

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

ÇEVRE VE ENERJİ TEKNOLOJİLERİ YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

PROJE ADI: LİGNOSELÜLOZİK ATIKLARIN ANAEROBİK FERMENTASYONU İLE BİYOHİDROJEN POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

TAKIM ADI: BİYOHİDROJEN

BAŞVURU ID: 406021

TAKIM SEVİYESİ: Lise

DANIŞMAN ADI: Nilgün CİVAŞ

İÇİNDEKİLER

KAPAK	1
1. Proje Özeti	2
2. Problem	2
3. Çözüm.....	3
4. Yöntem	3
5. Yenilikçi/İnovatif Yönü	5
6. Uygulanabilirlik.....	6
7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Çizelgesi.....	7
8. Proje Fikrinin Hedef Kitleleri	8
9. Riskler	8
10. Proje Ekibi	8
11. Kaynaklar	9

1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Yenilenebilir bir enerji kaynağı olarak lignoselülozik atıklardan biyo-hidrojen üretimi, CO₂ emisyonu olmadan temiz yakıt üretebilen umut verici bir yaklaşımdır. Tarımsal-endüstriyel atıkların katı faz fermantasyonunda kullanılması, katı atıkların bertaraf edilmesinde çözüm sunmaktadır ve hidrojen gibi katma değerli ürünlerin ekonomik bir prosesi sağlanmaktadır.

Bu çalışmada, lignoselülozik bir biyokütle kaynağı olan asma budama artıkları, laboratuvar ölçekli biyohidrojen üretimi denemelerinde hammadde olarak kullanılmıştır. Hammadde üzerinde uygulanan ön işlem uygulamalarının biyohidrojen verimi üzerindeki pozitif etkisi araştırılmıştır. Ön işlem parametreleri belirlenirken ekonomik ve sürdürülebilir olma kriterleri göz önünde bulundurulmuştur.

Fiziksel/öğütme, ısı ön işlem ve enzimatik hidroliz uygulanan asma budama artıklarının dark fermentasyon prosesi sonucunda 79,4 ml (200 °C, 20 dk.) kümülatif maksimum biyogaz verimi elde edilmiştir. Ön işlem uygulanan asma budama artıklarında en yüksek biyohidrojen verimi 200 °C 20 dk. parametrelerinde 10,5 ml olarak ölçülmüştür. Lignoselülozik bir hammadde olan asma budama artıklarının hasat zamanı, yapısal özellikleri ve bileşimi dark fermentasyonu ile biyohidrojen üretiminde biyolojik parçalanmayı sınırlandırmaktadır.

Anahtar kelimeler: Asma (*Vitis vinifera L.*) budama artıkları, ısı ön işlem, dark fermentasyon, biyohidrojen

2. Problem/Sorun:

Küresel boyuttaki iklim değişikliğinin başlıca sebeplerinden biri olarak fosil yakıtların kullanımından kaynaklanan sera gazı emisyonlarının olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Fosil yakıt kaynaklarının sınırlı olması nedeni ile bu kaynakların kullanılması sonucunda sera gazı emisyonlarındaki artış alternatif, temiz ve sürdürülebilir kaynaklara yönelmeye sebep olmuştur. Sürdürülebilir bir toplumda yaşama bilinci düşük karbonlu bir enerjinin gerekliliğine işaret etmektedir. Bu amaçla, karbon bulundurmeyen bir enerji kaynağı olan biyohidrojen giderek daha fazla dikkat çekmektedir.

3. Çözüm

Son yıllarda, organik atıklardan biyohidrojen üretimi ile atıkların bertaraf edilmesi büyük ilgi görmektedir. Bu nedenle, **atığı biyohidrojen gazına dönüştüren** teknolojilerden biri olan anaerobik fermentasyon hem teknolojik hem de çevresel açıdan artan öneme sahiptir. Biyohidrojen üretiminde substrat olarak biyoatıkları kullanılması, **atıkların bertaraf edilmesi** ve **enerji girdisi** ile ikili fayda sağlayacaktır.

