



Enhancing biogas conversion efficiency of membrane-filtered sludge obtained from olive mill wastewater treatment

Hasan Ateş^{1*}, Fadime Taner²

¹Environmental Health and Environmental Risk Management Technician Program, Vocational School of Health Services, Artvin Çoruh University, 08010 Artvin, Türkiye

²Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Mersin University, 33342 Mersin, Türkiye

Highlights:

- HNO₃ pretreatment increased the biogas yield of olive mill wastewater membrane sludge
- Thermal pretreatments reduced biogas production by forming inhibitors
- HNO₃ pretreatment enhanced phenol removal efficiency

Keywords:

- Olive mill wastewater
- Membrane filtration
- Reverse osmosis
- Nanofiltration
- Anaerobic fermentation

Article Info:

Research Article

Received: 18.08.2025

Accepted: 12.12.2025

DOI:

10.17341/gazimmfd.1767926

Acknowledgement:

This study is derived from a master's thesis conducted at the Department of Environmental Engineering, Institute of Science, Mersin University, under the supervision of Prof. Dr. Fadime Taner. I would like to thank Prof. Dr. Fadime Taner for her contributions to the conduct of this study

Correspondence:

Author: Hasan Ateş
e-mail: h.ates@artvin.edu.tr
phone: +90 536 618 1119

Graphical/Tabular Abstract

Experiments using thermal, chemical (acidic and basic), and hybrid pretreatments aimed to increase biogas yield from membrane filter sludge generated during olive mill wastewater treatment. Acidic pretreatment involved thermal-acidic treatment with nitric acid (HNO₃) for 1 h, 2 h, and 3 h, producing K-HNO₃, K1-HNO₃, K2-HNO₃, and K3-HNO₃ samples, which showed significant biogas increases compared to untreated samples (Figure A-left). Conversely, samples subjected only to thermal pretreatment for 1 h, 2 h, and 3 h (K1, K2, K3) exhibited reduced biogas production versus the untreated K sample (Figure A-right).

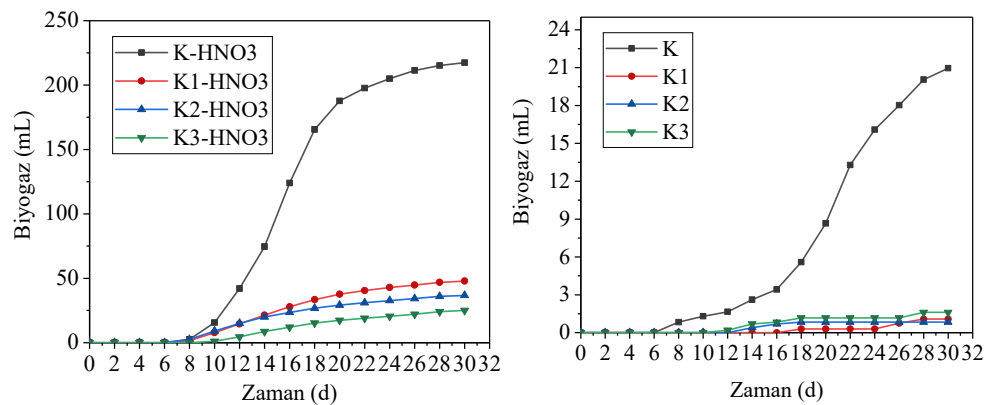


Figure A. Biogas production yields of samples K-HNO₃, K1-HNO₃, K2-HNO₃, K3-HNO₃ (left) and K, K1, K2, K3 (right)

Purpose:

To investigate the effects of thermal, acidic, basic, and hybrid thermochemical pretreatment methods on the anaerobic fermentation performance of membrane filter sludge obtained from olive mill wastewater treatment.

Theory and Methods:

Raw olive mill wastewater membrane filter sludge was obtained from a portable three-phase membrane filtration system. Pretreatments included H₃PO₄, HNO₃, NaOH, heating under a reflux condensat 100 °C for 1–3 h, and combinations thereof. Anaerobic batch fermentation was carried out at 35 °C for 30 d, and biogas and methane volumes were measured every 2 d. Phenol removal was also analyzed.

Results:

The highest biogas yield was achieved with 10% HNO₃ pretreatment of raw membrane filter sludge, producing 217.46 mL biogas and 173.85 mL methane, corresponding to 1.023 and 0.818 mL g⁻¹ TSS d⁻¹, respectively. Thermal and some hybrid pretreatments decreased yields due to inhibitory compounds, while HNO₃ also improved phenol removal efficiency.

