştur.

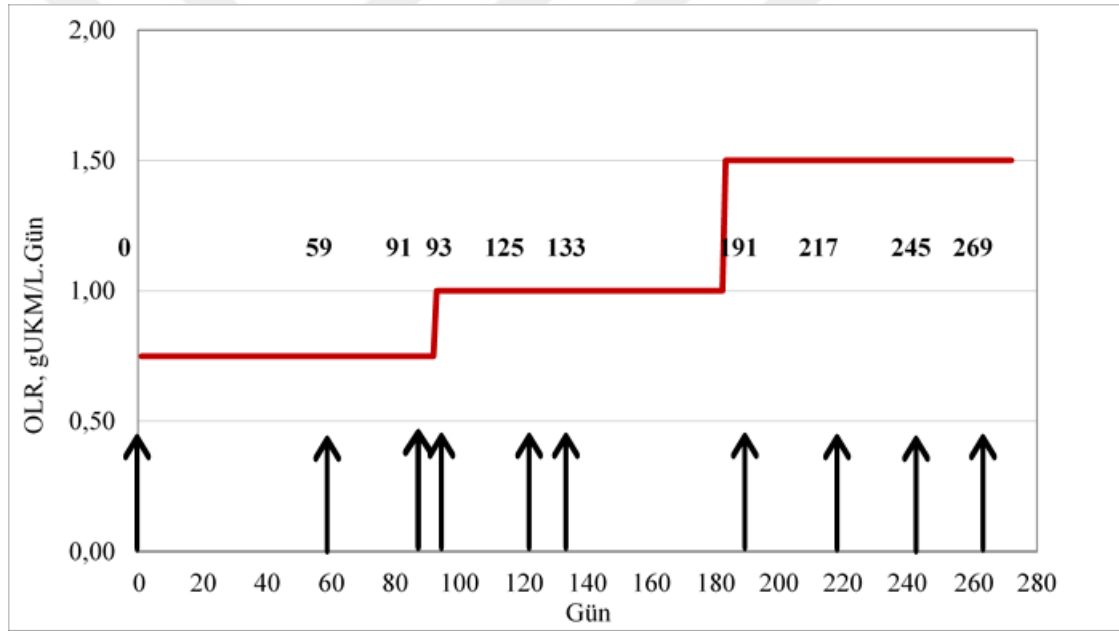


Elde edilen R^2 değerlerinin 0.997 ve üstü rakamlardan oluşması paralel denemeler ve seyreltik okumalar arasındaki kalibrasyonun güvenilir olduğunu belirtmektedir.

Kromatografi kalibrasyonunun tamamlanmasından sonra 3.10.3.1 bölümünde belirtildiği gibi MTBE ekstraksiyonu yapılmış olan numuneler UYA bileşenlerinin analizi yapılmak üzere cihaza yerleştirilerek okumalar yapılmıştır.

3.11. Mikroorganizma Tür Dağılımının Belirlenmesi

Yarı sürekli beslemeli anaerobik reaktörde dallı darının fermentasyonunda aktif olarak görev alan mikroorganizma türlerinin belirlenmesi amacıyla moleküler genetik tanımlama yöntemleri kullanılarak tür tayini yapılmış ve 270 gün süren fermentasyon sürecinde anaerobik mikroorganizmaların ekolojik dağılımı incelenmiştir. Numuneler yarı sürekli beslemeli anaerobik reaktörden belirli zaman aralıklarında alınmış ve -20°C’de muhafaza edilmiştir. Organik madde yükleme miktarının artırılması ile mikrobiyal ekolojideki değişimi tespit etmek amacıyla anaerobik reaktörden numune alınan günler Şekil 3.12’de sunulmuştur. Mikrobiyal dağılımı incelemek için her organik madde yükleme değerinin başlangıcında, ortasında ve sonunda olacak şekilde numuneler alınmış ve analiz edilmiştir. t=0 günü, henüz dallı darı beslemesi yapılmamış ham aşı çamur numunesini ifade etmektedir.



Şekil 3.12. Farklı organik madde yükleme değerlerinde yarı sürekli anaerobik reaktörden numune alım günleri

3.11.1. DNA izolasyonu

Reaktörden belirli aralıklarla alınan numuneler, DNA izolasyonu yapılana kadar -20°C’de saklanmıştır. Numunelere DNA izolasyonu yapılmadan önce, oda sıcaklığında çözümleri sağlanmış ve 7000 devir/dakika 30 dakika santrifüj edilerek konsantre hale getirilmişlerdir. DNA izolasyonu için Soil Microbe DNA MiniPrep Kit kullanılmıştır. Kit kullanım kılavuzunda önerilen miktarda numune tartılmış ve silika boncuklar içeren mikrosantrifüj tüpüne doldurulmuştur. Numune içeren tüp multi-vorteks cihazı ile 5 dakika süresince yüksek devirde vortekslenerek hücrelerin mekanik olarak

parçalanmaları sağlanmıştır. Silika boncuklarla mekanik parçalama yapıldıktan sonra ortaya çıkan hücre içeriği arasından DNA, Soil Microbe DNA MiniPrep (ZymoResearch) prosedürüne uygun olarak saflaştırılmıştır. Saflaştırma prosedürü, kit içerisinde bulunan üretici firma tavsiyelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyondan sonra elde edilen DNA'lar, sonraki işlemlerde kullanılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır.

3.11.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) amplifikasyonu

PZR numune içerisindeki mikroorganizmalarda bulunan nükleik asit yapısının saflaştırılması ve çoğaltılması işlemidir. PZR sırasında nükleik asitin sadece istenilen bölgelerini kopyalayabilmek için spesifik hedef dizilerini içeren primerler kullanılmaktadır. Bu sayede istenen türe özgü primerler kullanılarak, alınan numunelerin içerisinde sadece o türe ait DNA dizileri çoğaltılabilmektedir. PZR ile ekstrakte edilen az miktardaki DNA içeriği, sonraki aşamalarda yapılacak deneylerde kullanılabilecek miktara ulaştırılmış olmaktadır. PZR işlemi üç basamaktan oluşmaktadır. İlk basamak “denatürasyon” olarak isimlendirilmekte ve DNA'nın çift sarmal yapısı, 92-95°C sıcaklık aralığında açılarak iki tek zincire ayrılmaktadır. Bunun ardından “bağlanma (annealing)” basamağı uygulanmakta ve primerin 45-65°C sıcaklık aralığında DNA'nın tek dizisindeki hedef bölgeye bağlanması sağlanmaktadır. Bağlanma basamağından sonra “uzama (extension)” aşaması gelmektedir ve bu basamakta DNA'nın tek zincirine bağlanan primerlerin, Taq-DNA polimeraz enzimi yardımıyla 72°C sıcaklıkta DNA'nın nükleotit dizisinin tamamlayıcısı olarak uzatılması gerçekleştirilmektedir. Bir PZR süresince bu üç aşama yaklaşık 30-45 kez tekrarlanmaktadır. PZR'nın kaç döngüden oluşacağı, her bir aşamanın hangi sıcaklıkta ve ne kadar sürede gerçekleşeceği çoğaltılacak numune ve çoğaltılmak istenen DNA bölgesi için optimize edilmektedir.

Çalışmada tüm PZR amplifikasyonları Thermocycler T3000 (TECHNE) cihazı ile yapılmıştır. Kullanılan primerler ise Çizelge 3.14'te sunulmuştur. Bakterilerin 16S rDNA geninin (BacV3F ve 907R) amplifikasyonu için aşağıdaki program kullanılmıştır: ön denatürasyon (95°C, 5 dak.); 30 devir, denatürasyon (94°C, 30 sn), annealing (bağlanma) (50°C, 1 dak.) ve elongasyon (72°C, 2 dak.) döngüsü ve son elongasyon (72°C, 10 dak.). PZR programı +4°C'de soğutma ile sonlandırılmıştır.

PZR reaksiyonuna göre tüplere konan amplifikasyon solüsyonu; 0,5'er µM reverse ve forward primerleri, 1 µL Taq DNA polimeraz enzimi, 1 x PZR buffer solüsyonu, 1,5mM MgCl₂ ve 0.1mM dNTP karışımından oluşmaktadır. PZR karışımı içerisine izole edilmiş DNA numunesinden 1 µL eklenmiştir. Toplam hacmi 100 µL' ye tamamlayacak şekilde Rnase/Dnase free su eklenmiştir. PZR sonrası %1 agaroz kullanılan agaroz jel elektroforezi yapılarak sonuçlar gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.14. PZR analizlerinde kullanılan primer çiftleri

Primerler	Nükleotid dizileri	Referans
BacV3F*	5’-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3’	Muyzer vd. 1996
907R	5’-CCG TCA ATT CMT TTG AGT TT-3’	
ARC344F*	5'-ACG GGG YGC AGC AGG CGC GA-3'	Casamayor vd. 2000
ARC915R	5'-GTG CTC CCC CGC CAA TTC CT-3'	
*DGGE öncesinde ilk PZR reaksiyonunda 40 bp GC-clamp olan forward primerler kullanılmıştır.		

Metanogenik Arkea'ların tespit edilebilmesi için Arkea primerleri olan (344F ve 915R) kullanılarak PZR gerçekleştirilmiştir. Kullanılan program, Casamajor ve arkadaşlarına (2001) ait çalışmadan alınmıştır. Ön denatürasyon (94°C, 5 dak.); 20 devir, denatürasyon (94°C, 1 dak.), annealing (bağlanma) 0.5°C/devir azalma olacak şekilde (71 - 61°C, 1 dak.), elongasyon (72°C, 3 dak.) döngüsü ve sonrasında 15 devir, denatürasyon (94°C, 1 dak.), annealing (bağlanma) (61°C, 1 dak.), elongasyon (72°C, 3 dak.) döngüsü ve son elongasyon (72°C, 10 dak.) olacak şekilde uygulanmıştır. PZR programı +4°C'de soğutma ile sonlandırılmıştır.

Optimize edilen PZR reaksiyonuna göre tüplere konan amplifikasyon solüsyonu ise; 0,5'er µM reverse ve forward primerleri, 1 µL Taq DNA polimeraz enzimi, 1 x PZR buffer solüsyonu, 6 µL MgCl₂ (25 mM) ve 0.4 µL dNTP (25 mM) karışımından oluşmaktadır. PZR karışımı içerisine izole edilmiş DNA numunesinden 2 µL eklenmiştir. Toplam hacim 100 µL olacak şekilde RNase/DNase free su eklenmiştir. PZR sonrası %1 agaroz jel elektroforezi ile sonuçlar gözlemlenmiştir.

3.11.3. Denatüre gradian jel elektroforezi (DGEE)

Tür farklılıkları, denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE) tekniği ile tespit edilmiştir. DGGE, genomik, klonlanmış ve PZR ile çoğaltılmış DNA'daki tek baz değişimlerinin ve polimorfizmin belirlenmesinde etkili bir genetik analiz yöntemidir. DGGE deneyinde denatüre madde (formamit ve üre karışımı), poliakrilamid jellerdeki yarı erimiş, çift-sarmallı DNA moleküllerinin azalmış elektroforetik hareketine bağlıdır. Yüksek lisans tez çalışmasında organik madde yükleme hızının değiştirilmesi ile türlerin zamana ve işletim şartlarındaki değişikliğe bağlı değişimlerini tespit etmek amacıyla DGEE yöntemi uygulanmıştır.

PZR ürünlerinin DGGE'si, D-CODE System (BioRAD, The Netherlands) kullanılarak yapılmıştır. Deneyler esnasında, denatürant gradiyenti ve akrilamid konsantrasyonunu optimize etmek için farklı denemeler yapılmıştır. Optimum koşullar belirlendikten sonra bakterilere ait PZR ürünleri, %6 poliakrilamid içeren ve %30-70 denatürant içeren jelle yüklenmiştir. %100 denatürant, 7 mol/L üre ve % 40 formamide içermektedir. DGGE jeli için iki farklı yoğunluğa sahip jel (casting jel) hazırlanmış olup bu aşamada uygulanan prosedürlerden biri örnek olarak Çizelge 3.15'te sunulmuştur.

Çizelge 3.15. DGGE jel prosedürü

Kimyasal	Düşük Yoğunluktaki Çözelti (%30)	Yüksek Yoğunluktaki Çözelti (%70)
Üre	6,3 g	14,7 g
50xTAE	1 mL	1 mL
%40 Acrylamide/Bis (37,5:1)	10 mL	10 mL
Formamide	6 mL	14 mL
dH ₂ O	50 mL' ye tamamlanır	50 mL' ye tamamlanır
TAE:Tris-Acetate-EDTA		

Hazırlanan farklı yoğunluğa sahip her bir çözeltinin 25 mL'sine 5 µL Tetrametilendiamin (TEMED) ve 50 µL %20'lik APS (amonyum persülfat) eklenerek karıştırılmış, DGGE camları arasına doldurma işlemi gerçekleştirilmiş ve hazırlanan akrilamid jel oda sıcaklığında 2 saat polimerize olması için bekletilmiştir. Casting jel üzerine 3 mL ultra saf distile su eklenerek jelin düzgün bir şekilde donması sağlanmıştır. Donma işlemi gerçekleştikten sonra öncelikle casting jel üzerindeki ultra saf su boşaltılmıştır. Daha sonra stacking jel'e (2 mL %40 acrylamide/ bis, 200 µL 50XTAE, 7,8 mL steril su) 6 µL TEMED ve 100 µL APS eklenmiş ve bu karışım casting jel üzerine (DGGE tarakları arasına) pipet yardımı ile doldurulmuştur.

Oda sıcaklığında, 30 dakika bekleme işleminden sonra tarak çıkarılmış ve tarak oyukları 1xTAE ile şırınga kullanılarak üç kez temizlenmiştir. Yükleme yapılan jel, 16 saat süresince 60°C'de ve 100V'da sabit şekilde yürütülmüştür. Sonrasında SyberGold ile 40 dakika süresince karanlık bir ortamda boyanan jel, UV floresans altında görüntülenmiştir. Jel üzerindeki belirgin bantlar steril bistüri ile kesilmiş ve 20 µL moleküler suyun içerisinde konulmuştur. +4°C'de bir gece bekletildikten sonra GC-klemp olmayan primerlerle yapılan PZR reaksiyonu için kalıp DNA olarak kullanılmıştır.

Saflaştırılan PZR ürünü, sekanslama için Medsantek (İstanbul) firmasına gönderilmiştir. Sekans sonuçları BioEdit programı kullanılarak incelenmiş ve FASTA sekansları belirlenmiştir. Sekanslar ise NCBI içerisindeki BLAST programı ile analiz edilmiş ve numunelerimizdeki türlere en yakın türler belirlenmeye çalışılmıştır.

3.12. Reaksiyon Kinetiği

Metan üretim potansiyeli, biyogaz tesislerinin tasarımında ve işletilmesindeki en önemli parametrelerden biridir. Metan üretim potansiyelinin tespiti biyogaz tesisinin ekonomik fizibilitesi belirlemede kritik parametredir. Ancak, BMP analizinin süresi ve iş yüküne bağlı olarak substratların metan üretim potansiyellerini tespit etmek her zaman mümkün değildir. Bundan dolayı ekonomik getiri sağlayacak bir tesis tasarımı için metan üretiminin doğru tahmin edilmesi kritiktir.

Bu bağlamda, kümülatif biyokimyasal metan üretim verileri ve biyokimyasal metan üretim profil değerleri kullanılarak kinetik katsayılar tespit edilmekte ve substratların parçalanma kinetikleri değerlendirilebilmektedir. Bu çalışmada Gompertz modeli (Zwietering vd. 1990), Cone modeli (Pitt vd. 1999), Reaction Curve modeli ve

birinci dereceden kinetik model (Llabrés-Luengo ve Mata-Alvarez 1987) ile anaerobik parçalanma prosesi değerlendirilmiştir.

Lignoselülozik yapıllı hammaddelerin anaerobik parçalanmasındaki hız sınırlayıcı adım hidroliz basamağıdır. Bu nedenle hidroliz hızının ve metan veriminin belirlenmesi amacıyla Birinci Dereceden Kinetik model ve Cone modeli kullanılmıştır. Model eşitlikleri sırasıyla Eşitlik 3.12 ve 3.13'te sunulmuştur.

$$\text{Birinci dereceden kinetik model} \quad M = P. [1 - e^{(-kt)}] \dots\dots\dots (3.12)$$

$$\text{Cone model} \quad M = \frac{P}{1+(kt)^{-n}} \dots\dots\dots (3.13)$$

Burada;

M: Kümülatif metan üretimi, mL CH₄/g UKM_{eklenen}

P: Substratın maksimum metan üretim potansiyeli, mL CH₄/g UKM_{eklenen}

k: Hidroliz hız sabiti, 1/gün

t: Zaman, gün

n: Şekil faktörü

Anaerobik parçalanma prosesinin veriminin değerlendirilmesinde gecikme fazının belirlenmesi kritik önem taşımaktadır. Yüksek biyogaz verimi için gecikme fazının kısa olması beklenmektedir. Bu sebeple gecikme fazı süresinin ve maksimum metan üretim hızının belirlenmesi için Gompertz modeli ve Reaction Curve modeli kullanılmıştır. Gompertz modeli metan üretiminin tahmininde yaygın olarak kullanılan bir kinetik modeldir. Model eşitlikleri, Eşitlik 3.14 ve 3.15'te verilmiştir.

$$\text{Gompertz modeli} \quad M = P. \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \dots\dots\dots (3.14)$$

$$\text{Reaction Curve modeli} \quad M = P. \left[1 - \exp \left(-\frac{R_m(t-\lambda)}{P} \right) \right] \dots\dots\dots (3.15)$$

Burada;

M: Kümülatif metan üretimi, mL CH₄/g UKM_{eklenen}

P: Substratın maksimum metan üretim potansiyeli, mL CH₄/g UKM_{eklenen}

R_m: Maksimum metan üretim hızı, ml CH₄/g UKM_{eklenen}.gün

λ: Gecikme fazının süresi, gün

t: Zaman, gün

e: Eksponansiyel 1 değeri, 2.7183

Birinci Dereceden Kinetik model, Cone modeli, Gompertz modeli ve Reaction Curve modeli simülasyonları AQUASIM 2.0 programı kullanılarak yapılmıştır.

Çalışma kapsamında kullanılan her dört modele ait metan üretim miktarlarının tahminleri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Deneysel olarak elde edilen sonuçlar ile model tahmin sonuçları arasında uyumluluğu görmek amacıyla regresyon analizi uygulanmıştır. Analiz için Microsoft Excel programı kullanılmıştır. Modelin uyumluluğu determinasyon katsayısı (R²) ve düzeltilmiş determinasyon katsayısı (*adj*-

R^2) ile değerlendirilmiştir. Yüksek R^2 değerleri deneysel sonuçlar ile model tahmin sonuçları arasında yüksek uyumun olduğunu belirtmektedir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Dallı Darı Karakterizasyon Analizlerine ait Sonuçlar

Kanlow dallı darı çeşiti karakterizasyon analizleri kurutulup öğütülerek homojenize edilmiş örnekler kullanılarak yapılmıştır. Tüm analizler üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Analizlere ait elde edilen ortalama sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Kanlow çeşidi dallı darı karakterizasyon analiz sonuçları

Analiz	Birim	Dallı Darı
Toplam Katı Madde, TKM	(g/kgNumune)	937.28
Uçucu Katı Madde, UKM	(g/kgNumune)	863.96
Toplam Şeker	(mg/gUKM)	140.69
İndirgen Şeker	(mg/gUKM)	40.19
Ekstrakte Olabilen Madde ve Yağ	(mg/gUKM)	11.67
Çözünmüş Protein	(mg/gUKM)	59.81
Çözünmüş Oksijen İhtiyacı	(mg/gUKM)	102.2
Toplam Kjeldahl Azotu, TKN	(mg/gUKM)	5.26
Asitte Çözünen Lignin, ASL	(%)	2.46
Asitte Çözünmeyen Lignin, AIL	(%)	17.99
Van Soest Fraksiyonu		
Çözünür Madde (SOLU)	(%)	22.40
Hemiselüloz (HEMI)	(%)	36.24
Selüloz (CELL)	(%)	35.94
Lignin (LIGN)	(%)	5.42
Toplam Karbon, TK	(%)	38.31
İnorganik Karbon, IK	(%)	0.13
Toplam Organik Karbon, TOK	(%)	38.18
Elementel Analiz		
C	(%)	41.95
H	(%)	6.14
N	(%)	0.35
S	(%)	0
İz Elementler		
Mg	ppm	1427
Al	ppm	60.2
Fe	ppm	69.4
Cu	ppm	1.51
Mn	ppm	27.4
Sr	ppm	21.4
Se	ppm	0.23
Ca	ppm	10.62
Na	ppm	2.74
K	ppm	8.64
Yapısal Karbonhidratlar		

Sellobiyoz	(%)	0
Glukoz	(%)	32.68
Ksiloz	(%)	21.52
Galaktoz	(%)	2.56
Arabinoz	(%)	1.87
Mannoz	(%)	0
Alt Isıl Değer	kcal/kg	3475
Üst Isıl Değer	kcal/kg	3610.1

Dallı darı Kanlow numunesi TKM ve UKM analiz sonuçları sırasıyla 937.28 g/kg ve 863.96 g/kg olarak tespit edilmiştir. Yüksek TKM sonuçları dallı darının tarlada kurutma dışında ekstra bir kurutma işlemi gerektirmediğini göstermektedir. Literatürde yayınlanan diğer çalışmalarda dallı darının TKM değerleri 909.0 ila 977.7 g/kg aralığında tespit edilmiştir. UKM değerleri ise 684.6 ila 842.0 g/kg aralığında değişiklik tespit edilmiştir (Fahmi vd. 2007; Imam ve Capareda 2012; Motasemi vd. 2014; Sadaka vd. 2014). Kanlow çeşidi dallı darı için ölçülen TKM ve UKM değerleri literatürde dallı darının farklı çeşitleri için tespit edilen TKM ve UKM değerlerine benzerdir.