Bu çalışma ile biyohidrojen verimini artırmak için, hammadde olarak belirlenen asma budama artıklarına uygulanan çeşitli ön işlemlerin- süreç maliyeti, uygulama süresi, sürdürülebilir ve çevre dostu bir süreç olma açısından değerlendirildiğinde- anaerobik fermentasyon için **fizibiliteye** sahip midir? Hipotezine cevap aranmıştır.

4. Yöntem

Artan dünya nüfusu ve hızlı kentleşme, büyük miktarda fosil yakıt tüketimine ve atık oluşumuna neden olmuştur. Bu nedenle, sürdürülebilir bir toplumda yaşama bilinci insanları düşük karbonlu bir enerji üretimine yöneltmektedir. Bu bağlamda, karbon bulandırmayan bir enerji kaynağı olan hidrojen giderek daha fazla dikkat çekmektedir. Hidrojen ($285.9 \text{ KJ. mol}^{-1}$) enerjiye sahiptir, metan ve petrol ile karşılaştırıldığında 3 kat daha fazla enerji taşımaktadır (Murguzova, 2020). Bir başka ifade ile, Hidrojen (H_2), sıfır veya sıfıra yakın emisyonla temiz yanma özelliği nedeniyle, geleneksel fosil yakıtlara yenilenebilir ve çevre dostu bir alternatiftir ve CH_4 (50 MJ/kg), etanol (26.8 MJ/kg) ve benzin (44 MJ/kg) gibi diğer gazlı yakıtlara kıyasla yüksek bir kalorifik değere (120–142 MJ/kg) sahiptir (Kadier, 2016). Hidrojen, fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemler gibi farklı teknikler kullanılarak üretilebilir (Raghulchandran, 2020).

Hidrojen üretiminde biyolojik proses daha az maliyete sahip olması ve çeşitli biyokütle kaynaklarının/mikroorganizmaların kullanımı ile diğer proseslere göre önemli avantajlara sahiptir (Xia, 2018). Dark fermentasyon, oksijensiz ortamda fermentatif bakteriler (*Clostridium* türleri) tarafından organik substratlar kullanılarak gerçekleştirilen biyohidrojen üretim prosesidir (Mishra, 2019). Substrat çok yönlülüğü ve basit çalışma modunun yanı sıra, bu yolla H_2 üretim hızı, çeşitli fermentatif mikroorganizmaları kullanma fizibilitésinin yanı sıra bilinen diğer fermentatif yöntemlerle karşılaştırıldığında çok daha yüksektir (Sivagurunathan, 2017).

Araştırma kapsamında kullanılan asma budama artıkları Manisa Akhisar (Kasım 2021) ilçesinden temin edilmiştir. Toplanan numuneler 60°C ' de etüvde kurutulmuş, sonrasında fiziksel ön işlem/parçacık boyutu küçültme uygulanmıştır (Şekil 1). Parçacık boyutu küçültülen numunelerin 1mm elek kullanılarak homojen olması sağlanmıştır (Şekil 2). Numunelerin nem oranları %6, 93 olarak ölçülmüştür ve 550°C ' de kül fırında organik madde tayini yapılmıştır.



Şekil 1. Parçacık boyutu küçültme



Şekil 2. Numunelerin elekten geçirilmesi

Çalışmada 37°C ' de çalıştırılan ve 2 m^3 reaktör hacmine sahip sığır atığı ile sürekli beslemeli

biyogaz reaktöründen alınan aşı kullanılmıştır (Şekil 3). Atık reaktörden alındıktan sonra 1 mm çapa sahip filtreden geçirilmiş ve 4 °C de muhafaza edilmiştir. Aşı materyali (%4 TK) kullanılmadan önce belirli sıcaklıkta (70 °C) ve sürede (1 saat) ısıtılmış, spor halinde bulunan metanojen floranın aktivasyonu; hidrojen tüketen ve diğer metanojen bakterilerin inaktivasyonu sağlanmıştır.



Şekil 3. Aşı materyali

Fiziksel ön işlem uygulanan numunelere farklı sıcaklık ve bekletme sürelerinde ısı ön işlem (*liquid hot water /microwave treatment*) uygulanmıştır.