Conclusion:

HNO₃ pretreatment effectively enhances the conversion of membrane filter sludge from olive mill wastewater into methane-rich biogas by accelerating hydrolysis, increasing substrate availability, and reducing inhibitors, providing a sustainable energy solution for high-organic waste.



Zeytin karasuyunun membran filtrasyon yöntemleriyle artırılması sürecinde oluşan filtre çamurunun biyogaza dönüşüm veriminin artırılması

Hasan Ateş^{1*}, Fadime Taner²

¹Artvin Çoruh Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Çevre Sağlığı ve Çevresel Risk Yönetimi Teknikerliği Programı, 08010 Artvin, Türkiye
²Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 33342 Mersin, Türkiye

ÖNEÇIKANLAR

- HNO₃ önışlemleri, zeytin karasuyu membran çamurunun biyogaz verimini artırdı
- Termal önışlemler, inhibitör oluşumu nedeniyle biyogaz üretimini azalttı
- HNO₃ önışlemleri, fenol giderim verimliliğini artırdı

Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi
Geliş: 18.08.2025
Kabul: 12.12.2025

DOI:

10.17341/gazimmfd.1767926

Anahtar Kelimeler:

Zeytin karasuyu,
membran filtrasyon,
ters ozmoz,
nanofiltrasyon,
anaerobik fermentasyon

ÖZ

Bu çalışmada, üç fazlı sistemle üretilen zeytin karasuyunun taşınabilir membran arıtma sisteminde artırılması sonucu oluşan karasu membran filtre çamuruna (KMFC) uygulanan asidik (H₃PO₄, HNO₃), bazik (NaOH), geri soğutucu altında termal ve hibrit termokimyasal önışlemlerin biyogaz üretim verimine etkisi araştırılmıştır. Termal önışlemler, 100 °C'de 1, 2 ve 3 saat süreyle gerçekleştirilirken; kimyasal önışlemler, KMFC'deki toplam katı madde kütlesinin %10'u oranında asidik ve bazik kimyasallar eklenerek uygulanmıştır. Önışlem uygulanan numunelere anaerobik fermentasyon yapılmış ve en yüksek hacimsel biyogaz ile metan üretim veriminin yalnızca HNO₃ ile uygulanan önışlemlerde elde edildiği belirlenmiştir. 30 günlük ölçümler sonucunda 217,46 mL biyogaz ve 173,85 mL metan üretilmiştir. Biyogaz ve metan üretim verimleri sırasıyla 1,023 mL g⁻¹ TKM⁻¹ gün⁻¹ ve 0,818 mL g⁻¹ TKM⁻¹ gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular, HNO₃ önışleminin KMFC'den biyogaz üretimini artırmada etkili bir yöntem olduğunu ve ileriki çalışmalara rehberlik edebileceğini göstermiştir.

Enhancing biogas conversion efficiency of membrane-filtered sludge obtained from olive mill wastewater treatment

HIGHLIGHTS

- HNO₃ pretreatment increased the biogas yield of olive mill wastewater membrane sludge
- Thermal pretreatments reduced biogas production by forming inhibitors
- HNO₃ pretreatment enhanced phenol removal efficiency

Article Info

Research Article
Received: 18.08.2025
Accepted: 12.12.2025

DOI:

10.17341/gazimmfd.1767926

Keywords:

Olive mill wastewater,
membran filtration,
reverse osmosis,
nanofiltration,
anaerobic fermentation

ABSTRACT

This study investigated the effects of acidic (H₃PO₄, HNO₃), alkaline (NaOH), thermal pretreatments under reflux condenser, and hybrid thermochemical pretreatments on the biogas production efficiency of olive mill wastewater membrane filter sludge (OMW-MFS) generated from a portable membrane treatment system operated in a three-phase process. Thermal pretreatments were applied at 100 °C for 1h, 2h, and 3 h, while chemical pretreatments involved the addition of acidic and alkaline reagents at 10% (w/w) of the total solids content in the sludge. Anaerobic fermentation was conducted on the pretreated samples, revealing that the highest volumetric biogas and methane yields were achieved exclusively with nitric acid (HNO₃) pretreatment. Over a 30-day period, biogas and methane production reached 217.46 mL and 173.85 mL, respectively. The biogas and methane production efficiencies were calculated as 1.023 mL g⁻¹ TS d⁻¹ and 0.818 mL g⁻¹ TS d⁻¹, respectively. These findings indicate that HNO₃ pretreatment is an effective strategy to enhance biogas production from OMW-MFS and may guide future research.