Kanlow çeşidi dallı darı %36.24 hemiselüloz, %35.94 selüloz, %22.40 çözünür madde ve %5.42 lignin içermektedir. Dallı darının iki farklı yöntem ile belirlenen TK ve C değerlerinin birbirine benzer ve sırasıyla %38.31 ve %41.95 olarak tespit edilmiştir. Yüksek selüloz, hemiselüloz ve karbon içeriği dallı darı çeşidinin biyoyakıt üretimi için uygun hammadde olduğunu göstermektedir. Literatürde dallı darının elementel bileşiminin ölçüldüğü çalışmalarda, karbon miktarı % 42.0 - 48.0, hidrojen miktarı %5.4 - 6.1, azot miktarı % 0.4 - 0.41, oksijen miktarı % 41.4 - 47.4 ve sülfür miktarı % 0.1 - 0.16 aralığında tespit edilmiştir (David ve Ragauskas 2010; Imam ve Capareda 2012; Lemus vd. 2002). Kanlow çeşidi dallı darının elemental bileşimi literatürde farklı dallı darı çeşitleri için tespit edilen aralıklar içerisinde yer almaktadır.

HPLC ile yapılan yapısal karbonhidrat analizi sonucunda Kanlow çeşidinin %32.68 glukoz ve %21.52 ksiloz içerdiği tespit edilmiştir.

Dallı darının TKN, çözünmüş indirgen şeker (çİndŞeker), ASL ve AIL analiz sonuçları sırasıyla 5.26 mgTKN/gUKM, 40.19 mg çİndŞeker/gUKM, % 2.46 ve % 17.99 olarak bulunmuştur. Literatürde farklı dallı darı çeşitleri için 6.4-8.9 mgTKN/gUKM (Grigatti vd. 2004), 26.6-67.8 mgçİndŞeker/gTKM (Adler vd. 2006; Butkute vd. 2013) %1.8 - 8.56 ASL ve %19.5 - 25.6 AIL (Esteghlalian vd. 1997; Samuel vd. 2010) değerleri tespit edilmiştir. Kanlow dallı darı çeşidi için elde edilen sonuçların literatürde farklı dallı darı çeşitlerine ait sonuçlar ile uyumlu oldukları görülmektedir.

Van Soest fraksiyon analizi sonucunda dallı darıda % 22.40 çözünmüş madde (SOLU), % 36.24 hemiselüloz (HEMI), % 35.94 selüloz (CELL) ve %5.42 lignin (LIGN) ölçülmüştür. Farklı dallı darı çeşitlerinin literatürde bulunan Van Soest fraksiyonu analiz sonuçları incelendiğinde; Imam vd. (2012) dallı darının Van Soest fraksiyonunu %18.5 ekstrakte olabilen madde, %19.2 hemiselüloz, %32 selüloz ve %18,8 lignin olarak tespit ederken, Perez vd. (2015) %8.5 ekstrakte olabilen madde, %36 hemiselüloz, %33 selüloz ve %20 lignin sonuçlarını bulmuştur. Carpenter vd. (2010) dallı darıda %25.2 hemiselüloz, %31.1 selüloz ve %16,8 lignin tespit ederken, Adler vd. (2006) %26.5-29.9

hemiselüloz, %28.6-34.8 selüloz ve %13-14.2 lignin değerlerini bulmuştur. Van Soest fraksiyonu hammaddenin yapısal bileşenleri hakkında bilgi veren önemli bir analizdir. Selüloz ve hemiselüloz açısından zengin olan dallı darı biktisinin hidrolizi sonucu yüksek miktarda glikoz monomerleri açığa çıkmaktadır. Bu durum dallı darının enerji bitkisi olarak tercih edilmesindeki en önemli faktörlerden biridir.

Fahmi vd. (2007) ve David ve Ragauskas (2010) araştırmalarında dallı darının iz element içeriğini ölçmüş ve 102 ppm Al, 6173 ppm Ca, 2 ppm Cu, 113 ppm Fe, 717 ppm K, 542 ppm Mg, 41 ppm Mn, 0 ppm Mo, 158 ppm Na tespit etmiştir. Belirli iz element sonuçları literatür ile uyumlu bulunurken, diğerleri literatürden farklı sonuçlar vermiştir. Elde edilen farklı sonuçlar dallı darının yetiştirildiği toprak içeriği ile ilişkilidir.

4.2. Anaerobik Aşı Çamurun Katı Madde Miktarı

Kesikli BMP testinde ve yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktör sisteminde kullanılacak anaerobik aşı çamurun TKM ve UKM analizleri yapılmıştır. Kesikli BMP testlerinde anaerobik fermentasyonda reaktöre ilave edilmesi gereken aşı miktarının tespit edilmesi için aşı çamurun TKM ve UKM değerleri önem taşımaktadır. Analiz değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. BMP reaktörlerinde kullanılan aşı çamura ait TKM ve UKM sonuçları

Analiz	Birim	Anaerobik Aşı Çamur
Toplam Katı Madde, TKM	g/kg	32.96
Uçucu Katı Madde, UKM	g/kg	21.11

Anaerobik aşı çamurun katı madde miktarı, yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktörde çalışılması hedeflenen (%5 TKM) değerden az olduğu için anaerobik aşı çamur santrifüjlenmiş ve istenilen katı madde miktarı santrifüjleme işlemi ile sağlanmıştır. Anaerobik aşı çamur içerisinde bulunan anaerobik mikroorganizmalar katı kısımda olduğundan yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktöre Çizelge 4.3’te TKM ve UKM sonuçları verilen aşı çamur eklenmiştir.

5L çalışma hacmindeki yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktör %5.38 katı madde içeren anaerobik aşı çamur ile devreye alınmıştır.

Çizelge 4.3. Anaerobik aşı çamur TKM ve UKM analiz sonuçları

Analiz	Birim	Santrifüj Öncesi Anaerobik Aşı Çamur	Reaktöre Eklenen Anaerobik Aşı Çamur
Toplam Katı Madde, TKM	g/kg	32.96	53.78
Uçucu Katı Madde, UKM	g/kg	21.11	36.55

4.3. Dallı Darının Teorik Metan Potansiyeli

Dallı darının teorik metan potansiyeli hesaplamasında dallı darıya ait TKM, UKM ve elementel analiz sonuçları kullanılmıştır. Çizelge 4.4'te dallı darının elemental kompozisyonu verilmiştir.

Çizelge 4.4. Dallı darının elemental içeriği

Elementel İçerik	%
Karbon, C	41.95
Hidrojen, H	6.14
Oksijen, O	43.64
Azot, N	0.35
Kükürt, S	0
İnert Madde	7.92

Çizelge 4.4'te sunulan elemental bileşim kullanılarak 100 g dallı darının karbon, hidrojen, oksijen ve azot kompozisyonu aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$\text{Karbon} = 0.42/12(\text{g/mol}) * 100 \text{ g} = 3.50 \text{ mol}$$

$$\text{Hidrojen} = 0.061/1.008 (\text{g/mol}) * 100 \text{ g} = 6.09 \text{ mol}$$

$$\text{Oksijen} = 0.44/16 (\text{g/mol}) * 100 \text{ g} = 2.72 \text{ mol}$$

$$\text{Azot} = 0.0035/14 (\text{g/mol}) * 100 = 0.025 \text{ mol}$$

Molar oran;

$$\begin{array}{ccccccc} \text{C} & : & \text{H} & : & \text{O} & : & \text{N} \\ 3.50 & : & 6.09 & : & 2.72 & : & 0.025 \end{array} \longrightarrow \text{Toplam: 12.39}$$

Moleküler formül düzenlemesi;

$$\begin{array}{ccccccc} \text{C} & : & \text{H} & : & \text{O} & : & \text{N} \\ 140 & : & 244 & : & 109 & : & 1 \end{array}$$

Genişletilmiş kimyasal formülü $\text{C}_{140}\text{H}_{244}\text{O}_{109}\text{N}_1$ olarak bulunan dallı darının teorik metan verimi Buswell eşitliğine göre hesaplanabilir hale gelmiştir. Buswell ve Muller (1952) Eşitliği (Eşitlik 3.2) maddenin karbondioksit, metan ve amonyuma parçalandığını varsaymaktadır.

Buswell ve Muller Eşitliğine göre teorik biyokimyasal metan potansiyeli (TBMP) Eşitlik 3.3 yardımıyla hesaplanmıştır.

Dallı darı numunesi TBMP değeri Buswell ve Muller Denklemi kullanılarak $\text{mLCH}_4/\text{gUKM}$ cinsinden tespit edilmiştir. Dallı darının teorik metan potansiyeli $439,5 \text{ mLCH}_4/\text{gUKM}$ olarak hesaplanmıştır.

Shen vd. (2020) ve Uma vd. (2020) yaptıkları çalışmalarında dallı darının teorik biyokimyasal metan potansiyeli değerlerini 360.5 ve 223.0 mL/gUKM olarak bildirmişlerdir (Shen vd. 2020; Uma vd. 2020). Bu çalışmada dallı darı için hesaplanan teorik biyokimyasal metan potansiyeli değeri Shen vd. (2020) ve Uma vd. (2020)

tarafından hesaplanan değerlerden yüksektir. Dallı darının karbon depolama kapasitesi, türden türe ve yetiştirilme koşullarına göre değişmektedir.

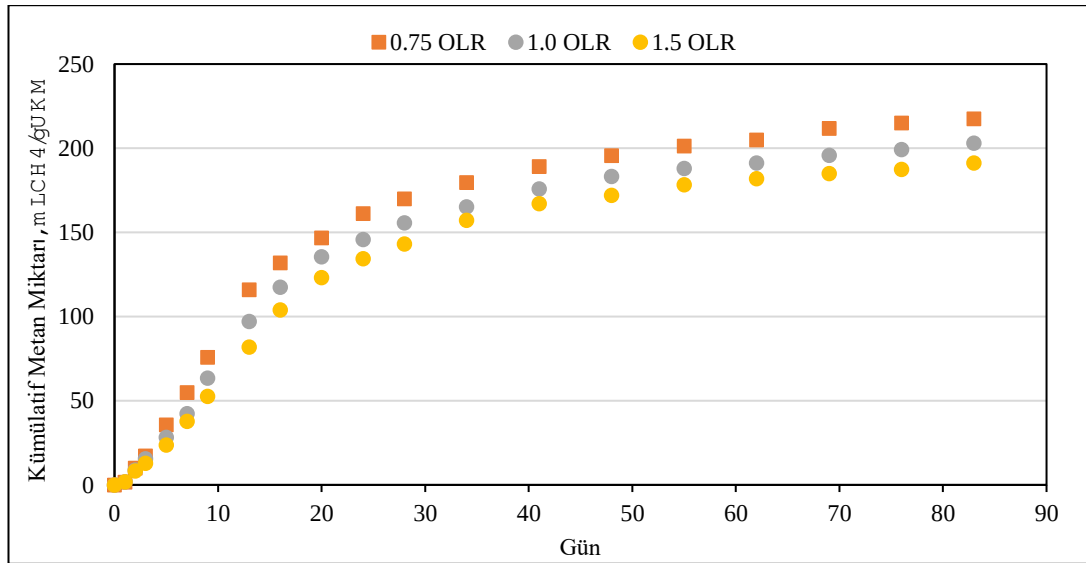
Literatürde dallı darının teorik biyokimyasal metan potansiyelinin hesaplandığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle benzer lignoselülozik yapıya sahip delice otu, darı ve saman gibi hammaddelerin teorik biyokimyasal metan potansiyelleri ile de karşılaştırma yapılabileceği düşünülmüştür. Delice otu, darı ve saman'ın teorik biyokimyasal metan potansiyelleri sırasıyla 443, 452 ve 448 mLCH₄/kgUKM olarak bulunmuştur (Jingura ve Kamusoko 2017; Triolo vd. 2011). Lignoselülozik yapıya sahip bu enerji bitkileri dallı darı ile metan potansiyeli açısından benzerlik göstermektedir.

4.4. Dallı Darının Teorik Oksijen İhtiyacı

Genişletilmiş kimyasal formülü C₁₄₀H₂₄₄O₁₀₉N₁ olarak bulunan dallı darının teorik oksijen ihtiyacı (TOİ) stokiyometrik denklik yardımıyla hesaplanmıştır. Stokiyometrik denklikte maddenin karbondioksit, su ve amonyuma parçalandığı varsayılmaktadır. Dallı darının teorik oksijen ihtiyacı 1.27 gO₂/gUKM olarak hesaplanmıştır.

4.5. Dallı Darının Biyokimyasal Metan Potansiyeli

Organik madde yükleme hızının metan üretim potansiyeline etkisinin tespit edilmesi amacıyla Kanlow çeşidi dallı darı numunesinin farklı organik madde yükleme hızlarında kesikli anaerobik sistemde üretebileceği metan miktarları biyokimyasal metan potansiyeli (BMP) testi ile tespit edilmiştir. BMP testlerinin 60 gün çamur yaşı (SRT) ile sürdürülmesi planlanmıştır. Ancak, metan üretiminin devam ettiği gözlenmiş ve BMP testi 83 gün sürdürülmüştür. Farklı organik madde yükleme hızlarında (OLR) üretilen spesifik metan miktarlarının (mLCH₄/gUKM) zamanla değişimi Şekil 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Farklı organik madde yükleme hızlarında (OLR) üretilen metan miktarlarının (mLCH₄/gUKM) zamanla değişimi

Hesaplanan miktarda ham Kanlow dallı darı numuneleri 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızları sağlanacak şekilde BMP şişelerine konulmuş ve organik madde yükleme hızının metan üretim potansiyeline etkisi incelenmiştir. 83 gün süren ve 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarında yürütülen BMP testlerinden elde edilen kümülatif metan değerleri sırası ile 217.5, 203.0 ve 191.3 mLCH₄/gUKM olarak belirlenmiştir. 60 gün sonunda elde edilen kümülatif metan miktarları ise 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme değerleri için sırası ile 203.9, 190.5 ve 181.0 mLCH₄/gUKM olarak elde edilmiştir. BMP test süresinin 23 gün artırılmasıyla metan üretiminde 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızları için sırasıyla %6.7, 6.6 ve 5.7 oranında artış gözlenmiştir. 60 ve 83 gün bekleme sürelerinde ölçülen BMP değerlerinin birbirlerinden istatistiksel olarak farklılıklarını belirlemede kullanılan p değeri 0.023 olarak hesaplanmıştır. p-değerinin 0.01-0.05 arasında bulunması farklılığın önemli olduğunu belirtmektedir. 60 ve 83 gün sürdürülen BMP testi sonuçlarının farklılığı istatistiksel olarak önemli olsa bile, metan üretiminde gözlenen artışın maksimum %6.7 olmasıyla elde edilecek kazancın fazladan 23 gün bekleme süresinin yaratacağı hacim, yatırım ve işletme maliyeti ile fizibiliteye bir katkı sağlamayacağı düşünülmektedir.

Organik madde yükleme miktarı arttıkça toplam üretilen metan miktarı (mLCH₄) artmasına rağmen birim uçucu katı madde başına üretilen metan miktarında azalma görülmüştür.

Dallı darı bitkisinin TBMP değeri 439.5 mLCH₄/gUKM olarak hesaplanmıştır. 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme değerleri için 83 gün bekleme süresi sonunda üretilen metan miktarı, TBMP değerinin sırasıyla %49.1, %45.8 ve %43.2'sine ulaşabilmiştir ve OLR'nin artmasıyla anaerobik parçalanabilirlik azalmaktadır. Bekleme süresi 60 gün alındığında ise 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme değerleri için üretilen metan miktarı, TBMP değerinin sırasıyla %46, %43 ve %41'ine ulaşabilmiştir. Dallı darı bitkisinin lignoselülozik yapıda olması ve öncesinde herhangi bir ön işlem uygulanmamış olması anaerobik parçalanmayı zorlaştırmaktadır. Elde edilen verilere dayanılarak verimlilik ve hammadde ekonomisi düşünüldüğünde düşük (0.75 OLR) organik madde yükleme hızında çalıştırılan prosesin tercihi önerilmektedir. 0.75 OLR'de üretilen 203.9 mLCH₄/gUKM miktarının %80'lik bölümü ilk 24 gün süresinde elde edilmiştir. Çalışma 60 gün sürdürülmesine rağmen bu bulgu, dallı darıdan ekonomik metan üretimi açısından çamur yaşının 24-25 gün alınabileceğini de ortaya koymaktadır.

Niu vd. (2015) çalışmalarında 44 gün süresince %8 TKM ve 1:12 F:M oranında dallı darı ile işletilen BMP testi sonucunda 135.31 mLCH₄/gUKM değerinde kümülatif metan potansiyeli değeri elde etmişlerdir. Fakat, elde edilen kümülatif metan miktarı teorik metan potansiyelinin %30'una tekabül etmektedir. Frigon vd. (2012) 1:2 F:M oranı ile 38 gün işletilen sistemden 112.4 mLCH₄/gUKM kümülatif metan miktarı elde etmişlerdir. Kullanılan aşı çamuru, elma fabrikasının atıksu işletmesinde bulunun çürütücüden temin edilmiştir. Bu çalışmada ise dallı darı teorik metan veriminin %25'ine kadar ulaşılabilmiştir. Barbanti vd. (2014) 1:4.5 F:M oranında 58 gün işletilen BMP testi sonucunda kümülatif metan üretimini 216 mLCH₄/gUKM olarak bulmuştur. Bu değer, dallı darı teorik metan üretim veriminin %49'una karşılık gelmektedir. Bu çalışmada aşı çamuru ticari bir anaerobik parçalama tesisinden (çalışma koşulları: 55°C, mısır silajı ve

taze sebze artıkları ile beslenen) temin edilmiş ve 10 gün süre ile 35°C mezofilik koşullara adapte olması için karanlıkta bekletilmiştir. Brown vd. (2012), %5 TKM ile 30 gün süren BMP testi sonucunda kümülatif metan üretimini 111.0 mLCH₄/gUKM olarak bulmuştur. Atıksu arıtma tesisinden temin edilen arıtma çamurunun aşısı olarak kullanıldığı bu çalışmada elde edilen kümülatif metan miktarı dallı darı teorik metan potansiyelinin %25'ine tekabül etmektedir.

Bu tez çalışmasında farklı organik madde yükleme hızlarında dallı darı numunelerinin ölçülen BMP değerleri (203.9, 190.5 ve 181.0 mLCH₄/gUKM), literatürde dallı darı için ölçülen metan üretim değerlerinden genel olarak yüksektir. Bu çalışmada, 0.75 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında elde edilen kümülatif metan miktarı, dallı darının teorik metan potansiyelinin %46'sıdır.

Literatür incelendiğinde, lignoselülozik atığı anaerobik olarak parçalamaya adapte olmuş mikroorganizma içeren anaerobik aşısı çamuru kullanan Barbanti vd. (2014), diğer çalışmalara göre yüksek metan üretim verimi ve bu tez çalışması ile benzer sonuçlar elde etmiştir. Bu tez çalışması kapsamında kullanılması tercih edilen büyükbaş hayvan çiftliğinin anaerobik arıtma tesisinden alınan aşısı çamurunun lignoselülozik atık materyallere adapte olmuş mikroorganizmalar içermesi özellikle göz önünde bulundurulmuştur. Kullanılacak aşısı çamurdaki mikroorganizmanın substrata adaptasyonu büyük önem taşımaktadır. Uma vd. (2020) yiyecek atığı ile dallı darı bitkisini 1:0, 1:1 ve 0:1 oranlarında karıştırarak mezofilik koşullarda 30 gün SRT ve termofilik koşullarda 18 gün SRT uygulayarak 4, 5, 6, 7 ve 8 gTKM/L yükleme miktarlarında metan üretim potansiyelini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda yükleme miktarı arttıkça kümülatif metan miktarının azaldığı belirtilmiş ve en yüksek metan üretim veriminin mezofilik ve termofilik koşullarda 5 gTKM/L besleme miktarı ile elde edildiği bildirilmiştir. 1:0, 1:1 ve 0:1 yiyecek atığı : dallı darı karışım oranlarında mezofilik koşullarda sırası ile 218, 234 ve 236 mLCH₄/gUKM, termofilik koşullarda 176, 234 ve 147 mLCH₄/gUKM kümülatif metan miktarları elde edilmiştir. Termofilik anaerobik fermantasyon sonucunda elde edilen metan verimlerinin mezofilik çalışma koşullarına göre daha düşük olduğu görülmüştür. Termofilik koşullarda işletilen anaerobik reaktörde UYA/Alkalite oranı 0.3 ila 1.5 arasında bulunmuştur. Yüksek UYA/Alkalite oranı anaerobik fermantasyon sürecinde asidojenesis ve metanojenesis arasında bir dengesizliğin olması ile açıklamakta ve metan veriminin termofilik koşullarda mezofilik koşullara göre oldukça düşük olmasının sebebi olarak görülmektedir (Uma vd. 2020).