Şekil 4. Isıl ön işlem uygulaması

Katı numune ve sıvı oranı 1:10 gram/ml olarak belirlenmiştir. Ön işlem koşulları Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1. Yapılan ön işlemler ve uygulanan prosedürler

Ön İşlem Metodu	Parametreler
Fiziksel Ön İşlem	Parçacık boyutu küçültme/öğütme, elekten geçirme (1 mm)
Isıl Ön İşlem	200 °C' de 10, 20 ve 30 dakika inkübasyon
Enzimatik Ön İşlem	Selülaz enzimi (285 FPU)

Denemelerde 130 ml, toplam 50 ml çalışma hacmine sahip amber renkli reaktörler kullanılmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Amber renkli reaktör

100 ml'lik reaktörlere, ısıl ön işlem uygulanan numuneler soğutulduktan sonra selülaz enzimi ilave edilmiş ve hazırlanmış aşı materyali maksimum 70 ml olacak şekilde eklenmiştir. Aşı deaktivasyonu sonrasında yaklaşık olarak 7,6 olarak ölçülen pH değeri; 0.1 N HCl ile 6 değerine getirilmiştir. pH mikroorganizma çeşitliliği ve hücre membran yük dengesini etkilemektedir. Bunun sonucunda, metabolik yol ve son ürün değişmektedir (Temudo, 2007).

Ayrı ayrı üç deneme seti kurulmuştur.

- i. 200 °C ve 10 dakika ısıl işlem görmüş numune
- ii. 200 °C ve 20 dakika ısıl işlem görmüş numune
- iii. 200 °C ve 30 dakika ısıl işlem görmüş numune

Anaerobik şartları sağlamak için reaktörlerden 1 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir. Daha sonra reaktörler kauçuk tıpa ve plastik vida ile kapatılmıştır. Reaktörler 120 rpm hızında orbital çalkalamalı 55 °C' de (termofilik) inkübatörde fermentasyona bırakılmıştır. Denemeler her bir numune için iki kez tekrarlanmıştır.

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Türkiye'nin endüstriyel gelişimine bağlı olarak, fosil yakıtlara dayalı artan miktarda enerji kullanımı çevresel bozulma ve hava kirliliğindeki artışı beraberinde getirmiştir. TÜİK, 2019 Sera Gazı İstatistiklerine göre, toplam sera gazı emisyonunun 506,1 milyon ton CO₂' e eşit olduğu belirtilmiştir. Toplam sera gazı emisyonlarında en büyük payı %72 ile enerji kaynaklı emisyonlar alırken bunu sırasıyla %13,4 ile tarım, %11,2 ile endüstriyel işlemler ve ürün kullanımı ve %3,4 ile atık sektörü takip etmiştir. Bu veriler göz önüne alındığında bu proje ile,

- Türkiye' de alternatif temiz ve yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımının yaygınlaştırılmasına,
- Temiz bir enerji kaynağı olan biyohidrojen üretiminde **farklı bir hammadde ve on işlem uygulamaları** ile yenilikçi yaklaşımlara,
- Bol miktarda bulunan lignoselülozik atıkların biyohidrojen üretimi ile **atık kontrolünün** sağlanabileceğine,
- **Ekonomik ve çevre dostu** uygulamalarla temiz ve yenilenebilir bir enerji kaynağı olan **biyohidrojen üretim süreçlerine**, dikkat çekilmektedir.

Literatür çalışmalarına bakıldığında farklı lignoselülozik hammaddeler kullanılarak biyohidrojen üretimi ile ilgili birçok çalışma yapıldığı görülmektedir. Ayrıca, lignoselülozik hammadde kaynaklarında farklı ön işlem uygulamaları ile biyohidrojen verimi artırılmıştır. Bizim projemizin farkı ise,

- **Kapsamlı literatür çalışması sonucunda biyohidrojen üretimi dışında, asma budama atıklarının farklı biyokütle dönüşüm yöntemlerinde kullanıldığı görülmüştür.**
- **Yapılan çalışmalardan farklı olarak asma budama atıklarında biyohidrojen verimini arttırmak için çevre dostu ısı ve enzimatik ön işlem uygulanmıştır.**