1. Giriş (Introduction)

Akdeniz iklimi özelliklerine sahip İspanya, İtalya, Yunanistan, Türkiye, Tunus, Portekiz, Fas ve Cezayir gibi ülkeler, dünyanın önde gelen zeytin ve zeytinyağı üreticilerindedir [1]. Zeytinyağı üretimi, geleneksel (kesikli/presleme) ve sürekli (iki/üç fazlı) sistemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Bu yöntemlerin tümünde, üretim sonucunda pirina ve zeytin karusuyu (OMW) gibi değerli yan ürünler ortaya çıkmaktadır [2]. Bu yan ürünlerin farklı sektörlerde değerlendirilmesi gerekliliği açıktır [3–5]. OMW, yüksek oranda suda çözülmüş organik madde, askıda katı madde, polifenoller, yağ asitleri, şekerler, organik asitler, azot ve fosfor bileşikleri ile çeşitli mineraller içeren kompleks bir yapıya sahiptir.

Avrupa Birliği (AB) kapsamında, iklim değişikliği, sürdürülebilirlik ve doğal kaynakların korunması öncelikli konular arasında yer almaktadır. AB politikaları, 2030 yılına kadar enerji talebinin en az %32'sinin yenilenebilir kaynaklardan karşılanmasını, sera gazı emisyonlarının %55 oranında azaltılmasını ve biyokütle enerjisinin en az %25'inin anaerobik birlikte sindirimden sağlanmasını öngörmekte olup, bu kapsamda zeytinyağı endüstrisi atıklarının (katı ve sıvı) anaerobik sindirimi ile biyogaz üretiminin doğal gaz ithalat maliyetlerinin düşürülmesine katkı sağlayacağı değerlendirilmektedir [6]. Ancak, zeytinyağı fabrikalarının mevsimsel ve yüksek konsantrasyona sahip kirletici yükü, bu atıkların artımını zorlaştırmaktadır [7]. Bu tesislerden yüksek derişimlerde (0,5–1,5 m³/ton zeytin) çıkan atıksuların doğrudan toprağa veya yeraltı suyuna verilmesi, OMW'nin çevresel etkilerini artırmaktadır [8]. Özellikle sulama amacıyla toprağa boşaltılması, toprak pH'sini, iletkenliğini, besin elementi derişimini ve porozite gibi fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkileyerek çevresel problemlere yol açabilmektedir [9,10]. Ayrıca, OMW yüksek kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ) ve fenolik bileşikler içermesi nedeniyle, atıkların alıcı ortamlara deşarj standartlarına uygun hale getirilebilmesi için fiziksel, kimyasal, biyolojik veya bunların kombinasyonlarından oluşan arıtma yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır [11–13].

Karasu, yüksek iletkenlik değerine sahip bir atıksu olup bu özellik anaerobik süreçlerin performansını etkileyebilmektedir. Tuzluluğun anaerobik sindirim üzerindeki etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Özellikle, birçok endüstriden yüksek hacimlerde çıkan iletkenliği yüksek atıksulara, anaerobik çürütmenin (AD) yaygın olarak uygulandığını ve umut verici olduğunu belirtmektedir [14]. Buna karşın metan üretim aşaması tuzluluğa karşı oldukça hassastır ve yüksek tuzluluk, metanojenik bakterilerde hücresel stres oluşturarak sürecin verimini düşürebilmektedir [15,16]. İletkenliği yüksek atıksularda bu stresi düşürmek için bir takım önlemler yapılması gerekebilmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde, karasuyun herhangi bir önlemler uygulanmadan doğrudan alıcı ortamlara deşarj edilmesinin flora, fauna ve toprak yapısı üzerinde ciddi çevresel sorunlara yol açabileceği açıktır.