Büyükbaş hayvan çiftliğinden alınan anaerobik aşısı çamur ile dallı darı'nın 0.75 gUKM/L.gün yükleme miktarında elde edilen kümülatif metan potansiyeli değeri (203.9 mLCH₄/gUKM) literatürde dallı darı için sunulan değerlerden yüksektir. Bunun, dallı darı çeşidinden, yetiştirilme koşullarından, dallı darı boyutundan ve kullanılan anaerobik aşısı çamurun lignoselülozik atık maddeye adapte olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

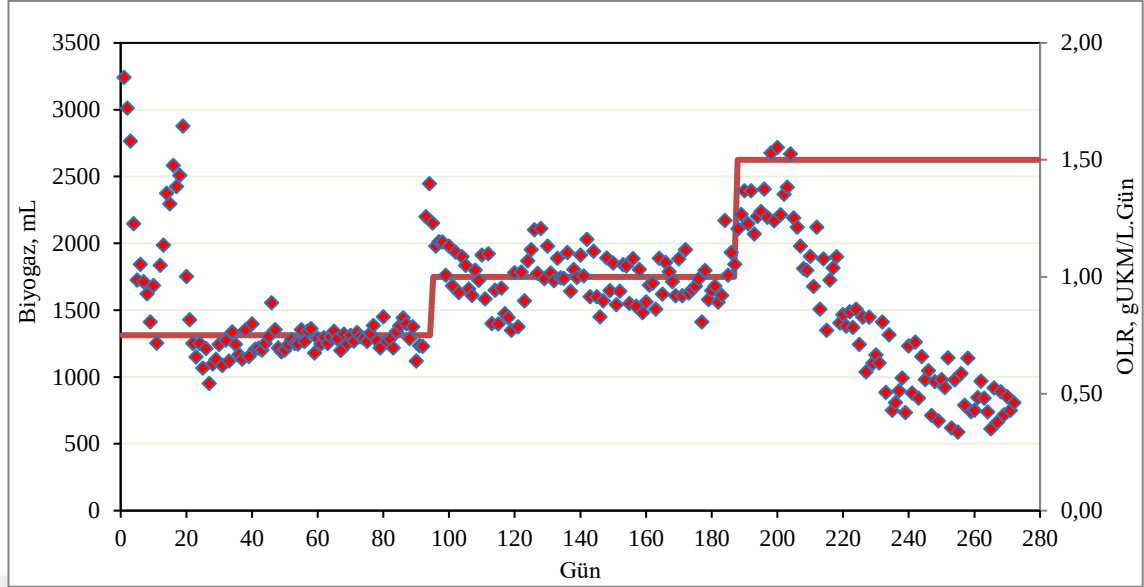


Şekil 4.2. Farklı organik madde yükleme hızlarında (OLR) üretilen biyogaz içerisindeki metan (%) zamanla değişimi

Şekil 4.2'den görüleceği üzere farklı organik madde yükleme hızlarında yapılan BMP testlerinde biyogaz içerisindeki metan kompozisyonunun (%) ilk 13 gün süresinde artış gösterdiği ve sonrasında belirgin bir artış veya azalış göstermeden sabit konsantrasyonda devam ettiği tespit edilmiştir. En yüksek metan yüzdesi % 50.7 olarak 1.5 gUKM/L.gün yükleme hızında elde edilmiştir. Üretilen biyogaz içerisindeki ortalama metan yüzdeleri 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızları için sırası ile % 48.3, 48.3 ve 48.5 olarak hesaplanmıştır. Ortalama metan miktarı (%), Şekil 4.2'de yaklaşık sabit metan miktarı (%) bölgesinin görüldüğü 13. günden itibaren elde edilen veriler dikkate alınarak hesaplanmıştır. BMP testinde reaktörler anaerobik ortamın sağlanması için %70 N₂ ve %30 CO₂ içeren gaz ile purge edildiğinden ilk günlerde reaktör içerisinde yüksek miktarda N₂ gözlenmektedir. Anaerobik fermentasyon ilerledikçe üretilen CH₄ ve CO₂ gazları artmış ve N₂ gazı azalmıştır.

4.6. Yarı-Sürekli Anaerobik Reaktör Sisteminde Biyogaz ve Metan Üretimi

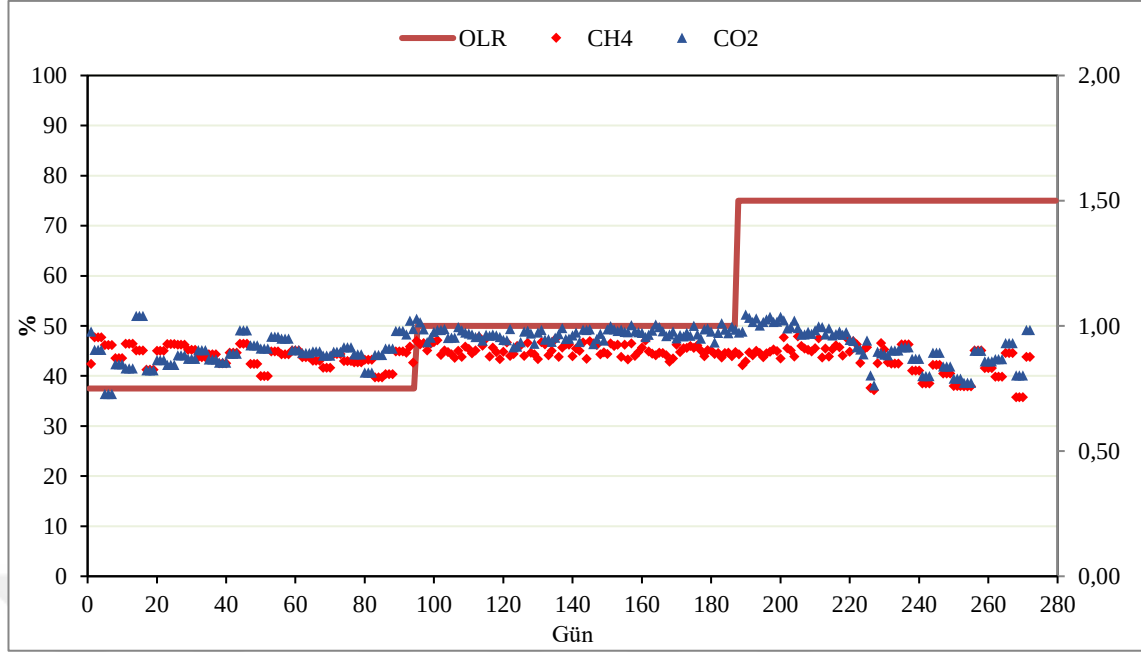
Yarı-sürekli anaerobik reaktör sisteminde 3 farklı organik madde yükleme hızında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.Gün OLR) dallı darıdan üretilebilecek biyogaz ve metan miktarları ve sistem performansı incelenmiştir. Yarı-sürekli anaerobik reaktör sistemi 30 gün adaptasyon/stabilizasyon ve her bir organik madde yükleme hızı için 60 gün SRT süresinde çalıştırılmıştır. Her bir OLR değeri için 90 gün süresince veri elde edilmiş fakat ortalama veri hesaplamalarında adaptasyon/stabilizasyon verileri hesaplamalara dahil edilmeyerek 60 gün SRT verileri üzerinden tüm değerlendirmeler yapılmıştır. Yarı sürekli anaerobik reaktör sisteminin 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.Gün OLR işletme koşullarında çalıştırılması sonucunda üretilen biyogaz miktarının (mL biyogaz) zamanla değişimi Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı organik madde yükleme hızlarında yarı sürekli anaerobik reaktör sisteminden üretilen biyogaz miktarları

Şekil 4.3'ten görüleceği üzere 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.Gün organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen günlük ortalama biyogaz miktarları sırasıyla 1278, 1736 ve 1069 ml olarak tespit edilmiştir. Organik madde yükleme hızının 0.75'ten 1.0'e yükseltilmesiyle üretilen biyogaz miktarı artmıştır, ancak organik madde yükleme hızının 1.5'e artırılmasıyla üretilen biyogaz miktarı hızla azalmıştır. Ayrıca, 0.75 ve 1.0 gUKM/L.Gün organik madde yükleme hızlarında stabil biyogaz üretimi gözlenirken, 1.5 gUKM/L.Gün organik madde yükleme hızında zamanla biyogaz üretimi hızlı bir düşüşe geçmiştir ve artan organik yükleme hızı ile gaz üretimi 500 ml biyogaz değerine kadar düşmüştür. 1.5 gUKM/L.Gün organik madde yükleme hızında sistemin aşırı yüklendiği ve biyogaz üretiminin düştüğü tespit edilmiştir.

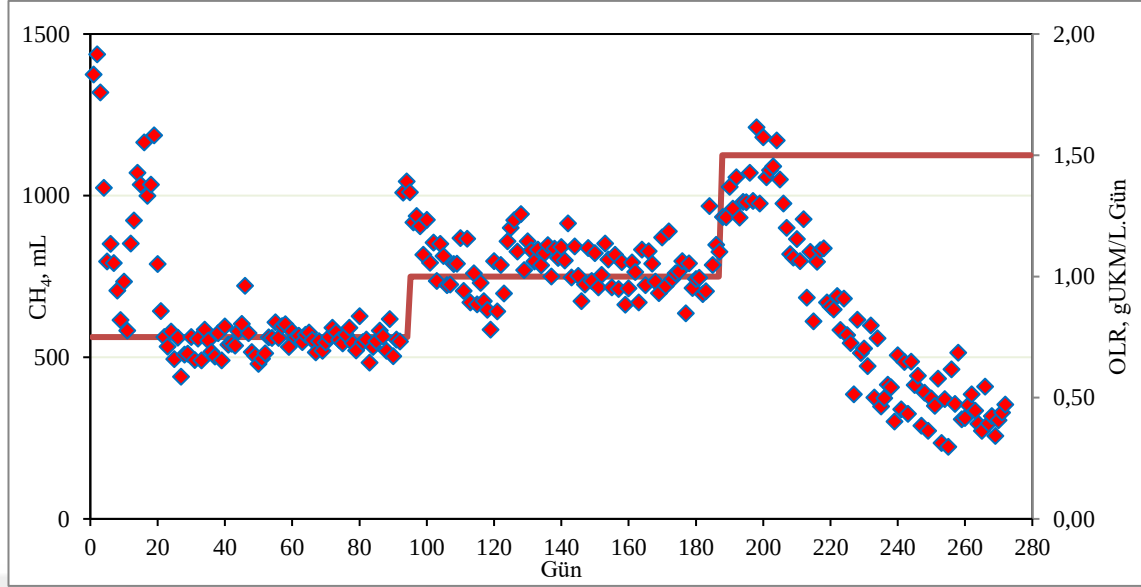
Şekil 4.4'te farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen biyogazdaki metan (CH_4) ve karbondioksit (CO_2) miktarlarının (%) zamanla değişimi verilmiştir. 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarında, biyogaz içerisindeki ortalama metan miktarları sırası ile %43.3, 45.16 ve 42.17 olarak ölçülmüştür. 1.5 gUKM/L.Gün organik madde yükleme hızında biyogaz içerisindeki metan yüzdesinde görülen azalma (Şekil 4.4.), anaerobik reaktörde verimin düştüğünü göstermektedir.



Şekil 4.4. Farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen biyogazda metan (CH₄) ve karbondioksit (CO₂) miktarlarının (%) zamanla değişimi

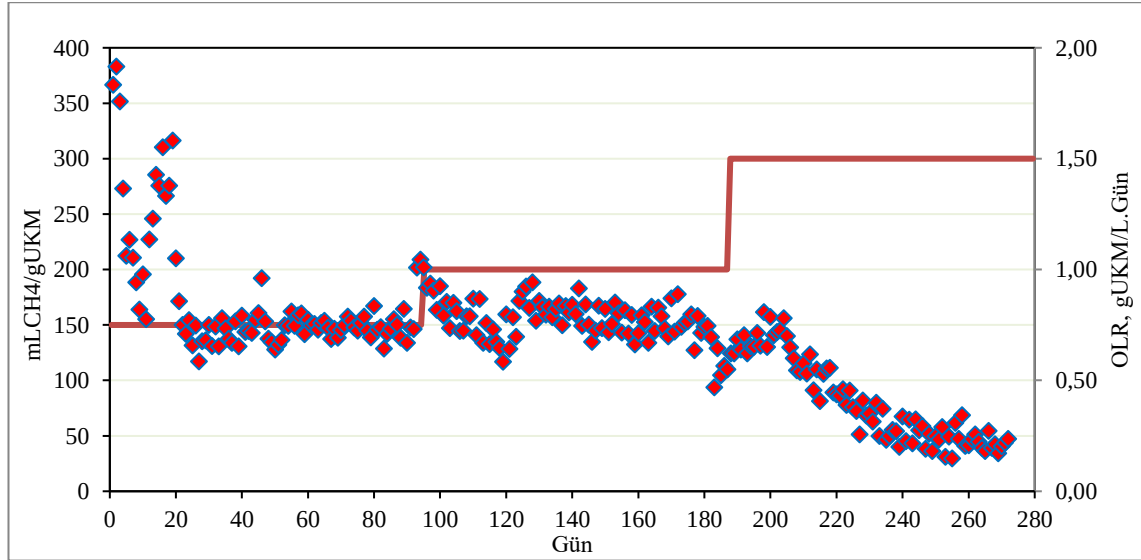
Şekil 4.5'te farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen metan gazı (CH₄) miktarının zamanla değişimi verilmiştir. 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarında sırası ile ortalama 553.08, 783.35 ve 454.95 mL CH₄/gün metan elde edilmiştir. Elde edilen metan ve biyogaz miktarları (mL) 1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızı değerinde diğer yükleme hızlarına göre fazla görünmesine rağmen, dallı darı'nın spesifik metan üretim verimi (mLCH₄/gUKM) 147.6, 156.9 ve 60.11 mLCH₄/gUKM olarak hesaplanmıştır. Organik madde yükleme hızı 1.5 gUKM/L.gün'e çıkarıldığında, biyogaz ve metan üretiminin kritik bir şekilde düşüşe geçtiği Şekil 4.3 ve Şekil 4.5'te açıkça görülebilmektedir. Bunun sebebinin kurutulmuş katı dallı darının sistem içerisinde birikmesi, lignoselülozik yapıya sahip dallı darının hidrolizinin yavaş olması ve asidogenesis aşamasında sistemi tamponlayacak alkalite kaynağının olmaması ve anaerobik fermentasyonun bozulduğu düşünülmektedir. Ayrıca, 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme değerinde işletilen sistemde dallı darı birikmesi sebebi ile reaktör içeriğinde homojen karıştırma sorunları ile de karşılaşmıştır.

1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında elde edilen metan üretim verimi, 0.75 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında elde edilen metan üretim veriminden %6 fazla olmasına rağmen, dallı darının bir atık olmadığı ve enerji üretimi için yetiştirilen bir bitki olmasından dolayı toplam ekonomik fayda göz önüne alındığında elde edilen spesifik metan verimi sonuçlarına göre düşük organik madde yükleme hızı (0.75 gUKM/L.gün) değerinde anaerobik reaktörün çalıştırılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.



Şekil 4.5. Farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen metan gazı miktarının zamanla değişimi

Şekil 4.6'da farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen spesifik metan üretim veriminin ($\text{mLCH}_4/\text{gUKM}$) zamanla değişimi verilmiştir. Şekil 4.6'dan görüleceği üzere spesifik metan üretim verimi, organik madde yüklemesinin 1.5 gUKM/L.gün değerine yükseltilmesiyle zaman içerisinde azalmış ve yaklaşık olarak 227. günden sonra ortalama spesifik metan üretimi 51 $\text{mLCH}_4/\text{gUKM}$ değerine düşmüştür.



Şekil 4.6. Farklı organik madde yükleme hızlarında anaerobik reaktörde üretilen spesifik metan üretim veriminin ($\text{mLCH}_4/\text{gUKM}$) zamanla değişimi

Jin vd. (2012), farklı organik madde yükleme hızlarında dallı darıdan üretilebilecek metan miktarını incelemiştir. Çalışmada, 30 gün çamur yaşında çalıştırılan 500 mL aktif hacme sahip yarı-sürekli anaerobik reaktöre, %2 ve %4 (w/v) dallı darı ve

%72 ön çöktürme ile %28 son çöktürme çamur karışımı ile beslenmiş ve birlikte anaerobik parçalanabilirlikleri incelenmiştir. Dallı darı besleme işlemi 2 günde bir yapılmıştır. 0.52 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında (%2 w/v) 296 mLCH₄/kgUKM spesifik metan üretim verimi elde edilirken, 1.05 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında (%4 w/v) 306 mLCH₄/kgUKM spesifik metan üretim verimi elde edilmiştir. Yükleme hızının iki katına çıkarılması ile metan üretim veriminde %3.3 miktarında bir artış gözlenmiştir (Jin vd. 2012). Bu tez çalışması kapsamında 0.75 gUKM/L.gün ve 1.0 gUKM/L.gün salı darı organik madde yükleme hızları ile çalışılmıştır. Organik madde yükleme hızının artması ile metan üretim veriminde %6.3 artış gözlenmiştir. Jin vd. (2012) çalışmasında birlikte anaerobik parçalanma prosesi uygulamaları ile bu tez çalışmasında elde edilen metan üretim veriminin daha yüksek metan üretim verimi elde etmişlerdir. Ancak, organik madde yükleme hızının artırılması ile elde edilen verim düzeyi bu tez çalışması ile benzerlik göstermektedir.

Jin vd. (2014), 30 gün çamur yaşında ve 0.52 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında çalıştırılan yarı-sürekli anaerobik reaktörde dallı darı ile birlikte lokal bir atıksu arıtma tesisinden alınan %72 birincil ve %28 ikincil arıtma çamur karışımının birlikte anaerobik parçalanabilirliğini incelemiştir. Jin vd. (2012) çalışmasında da aynı koşullarda anaerobik reaktörü işletmiş ve dallı darı organik madde yükleme hızının metan üretim verimi üzerindeki etkisini incelemiştir. Jin vd. (2014) çalışmasında ise mekanik (Boyut küçültme) ve fizikokimyasal (Sıcaklık ve NaOH) ön arıtmanın metan üretim verimi üzerine etkisini incelemiştir. Jin vd. (2012) çalışması sonucunda enerji/maliyet açısından daha verimli bulunan düşük yükleme hızı (0.52 gUKM/L.gün) ile ikinci çalışmasını kurgulamış ve ince ve kaba öğütülmüş dallı darının metan üretim verimi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. 0.52 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında ince (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darının metan üretim verimi sırasıyla 296 ve 14 mLCH₄/gUKM olarak elde edilmiştir. Gözlenen uçucu katı madde giderimi ise ince (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darı için sırasıyla %62.1 ve % 38.2 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda lignoselülozik yapıya sahip kaba öğütülmüş dallı darının hidrolizinin efektif bir şekilde yapılamadığını belirtilmiştir. Kaba öğütülmüş dallı darının reaktör sisteminde kronik karıştırma sorunlarına sebep olduğu, içeride ölçülen TKM miktarının stabil olmadığı ve birikimle sürekli arttığı belirtilmiştir (Jin vd. 2014).