6. Uygulanabilirlik

Kömür, petrol ve doğal gaz dahil olmak üzere fosil yakıtlar, birincil küresel enerji kaynakları olmaya devam ediyor ve birincil enerji kaynaklarının neredeyse %84'ünü oluşturuyor (Aydın, Karaca, Qureshy, & Dincer, 2021). Fosil yakıt kullanımı, iklim değişikliğine neden olan küresel sera gazlarının %57'si olan büyük miktarda CO₂ salınımına neden olmaktadır (Yoro & Daramola, 2020). Yenilenebilir enerjinin, enerjiyle ilgili CO₂ emisyonlarını %90 oranında azaltma potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (Darwish, 2020). Bu nedenle, fosil yakıt tüketimini azaltmak ve iklim değişikliğinin önüne geçmek için yeşil ve yenilenebilir enerji kaynaklarını geliştirmek/yaygın olarak kullanmak gerekmektedir. Uzun vadeli sürdürülebilir yeşil hidrojen üretimi için, biyolojik teknolojiler aracılığıyla yenilenebilir biyoatıklardan biyohidrojen üretimi artık son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Hidrojen üretimi ile, belirli bölgelerde sınırlı olarak bulunan petrol ve doğal gazla olan bağımlılığımızın azalabileceği yönünde giderek artan bir beklenti bulunmaktadır. Hidrojen ekonomisine ilişkin büyük umutların bir başka nedeni de, halihazırda piyasada bulunan ve halihazırda petrol fiyatından daha düşük olan nispeten düşük hidrojen maliyetidir (Nowotny, 2011). Yenilenebilir enerji kaynağı olarak lignoselülozik biyokütlenin kullanılması, kısa bir zaman sonra tükenen fosil yakıtların yerini alabilecek ekonomik ve çevre dostu bir uygulamadır. Lignoselülozik biyokütlenin enerji amaçlı olarak kullanımı kaynakların sürdürülebilir olması açısından üzerinde durulması gereken önemli bir konudur. Bu nedenle gıda/yem amaçlı kullanılmayan lignoselülozik tarımsal artıkların biyoyakıt üretiminde kullanılması gıda güvenliği açısından önem taşımaktadır.

TÜİK verilerine göre, 2021 yılında ülkemizde toplam 4 milyon 200 bin ton üzüm üretimi gerçekleşmiştir. En kaliteli üzümü üretmek için üzüm bağlarında sulama, gübreleme, budama ve bitki koruma gibi birçok uygulama yıllık olarak yapılmaktadır ve bu uygulamalar asma filizleri, asma yaprakları ve inceltilmiş, genç meyveler gibi geniş bağ kalıntıları üretmektedir. Çevreye artan ilgi ile, budama artıklarının güvenli bir şekilde bertaraf edilmesine ve biyo- dönüşümde potansiyel bir hammadde olarak kullanılmasına odaklanmaktadır.

Asma budama artıkları gibi lignoselülozik hammaddeler selüloz ve hemiselüloz formunda yüksek konsantrasyonda karbonhidrat bulundurmaktadır. Bu durum biyohidrojen üretiminde hammadde olarak asma budama atıklarının kullanımının uygun olduğunu göstermektedir. Bu proje çalışması ile, asma budama atıklarına farklı ön işlemler (asit, alkali ve buhar ile muamele vb.) uygulanması ile verimin artırılacağı öngörülmektedir.

Bu çalışmada, lignoselülozik biyokütleden dark fermentasyon ile biyohidrojen üretiminde asma budama artıkları kullanılmıştır. Çalışmada lignoselülozik biyokütle artıkları fiziksel, ısı ve