OMW'nin herhangi bir önlemler uygulanmaksızın alıcı ortamlara verilmesinin yol açtığı çevresel ve sağlık risklerini azaltmak amacıyla, bu atığın uygun ve sürdürülebilir arıtma yöntemleriyle yönetilmesi gerekmektedir. Karasuyun organik kirliliğinin giderilmesi ve değerlendirilmesi amacıyla mikrofiltrasyon, nanofiltrasyon gibi membrane filtrasyon sistemleride kullanılmaktadır [17]. Yapılan bir araştırma, asit önlemler incelenen tüm süreçlerde etkili olduğunu ve yalnızca AD'nin önlemler aşamasında uygulanmasına rağmen biyogaz üretimini %28 artırdığını, ayrıca AD sonrası piroliz uygulamasının sindirim artımını önemli ölçüde azalttığını göstermektedir [18]. Bu kapsamda, organik madde içeriği yüksek olan OMW'nin anaerobik arıtımı, çevresel zararları azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda

yenilenebilir enerji kaynağı olan biyogaz üretimi yoluyla sürdürülebilir bir çözüm sunmaktadır. Anaerobik fermantasyon sürecinde, hız sınırlayıcı aşama olan hidroliz özellikle dirençli organik maddeler için yetersiz kalabilmektedir ve bu nedenle biyogaz veriminin artırılması amacıyla önlemler uygulamalarına ihtiyaç duyulmaktadır [19]. Zeytin fabrikası atıkları ile yapılan bir araştırmada, belirli sürelerde uygulanan ultrasonik önlemler, mezofilik anaerobik sindirimde hidroliz aşamasını artırarak metan üretimini 42'den 88,49 mL/g toplam uçucu katı maddeye ve çözünür KOİ oranını %73'ten %78'e yükseltmiştir [20]. Metanojenik aşama için yapılan bir çalışmada ise, OMW'ye 0–45 g L⁻¹ aralığında biyokömür ilavesinin anaerobik prosesin kararlılığını ve biyogaz üretimini artırarak metanojen fazdaki gecikmeyi azalttığını, maksimum üretim hızını yükselttiğini ve nihai verimleri etkilemeden çözünebilir KOİ giderimini %66'dan %84'e, fenolik bileşik giderimini ise %50'den %95'e yükselttiğini ortaya koymuştur [21]. Bazı araştırmalarda ise anaerobik parçalanmada farklı atıkların kombinasyonları denenerek metan üretim veriminin artırılması amaçlanabilmektedir [22]. Asidik veya alkali hidroliz gibi çeşitli önlemler, anaerobik bozunabilirliği artırmak için de kullanılabilir [23]. Yapılan çalışmalarda, OMW'nin diğer organik atıklarla birlikte anaerobik çürütülmesinde karbon azot oranının önemli olduğuda görülmektedir [24]. Bu çalışmanın farkı ise, üç fazlı sistemlerde üretilen OMW'nin taşınabilir membran arıtma tesisinde arıtılması sonucu elde edilen karasu membran filtre çamurunun (KMFÇ) anaerobik fermantasyon performansını üzerinde termal, asidik, bazik ve hibrit önlemler yöntemlerinin etkisinin incelenmiş olmasıdır. Böylece, OMW'nin biyogaz üretiminde daha etkin kullanımı için önlemler yöntemlerinin karşılaştırılmasına olanak sağlanmış ve bu alandaki ileri çalışmalara ışık tutacak nitelikte bilgiler sunulmuştur.