Jin ve Bierma (2014), 1.05 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında ve 30 gün çamur yaşında ince (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darı ile çalışmışlardır. Jin vd. (2012) ve Jin vd. (2014) çalışmalarından farklı olarak büyükbaş hayvan gübresi işleyen bir anaerobik reaktörden aldıkları aşı çamuru ile birlikte anaerobik parçalanma prosesi uygulamışlardır. Dallı darı metan verimi ince (2 mm) ve kaba öğütülmüş (78 mm) dallı darı içeren koşullarda sırasıyla 252 ve 328 mLCH₄/gUKM olarak elde edilmiştir (Jin ve Bierma 2014). Jin ve Bierma (2014) ve Jin vd. (2014) çalışmalarından elde edilen metan üretim verileri karşılaştırıldığında; kaba öğütülmüş dallı darının metan üretiminde önemli bir artış gözlenmiştir. Bu farkı; büyükbaş hayvan gübresi işleyen anaerobik reaktörden alınan anaerobik aşı çamurun içerisinde büyükbaş hayvan gübresi içinde bulunan sindirilmemiş lignoselülozik materyali parçalamaya adapte olmuş mikroorganizmaların varlığı ile açıklamışlardır. Elde edilen sonuç, hücre aklimasyonunun dallı darının daha kolay parçalanmasına olanak sağladığını ortaya koymaktadır.

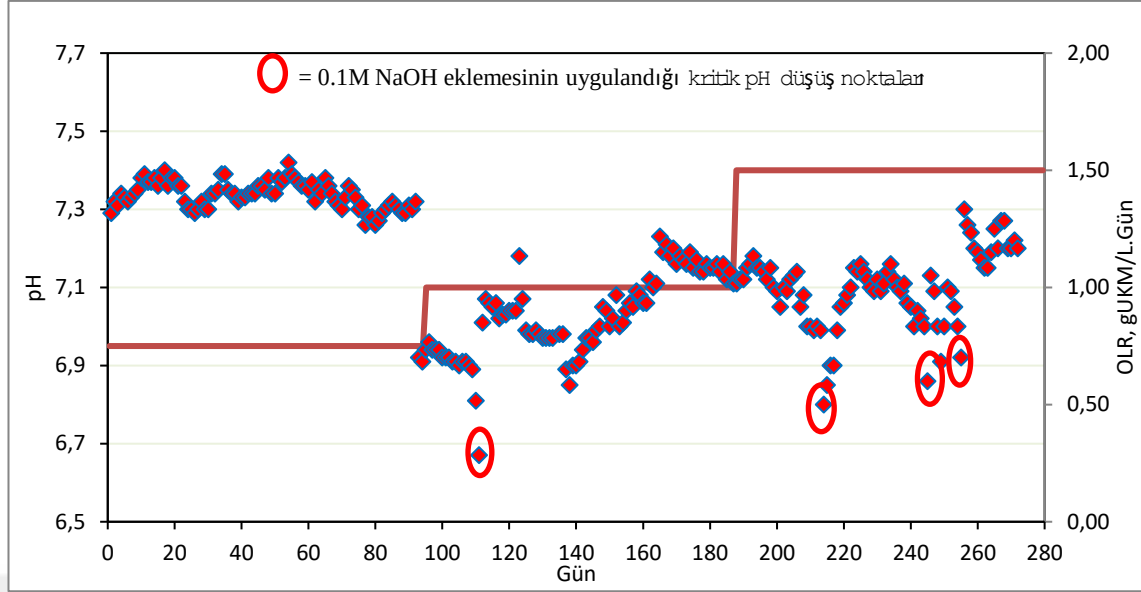
Bu tez çalışması kapsamında kullanılan anaerobik aşı çamurun büyükbaş hayvan gübresi işleyen anaerobik bir reaktörden temin edilmesinin nedeni de aynı şekilde çamurun içerisindeki mikroorganizmaların lignoselülozik maddeyi parçalayabilme kapasitesinin varlığının sağlanmasına dayanmaktadır.

4.7. Yarı-Süreklî Beslemeli Anaerobik Reaktör Sistem Performans Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Anaerobik parçalanma prosesinin verimi; pH, sıcaklık, alkalinite, organik madde yükleme hızı, hidrolik bekletme süresi, çamur yaşı, nütrient içeriği ve toksisite gibi parametrelerden etkilenmektedir. Bu parametrelerden özellikle pH, alkalite ve uçucu organik asit miktarı sistemde yaşanabilecek problemlere karşı indikatör görevi görerek sistem işletimine yardımcı olmaktadır.

4.7.1. pH ve Sıcaklık

Dallı darı gibi lignoselülozik yapıda olan hammaddelerin anaerobik fermentasyonunda yavaş adım hidroliz safhasıdır. pH ve sıcaklık bu sürecin hızını belirleyen iki önemli parametredir. Metan üretiminde görev alan metan arkeleri fizyolojik yapıları dolayısı ile 6.7-8.0 pH aralığında etkindirler. Optimum çalışma aralığı ise pH 6.7-7.2'dir. Bu değerlerin dışında metanojenlerin aktiviteleri yavaşlamakta veya durmaktadır. Aşırı organik madde yüklenmesinde H₂ konsantrasyonunun artması propiyonik asit üretimini arttırmakta ve pH değerinin düşmesine sebep olmaktadır. Bu durum, asetik asit üretimini ve metan arkelerinin işlevselliğini negatif yönde etkilemektedir. Bu sebeplerle anaerobik reaktörlerin etkin işletimi için ortam pH'sının sürekli olarak izlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması önem taşımaktadır. pH değerlerinde gözlenen ani düşme sistemde geri döndürülemez problemlere sebep olmaktadır. Bununla birlikte, pH anaerobik reaktörlerde hızlı cevap veren bir parametre değildir. Bu yüzden prosesin izlenmesinde uçucu yağ asidi ve alkalite analizlerinin de düzenli olarak yapılması ve sistem stabilitesinin kontrol edilmesi gerekmektedir. Şekil 4.7'de farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen pH değerlerinin zamanla değişimi verilmiştir.

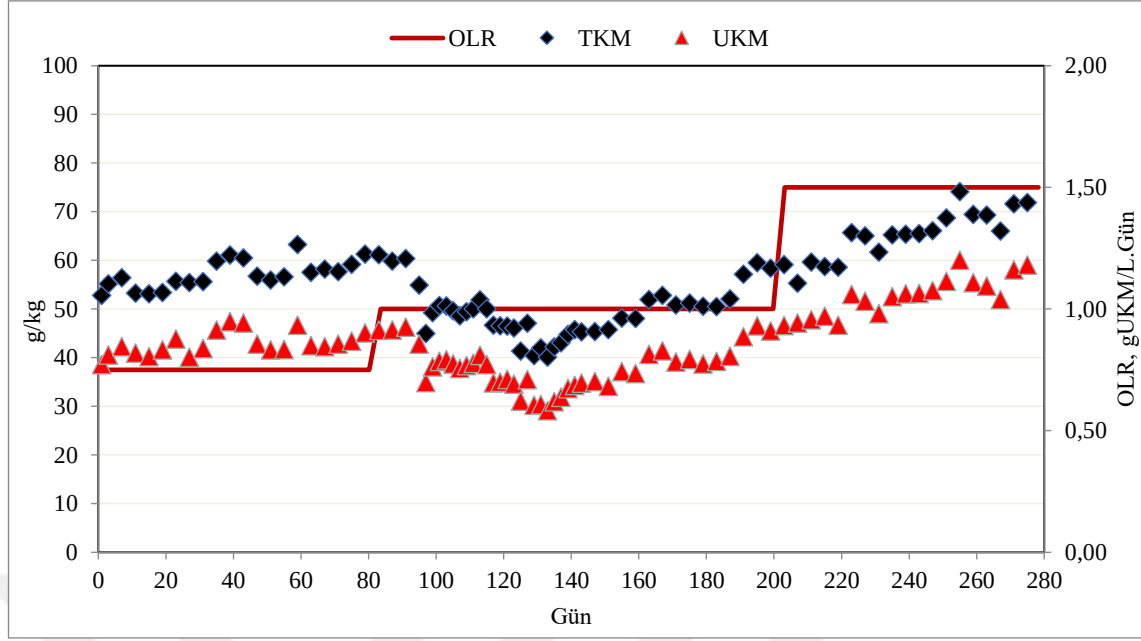


Şekil 4.7. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen pH değerlerinin zamanla değişimi

Şekil 4.7'den görüleceği üzere anaerobik reaktör pH değeri sistemin çalıştırıldığı süreçte izlenmiş ve ortalama pH değerleri 7.06-7.34 aralığında tespit edilmiştir. 0.75 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında anaerobik reaktör pH değeri ortalama 7.34 değerinde stabil seyretmiştir. Ancak, organik madde yükleme hızının 1.0 gUKM/L.gün'e çıkartılması ile birlikte bazı günlerde pH değerlerinde düşme gözlenmiş ve ortalama pH değeri 7.06 olarak ölçülmüştür. Organik madde yükleme hızının 1.5 gUKM/L.gün'e çıkarılması ile birlikte kritik pH düşmeleri daha fazla gözlenmiş ve ortalama pH değeri 7.09 olarak kaydedilmiştir. Şekil 4.7'den de görüleceği üzere kırmızı işaretçi ile gösterilen pH'nın kritik değere düştüğü günlerde 0.1 M NaOH ile müdahale edilerek metanojen aktivitesinin optimum koşullarda olabilmesi için pH değerinin optimal aralık dahilinde tutulması sağlanmıştır. 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında, organik maddenin hidroliz ve asidogenesis hızının, metanogenesis hızı olmasına rağmen, sistemde üretilen asitlerin tüketilemeyerek biriktiği ve sistemde rezerv alkalite varlığının olmaması nedeniyle de sistemin yıkılma sürecine yakın ve kırılgan olduğu gözlenmiştir.

4.7.2. Toplam katı madde (TKM) ve uçucu katı madde (UKM)

Yarı sürekli anaerobik reaktör sisteminin işletimi süresince 4 günde bir reaktör içeriğinden alınan numunelerde TKM ve UKM analizleri yapılmıştır. Şekil 4.8'de farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen TKM ve UKM değerlerinin zamanla değişimi sunulmuştur.



Şekil 4.8. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen TKM ve UKM değerlerinin zamanla değişimi

Yarı-sürekli anaerobik reaktör %5.38 TKM (53.8 g/kg) içeren anaerobik aşı çamur ile devreye alınmıştır. 280 gün işletim süresince anaerobik reaktördeki TKM miktarı %4-7.5 aralığında stabil bir değişim göstermiştir. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen ortalama TKM miktarları sırasıyla %5.8, 4.8 ve 6.4 olarak hesaplanmıştır. 280 gün işletim süresince anaerobik reaktörde ölçülen UKM miktarı ise %2.9-6 aralığında değişmiştir. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen ortalama UKM miktarları ise sırası ile %4.3, 3.6 ve 5.1 olarak bulunmuştur.

Anaerobik reaktörde gözlenen UKM miktarı, organik madde yükleme hızının 0.75 gUKM/L.gün'den, 1.0 gUKM/L.gün'ye arttırıldığında azalmış ve 1.5 gUKM/L.gün'e arttırıldığında ise sürekli bir artış eğilimi sergilemiştir. Gözlenen bu eğilim, 1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında anaerobik mikroorganizmaların daha fazla UKM giderimi yaptığını ancak 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızı değerinde sistemde birikim olduğunu göstermektedir.

4.7.3. Alkalite

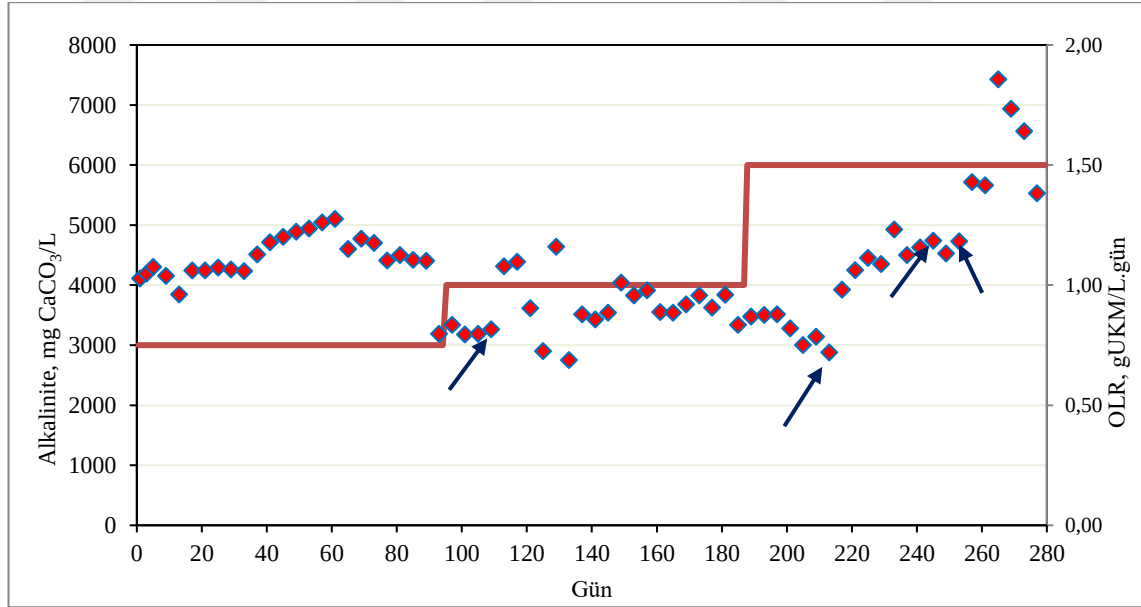
Anaerobik reaktörün devreye alınma sürecinde asidojenler, metanojenlerden daha aktif olacağından pH değerinin düşmesi muhtemeldir. Bu sebeple, devreye alma aşamasında reaktör içerisinde pH düşüşünü tamponlayacak kadar rezerv alkalinite sağlanması önem taşımaktadır. Anaerobik parçalanma prosesinde sistemde rezerv alkalite kaynağı yaratılabilmesi için gerekli alkalinite konsantrasyonunun 2.000 mgCaCO₃/L ile 5.000 mgCaCO₃/L aralığında olması önerilmektedir (Metcalf ve Eddy 2003).

0.75 ve 1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızları için anaerobik reaktörde ortalama alkalite değerleri sırasıyla 4473 ve 3611 mg CaCO₃/L olarak ölçülmüştür.

Organik madde yükleme hızının artırılması ile alkalite değerinde azalma gözlenmiştir. Bu durum, dallı darının hidroliz ve asidojenitesi ile sistemde uçucu organik asit üretildiğini ve mevcut rezerv alkalitenin sistemde kullanıldığını ifade etmektedir.

1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında anaerobik reaktörde gözlenen pH düşmeleri endişe yaratmış ve metanojen aktivitesinin optimum koşullarda olabilmesi için pH değerinin optimal aralık dahilinde tutulması sağlanmıştır. Bu kapsamda, pH'nın 6.8 değerine düştüğü 111., 214., 245. ve 255. günlerinde sisteme NaOH ilave edilmiştir. 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında anaerobik reaktörde gözlenen pH düşüşlerini engellemek için yapılan NaOH eklemesi nedeniyle sistemin alkalitesinde artış gözlenmiş ve ortalama alkalite 4589 mg CaCO₃/L olarak tespit edilmiştir. 265. ve 269. günlerde sistemde en yüksek alkalite değerleri (maksimum 7425 mgCaCO₃/L) gözlenmiştir. Bu artışın sisteme ilave edilen bazdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Şekil 4.9'da sistemin alkalinite değişimi sunulmuş olup, NaOH eklemesinin yapıldığı günler ok işaretçisi ile belirtilmiştir.

Anaerobik fermentasyonda uygun bir tampon kapasitesi sağlanması amacıyla sistem alkalitesi için optimum aralık 2000-5000 mg CaCO₃/L olarak kabul edilmektedir. Genel olarak alkalite için alt sınır ise 1000 mg CaCO₃/L olarak verilmektedir (Tchobanoglous vd. 2003). 0.75 ve 1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarında dallı darının anaerobik fermentasyonunda alkalite aralığı, proses için önerilen aralıkta gözlenmiştir. Bununla birlikte, organik madde yükleme hızının 1.5 gUKM/L.gün değerine artırılması ile anaerobik reaktörde gözlenen pH düşmeleri, sistemde mevcut rezerv alkalite ile karşılanamamıştır.



Şekil 4.9. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen alkalite (mgCaCO₃/L) değerlerinin zamanla değişimi

4.7.4. Uçucu yağ asitleri

Anaerobik fermantasyon prosesinde sistem stabilitesinin korunması için önemli parametrelerinden biri uçucu yağ asitleri (UYA) olarak nitelendirilmektedir. Anaerobik fermantasyonun hidroliz basamağında kompleks yapıda bulunan organik maddeler basit yapıdaki monomerlerine parçalanmaktadır. Asidojenesis basamağında ise basit monomerler asetik, bütirik, izobütirik, valerik, izovalerik, propiyonik, izopropiyonik, kaproik asit gibi uçucu yağ asitlerine dönüştürülmektedir. Uçucu yağ asitleri sonraki basamakta metanojen arkelerin metan üretiminde kullanması için asetik asit, H_2 ve CO_2 'ye dönüştürülmektedir. Sistem içerisinde UYA birikimi nedeni ile artan asetik asit ve H_2 miktarı sistemin pH değerinin metanojenlerin çalışma koşullarının altına inmesine neden olabilmekte ve bunun sonucunda sistemde çökme görülebilmektedir. Bu nedenle anaerobik fermantasyonun çalışıldığı reaktörlerde düzenli olarak UYA konsantrasyonunun izlenmesi önem taşımaktadır (Neshat vd. 2017).

Anaerobik reaktörde UYA kompozisyonunun tespit edilmesi amacıyla anaerobik reaktörden 4 günde bir alınan numunelere sıvı-sıvı MTBE ekstraksiyonu uygulanmış ve ekstrakte edilen numunelerin UYA kompozisyonları Varian Gaz Kromatografisi 430-FID cihazı ile belirlenmiştir.

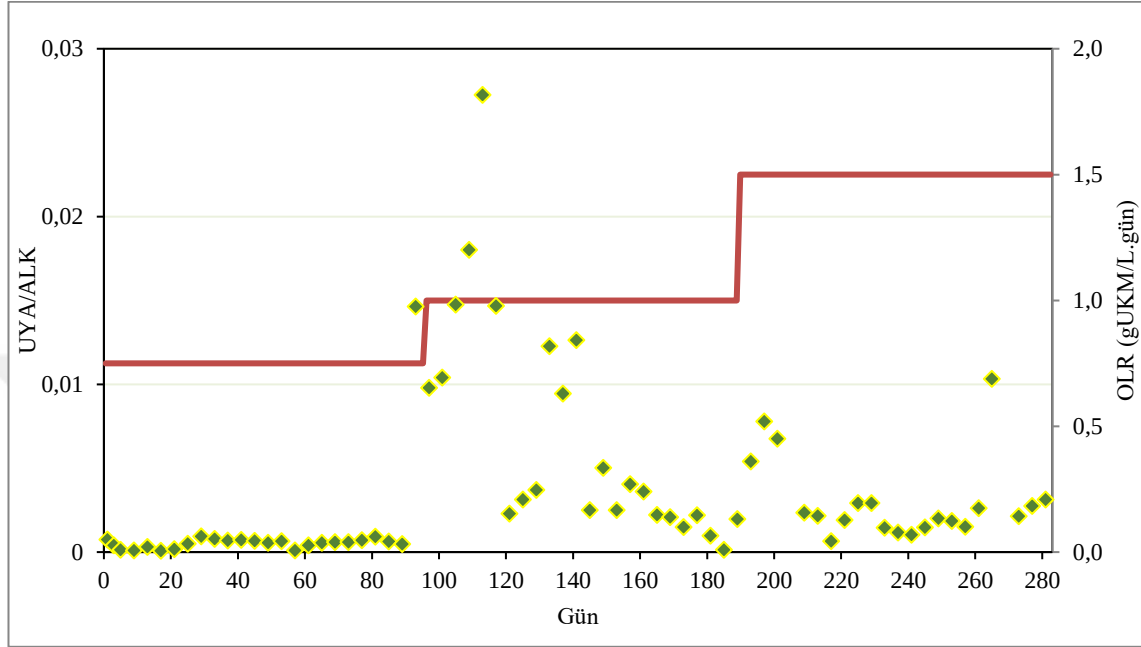
280 gün işletim sürecinde anaerobik reaktörde çok yüksek UYA konsantrasyonları tespit edilmemiştir. Numunelerin toplam UYA miktarı 0.33-117.5 mg/L aralığında ölçülmüştür. 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızı değerleri için ortalama UYA miktarları sırasıyla 3.7, 31 ve 15.9 mg/L olarak tespit edilmiştir. Çizelge 4.5'te farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen ortalama UYA konsantrasyonları verilmiştir. Çizelge 4.5'ten de görüleceği üzere uçucu organik asitler içerisinde en fazla asetik asit üretilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı OLR değerlerinde anaerobik reaktörde ölçülen UYA ortalama konsantrasyonları (mg/L)