enzimatik ön işlemlerden sonra biyohidrojen üretiminde kullanılmıştır. En yüksek biyohidrojen verimi 200 °C 20 dk. ısıl ön işlem parametresinde 10,5 ml olarak ölçülmüştür. Lignoselülozik biyokütlenin yapısı ve uygulanan dark fermentasyon proses parametrelerine (sıcaklık, pH, bekletme süresi, karışık kültür/saf kültür, bekletme süresi) bağlı olarak literatürde biyohidrojen verimi oldukça farklılık göstermektedir. Ayrıca lignoselülozik biyokütlenin hasat edildiği zaman ve ön işlem uygulamaları da biyohidrojen verimi üzerinde etkili olan diğer faktörlerdir. Mevcut çalışma genel olarak değerlendirildiğinde, asma budama artıklarından fiziksel, ısıl ve enzimatik ön işlem uygulamalarından sonra, biyohidrojen üretiminin yapılabilceği görülmektedir.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Biyohidrojen üretiminin ekonomik/maliyet değerlendirilmesinde toplam enerji ihtiyacı göz önünde bulundurulmaktadır ve biyohidrojen üretimi sırasında kullanılan tüm enerji kaynakları hesaplamalarda dikkate alınmaktadır. Elektrik üretiminde genellikle MJ/kWh birimi kullanılmaktadır. Hammaddenin üretim maliyeti, taşınması, depolanması, ön işlem uygulamaları ve dark fermentasyon prosesinin enerji ihtiyacı en önemli enerji girdilerini oluşturmaktadır. Proses sonucunda elde edilen biyohidrojen enerji çıktısı olarak değerlendirilmektedir. Ekonomik fizibilite çalışmalarında enerji çıktısından enerji girdisi çıkarılarak değerlendirme yapılmaktadır.

Ön işlem yönteminin seçimi, parametreleri uygulanan prosese göre farklılık göstermektedir. Lignoselülozik yapının kompleks olması nedeni ile fermentasyon verimliliği büyük oranda hammadde çeşidine bağlı olarak değişmektedir. Biyohidrojen verimliliğinin artırılmasında lignoselülozik yapının azaltılması için yaygın olarak ön işlemler uygulanmaktadır. Yapılan araştırmalar, yeşil biyohidrojen üretim teknolojilerinde halen ön işlem uygulamalarının üretim maliyetinin yüksek olmasına neden olduğunu göstermektedir. Ön işlem enerji gereksinimlerinin karşılaştırılmasında ortaya çıkan zorluklardan biri farklı enerji ve ekonomik girdileri analiz etme gerekliliğidir.

Türkiye üzüm yetiştiriciliğinde lider ülke konumunda olduğu için yüksek asma budama atığı potansiyeline sahiptir. Bu kapsamda, yeşil biyohidrojen üretim teknolojilerinde asma budama atıklarının kullanılması ile hammadde üretim maliyeti olarak enerji girdileri içerisinde yer almayacaktır.

Bu çalışmada ön işlem uygulamaları (parçacık boyutu küçültme, ısıl ön işlem ve enzim maliyeti) ve dark fermentasyon prosesi enerji girdilerini oluşturmaktadır. Proses sonucunda ön işlem uygulanan numunelerden elde edilen biyohidrojen verimi ise enerji çıktısı olarak değerlendirilmektedir. Çalışmada 37 °C' de çalıştırılan ve 2 m³ reaktör hacmine sahip sığır atığı ile sürekli beslemeli biyogaz reaktöründen alınan aşı kullanılmıştır. Dark fermentasyon prosesinde kullanılan karışık kültür/aşı materyali enerji girdisi içerisinde yer almamaktadır.

İşin Tanımı	EYLÜL	EKİM	KASIM	KASIM	ARALIK	OCAK	ŞUBAT	MART	NİSAN
Problemin Belirlenmesi	X								
Literatür Taraması	X	X	X	X	X	X			
Deneyin kurulması ve Yapılması				X	X				
Verilerin Toplanması ve Analizi						X	X		
Proje Raporu Yazımı						X	X	X	X

8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

Biyohidrojen kullanım alanlarından birincisi **yakıt pili** teknolojisidir. Bu teknoloji, konutlarda ısıtma amaçlı, doğrudan elektrik üretici, ulaşım araçlarında ve savunma sanayinde kullanılmaktadır. Diğer kullanım alanı ise **doğrudan yanmalı motor** teknolojisidir. Biyohidrojenin kullanıldığı ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine çevrildiği sistemler yakıt hücreleri olarak bilinmektedir. Bu sistemlerde biyohidrojenin kullanımı sonucunda son ürün sadece su ve su buharıdır. Günümüzde biyohidrojen çalışmalarının büyük bir kısmı ulaşım sektörü üzerinde odaklanmıştır. Yakıt hücrelerinin ev/iş yerlerinde (sabit kullanım) kullanım alanları oldukça yaygındır. Ev ve iş yerlerinde yakıt hücrelerinden enerji (elektrik/ısıtma/soğutma) ihtiyacını karşılanmak amacı ile yararlanılmaktadır.