2. Deneysel Metot (Experimental Method)

2.1. Ham karasu membran filtre çamuru (Raw olive mill wastewater membrane filter sludge)

Balıkesir ili Ayvalık ilçesinde, üç fazlı sistemle üretim yapan bir zeytinyağı fabrikasında oluşan zeytin karusuyu, beton havuzlarda depolanmakta ve yıl boyunca bu havuzlarda, güneş ışığı altında doğal koşullarda kurutulmaktadır. Havuzlarda biriken karasular, dalgıç pompalarla çekilerek fabrikada kurulu taşınabilir membran arıtma tesisine (TMAT) yönlendirilmeden önce, yaklaşık 80 m³ hacmindeki bir tankta, pH değeri yaklaşık 11 olacak şekilde söndürülmüş kireç [Ca(OH)₂] ile kimyasal çöktürme işlemine tabi tutulmuş ve ardından bir gün süreyle çökeltmeye bırakılmıştır. Önceki çalışmamızda, çöktürme işlemi uygulanmaksızın ham zeytin karusuyuna doğrudan asidik, bazik, termal ve hibrit gibi çeşitli önlemler yöntemleri uygulanmış ve bu işlemlerin biyogaz verimindeki artışa etkileri değerlendirilmiştir [25]. Bu çöktürme işlemi sonucunda tankın dibinde biriken ilk faz, yani karasu çamuru, bu çalışmanın kapsamı dışında tutulmuştur. Bu karasu çamuru da, yüksek organik madde, polifenol ve mineral içeriği nedeniyle çevresel açıdan problemli olmakla birlikte, çeşitli fiziksel, kimyasal, biyolojik ve termal işlemlerle değerlendirilebilecek potansiyele sahip olabilmektedir. Tankın üst kısmında oluşan ve çalışma kapsamında kullanılan ikinci faz, dalgıç pompa yardımıyla çekilerek nötralizasyon tankına aktarılmıştır. Burada, karasuyun pH değeri derişik hidroklorik asit (HCl) çözeltisi kullanılarak yaklaşık 7'ye düşürülmüştür. Nötralize edilen karasu, fabrika yakınında kurulu TMAT'ye (Şekil 1) pompa yardımıyla iletilmiştir. Tesis içerisinde, karasu sırasıyla kum filtresi, torba filtresi, nanofiltrasyon ve ters ozmoz membran filtrelerinden geçirilmiştir. Bu işlemler sonucunda, membran filtrelerden geçemeyen ve retentat olarak adlandırılan kısım, bu çalışmada "Ham Karasu Membran Filtre Çamuru (HKMFÇ)" olarak tanımlanmıştır. HKMFÇ numunesi alındığı sırada sıvı formda, siyah renkte ve

karakteristik kötü bir kokuya sahipti. Numunenin özelliklerinin belirlenmesine yönelik analizler, Standard Metotlar'a [26] uygun şekilde anında gerçekleştirilmiştir (Tablo 1). Ardından, yaklaşık 20 L kapasiteli plastik bir kaba aktarılmış ve sonraki deneysel çalışmalar için +4 °C'de, karanlık ve soğuk koşullarda muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Taşınabilir membran arıtma tesisi (Portable membrane treatment plant)

2.2. Fizikokimyasal analizler (Physicochemical analyses)

HKMFC numunesine ait nem içeriği, toplam katı madde (TKM), askıda katı madde (AKM), sabit katı madde (SKM) ve uçucu katı madde (UKM) analizleri, standart yöntemlere [26] göre üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ise Kapalı Reflü–Renkli Metot (5220 D) kullanılarak, yine üç paralelde ve standart yöntemlere [26] uygun olarak belirlenmiştir. Toplam fenol içeriği, Folin–Ciocalteu yöntemi kullanılarak 685 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak analiz edilmiş ve sonuçlar gallik asit derişimi cinsinden ifade edilmiştir [27]. Çözünmüş oksijen (ÇO) konsantrasyonu, pH, iletkenlik ve sıcaklık ölçümleri HQ40D model dijital multimetre (Hach Lange) ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan NaOH, HNO₃ ve H₃PO₄ kimyasalları Merck marka olup, analitik saflıktadır.

2.3. Aşılama çözeltisi (Vaccination solution)

Anaerobik süreçler için gerekli aşılama çözeltisi, Mersin ili kırsalında bulunan bir ahırdan temin edilen taze büyükbaş hayvan gübresi

kullanılarak hazırlanmıştır. Aşı çözeltisi analiz edilmiş ve analiz sonucunda, %95,14 nem, %1,67 kül ve %4,86 toplam katı madde içeriği saptanmıştır. İlk olarak, 2 L'lik bir beher içerisine 1 L saf su eklenmiş ve anaerobik mikroorganizmalar için uygun bir ortam sağlamak amacıyla Merck marka "Ringer Tableti" ilave edilmiştir. Ringer tablet içeren çözeltideki Na⁺, K⁺, Ca²⁺ ve HCO₃⁻ iyonları, mikroorganizmaların fizyolojik ortamını sağlayarak metabolik ve enzimatik fonksiyonların korunmasına olanak tanır [28]. Tablet tamamen çözüldükten sonra, çözeltinin sıcaklığı yaklaşık 35 °C'ye ayarlanmış ve 20 dakika süreyle (Nuve EN400, 120 L) inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyon sonrasında, 100 g taze gübre tülbent içerisine konularak ip ile sıkıca bağlanmış ve yaklaşık yarısı çözeltinin içine daldırılmıştır.