Uçucu Organik Asit	Organik Madde Yükleme Hızı (gUKM/L.gün)		
	0.75	1.00	1.50
Asetik Asit (CH_3COOH)	1.85	26.44	10.40
Propiyonik asit	0.31	1.79	0.82
Iso-bütirik asit	0.20	0.47	0.73
Bütirik asit	0.04	0.17	-
Iso- valerik asit	0.18	0.53	0.51
n- valerik asit	0.34	0.15	0.06
Iso-kaproik asit	0.31	0.71	0.45
n-kaproik asit	0.12	0.32	0.20
Heptanoik asit	0.34	0.43	2.75
Toplam	3.7	31	15.9

Anaerobik fermantasyonda asetojenik ve metanojenik mikroorganizmalar arasındaki simbiyotik ilişki; aşırı organik madde yüklemesi, mikrobiyal yıkanma veya toksisite nedeniyle bozulabilmekte ve anaerobik fermantasyonun ilerleyişi durmaktadır. Bu durumda fermantasyon ortamında UYA birikimi gerçekleşebilmektedir. Anaerobik

parçalanma sistemlerinde UYA/ALK oranı yükseldiğinde, UYA'daki bir artış veya rezerv alkalitenin tüketilmesi ile alkalitedeki azalma, sistem dengesini etkileyerek metanojenlerin inhibe olmasına neden olmaktadır. UYA/Alkalite oranının 0.1'in üstünde olması sistemde bir problemi işaret etmektedir. Bu çalışmada UYA birikimi gözlenmemiş olup maksimum UYA/ALK oranı 0.027 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.10. Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen UYA/Alkalite oranlarının zamanla değişimi

Farklı organik madde yükleme hızlarında (0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün) anaerobik reaktörde ölçülen UYA/Alkalite oranlarının zamanla değişimi Şekil 4.10'da verilmiştir. Şekil 4.10'da görüleceği üzere 0.75 gUKM/L.gün organik madde yükleme değerinde UYA/Alkalite oranı oldukça düşüktür ve bu oran sistemin düşük yük ile işletildiğini göstermektedir. Bununla birlikte, 1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında UYA/Alkalite oranlarında artış gözlenmiştir. Ancak, gözlenen artışlar, limit değer altındadır. Literatürde dallı darının anaerobik fermentasyonunun incelendiği çalışmalarda UYA konsantrasyonlarının ölçüldüğü herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bauer vd. (2018), farklı yükleme hızlarındaki saman silajının sığır gübresi ile anaerobik fermentasyonu sonucu elde edilen metan verimini incelemişlerdir. 1.0, 2.0 ve 3.0 gUKM/L.Gün yükleme hızlarında ve 100 gün HRT'de çalışmışlardır. Yapılan analizler sonucu 1.0 ve 2.0 OLR yükleme hızlarında UYA/ALK oranı 0.25 ± 0.05 değerlerinde stabil seyretmiş fakat 3.0 OLR yükleme seviyesine çıkıldığında bu oran 0.76'ya çıkmıştır. Bu artışın kritik sınır olan 0.4 değerinin üzerinde olduğunu ve sistemin bu yükleme hızında doygunluk seviyesinin üzerine çıktığını belirtmişlerdir. 3.0 OLR değerinde işletilen sistemde tıkanma, karıştırma ve viskoz akış gibi sorunlarla karşılaşmış ve bu sorunların yüksek asitifikasyona sebep olduğu belirtilerek işletme-verim açısından 2.0 OLR değerini önermişlerdir (Bauer vd. 2018).

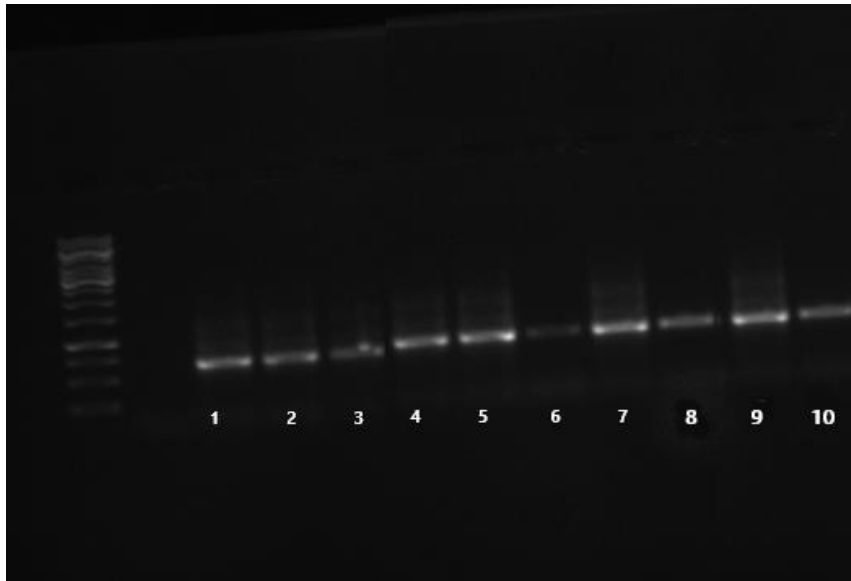
Zealand vd. (2017) çalışmalarında pirinç samanı yükleme hızının (1.0 (OLR1) ve 2.0 (OLR2) gUKM/L.Gün) ve reaktör besleme sıklığının (1:7, 1:14, 1:21 kere:gün) anaerobik fermantasyon üzerindeki etkisini incelenmişlerdir. OLR1 reaktöründe 1:7, 1:14 ve 1:21 besleme sıklıklarında sırası ile 252, 354 ve 1250 mL/L toplam UYA gözlenmiştir. Aynı şekilde OLR2 reaktöründe 1:7, 1:14 ve 1:21 besleme sıklıklarında bu değerler sırası ile 383, 1730 ve 3470 mg/L olarak elde edilmiştir. OLR2 reaktöründe 1:14 besleme sıklığında 1730 mL/L olan UYA miktarı 1:21 beslemesi yapılan reaktörde beslemenin yapıldığı anda UYA miktarı 3470 mL/L değerlerine kadar çıktığını ve anaerobik sistemdeki metan üretiminin sıfırlanarak çöküş meydana geldiğini belirtmişlerdir (Zealand vd. 2017).

4.8.Yarı-Sürekli Beslemeli Anaerobik Reaktörde Mikroorganizma Türlerinin Dağılımı

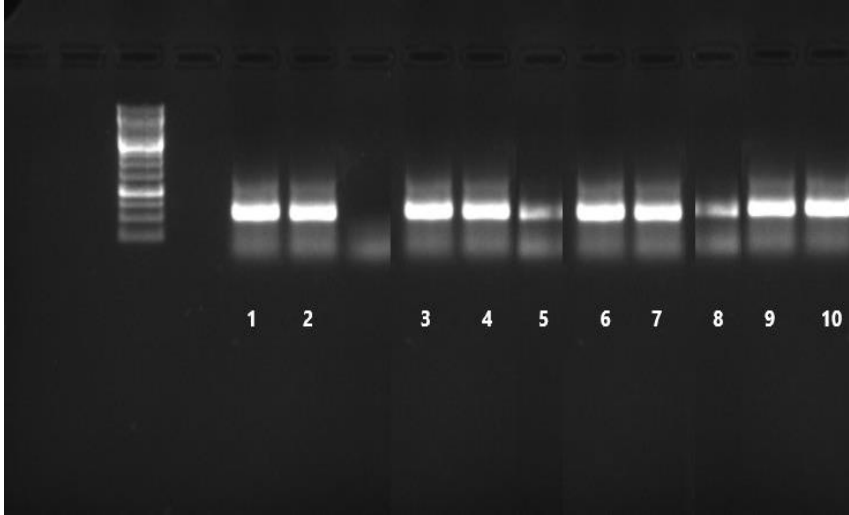
4.8.1. MBRLerde dominant kültürlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar

DNA ekstraksiyonu yapılan ve GC klempli forward primerle çoğaltılan tüm genomik DNA'lara ait agaroz jel elektroforez görüntüleri ise Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de sunulmuştur.

Taq DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific) enzimi ile çalışmalar yapılmıştır. MgCl₂, primer ve dNTP miktarları, Sahinkaya vd. (2013) tarafından optimize edilen miktarlarda ve metot kısmında belirtilen prosedürlere göre kullanılmıştır. BacV3f ve 907R primerleri kullanılarak bakteri örneklerine ve Arc344f ve 915r primerleri kullanılarak arkea örneklerine uygulanan PZR şartları, daha önce Sahinkaya vd. (2013) tarafından yapılan çalışmadaki gibi uygulanmıştır. Bu primerlerle çoğaltılan bölgenin ortalama uzunluğunun 550 bp olması beklenmektedir. Agaroz jel elektroforez görüntülerine göre, çoğaltılan bölgenin beklenildiği gibi 500-600 bp'lik fragmentlerin olduğu bölgede olduğu görülmüştür.

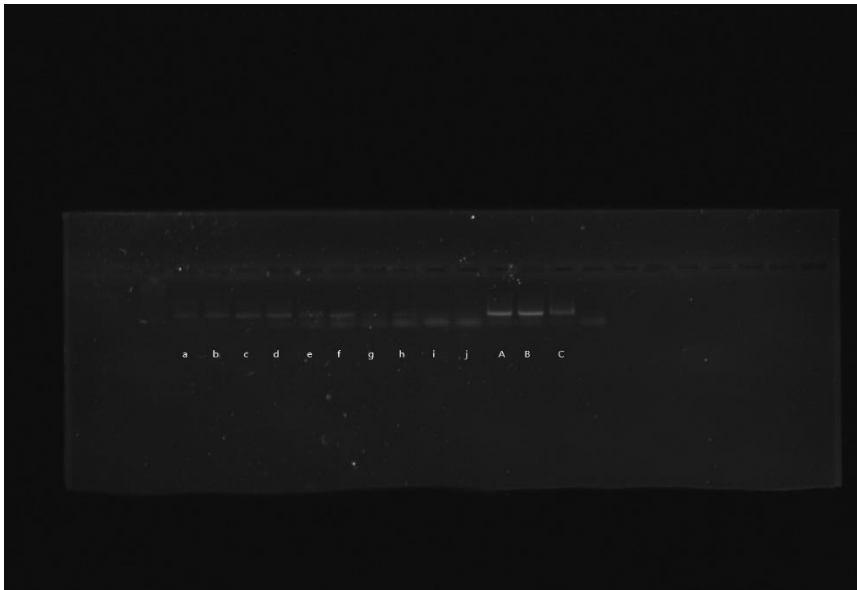


Şekil 4.11. Reaktörlerden alınan numunelere ait GC-BacV3f ve 907R primerleriyle PZR sonucu

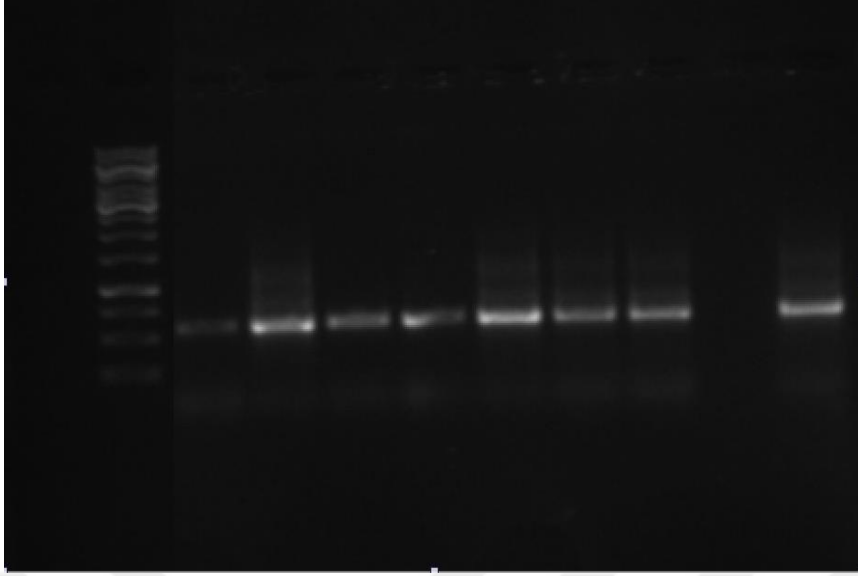


Şekil 4.12. Reaktörlerden alınan numunelere ait GC-Arc344f ve 915r primerleriyle PZR sonucu

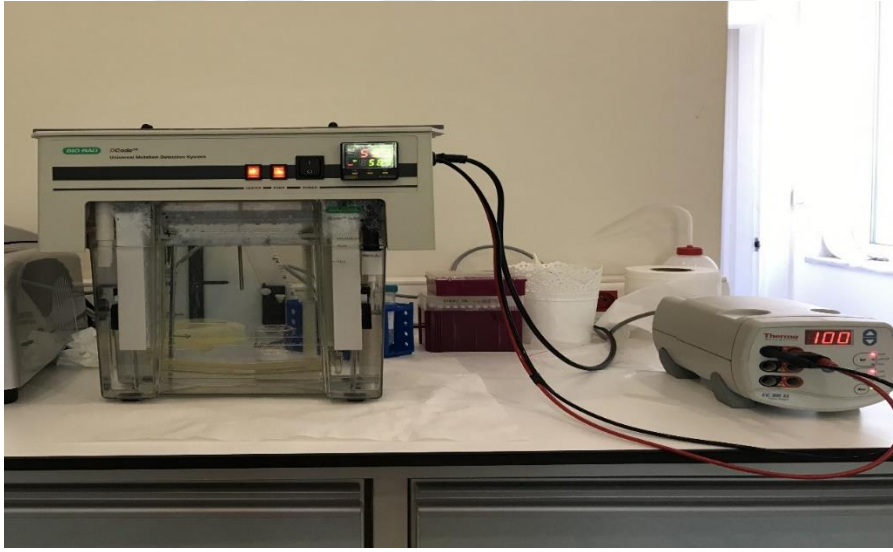
Yukarıda örnek olarak sunulan PZR sonuçları, DGGE yüklemeleri için kullanılmış olup, GCklempili forward primerler ile yapılmış PZR örnekleridir. Metot ve materyal bölümünde de bahsedildiği üzere, DGGE işlemi bittikten ve jel görüntülendikten sonra kesilen bantlardan DNA ekstrakte edilmekte ve sekanslama öncesi PZR ile çoğaltılmaktadır. Aynı reaksiyon şartları ve reaksiyon ortamları kullanılmıştır. Sadece GC eklentisi olmayan primer çiftleri PZR için kullanılmıştır. Sekanslamaya çalışmalarında kullanılan PZR ürünlerine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’te verilmiştir. Şekilde 4.13’ten görüldüğü üzere örneklerle ait PZR sonrası bantlar 550-600 bp arasında çıkmıştır. PZR temizleme ve sekanslama işlemleri için Medsantek firmasından hizmet alımı yapılmıştır.



Şekil 4.13. Reaktörlerden alınan bakteri numunelere ait DGGE sonrası BacV3f ve 907R primerleriyle PZR sonucu

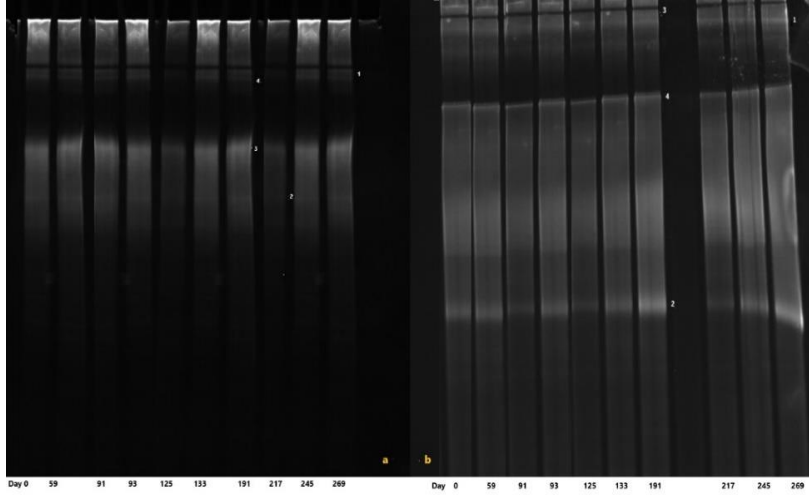


Şekil 4.14. Reaktörlerden alınan arkea numunelerine ait DGGE sonrası Arc344f ve 915r primerleriyle PZR sonucu



Şekil 4.15. DGGE jelin yürütülmesi

Şekil 4.15'te görüldüğü haliyle DGGE sisteminde örnekler 16 saat süresince yürütüldükten sonra jel, DGGE sisteminden ayrılarak bir kaba alınmış ve SyberGold boya ile 30 dakika süresince karanlık ortamda boyanmış, ardından UV floresans altında görüntülenmiştir. Şekil 4.16'da reaktörlerden alınan bakteri ve arkea numunelerine ait DGGE jel görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.16. Reaktörlerden alınan bakteri (a) ve arkea (b) numunelerine ait DGGE jelleri

Jel üzerinde aynı hizada bulunan fragmentlerden birer tanesi kesilmiş ve sekanslamaya gönderilmiştir. Kesilen fragmente ait sekans sonucu, başka şartlar altında çalıştırılmış reaktör numunelerinde kendi hizasında bulunan fragmentin sekans sonucu için de referans teşkil etmektedir, yani o reaktör şartlarında da aynı mikrobiyal popülasyonun varlığından bahsedilebilir. Ayrıca jel üzerindeki bantların yoğunluğu da, popülasyonun dominant olup olmadığı hakkında bilgi verebilmektedir, çünkü her ne kadar DNA ekstraksiyonu sonrası genomik DNA miktarları farklı olsa da PZR reaksiyonu öncesi başlangıç miktarları aynı olacak şekilde seyreltilmiştir. En iyi görüntünün elde edildiği jelde, bakteriyel veya arkeal 16S rDNA fragmentleri steril bistüri yardımıyla kesilmiş ve sekanslamaya gönderilmiştir. Sekanslama sonuçlarında her nükleotide ait piklerin belirgin bir şekilde görüldüğü sekanslamalar ve onlara ait BLAST sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir. Genel olarak yarı sürekli anaerobik reaktörün 270 gün süren işletiminde *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, *Methanothrix* ve *Metanometilovorans* arkealarının yanı sıra *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Spirochaetes* ve *Actinobacteria* bakterileri gözlenmiştir. Ayrıca, örneklerde bazı kültürlenmemiş bakteriler de elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. Sekanslara ait BLAST sonuçları

	Bant No	En Yakın Filum/Genus	Benzerlik (%)	Erişim No.
Bakteri	1	<i>Spirochaetes</i>	89	GQ347015.1
	2	<i>Chloroflexi</i>	93	CU921102.1
	3	<i>Firmicutes</i>	97	KX367894.1
	4	<i>Actinobacteria</i>	97	NR_146663.1
Arkea	1	<i>Methanosarcina</i>	98	NR_148758.1
	2	<i>Methanosaeta</i>	93	NR_113571.1
	3	<i>Methanothrix</i>	99	NR_102903.1
	4	<i>Methanomethylovorans</i>	94	NR_102454.1

Yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktörde görülen baskın bakteriyel filumlarından biri, asetat oksidasyonunda önemli bir rol oynayan ve doğal ortamlarda, tasarlınmış habitatlarda ve anaerobik çürütücülerde sıklıkla bulunabilen *Spirochaetes* filumunun üyesidir. Arıtma çamuru bulunan anaerobik çürütücülerde *Spirochaetes* hem mezofilik hem de termofilik koşullar altında asetat oksidasyonunda yer almaktadır. Ayrıca hidrojenotropik metanojenik arkelerle (yani *Metanobakteriyeller*, *Metanomikrobiyaller* veya *Metanokokoklar*) irtibatla önemli bir rol oynamaktadır (Lee vd. 2015).

Yarı-sürekli beslemeli anaerobik sistemde tanımlanan diğer bakteriler *Firmicutes* ve *Actinobacteria* filumlarındandır. *Clostridia* sınıfı *Firmicutes* filumu, endospor oluşturan anaerobik bakterilerden *Clostridium* ve *Terrisporobacter* cinslerini içermektedir. *Clostridium*, içerdği lignoselülozik enzimler ile lignoselüloz yapının parçalanmasından sorumludur (Sukson vd. 2019). Ayrıca, organik madde parçalanmasıyla metan üretimi sırasında asetat oksitleyiciler olarak da çalışmaktadırlar (Karakashev vd. 2006). Ziganshin vd. (2013) çalışmasında, tarımsal endüstriyel atık arıtımı prosesinde, *Firmicutes*'un (çoğunlukla *Clostridia*) en önemli bakteriyel filum olduğunu belirtmektedir (Ziganshin vd. 2013). Mata-Alvarez vd. (2014) çalışmalarında, belediye katı atığının organik fraksiyonunda aynı sonuçları aldıklarını belirtmişlerdir (Mata-Alvarez vd. 2014). *Actinobacteria* ve *Chloroflexi*'nin metanojenik ortamdaki rolü henüz tanımlanmamış olup, ancak karbonhidratları ve fermantasyon şekerlerini hidrolize ettiği bilinmektedir (Sikora vd. 2017). Hidroliz bakterilerinin popülasyonunun yüksek olması, hidroliz aşamasında daha fazla organik asit üretilmesini sağlamaktadır. Bu durum daha fazla karbon kaynağı ortaya çıkarmakta ve yüksek biyogaz eldesi sağlanmaktadır.