9. Riskler

Projemizin en büyük riski lignoselülozik madde üzerinde uygulanacak ön işlem uygulamaları için oluşan maliyet artışıdır. Bu çalışmada, hammadde/asma budama atığı üzerinde kimyasal ön işlem uygulanmadığı için nispeten düşük maliyet girdisi elde edilmiştir. Ancak, parçacık boyutu küçültme/fiziksel ön işlem uygulamalarının yüksek enerji girdisine sahip olduğu literatürde belirtilmektedir. Asma budama atıklarının budama mevsiminde lignoselülozik bileşiminin de göz önünde bulundurulması diğer bir risk olarak karşımıza çıkmaktadır. Ön işlem uygulamalarının çoğu pilot/laboratuvar ölçeğinde incelenmiştir ve büyük ölçekli sistemler için denemeler sınırlı sayıdadır. Ön işlemlerde termal enerji ihtiyacı, uygulama sıcaklığı ve katı yükleme oranı faktörlerine bağlı olarak değişmektedir. Diğer bir risk, asma budama atıklarının toplanması, taşınması ve depolanması/saklama koşulları olarak görülmektedir.

Proje Ekibi

Adı -Soyadı	Projedeki Görevi	Okulu	Proje ile ilgili Tecrübesi
F. Ece TÜRKMEN	Takım Lideri Çalışmanın her aşamasında görev almıştır.	Buca İnci Özer Tırnaklı Fen Lisesi	6 aydır proje çalışması yapmaktadır.
A. Efe YAKUT	Takım Üyesi Çalışmanın her aşamasında görev almıştır.	Buca İnci Özer Tırnaklı Fen Lisesi	6 aydır proje çalışması yapmaktadır.
Ozan YÜKSEL	Takım Üyesi Çalışmanın her aşamasında görev almıştır.	Buca İnci Özer Tırnaklı Fen Lisesi	6 aydır proje çalışması yapmaktadır.

10. Kaynakça ve Rapor Düzeni

Akubude, V. O. (2021). Application of Hemicellulose in Biohydrogen Production. . *Sustainable Bioconversion of waste to Value Added Products*, Springer, , 315-327.

Amine, D. A. (2021). Characterization of cardinal vine shoot waste as new resource of lignocellulosic biomass and valorization into value-added chemical using Plackett–Burman and Box Behnken. *Biomass Conversion and Biorefinery*,, 1-14.

Avcioğlu, A. O. (2019). Assessment of the energy potential of agricultural biomass residues in Turkey. *Renewable Energy*, 138, 610-619.

Aydin, M., Karaca, A., Qureshy, A., & Dincer, I. (2021). A comparative review on clean hydrogen production from wastewaters. *J. Environ. Manage.*, 279.

Baruah, . N.. (2018). Recent Trends in the Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Value-Added Products. *Front. Energy Res.*, 6.

Bharathiraja, B. S. (2016). Biohydrogen and Biogas–An overview on feedstocks and enhancement process. . *Fuel*, 185, , 810-828.

Busic, A. K. (2018). Recent trends in biodiesel and biogas production. *Food Technol. Biotechnol.* 6 (2),,

Carmo, M. F. (2013). A Comprehensive Review on PEM Water Electrolysis. . *International Journal of Hydrogen Energy*, 38, 4901-4934.

Chen, H. L. (2017). A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals Fuel Process. . *Technol.*, 160 , pp. 196-206.

Cybulska, I. L. (2010). Hydrothermal pretreatment and enzymatic hydrolysis of prairie cord grass . *Energy Fuel* , 718-727.

Darwish, A. A.-D. (2020). Wind energy state of the art: present and future technology advancements. . *Renew. Energy Environ. Sustain.*, 5-7.