Gübreden mikroorganizmaların çözeltinin içine geçişini hızlandırmak amacıyla, manyetik karıştırıcı (Thermomac TM12) ile yaklaşık 10 dakika karıştırma işlemi uygulanmıştır. Hazırlanan aşılama çözeltisi, 1 L'lik cam serum şişesine aktarılmış, hava geçirmeyecek şekilde parafilm ile kapatılmış ve plastik bant ile sabitlenmiştir. Şişe, 35 °C sıcaklıktaki inkübatöre yerleştirilmiş ve aynı gün gerçekleştirilen biyogaz deneylerinde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

2.4. Karasu membrane filtre çamuru (Olive mill wastewater membrane filter sludge)

HKMFC numunesinden büret ile 80 mL alınarak erlenmayer şişesine aktarılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika boyunca cam baget ile karıştırılmıştır. Daha sonra, numunenin pH değeri %85'lik H₃PO₃ (g/g) ve %50'lik NaOH (g/g) çözeltileri kullanılarak yaklaşık 7'ye ayarlanmıştır. Elde edilen karışım, kesikli biyogaz üretim aşaması için 125 mL kapasiteli, plastik kapaklı serum şişelerine aktarılmıştır. Bu işlem, üçlü paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde HKMFC numunesinden anaerobik fermentasyon için hazırlanmış olan örnekler "K" olarak kısaltılmıştır.

2.5. Termal önışlem (Thermal pretreatment)

HKMFC numunesinden büret ile 80 mL alınarak erlenmayer şişesine aktarılmış, oda sıcaklığında 10 dakika süreyle cam baget ile karıştırılmış ve ardından numuneye geri soğutucu altında 100 °C'de sırasıyla 1 saat, 2 saat ve 3 saat süreyle termal önışlem uygulanmıştır. Daha sonra numunenin pH değeri, %85'lik H₃PO₄ (g/g) ve %50'lik NaOH (g/g) çözeltileri kullanılarak yaklaşık 7'ye ayarlanmıştır. Elde edilen karışım, kesikli biyogaz üretim aşaması için 125 mL kapasiteli plastik kapaklı serum şişelerine aktarılmıştır. Bu işlem üçlü paralel olarak gerçekleştirilmiş ve geri soğutucu altında 100 °C'de sırasıyla 1 saat, 2 saat ve 3 saat süreyle termal önışlem uygulanarak anaerobik fermentasyon aşaması için hazırlanan numuneler "K1", "K2" ve "K3" olarak adlandırılmıştır.

Tablo 1. HKMFC numunesinin özellikleri (Characteristics of the HKMFC sample)

Parametreler	Birim	KMFC	Standart Sapma
Toplam KOİ	g/L	45,20	±0,500
Toplam Fenol	mg Gallik Asit/L	60,24	±0,550
ÇO	mg/L	0,18	±0,010
pH	-	6,76	±0,002
Sıcaklık	°C	20,50	±0,300
İletkenlik	mS/cm	30,90	±0,005
AKM	g/L	5,68	±0,004
Nem	%	91,14	±0,010
TKM	%	8,86	±0,010
SKM*	%	46,25	±1,180
UKM*	%	53,75	±1,180

*TKM üzerinden kütlece yüzdeleri verilmiştir.

2.6. Bazik önışlem (Basic pretreatment)

HKMFC numunesinden büret ile 80 mL alınarak erlenmeyer şişesine aktarılmış, oda sıcaklığında 10 dakika boyunca cam baget ile karıştırılmış ve numunedeki TKM miktarının kütlece %10'u oranında NaOH eklenerek bazik önışlem uygulanmıştır. Ardından, numunenin pH değeri %85'lik H_3PO_4 (g/g) ve %50'lik NaOH (g/g) çözeltileri kullanılarak yaklaşık 7'ye ayarlanmıştır. Elde edilen karışım, kesikli biyogaz üretim aşaması için 125 mL kapasiteli plastik kapaklı serum şişelerine aktarılmıştır. Bu işlem üçlü paralel olarak gerçekleştirilmiş ve bu yöntemle anaerobik fermentasyon aşaması için hazırlanan numuneler "K-NaOH" olarak kısaltılmıştır.