Methanosarcina cinsi, diğer metanojenlerden farklı olarak metan üretimi için geniş bir substrat yelpazesini metabolize edebilmektedir ve anaerobik arıtma çamurundan izole edilen bu cinsin bazı çeşitleri, metan üretimi için model organizmalardır (Kern, Tobias Fischer, Martin A Deppenmeier, Uwe Schmitz, Ruth A Rother 2016; Zabranska ve Pokorna 2018). Biyogaz tesislerinde, *asetoklastik* yol ile karbon ve enerji kaynağı olarak asetat tüketim potansiyeli nedeniyle *methanosarcina* cinsi, arkeaların oldukça baskın türlerinden biridir (Kern, Tobias Fischer, Martin A Deppenmeier, Uwe Schmitz, Ruth A Rother 2016). *Methanosarcinales* grubunun bir diğer üyesi, aynı zamanda *asetoklastik* yol ile metan üreticisi olan *Methanosaeta* cinsidir. *Methanosarcina*'dan farklı olarak, metanojenez için zorunlu asetat kullananlardır (Sikora vd. 2017). *Metanotriks* mezofilik çürütücülerden izole edilebilen zorunlu bir anaerobik arkeadır. Metan üretmek için asetatin dekarboksilasyonunu sağlamakta ve asetat konsantrasyonu düşük olduğunda popülasyonda baskın hale gelmektedir. Asetat konsantrasyonundaki artışla, ortamdaki baskınlığı *Methanosarcina* cinsine bırakmaktadırlar (Jetten, Stams, ve Zehnder 1992).

Metanometillovorans cinsinin üyeleri, ötrofik havuz çökeltilerinden izole edilebilen metil grubu tüketen ve metan üreten bir arkeadır (Lomans vd. 1999).

Literatürde, dallı darının anaerobik parçalanmasında rol alan mikrobiyal türlerin tespit edildiği ve dallı darı organik madde yükleme hızında yapılan değişikliğin anaerobik reaktörlerdeki türler üzerinde etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle direkt karşılaştırma yapmak mümkün olmamıştır. Bununla birlikte, bazı lignoselülozik atık kaynakların anaerobik parçalanmasında mikrobiyal tür çeşitliliğinin araştırıldığı

çalışmalardan faydanılmıştır. Ali vd. (2019) talaşın anaerobik parçalanmasını inceledikleri çalışmalarında *Proteobacteria* baskın filum iken, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes*'in sırasıyla ikinci ve üçüncü baskın filum olduğunu belirtmiştir (Ali vd. 2019). Ali ve Sun (2019) su sümbülü ile yaptıkları bir çalışmada *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Chloroflexi*'nin en yoğun filum olduğunu belirtmektedirler (Ali ve Sun 2019). Jimenez vd. (2016) *Firmicutes*'in biyometanizasyon veya tarımsal atıkların birlikte anaerobik parçalanmasında baskın filum olduğunu belirtmişlerdir (Jiménez vd. 2016).

4.9. Anaerobik Parçalanma Kinetik Model Sonuçları

Anaerobik parçalanma sırasında CH_4 üretimini katalize eden mikroorganizmaların aktivitesi; substrata, çevresel koşullara (sıcaklık ve pH) ve hücrelerin fizyolojik özelliklerine bağlıdır (Rolfe vd. 2012). Kinetik modeller, anaerobik parçalanma süresince gerçekleşen reaksiyonların hızı ve inhibisyon oluşumu gibi faydalı bilgiler sağlayarak proses fizibilitesi hakkında bilgi sahibi olmayı sağlamaktadır.

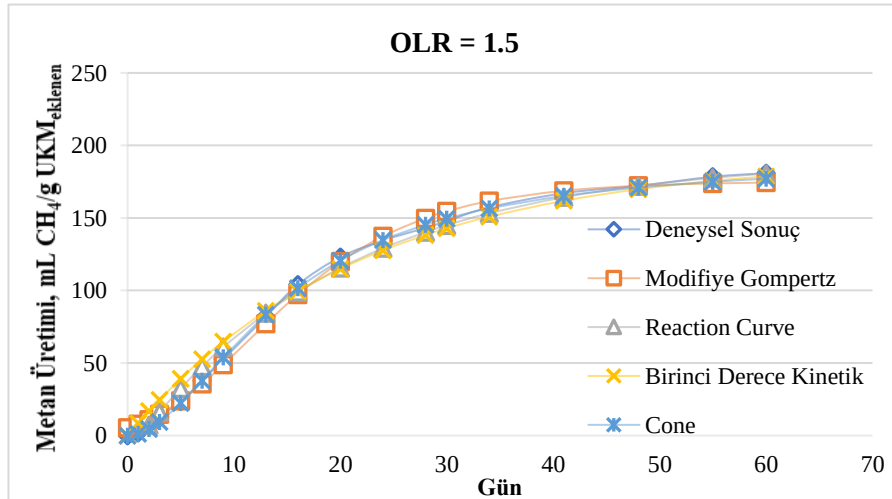
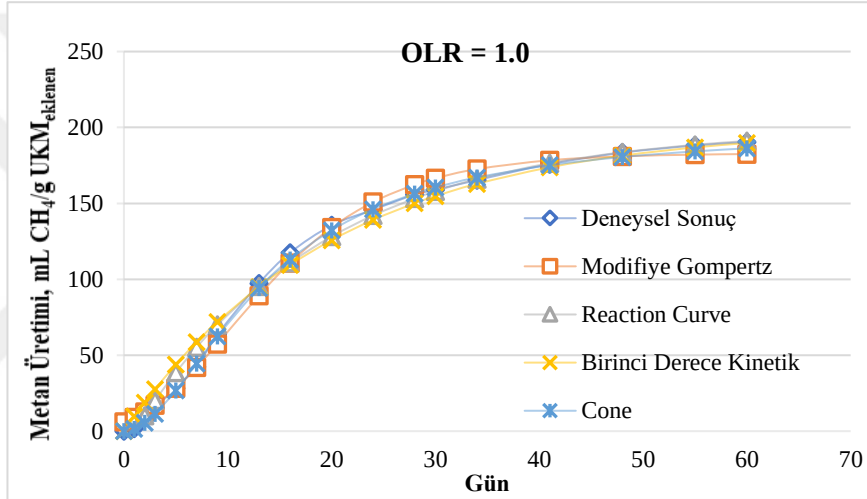
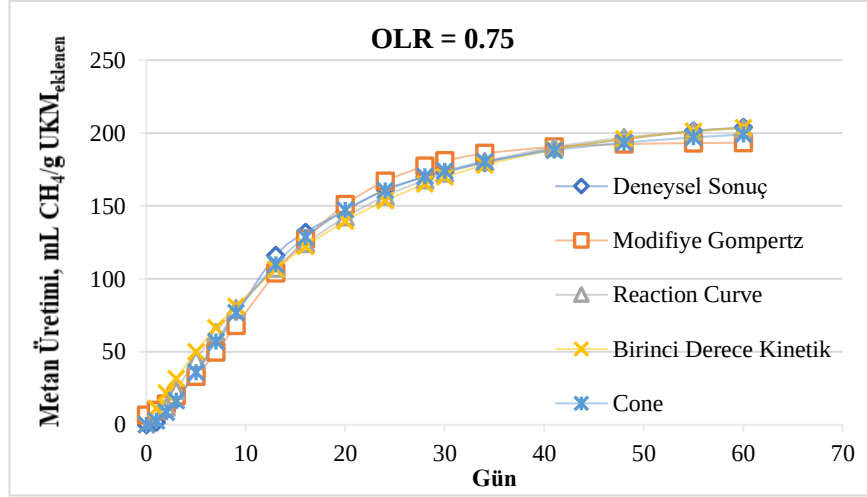
Bu tez çalışması kapsamında, farklı organik madde yükleme hızlarında dallı darının anaerobik parçalanması birinci derece kinetik model, Cone modeli, modifiye Gompertz modeli ve reaction curve modeli kullanılarak incelenmiştir. Kinetik modellerin uygulanmasında BMP testi sonucunda elde edilen metan üretim değerleri kullanılmıştır. Model simülasyonları AQUASIM 2.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Kinetik modeller ile maksimum metan üretim potansiyeli $\text{mL CH}_4/\text{gUKM}_{\text{eklenen}}$ (P), maksimum metan üretim hızı $\text{mL CH}_4/\text{gUKM}_{\text{eklenen}} \cdot \text{Gün}$ (R_m), lag fazı süresi gün (λ), hidroliz hız sabiti $1/\text{Gün}$ (k) ve şekil faktörü (n) gibi metan üretimini açıklayan kinetik parametreler hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7’de modelleme çalışmaları sonucu elde edilen kinetik parametrelere ait değerler sunulmuştur. Çizelgede belirtilen R^2 regresyon katsayısını, *düzeltilmiş* R^2 düzeltilmiş regresyon katsayısını ve (%) fark ise deneysel olarak elde edilen metan miktarı ile model tahmini arasındaki yüzde farkı ifade etmektedir. Şekil 4.17’de ise BMP testi ile deneysel olarak elde edilen metan üretim sonuçları ile kinetik modeller tarafından tahmin edilen metan üretim miktarlarının karşılaştırılması sunulmuştur. Şekil 4.17’den de görüleceği üzere kinetik modellerden elde edilen metan üretim verimi sonuçları ile deneysel sonuçların birbirleriyle uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak, model tahmin yeteneklerinin daha net ortaya konulabilmesi için istatistiksel veriler ile değerlendirilmesi daha doğru sonuç vermektedir. Çizelge 4.7 incelendiğinde her kinetik model için yüksek R^2 değerleri elde edildiği görülmektedir. R^2 değerleri arasında belirgin bir fark olmamakla birlikte fark değerleri incelendiğinde Modifiye Gompertz modelinin en düşük tahmin kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Lignoselülozik substratların anaerobik parçalanmasında hidroliz basamağı hız belirleyici adımdır. Birinci Derece Kinetik model ve Cone modeli hidroliz hızının belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Çizelge 4.7. Kinetik model sonuçları

Model	Parametre	0.75 OLR gUKM/L.gün	1.0 OLR gUKM/L.gün	1.5 OLR gUKM/L.gün
Deneysel	M (mL CH ₄ /g UKM _{eklenen})	203.9	190.5	181.0
Birinci Derece Kinetik	k (1/Gün)	0.054	0.050	0.046
	P (mL CH ₄ /g UKM _{eklenen})	203.7	189.7	178.7
	R^2	0.993	0.993	0.993
	Düzeltilmiş R^2	0.993	0.992	0.993
	Fark (%)	-0.1	-0.4	-1.3
Cone	k (1/Gün)	0.080	0.073	0.067
	N	1.7	1.8	1.9
	P (mL CH ₄ /g UKM _{eklenen})	198.9	186.2	177.1
	R^2	0.999	0.999	0.999
	Düzeltilmiş R^2	0.999	0.999	0.999
Modified Gompertz	Fark (%)	-2.5	-2.3	-2.2
	R_m (mL CH ₄ /g UKM _{eklenen} .Gün)	9.3	8.0	7.1
	λ (Gün)	1.68	1.86	2.18
	P (mL CH ₄ /g UKM _{eklenen})	193.6	183.0	175.2
	R^2	0.992	0.994	0.996
Reaction Curve	Düzeltilmiş R^2	0.992	0.994	0.996
	Fark (%)	-5.3	-4.1	-3.3
	R_m (mLCH ₄ /g UKM _{eklenen} .Gün)	12.6	10.83	9.45
	λ (Gün)	1.01	1.03	1.21
	P (mL CH ₄ /gUKM _{eklenen})	203.3	191.1	180.5
Reaction Curve	R^2	0.994	0.993	0.993
	Düzeltilmiş R^2	0.994	0.993	0.993
	Fark (%)	-0.3	0.3	-0.2



Şekil 4.17. Farklı organik madde yükleme miktarında (a: 0.75 OLR, b: 1 OLR ve c:1.5 OLR) deneysel metan üretim verileri ile model tahminlerinin karşılaştırılması

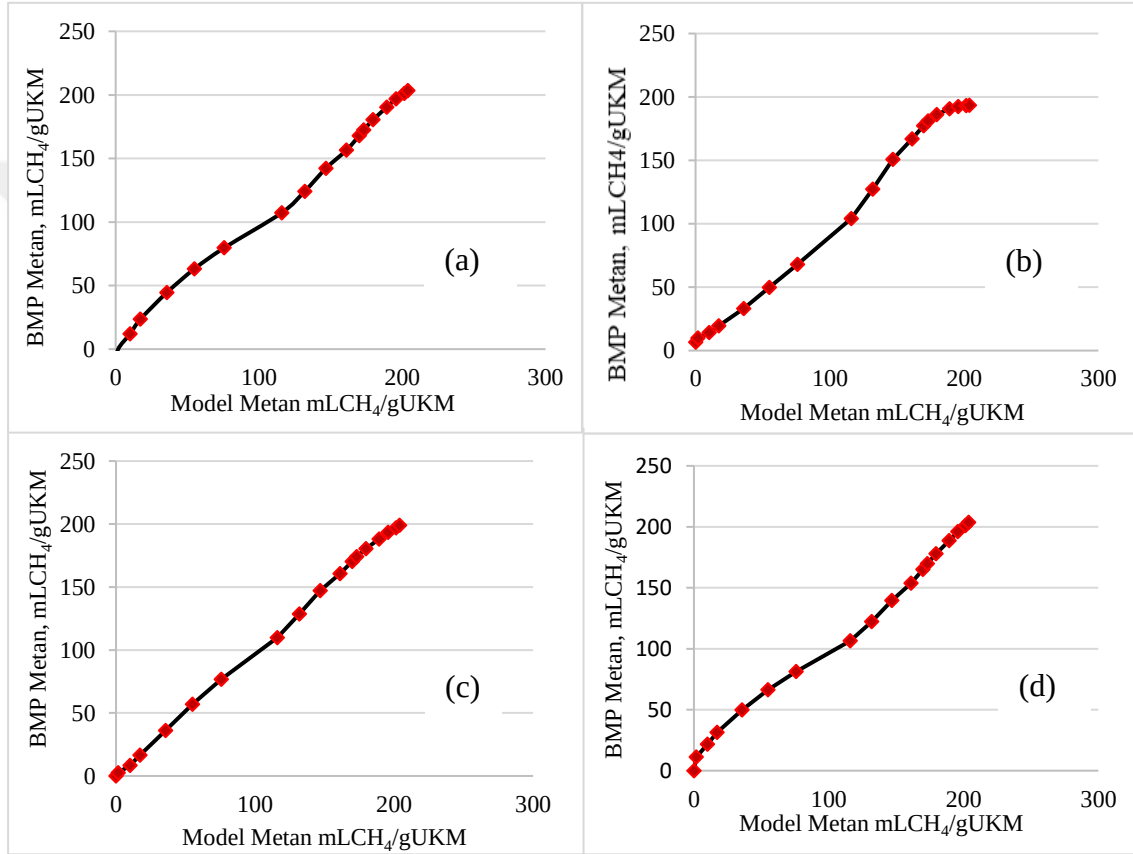
Birinci derece kinetik model ile hidroliz hız sabiti (k) hesaplanabilmektedir. 0.75 gUKM/L.gün, 1 gUKM/L.gün ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarında (OLR) lignoselülozik dallı darı için hidroliz hız sabiti (k) değerleri sırasıyla 0.054. gün⁻¹, 0.050 gün⁻¹ ve 0.046 gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Organik madde yükleme hızı arttıkça hidroliz hızının azaldığı gözlenmiştir. Metan üretiminin gerçekleşmesi için organik maddenin hidroliz edilmesi gerekmektedir. Hidroliz hızındaki azalma deneysel olarak elde edilen metan üretim potansiyellerindeki azalmayı da yansıtmaktadır. 0.75 OLR'den 1.5 OLR değerine geçildiğinde hidroliz hız sabitinde (k) %15 kadar azalma görülmüştür. El-Mashad (2013) dallı darı ile yaptıkları kinetik modelleme çalışmasında birinci derece kinetik model için hidroliz hız sabitini 0.05 gün⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Tez çalışması kapsamında elde edilen değerler (El-Mashad 2013) tarafından elde edilen sonuç ile uyumludur. Birinci derece kinetik modelde 0.75 gUKM/L.gün, 1.0 gUKM/L.gün ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızları için elde edilen R^2 ve fark hata değerleri sırasıyla 0.992, 0.993, 0.993 ve %0.1, %0.4, %1.3 olarak belirlenmiştir.

Modifiye Gompertz modeli ile maksimum metan üretim hızı (R_m) ve gecikme (lag) fazı süresi (λ) parametreleri hesaplanabilmektedir. Modifiye Gompertz modeli ile 0.75 g UKM/L.gün, 1.0 g UKM/L.gün ve 1.5 g UKM/L.gün organik madde yükleme hızları için elde edilen R_m ve λ değerleri sırasıyla 9.3 mL CH₄/g UKM_{eklenen}.Gün, 8.0 mL CH₄/g UKM_{eklenen}.Gün, 7.1 mL CH₄/g UKM_{eklenen}.Gün ve 1.68 gün, 1.86 gün, 2.18 gün olarak belirlenmiştir. Artan organik madde yükleme hızına paralel olarak metan üretim hızları azalmış ve adaptasyon fazı süresi artmıştır. Elde edilen model sonuçları deneysel sonuçlar ile uyumludur. El-Mashad (2013) dallı darı ile yaptıkları çalışmada Modifiye Gompertz modelinde R_m değerini 6.96 mL CH₄/g UKM_{eklenen}.Gün ve lag fazı süresini 2.11 gün olarak hesaplamıştır. Çalışmada siyanobakter ve dallı darı olmak üzere 2 çeşit substrat kullanılmıştır ve siyanobaktere ait lag fazının dallı darıdan daha uzun olduğu fakat modelin lag fazı olarak nitelendirdiği sürelerde siyanobakterin dallı darıdan daha yüksek metan üretimi sağladığını tespit edilmiştir. El-Mashad (2013), Modifiye Gompertz modelinin lag fazı tahmininde uygun bir kinetik model olmadığını belirtmektedir (El-Mashad 2013). Modifiye Gompertz modeli için ölçülen ve tahmin edilen değerlere ait R^2 regrasyon katsayıları 0.992 ila 0.995 arasında hesaplanmıştır. Model tarafından tahmin edilen metan miktarları ile deneysel olarak elde edilen metan miktarları arasındaki farkın %3.3 ila %5.3 arasında değiştiği gözlenmiştir. Diğer modellere göre göreceli düşük R^2 değerleri ve yüksek fark değerleri elde edilmesine rağmen dallı darının anaerobik parçalanmasının modellenmesinde Modifiye Gompertz modelinin uygun bir model olduğu düşünülmektedir.

Reaction Curve modeli, maksimum metan üretim hızı (R_m) ve gecikme/adaptasyon (lag) fazı süresi (λ) parametrelerini hesaplamaktadır. Reaction Curve modeli sonucunda 0.75 g UKM/L.gün, 1.0 g UKM/L.gün ve 1.5 g UKM/L.gün organik madde yükleme hızları için elde edilen R_m değeri sırası ile 12.6, 10.83 ve 9.45 mL CH₄/g UKM_{eklenen}.Gün ve lag fazları ise 1.01, 1.03 ve 1.21 gün olarak hesaplanmıştır. Artan organik madde yükleme hızına paralel olarak metan üretim hızları azalmış ve gecikme fazı süresi artmıştır. Elde edilen model sonuçları deneysel sonuçlar ile uyumludur. Bu tez çalışması kapsamında dallı darıya uygulanan Reaction Curve modeliyle tahmin edilen metan miktarları ile deneysel olarak ölçülen metan miktarları arasındaki R^2 değerleri 0.993 ila 0.994 olarak hesaplanmıştır. Tahmin edilen ve deneysel olarak ölçülen metan miktarları arasındaki fark ise %0.2 ile %0.3 arasında değişmektedir. Yüksek R^2 ve düşük

fark değerleri, Reaction Curve modelinin dallı darının anaerobik parçalanmasında kinetik parametrelerin tahmin edilmesi amacıyla kullanılmasının uygun olduğunu göstermiştir.

Şekil 4.18’de 0.75 g UKM/L.gün organik madde yükleme hızında deneysel olarak ölçülen metan miktarlarına karşı dört farklı model ile tahmin edilen metan miktarları grafiğe geçirilmiştir. Kullanılan modellerin deneysel veriler ile örtüşmesi durumunda lineer bir eğri elde edilmesi beklenilmektedir. Çizelge 4.7’den görüleceği üzere, dallı darının anaerobik fermentasyonu dört model için yüksek R^2 değerleri ile modellenenmiştir. Modeller arasında en az uyumlu olan Modifiye Gompertz modeli olmuştur.