Ferdes, M. D. (2020). Microorganisms and enzymes used in the biological pretreatment of the substrate to enhance biogas production: A review. *Sustainability* , (12) 7205.

Gundupalli, M. P. (2022). Hydrothermal pretreatment optimization and deep eutectic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass: An integrated approach. . *Bioresource Technology Reports*, 100957.

- H. Hu, Y. F. (2008). Hydrogen production using single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells. *Water Res.*, 42 (15), 4172-4178.
- Hawkes, F. D. (2002). Sustainable Fermentative Hydrogen Production: Challenges For Process Optimization. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27,, 1339-1347.
- Hroncova, E. L. (2016). Combustion of Biomass Fuel and Residues: Emissions Production Perspective. Chapter 1.
- Kadier, A. M. (2016). Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 61, 501-525.
- Kumar, P. B. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production, . *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48, 3713-3729pp.
- Manish, S. &. (2008). Comparison of biohydrogen production processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(1), 279-286.
- Mishra, P. K. (2019). Outlook of fermentative hydrogen production techniques: An overview of dark, photo and integrated dark-photo fermentative approach to biomass. . *Energy Strategy Rev.* 27-37.
- Mishra, P. T. (2016). Enhanced hydrogen production from palm oil mill effluent using two stage sequential dark and photo fermentation. . *Int.J. Hydrogen Energy* 18431-18440.
- Murguzova, N. (2020). Miscanthus giganteus'tan Dark Fermentasyon ile Biyohidrojen Üretimi Üzerine Fizikokimyasal ve Enzimatik Ön İşlemlerin Etkisi. *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi.*
- Nowotny, J. &. (2011). Impact of hydrogen on the environment. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(20), 13218-13224.
- Nunes, L. J. (2021). Production of Biochar from Vine Pruning: Waste Recovery in the Wine Industry. . *Agriculture*, 11(6) , 489.
- Ogata, H. L. (2020). Hydrogenases structure and function. *Ref. Module Life Sci.*, 562-567.
- Raghulchandran, R. T. (2020). Pretreatment studies of biohydrogen production from agro-industrial waste.
- Saha, R. B. (2022). Enhanced production of biohydrogen from lignocellulosic feedstocks using microorganisms: A comprehensive review. *Energy Conversion and Management* 100153.
- Sign T., A., A., A., M., Srivastava, N., (2021). Integrated biyohydrogen production via lignocellulosic waste: Opportunity, challenges and future prospects. *Bioresource Technology*, 338.
- Sivagurunathan, P. K.-H. (2017). Fermentative hydrogen production using lignocellulose biomass: An overview of pre-treatment methods, inhibitor effects and detoxification experiences. . *Renew. Sust. Energ. Rev.* 77, 28-42.
- Sun, X. W. (2020). Biomass estimation and physicochemical characterization of winter vine prunings in the Chinese and global grape and wine industries. . *Waste Management*, 104, 119-129.
- Temudo, M. K. (2007). Influence of the pH on (open) Mixed Culture Fermentation of Glucose: A Chemostat Study. *Biotechnology and Bioengineering*, 98(1), 69-79.
- Tian H., Li J., Yan M., Tang Y.W., Wang C., & Wang X., (2019). Organic waste to biohydrogen: A critical review from technological development and environmental impact analysis perspective. *Applied Energy* .
- Vijin Prabhu, A. S. (2021). A study of enhancing the biogas production in anaerobic digestion. *Mater Today Proc*, 45, 7994-7999.
- Wang, Y., (2018). Fermentative hydrogen production using pretreated microalgal biomass as feedstock. *Microb cell fact.*, 17 (22).
- Wang, Y., (2019). Progress in microbiology for fermentative hydrogen production from organic wastes. . *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.*, 1-41.
- Wei, H. (2016). Utilization of food waste for fermentative hydrogen production.. *Phys. Sci. Rev.*, 1 (10).
- Xia, A. (2018). Hydrogen Production from Biological Sources. *Fuel Cells and Hydrogen Production*,,
- Yoro, K., & Daramola, M. (2020). CO2 emission sources, greenhouse gases, and the global warming effect. *Advances in carbon capture, Elsevier*, 3-28.