2.7. Bazik-termal önışlem (Basic-thermal pretreatment)

HKMFC numunesinden büret ile 80 mL alınarak erlenmeyer şişesine aktarılmış, oda sıcaklığında 10 dakika süreyle cam baget ile karıştırılmış ve numunedeki TKM miktarının kütlece %10'u oranında NaOH ilave edilmiştir. Ardından, numuneye geri soğutucu altında 100 °C'de sırasıyla 1 saat, 2 saat ve 3 saat süreyle termal önışlem uygulanmıştır. Daha sonra numunenin pH değeri, %85'lik H_3PO_4 (g/g) ve %50'lik NaOH (g/g) çözeltileri kullanılarak yaklaşık 7'ye ayarlanmıştır. Elde edilen karışım, kesikli biyogaz üretim aşaması için 125 mL kapasiteli plastik kapaklı serum şişelerine aktarılmıştır. Bu işlem üçlü paralel olarak gerçekleştirilmiş ve NaOH ile bazik-termal önışlem uygulanarak anaerobik fermentasyon aşaması için hazırlanan numuneler sırasıyla "K1-NaOH", "K2-NaOH" ve "K3-NaOH" olarak kısaltılmıştır.

2.8. Asidik önışlem (Acidic pretreatment)

HKMFC numunesinden büret ile iki adet olmak üzere 80 mL alınarak erlenmeyer şişelerine ayrı ayrı aktarılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika süreyle cam baget ile karıştırılmışlardır. Birinci erlenmeyer şişesine, numunedeki TKM miktarının kütlece %10'u kadar %85'lik H_3PO_4 ; ikinci erlenmeyer şişesine ise TKM'nin kütlece %10'u oranında %65'lik HNO_3 çözeltilisi ilave edilmiştir. Daha sonra numunelerin pH değeri, %85'lik H_3PO_4 (g/g) ve %50'lik NaOH (g/g) çözeltileri kullanılarak yaklaşık 7'ye ayarlanmıştır. Elde edilen karışımlar, kesikli biyogaz üretim aşaması için 125 mL kapasiteli plastik kapaklı serum şişelerine aktarılmıştır. Bu işlemler üçlü paralel olarak gerçekleştirilmiş ve asidik kimyasal önışlem uygulanarak anaerobik fermentasyon aşaması için hazırlanan numuneler sırasıyla "K- H_3PO_4 " ve "K- HNO_3 " olarak kısaltılmıştır.

2.9. Asidik-termal önışlem (Acid-thermal pretreatment)

HKMFC numunesinden büret ile iki adet olmak üzere 80 mL alınarak erlenmeyer şişelerine aktarılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika süreyle cam baget ile karıştırılmıştır. Birinci erlenmeyer şişesine, TKM miktarının kütlece %10'u kadar %85'lik H_3PO_4 , ikinci erlenmeyer şişesine ise TKM'nin kütlece %10'u oranında %65'lik HNO_3 çözeltilisi ilave edilmiştir. Ardından, her iki numuneye ayrı ayrı geri soğutucu altında 100 °C'de sırasıyla 1 saat, 2 saat ve 3 saat süreyle termal önışlem uygulanmıştır. Daha sonra numunelerin pH değeri, %85'lik H_3PO_4 (g/g) ve %50'lik NaOH (g/g) çözeltileri kullanılarak yaklaşık 7'ye ayarlanmıştır. Elde edilen karışımlar, kesikli biyogaz üretim aşaması için 125 mL kapasiteli plastik kapaklı serum şişelerine aktarılmıştır. Bu işlemler üçlü paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Böylece, asidik-termal önışlem uygulanarak anaerobik fermentasyon aşaması için hazırlanan numuneler sırasıyla "K1- H_3PO_4 ", "K2- H_3PO_4 ", "K3- H_3PO_4 ", "K1- HNO_3 ", "K2- HNO_3 " ve "K3- HNO_3 " olarak kısaltılmıştır.

2.10. Anaerobik yöntem ve deney düzeni

(Anaerobic method and experimental setup)

Anaerobik fermentasyon deneyleri, biyogaz üretim potansiyelini değerlendirmek amacıyla kontrollü laboratuvar koşullarında

yürütülmüştür. Deneylerde kullanılan her numune, oksijensiz ortam sağlamak için özel olarak hazırlanmış serum şişelerinde üçlü paralel olarak yerleştirilmiştir. Bu yaklaşım, denemelerin tekrarlanabilirliğini artırmış ve elde edilen sonuçların güvenilirliğini sağlamıştır.