Şekil 4.18. 0.75 kg/L.gün organik madde yükleme hızında deneysel olarak ölçülen metan üretim miktarına karşı dört model ile tahmin edilen metan miktarları (a) Reaction Curve, (b) Modifiye Gompertz, (c) Cone ve (d) Birinci dereceden kinetik model

5. SONUÇLAR

Gelişmekte olan ülkeler kategorisinde bulunan Türkiye enerji üretiminde yaklaşık olarak %50 oranında üretici ülkelerin kaynaklarına ve %66, 83 oranında ise fosil yakıtlara bağımlı bir ülkedir. Ekonomik ve politik dışa bağımlılığın azaltılması için atılması gereken adımlardan en önemlisi kendi enerji talebini karşılayabilen bir ülke inşa edebilmektir. Petrol ve doğal gaz kaynakları sınırlı olan Türkiyede enerji talebine katkı sağlayacak hidrolik, rüzgar, güneş ve biyokütle gibi yenilebilir enerji alt yapısının geliştirilmesi önem arz etmektedir. Biyokütle enerjisi açısından Türkiye mevsimsel olarak tarıma oldukça müsait bir lokasyonda bulunmakla birlikte gerekli teknolojik imkânlarla da sahiptir. Dallı darı gibi enerji bitkilerinin yetiştiriciliğinin artırılması ve farklı biyokütle ile atık kaynaklardan biyogaz üretimine yatırım yapılması enerji talebine güvenli destekleyici olması yanında ekonomik iş imkanları yaratılması açısından da gelecek vadetmektedir.

Tez çalışmasının amacı, dallı darıdan metan üretimi amacıyla kullanılan kesikli proses (Biyokimyasal Metan Potansiyeli - BMP) ve yarı-sürekli beslemeli prosese organik madde yükleme hızının etkisinin ve proses parametrelerine ait cevaplarının incelenmesidir. Yüksek lisans tezi kapsamında öncelikle boyut küçültme ön işlemi uygulanan dallı darı bitkisinin karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Karakterizasyon analizleri kapsamında elde edilen elemental analiz verileri kullanılarak dallı darının teorik metan potansiyeli tespit edilmiştir. Kesikli BMP testi ve yarı-sürekli beslemeli reaktör aynı proses koşulları altında (sıcaklık, pH, organik yükleme hızı ve alıkonma süresi) dallı darının anaerobik fermantasyonu için çalıştırılmış ve her iki sistemde organik madde yükleme hızının spesifik metan üretim verimine etkisi incelenerek karşılaştırılmıştır. Dallı darının anaerobik parçalanmasında, organik madde yükleme hızının artırılmasının proses performansına etkileri izlenilen durum değişkenleri (pH, uçucu organik asit (UYA), alkalite, UYA/Alk, biyogaz bileşenleri) vasıtasıyla değerlendirilmiştir. Anaerobik proste görev alan mikroorganizma türlerinin tespit edilebilmesi amacıyla yarı sürekli anaerobik reaktörden alınan numunelerde DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, denature gradian jel elektroforezi ve dizileme işlemleri uygulanarak anaerobik proste görev alan mikrobiyal türlerin moleküler genetik tanımlama çalışmaları yapılmıştır. Son olarak enerji bitkisi dallı darının anaerobik parçalanma kinetiği, Modifiye Gompertz modeli, Cone modeli, Reaction Curve modeli ve Birinci Derece Kinetik model ile incelenmiş ve organik madde yükleme hızının proses kinetiğine etkisi değerlendirilmiştir.

Tez kapsamında hammadde olarak kullanılan dallı darının yetiştiriciliği Konya Karapınar'da yapılmıştır. Anaerobik aşı çamur Manavgat yakınlarında hayvan gübresinden anaerobik parçalanma prosesi ile biyogaz üretimi yapan bir biyogaz tesisinden (Rani Çiftliği) temin edilmiştir. Bu çalışmada Kanlow çeşidi dallı darı kullanılmış olup bu çeşide ait numuneler kurutulduktan sonra homojenize edilmiştir. Kurutulan numunelere daha sonraki analizlerde kullanılmak üzere 0.5 mm boyutunda mekanik parçalama işlemi uygulanmıştır. Biyogaz üretiminde kullanılacak olan hammaddeye (dallı darı) karakterizasyon analizleri yapılmış ve bu kapsamda toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), toplam Kjeldahl azotu (TKN), çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ), toplam indirgen şeker (DNS), ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid), toplam şeker (Anthrone), yapısal karbonhidratlar, asitte çözünen ve

çözünemeyen lignin, inorganik karbon (İK), toplam karbon (TK) ve toplam organik karbon (TOK) analizleri uygulanmıştır. Karakterizasyon analizlerine ek olarak elementel kompozisyon (C, H, O, N) ve iz element kompozisyonu (Ca, K, Mg, Na, Fe, Al, Cu, Sr, Se ve Mn) analizleri de yapılmıştır. Elementel kompozisyon analizi sonucunda dallı darının %41.95 karbon (C) içerdiği belirlenmiştir. Hemiselüloz ve selüloz miktarının sırasıyla %36.24 ve %35.94 olduğu tespit edilmiştir. Yüksek karbon, yüksek selüloz ve hemiselüloz miktarları, dallı darının anaerobik fermantasyonu ile biyogaz üretiminde tercih edilebilir bir enerji bitkisi olma potansiyeli taşıdığını göstermektedir.

Dallı darının elementel analiz verileri ve Buswell eşitliği kullanılarak genişletilmiş kimyasal formülü $C_{140}H_{244}O_{109}N_1$ ve teorik metan potansiyeli (TBMP) 439,5 mLCH₄/gUKM olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, elementel analiz verileri kullanılarak Dulong eşitliği ile üst ısı değer ve stokiyometrik denklik ile teorik oksijen ihtiyacı değeri hesaplanmıştır. Üst ısı değer ve teorik oksijen ihtiyacı değeri sırasıyla 3610,1 kcal/kg ve 1,27 gO₂/gUKM olarak bulunmuştur. Üst ısı ve teorik oksijen değerleri kullanılarak metan potansiyeli değerleri hesaplanmış ve teorik metan potansiyeli değeri ile karşılaştırılmıştır. Teorik metan potansiyeli, üst ısı değer ve teorik oksijen ihtiyacı değerleri kullanılarak hesaplanan metan potansiyeli değerleri Çizelge 5.1’de sunulmuştur. Ham dallı darının üst ısı değer ve teorik oksijen ihtiyacı verilerinden hesaplanan teorik metan potansiyeli ile Buswell denkliğinden hesaplanan metan potansiyeli miktarı değerleri benzerdir.

Çizelge 5.1. Teorik metan potansiyeli, üst ısı değer ve teorik oksijen ihtiyacı değerleri kullanılarak hesaplanan metan potansiyeli değerleri

	Kabuller	Metan Miktarı mLCH ₄ /gUKM
Teorik Metan Potansiyeli (TBMP)	Buswell Eşitliği	439.5
	Stokiyometrik Eşitlik	
	1.27 gO ₂ /gUKM	
Teorik Oksijen İhtiyacı (TOİ)	1 g KOİ = 0.35 L metan	444.6
	Dulong Eşitliği	
	3610.1 kcal/kg	
Üst Isıl Değer	1 kg metan 55.6 MJ	
	1 MJ = 238.846 kcal	
	Metan ısı değeri = 13279.832 kcal/kg	435.7

BMP testinde aşı miktarı her reaktörde sabit tutularak eklenen dallı darı miktarları 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarına (OLR) göre değiştirilmiş ve 60 gün sonunda elde edilen spesifik metan üretim miktarları sırası ile 203.9, 190.5 ve 181.0 mLCH₄/gUKM olarak bulunmuştur. Organik madde yükleme miktarı arttıkça elde edilen spesifik metan üretim miktarının azaldığı gözlenmiştir. Bu değerler dallı darı TBMP değerinin sırasıyla %46, %43 ve %41’ine karşılık gelmektedir. 0.75 OLR’de üretilen 203.9 mLCH₄/gUKM miktarının %80’lik bölümü ilk 24 gün süresinde elde edilmiştir. Kesikli BMP testi 60 gün sürdürülmesine rağmen bu bulgu, dallı darıdan ekonomik metan üretimi açısından alıkonma süresinin 24-25 gün olabileceğini de ortaya koymaktadır. Üretilen biyogaz içerisindeki ortalama metan yüzdeleri 0.75, 1.0 ve 1.5

gUKM/L.gün organik madde yükleme hızları için sırası ile % 48.3, 48.3 ve 48.5 olarak bulunmuştur.

Kesikli BMP testi sonucunda elde edilen metan üretim verileri kullanılarak dallı darının anaerobik fermantasyonu yaygın kullanılan kinetik modeller ile modellenmiştir. Kinetik katsayılarının belirlenmesi için deneysel metan üretim verimleri Modifiye Gompertz modeli, Cone modeli, Reaction Curve modeli ve Birinci Derece Kinetik model ile modellenmiştir. Tüm modellerde regrasyon katsayıları (R^2) 0.992 ile 0.999 arasında hesaplanmıştır. Deneysel olarak elde edilen metan üretim verileri ile model tahminleri arasındaki fark en fazla %5.3 olarak Modifiye Gompertz modelinde gözlenmiştir. Cone, Reaction Curve ve Birinci Derece Kinetik modeller, Modifiye Gompertz modeline göre daha iyi sonuç vermesine karşın dallı darının anaerobik fermantasyonunun kinetik modellemesinde kullanılan tüm modellerin uygun olduğu tespit edilmiştir. Kinetik modeller, değişkeni farklı organik madde yükleme hızlarında çalıştırılan BMP testleri için uygulanmış ve organik madde yükleme hızı (OLR değeri 0.75, 1.0 ve 1.5) arttıkça, hidroliz hız sabitleri (k) ve metan üretim hızı değerlerinin (R_m) azaldığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde organik madde yükleme hızı arttıkça lag fazı (λ) süresinin uzadığı görülmüştür.

Yarı-sürekli beslemeli anaerobik sistem mezofilik koşullarda ve kesikli BMP testi ile aynı organik madde yükleme hızlarında fakat iki günde bir dallı darı beslemesi yapılarak çalıştırılmıştır. Yarı sürekli beslemeli anaerobik reaktör 30 gün adaptasyon sürecinin sonrasında her bir yükleme hızı için 60'ar gün periyodunda çalıştırılarak sistemden veriler alınmıştır. 0.75, 1.0 ve 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızlarında, dallı darı'nın spesifik metan üretim verimleri sırasıyla 147.6, 156.9 ve 60.11 mLCH₄/gUKM olarak hesaplanmış ve biyogaz içerisindeki ortalama metan miktarları ise %43.3, 45.16 ve 42.17 olarak ölçülmüştür.

Organik madde yükleme hızı 1.5 gUKM/L.gün'e çıkarıldığında, biyogaz ve metan üretiminin kritik bir şekilde düşüşe geçtiği izlenmiştir. Bunun sebebinin kurutulmuş katı dallı darının sistem içerisinde birikmesi, lignoselülozik yapıya sahip dallı darının hidrolizinin yavaş olması ve asidogenesis aşamasında sistemi tamponlayacak alkalite kaynağının olmaması nedeniyle anaerobik fermantasyonun bozulduğu düşünülmektedir. Ayrıca, 1.5 gUKM/L.gün organik madde yükleme değerinde işletilen sistemde dallı darı birikmesi sebebi ile reaktör içeriğinde homojen karıştırma sorunları ile de karşılaşmıştır. 1.0 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında elde edilen metan üretim verimi, 0.75 gUKM/L.gün organik madde yükleme hızında elde edilen metan üretim veriminden %6 fazla olmasına rağmen, dallı darının bir atık olmadığı ve enerji üretimi için yetiştirilen bir bitki olmasından dolayı toplam ekonomik fayda göz önüne alındığında elde edilen spesifik metan verimi sonuçlarına göre düşük organik madde yükleme hızı (0.75 gUKM/L.gün) değerinin hem kesikli reaktörde (BMP testi) hem de yarı-sürekli beslemeli anaerobik reaktörde çalıştırılmasının daha verimli olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 5.2'de farklı organik madde yükleme hızlarında kesikli BMP testi ve yarı sürekli anaerobik reaktörde dallı darıdan üretilen metan miktarları ve teorik biyokimyasal metan potansiyelleri ile karşılaştırmaları sunulmuştur. Çizelge 5.2'den görüleceği üzere kesikli BMP testinde üretilen metan miktarı, yarı sürekli anaerobik reaktör sisteminde üretilen metan miktarından daha yüksektir. Dallı darının teorik metan potansiyeli ile

karşılaştırıldığında, kesikli BMP testi ile teorik metan potansiyelinin %40-45'ine ulaşılabilirken, yarı sürekli anaerobik sistem ile dallı darı teorik metan potansiyelinin %13-35'üne ulaşılabilmiştir.

Çizelge 5.2. Farklı organik madde yükleme hızlarında, kesikli BMP testi ve yarı sürekli anaerobik reaktörde dallı darıdan üretilen metan miktarları ve teorik biyokimyasal metan potansiyelleri ile karşılaştırmaları

	Organik Madde Yükleme Hızı (gUKM/L.Gün)		
	0.75	1.00	1.50
BMP Testi Sonucunda Üretilen Metan Miktarı (mLCH₄/gUKM)	203.9	190.5	181.0
Yarı-Sürekli Anaerobik Reaktör Sisteminde Üretilen Metan Miktarı (mLCH₄/gUKM)	147.6	156.9	60.1
BMP Testi Sonucunda Üretilen Metan Miktarının TBMP ile Karşılaştırması (%)	45.9	42.9	40.8
Yarı-Sürekli Anaerobik Reaktör Sisteminde Üretilen Metan Miktarının TBMP ile Karşılaştırması (%)	33.2	35.3	13.5

Yarı-sürekli beslemeli anaerobik fermentasyonun stabilitesi pH, sıcaklık, alkalite ve uçucu yağ asidi (UYA) analizleri ile takip edilmiştir. Tüm reaktör işletimi süresince (270 gün) pH 7.06-7.34 aralığında ve sıcaklık ise 36 ±1°C olarak ölçülmüştür. 1.5 gUKM/L.Gün organik madde yükleme sürecinde anaerobik reaktör içeriğinin pH değerlerinde 6.8'e inen ani düşüşler görülmüş ve sisteme NaOH ilavesi yapılmıştır. Tüm reaktör işletimi süresince alkalite 3611-4589 mg CaCO₃/L seviyesinde ölçülmüştür. APHA 5560C metoduna göre uygulanan UYA analizleri Varian GC-430 FID dedektörlü kromatografi kolonunda kirliliğe/tıkanıklığa sebep olmuş ve tekrarlanabilir ölçüm sonuçları elde edilememiştir. Tekrar edilebilir sonuçlar elde edilebilmesi için numunelere sıvı-sıvı MTBE ekstraksiyonu uygulanmış ve prosedür optimize edilmiştir. Toplam UYA 270 gün süren anaerobik reaktör işletiminde 0.33-117.5 mg/L aralığında ölçülmüştür. En yüksek UYA/ALK oranı 0.027 olarak tespit edilmiştir. Bu veriler sistemin stabilizasyonunu etkileyecek miktarda uçucu yağ asiti birikmesi olmadığını göstermektedir. C/N oranı 119,9 olan dallı darı ile beslemesi yapılan anaerobik reaktöre azot besin kaynağı eklenmemiştir. Anaerobik parçalanma sistemlerinde optimum COD/N/P oranının 300/5/1 – 400/5/1 (Gil vd. 2019) olduğu kabul edildiğinde, anaerobik reaktörde bu oranın yüksek kaldığı ve azot ihtiyacı nedeniyle reaktörde biyogaz veriminin azaldığı düşünülmektedir.

Anaerobik proste görev alan mikroorganizma türlerinin tespit edilebilmesi amacıyla yarı sürekli anaerobik reaktörden alınan numunelerde DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, denature gradian jel elektroforezi ve dizileme işlemleri uygulanarak anaerobik proste görev alan mikrobiyal türlerin moleküler genetik tanımlama çalışmaları yapılmıştır. Yarı sürekli anaerobik reaktörün 270 gün süren işletiminde *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, *Methanothrix* ve *Metanometilovorans*

arkeaları ve *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Spirochaetes* ve *Actinobacteria* bakterileri tespit edilmiştir.

Enerji bitkisi dallı darının, enerji üretiminde kullanılan başka bir bitki ile tarla verimi üzerinden karşılaştırılmasının yapılmasının dallı darının enerji üretiminde yerinin gösterilmesi açısından önemli olacağı vurgusu ile dallı darı ile mısır silajı karşılaştırılmıştır. Çizelge 5.3'te Kanlow çeşidi dallı darı ve mısır silajının tarla verimlerini dikkate alarak hesaplanan metan potansiyelleri sunulmuştur. Her iki enerji bitkisinin teorik metan potansiyelleri yaklaşık olarak aynı olmasına rağmen tarla verimleri nedeniyle dallı darıdan elde edilebilecek metan miktarının daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 5.3. Tarla veriminin metan potansiyeli üzerindeki etkisi

Enerji Bitkisi	Ton/Ha/Yıl	Teorik Metan Potansiyeli (mLCH ₄ /gNumune)	Toplam CH ₄ Miktarı (m ³ CH ₄ /Ha/Yıl)
	19.05 (15.5-22.6)		
Kanlow	(Wright vd. 2011)	383.8 (Bu çalışma)	7311
	14 (12-16)		
Mısır Silajı	(Dubrovskis vd. 2010)	383.1 (Cortesi vd. 2018)	5364

Literatürde, dallı darının anaerobik fermantasyonunda organik madde yükleme hızının spesifik metan üretimi ve proses parametrelerine olan etkilerinin araştırıldığı, dallı darının yarı-sürekli beslemeli anaerobik parçalanma prosesinde rol alan mikrobiyal türlerin tespit edildiği ve reaksiyon kinetiğinin değerlendirilerek kesikli ve yarı sürekli sistemin karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmadığından bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar yapılacak olan sonraki çalışmalarda referans olarak kullanılabilecek değerdedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbasi, T., ve Abbasi S. A. 2010. "Biomass energy and the environmental impacts associated with its production and utilization". *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(3): 919–37.
- Adler, Paul R. 2006. "Biomass yield and biofuel quality of switchgrass harvested in fall or spring". *Agronomy Journal*.
- Ali, Sameh S. 2019. "Enhanced digestion of bio-pretreated sawdust using a novel bacterial consortium: Microbial community structure and methane-producing pathways". *Fuel* 254(February): 115604. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.06.012>.
- Ali, S. S., ve Sun J. 2019. "Effective thermal pretreatment of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for the enhancement of biomethanation: VIT ® gene probe technology for microbial community analysis with special reference to methanogenic Archaea". *Journal of Environmental Chemical Engineering*.
- Anonim. 2017. "Dünya Ve Türkiye: Enerji ve Tabii Kaynaklar Görünümü". *T.C. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığı*: 1–73.
- APHA. 2005. "Standard Methods for the examination of water and wastewater." *American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC*.
- Arnheim, N., ve Henry E. 1992. "Polymerase Chain Reaction Strategy". *Annual Review of Biochemistry*.
- Aydın, H., Deviren C., İlkılıç S. 2017. "Biyogaz Üretiminde Kullanılabilen Materyaller ve Biyogazın Kullanım Alanları". *Batman University Journal of Life Sciences* 7(2): 1–10.
- Barbanti, L. 2014. "Anaerobic digestion of annual and multi-annual biomass crops". *Industrial Crops and Products* 56: 137–44.
- Başar, A., E. Kökdemir Ünşar, H. Ünyay, ve N. A. Perendeci. 2020. "Ethanol, methane, or both? Enzyme dose impact on ethanol and methane production from untreated energy crop switchgrass varieties". *Renewable Energy* 149: 287–97.
- Bauer, Aline vd. 2018. "Anaerobic digestion of mixed silage of waterweed biomass and wheat straw in a long-term semi-continuous biogas production process". *Energy, Sustainability and Society* 8(1).
- Beuvink, J. M., ve J. Kogut. 1993. "Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid." *Journal of animal science*.
- Boateng, A. A., K. B. Hicks, ve K. P. Vogel. 2006. "Pyrolysis of switchgrass (*Panicum virgatum*) harvested at several stages of maturity". *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*.
- de Bok, Frank A.M. 2005. "The first true obligately syntrophic propionate-oxidizing bacterium, *Pelotomaculum schinkii* sp. nov., co-cultured with *Methanospirillum hungatei*, and emended description of the genus *Pelotomaculum*". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.

- Bottero, M. T. 2003. "A multiplex polymerase chain reaction for the identification of cows', goats' and sheep's milk in dairy products". *International Dairy Journal*.
- "BP Statistical Review of World Energy Statistical Review of World". 2019.
- Bridoux, G., P. Dhulster, ve J. Manem. 1994. "Analyse des graisses dans les stations d'épuration". *Techniques Sciences Methodes*.
- Brown, D., Jian S., ve Yebo L. 2012. "Comparison of solid-state to liquid anaerobic digestion of lignocellulosic feedstocks for biogas production". *Bioresource Technology* 124: 379–86.
- Bryant, M. P. 1979. "Microbial Methane Production—Theoretical Aspects2". *Journal of Animal Science*.
- Buffiere, P., D. Loisel, N. Bernet, ve J. P. Delgenes. 2006. "Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties". *Water Science and Technology*.
- Buswell, A. M., ve H. F. Mueller. 1952. "Mechanism of Methane Fermentation". *Industrial & Engineering Chemistry*.
- Butkute, B. 2013. "Carbohydrate and lignin partitioning in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) biomass as a bioenergy feedstock". *Zemdirbyste*.
- Carpenter, Daniel L. 2010. "Pilot-scale gasification of corn stover, switchgrass, wheat straw, and wood: 1. Parametric study and comparison with literature". *Industrial and Engineering Chemistry Research*.
- Carrère, H., Bruno S., ve Nicolas B. 2009. "Improving pig manure conversion into biogas by thermal and thermo-chemical pretreatments". *Bioresource Technology* 100(15): 3690–94.
- Ciggin, A. S. 2016. "Anaerobic co-digestion of sewage sludge with switchgrass: Experimental and kinetic evaluation". *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects* 38(1): 15–21.
- Claassen, P. A.M. 1999. "Utilisation of biomass for the supply of energy carriers". *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Cortesi, A., V. Gallo, D. Solinas, ve R. Vitanza. 2018. "Assessing the synergistic effects of co-digestion of maize silage and red chicory waste". *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 32(3): 383–90.
- David, K., ve Arthur J. R. 2010. "Switchgrass as an energy crop for biofuel production: A review of its ligno-cellulosic chemical properties". *Energy and Environmental Science* 3(9): 1182–90.
- Demirel, B., ve Paul S. 2008. "The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review". *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*.
- Deublein, Dieter, ve Angelika Steinhauser. 2008. *Biogas from Waste and Renewable Resources*.
- Dreywood, R. 1946. "Qualitative Test for Carbohydrate Material". *Industrial and Engineering Chemistry - Analytical Edition*.

- Dubrovskis, Vilis, Imants Plume, Janis Bartusevics, ve Vladimirs Kotelenecs. 2010. "Biogas production from fresh maize biomass". *October* (2009): 220–25.
- El-Mashad, Hamed M. 2013. "Kinetics of methane production from the codigestion of switchgrass and *Spirulina platensis* algae". *Bioresource Technology* 132: 305–12.
- Esteghlalian, A., Andrew G. H., John J. F., ve Michael H. P. 1997. "Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass". *Bioresource Technology* 59(2–3): 129–36.
- Fahmi, R., A. V. Bridgwater, ve I. S. Darvell, L. I. Jones, J. M. Yates, N. Thain, S. Donnison. 2007. "The effect of alkali metals on combustion and pyrolysis of *Lolium* and *Festuca* grasses, switchgrass and willow". *Fuel*.
- Finstein, Melvin S. 2010. "Anaerobic digestion variants in the treatment of solid wastes". *Microbe*.
- Forgacs, G. 2012. "Biogas Production from Citrus Wastes and Chicken Feather": Chalmers University of Tehcnology Göteborg, Sweden.
- Frigon, Jean C., Punita M., ve Serge R. G. 2012. "Impact of mechanical, chemical and enzymatic pre-treatments on the methane yield from the anaerobic digestion of switchgrass". *Biomass and Bioenergy* 36: 1–11.
- Garibyan, L., ve Nidhi, A. 2013. "Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction(PCR)". *J Invest Dermatol*.
- Gebhart, D. L., H. B. Johnson, H. S. Mayeux, ve H. W. Polley. 1994. "The CRP increases soil organic carbon". *Journal of Soil and Water Conservation* 49(5): 488–92.
- Gil, Aida. 2019. "Effect of Variation in the C / [N 1 P] Ratio on Anaerobic Digestion". 00(00): 1–9.
- De Graaf, D., ve Roland F. 2010. "Biogas production in Germany". *SPIN background paper*.
- Griffin, Matt E., Katherine D. McMahon, Roderick I. Mackie, ve Lutgarde Raskin. 1998. "Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids". *Biotechnology and Bioengineering*.
- Grigatti, M., L. Barbanti, G. Pritoni, ve G. Venturi. 2004. "Comparison Of Switchgrass (*Panicum Virgatum* L.) Genotypes As Potential Energy Crop". *2nd World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection* (January).
- Gunaseelan, V N. 1997. "Anaerobic digestion of biomass for methane production: A review". *Biomass & Bioenergy* 13(1–2): 83–114.
- Hu, Zhoujian, Marcus B. Foston, ve Arthur J. Ragauskas. 2011. "Biomass characterization of morphological portions of alamo switchgrass". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(14): 7765–72.
- Imam, T., ve S. Capareda. 2012. "Characterization of bio-oil, syn-gas and bio-char from switchgrass pyrolysis at various temperatures". *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 93: 170–77.
- Jackowiak, D. Frigon, J. C. Ribeiro, T. Pauss, A. Guiot, S. 2011. "Enhancing solubilisation and methane production kinetic of switchgrass by microwave

- pretreatment". *Bioresource Technology*.
- Jetten, Mike S M, Alfons J M Stams, ve Alexander J B Zehnder. 1992. "Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanothrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp." *FEMS Microbiology Letters* 88(3-4): 181-97.
- Jiménez, Janet vd. 2016. "Prokaryote community dynamics in anaerobic co-digestion of swine manure, rice straw and industrial clay residuals". *Water Science and Technology*.
- Jin, Guang, Thomas Bierma, ve Paul Walker. 2012. "Biogas production from switchgrass under experimental conditions simulating U.S. digester operations". *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 47(3): 470-78.
- Jin, Guang, ve Tom Bierma. 2014. "Low-heat alkaline pretreatment of biomass for dairy anaerobic codigestion". *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 49(10): 786-96.
- Jin, Guang, Tom Bierma, ve Paul M. Walker. 2014. "Low-heat, mild alkaline pretreatment of switchgrass for anaerobic digestion". *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 49(5): 565-74.
- Jingura, R., ve Reckson K. 2017. "Methods for determination of biomethane potential of feedstocks: A review". *Biofuel Research Journal* 4(2): 573-86.
- Karagöl, E. T., ve Kavaz I. 2017. "Dünyada ve Türkiye’de yenilenebilir enerji". *Seta Siyaset, Ekonomi Ve Toplum Araştırmaları Vakfı*.
- Karakashev, D., Batstone J., ve I. Angelidaki. 2005. "Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors". *Applied and Environmental Microbiology*.
- Karakashev, D., D. J Batstone, Trabaly E., ve Angelidaki. 2006. "Acetate oxidation is the dominant methanogenic pathway from acetate in the absence of *Methanosaetaceae*". *Applied and Environmental Microbiology* 72(7): 5138-41.
- Karaosmanoglu, F. 2006. "Biyoyakıt teknolojisi ve İTÜ araştırmaları". *ITU energy workshop and exhibition*.
- Kern, T. F., Deppenmeier, Schmitz U., Rother R. 2016. "Methanosarcina flavescens sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from a full-scale anaerobic digester". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66(3): 1533-38.
- Keshwani, Deepak R., ve Jay J. Cheng. 2009. "Switchgrass for bioethanol and other value-added applications: A review". *Bioresource Technology* 100(4): 1515-23.
- Khanal, S. K. 2009. *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*.
- Klass, Donald L. 1998. *Biomass for Renewable Energy, Fuels, and Chemicals*. 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495, USA: Academic Press An Imprint of Elsevier.
- Koç, A. 2018. "Dünyada ve Türkiye’de Enerji Görünümünün Genel Değerlendirilmesi".

- Koç, E., ve Şenel M. C. 2013. “Dünyada ve Türkiye’de Enerji Durumu - Genel Değerlendirme”. *Mühendis ve Makina*.
- Krzysztof Z. 2012. “Methane fermentation process as anaerobic digestion of biomass: Transformations, stages and microorganisms”. *African Journal Of Biotechnology*.
- Lee, S. H. 2015. “Evidence of syntrophic acetate oxidation by Spirochaetes during anaerobic methane production”. *Bioresource Technology* 190: 543–49.
- Lemus, R. Brummer, E. Charles Moore, Kenneth J. Molstad, Neil E. Burras, C. Lee Barker, Michael F. 2002. “Biomass yield and quality of 20 switchgrass populations in southern Iowa, USA”. *Biomass and Bioenergy* 23(6): 433–42.
- Lemusa, R.; Brummerb, E. C.; Mooreb, K. J.; Molstadc, N. E.; Barkerb, M. F. 2003. “Biomass yield and quality of 20 switchgrass populations in southern Iowa , USA”. *Biomass & Bioenergy* (March): 6646.
- Lesteur, M. 2010. “Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review”. *Process Biochemistry*.
- Liu, E. 2018. “Understanding Lignin Fractionation and Characterization from Engineered Switchgrass Treated by an Aqueous Ionic Liquid”. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 6(5): 6612–23.
- Llabrés-Luengo, P., ve J. Mata-Alvarez. 1987. “Kinetic study of the anaerobic digestion of straw-pig manure mixtures”. *Biomass*.
- Lomans, Bart P 1999. “Isolation and characterization of Methanomethylovorans hollandica gen. nov., sp. nov., isolated from freshwater sediment, a methylotrophic methanogen able to grow on dimethyl sulfide and methanethiol”. *Applied and Environmental Microbiology* 65(8): 3641–50.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, Ve R. J. Randall. 1951. “Protein measurement with the Folin phenol reagent.” *The Journal of biological chemistry*.
- Lyberatos, G, ve IV Skiadas. 1999. “Modelling of anaerobic digestion—a review”. *Global Nest Int J*.
- M. H. Zwietering, I. Jongenburger, F. M. Rombouts, K. Van Riet. 1990. “Modeling of the Bacterial Growth Curve”. *Applied and Environmental Microbiology* 56(6): 1875–81.
- Mashaphu, Nthabiseng. 2005. M.Sc. Thesis, University of Western Cape, Western Cape, South Africa “The Microbial Composition Of A Natural Methanogenic Consortium”.
- Mata-Alvarez, J. vd. 2014. “A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013”. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 36(August): 412–27.
- Mathiesen, B. V. vd. 2015. “Smart Energy Systems for coherent 100% renewable energy and transport solutions”. *Applied Energy*.
- Metcalf, W., ve C. Eddy. 2003. “Metcalf and Eddy Wastewater Engineering: Treatment and Reuse”. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse McGraw Hill. New York, NY*.

- Miller, Gail Lorenz. 1959. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar". *Analytical Chemistry*.
- Motasemi, F. vd. 2014. "Microwave dielectric characterization of switchgrass for bioenergy and biofuel". *Fuel*.
- Naik, S. N., Vaibhav V. Goud, Prasant K. Rout, ve Ajay K. Dalai. 2010. "Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(2): 578–97.
- Neshat, S. A., Maedeh M., Ghasem D. N., ve Pooya L. 2017. "Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production". *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 79(May): 308–22.
- Niu, H. 2015. "Analysis of Biogas Produced from Switchgrass by Anaerobic Digestion". *Bioresources* 10(4): 7178–87.
- Ntaikou, I., G. Antonopoulou, ve G. Lyberatos. 2010. "Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: A review". *Waste and Biomass Valorization*.
- Parawira, W., J. S. Read, B. Mattiasson, ve L. Björnsson. 2008. "Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion". *Biomass and Bioenergy*.
- Pellera, F., ve Evangelos G. 2016. "Journal of Environmental Chemical Engineering Effect of substrate to inoculum ratio and inoculum type on the biochemical methane potential of solid agroindustrial waste". *Biochemical Pharmacology* 4(3): 3217–29.
- Perez-Garcia, J., Bruce L. 2006. "An Assessment Of Carbon Pools, Storage, And Wood Products Market Substitution Using Life-Cycle Analysis Results Associate Professor Center for International Trade in Forest Products Carolina Manriquez".
- Pind, P. F. 2003. "Monitoring and control of anaerobic reactors." *Advances in biochemical engineering/biotechnology*.
- Pitt, R. E. 1999. "Use of in vitro gas production models in ruminal kinetics". *Mathematical Biosciences* 159(2): 145–63.
- Ratanakhanokchai, K. 2013. "Paenibacillus curdlandolyticus Strain B-6 Multienzyme Complex: A Novel System for Biomass Utilization". *Biomass Now - Cultivation and Utilization*.
- Rulkens, W. 2008. "Sewage sludge as a biomass resource for the production of energy: Overview and assessment of the various options". *Energy and Fuels*.
- Sadaka, Samy 2014. "Characterization of biochar from switchgrass carbonization". *Energies*.
- Saha, B. C. 2003. "Hemicellulose bioconversion". İçinde *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*.
- Samuel, R., Yunqiao P., Babu R., ve Arthur J. R. 2010. "Structural characterization and comparison of switchgrass ball-milled lignin before and after dilute acid pretreatment". *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- Sánchez, C. 2009. "Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by

- fungi". *Biotechnology Advances*.
- Schink, B. 1997. "Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation." *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*.
- Sean, M. 2015. "Chapter 7: Professional Design Methodology". *An Applied Guide to Process and Plant Design*.
- Shen, J. 2020. "Assessment of pretreatment effects on anaerobic digestion of switchgrass: Economics-energy-environment (3E) analysis". *Industrial Crops and Products*.
- Sikora, A., Anna D., Aleksandra C.a, ve Mieczyslaw K B. 2017. "Anaerobic Digestion: I. A Common Process Ensuring Energy Flow and the Circulation of Matter in Ecosystems. II. A Tool for the Production of Gaseous Biofuels". İçinde *Fermentation Processes*,.
- Sluiter, A 2012. "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass". 2011(April 2008).
- Van Soest, P.J. 1963. "Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fibre and lignin". *Journal of the Association of Analytical Chemists* 46(5): 829–835.
- Speece, R. E. ve Perry L. Mccarty. 1964. "Nutrient Requirements And Biological Solids Accumulation in Anaerobic Digestion". *Advances in Water Pollution Research*,.
- Stegelmeier, B. L. 2017. "Switchgrass (*Panicum virgatum*/i) toxicity in rodents, sheep, goats and horses." İçinde *Poisonous plants: global research and solutions*,.
- Suksong, W., Prawit K., Poonsuk P., ve Sompong O. 2019. "Thermotolerant cellulolytic Clostridiaceae and Lachnospiraceae rich consortium enhanced biogas production from oil palm empty fruit bunches by solid-state anaerobic digestion". *Bioresource Technology* 291(June): 121851.
- Suryawati, L. 2008. "Simultaneous saccharification and fermentation of Kanlow switchgrass pretreated by hydrothermolysis using *Kluyveromyces marxianus* IMB4". *Biotechnology and Bioengineering* 101(5): 894–902.
- Symons, G E, ve A M Buswell. 1933. "The Methane Fermentation of Carbohydrates1,2". *Journal of the American Chemical Society* 55(5): 2028–36.
- Tchobanoglous, G., F. L Burton, ve H D. Stensel. 2003. "Metcalf & Eddy, Inc. Wastewater Engineering Teatment and Reuse". *Journal of Wastewater Engineering*.
- Thomsen, S.,Tjalfe, H. S., ve H. Østergård. 2014. "Statistical prediction of biomethane potentials based on the composition of lignocellulosic biomass". *Bioresource Technology*.
- Tomme, P., R. A.J. Warren, ve N. R. Gilkes. 1995. "Cellulose Hydrolysis by Bacteria and Fungi". *Advances in Microbial Physiology*.
- Tong, X., L. H. Smith, ve P. L. McCarty. 1990. "Methane fermentation of selected lignocellulosic materials". *Biomass*.
- Triolo, J. M. 2011. "A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: Influence of lignin concentration on methane production

- potential". *Bioresource Technology*.
- Turley, C. M., R. M. Atlas, ve R. Bartha. 1981. "Microbial Ecology: Fundamentals and Application." *The Journal of Applied Ecology*.
- Uma, S., A. K. Thalla, ve P. Devatha. 2020. "Co-digestion of Food Waste and Switchgrass for Biogas Potential: Effects of Process Parameters". *Waste and Biomass Valorization* 11(3): 827–39.
- United Nations Report. 1987. "Our common future: report of the World Commission on Environment and Development". *International Affairs* 64(1): 126–126.
- Us, E. 2010. "Sera Atıklarına Uygulanan Kimyasal Ön Arıtım Yöntemlerinin Anaerobik Arıtılabilirlik Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi". *Akdeniz Üniversitesi*.
- Us, E., ve N. A. Perendeci. 2012. "Improvement of methane production from greenhouse residues: Optimization of thermal and H₂SO₄ pretreatment process by experimental design". *Chemical Engineering Journal* 181–182: 120–31.
- Ware, A., ve N. Power. 2017. "Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions". *Renewable Energy* 104: 50–59.
- Weiland, P. 2010. "Biogas production: Current state and perspectives". *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Werther, J. 2000. "Combustion of agricultural residues". *Progress in Energy and Combustion Science*.
- Wright, L.L.; R.D.; Perlack, A.F.; Turhollow, ve L.M. Eaton. 2011. "Switchgrass Production in the USA". *IEA Bioenergy*: 1–18.
- Wright, L., ve A. Turhollow. 2010. "Switchgrass selection as a 'model' bioenergy crop: A history of the process". *Biomass and Bioenergy* 34(6): 851–68.
- Xu, J., J. Cheng, R. Sharma-Shivappa, ve J. C. Burns. 2010. "Sodium hydroxide pretreatment of switchgrass for ethanol production". *Energy and Fuels* 24(3): 2113–19.
- Yağlı, H. 2016. "Parametric optimization and exergetic analysis comparison of subcritical and supercritical organic Rankine cycle (ORC) for biogas fuelled combined heat and power (CHP) engine exhaust gas waste heat". *Energy*.
- Yılmaz, A, S Ünvar, T Koca, ve A Koçer. 2017. "Türkiye’de biyogaz üretimi ve biyogaz üretim istatistik bilgileri". *Technological Applied Sciences* 12(4): 218–32.
- Yılmaz, F. 2020. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü "Anaerobik Parçalanma Prosesinin Farklı Sektörel Atıklar İçin Uygulanması".
- Zabranska, J., ve D. Pokorna. 2018. "Bioconversion of carbon dioxide to methane using hydrogen and hydrogenotrophic methanogens". *Biotechnology Advances* 36(3): 707–20.
- Zealand, A M, A P Roskilly, ve D W Graham. 2017. "Effect of feeding frequency and organic loading rate on biomethane production in the anaerobic digestion of rice straw". *Applied Energy*: 1–10.
- Zheng, Z. 2015. "Effect of dairy manure to switchgrass co-digestion ratio on methane

production and the bacterial community in batch anaerobic digestion”. *Applied Energy* 151: 249–57.

Ziganshin, A. M, J. Liebetrau, J. Pröter, ve S. Kleinsteuber. 2013. “Microbial community structure and dynamics during anaerobic digestion of various agricultural waste materials”. *Applied Microbiology and Biotechnology*.



ÖZGEÇMİŞ

Hilal ÜNYAY

hilalunyay@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2017-2020	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği ABD, Antalya
Lisans 2010-2016	İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği İzmir

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Proje Asistanı 2017-2020	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği ABD, Antalya
-----------------------------	---

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- Başar, A., E. Kökdemir Ünşar, H. Ünyay, ve N. A. Perendeci. 2020. “Ethanol, methane, or both? Enzyme dose impact on ethanol and methane production from untreated energy crop switchgrass varieties”. *Renewable Energy* 149: 287–97.

Ulusal / Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- Ünyay H., Perendeci, N. A. (2019) Optimization of Methane Production of Switchgrass by Anaerobic Digestion Exceed-Swindon, February 19- March 1 / 2019, Braunschweig (International Network on Sustainable Water Management in Developing Countries). (Sunum).

- Ünyay, H., Ünşar, E.K., Başar, İ.A., Perendeci, N.A., Yıldız, O., Akman, H.E., Yılmaz, V., Ertekin, C. (2018). Is Switchgrass the New Ground-Breaking Energy Crop for Biofuel Production? International Commission of Agricultural and Biosystems Engineering (CIGR) 19th World Congress. Antalya. (Poster)

- Başar, İ.A., Ünyay, H., Ünşar, E.K., Perendeci, N.A., Yıldız, O. (2018). Evaluation of Enzyme Doses on Ethanol Production from Raw Switchgrass Variety of Kanlow. International Commission of Agricultural and Biosystems Engineering (CIGR) 19th World Congress. (Sunum)