Deney düzeni, numunelerin aynı çevresel koşullar altında ve homojen bir şekilde fermantasyona tabi tutulmasını mümkün kılacak şekilde tasarlanmıştır. Serum şişeleri uygun sıcaklıkta inkübatöre yerleştirilmiş ve deney süresince mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini sürdürebilecekleri stabil bir ortam sağlanmıştır. Bu düzenleme, farklı numunelerin karşılaştırılabilir sonuçlar vermesini ve deneylerin kontrollü bir biçimde yürütülmesini garanti etmiştir.

Hazırlık ve düzenleme aşamaları, kesikli biyogaz üretim aşamasına geçişte numunelerin uygun koşullarda işleme alınmasını kolaylaştırmış ve deneysel sürecin bütünlüğünü korumuştur. Böylece, anaerobik fermentasyon sırasında ortaya çıkan biyogaz ve metan üretim potansiyeli güvenilir şekilde ölçülebilmştir.

2.11. Kesikli biyogaz üretim aşaması (Batch biogas production stage)

Yukarıda belirtilen deneysel yöntemlere göre, her biri 80 mL çalışma hacmine sahip 125 mL kapasiteli serum şişelerinde üçlü paralel olarak hazırlanan tüm önışlemlili numuneler, anaerobik fermentasyonun kesikli biyogaz üretim aşamasına aktarılmıştır. Bu aşamada, serum şişelerinin plastik kapakları kapatılmış ve hava girişini engellemek amacıyla önce parafilm ile, ardından plastik bant ile sıkıca sarılmıştır. Anaerobik ortam oluşturmak için, plastik kapaklara giriş ve çıkış noktalarına olmak üzere iki adet enjektör iğnesi takılmış ve şişelerin içine yaklaşık 30 saniye süreyle azot gazı (N_2) verilmiştir. Ardından, serum şişelerindeki tüm numunelere, numunelerin çalışma hacminin %5'i oranında hazırlanan aşılama çözeltilisi eklenmiş ve bu şekilde tüm numune şişeleri tek tek aşılammıştır. Tüm numune şişeler daha sonra 35 °C'ye ayarlanmış inkübatöre yerleştirilmiştir. Serum şişelerinde üretilen biyogazdaki metan hacmi, toplam 30 gün boyunca, ikişer günlük aralıklarla su yer değiştirme yöntemi ile ölçülmüştür. Bu yöntemde, biyogazın sıvı içinde çözünmesini önlemek amacıyla pH<3 olacak şekilde asitlendirilmiş ve %25 NaCl (sodyum klorür) içeren tuzlu su çözeltilisi kullanılmıştır [29]. Ayrıca, üretilen biyogaz %33 KOH (potasyum hidroksit) çözeltilisinden geçirilerek metan hacmi belirlenmiştir [30]. Ölçülen biyogaz ve metan hacimleri, standart sıcaklık ve basınç koşullarına (STP, 0 °C ve 1 atm) göre düzeltilmiştir. Her ölçüm sonrasında serum şişeleri tekrar plastik bant ile sıkıca kapatılarak inkübatöre yerleştirilmiştir. Tüm işlemler üçlü paralel olarak tekrarlanmıştır.

3. Sonuçlar ve Tartışmalar (Results and Discussion)

3.1. Önışlem uygulanan numunelerin biyogaz verimleri (Biogas yields of pretreated samples)

İnkübatörde gerçekleştirilen 30 günlük anaerobik inkübasyon süresince üretilen biyogaz hacimleri, termal, asidik, asidik-kimyasal, bazik ve bazik-kimyasal önışlem uygulanan numuneler için ikişer günlük aralıklarla belirlenmiştir (Tablo 2). Tüm numunelerin hacimsel biyogaz üretim miktarları incelendiğinde, geri soğutucu altında uygulanan termal önışlemlerin anaerobik bakterileri inhibe ederek biyogaz üretim verimini olumsuz etkilediği görülmüştür. Geri soğutucu altında belirli sürelerde H_3PO_4 önışlemi uygulanan K1- H_3PO_4 , K2- H_3PO_4 ve K3- H_3PO_4 numunelerinde biyogaz oluşumu gözlenmemiştir. Bu durum, ısının etkisiyle dirençli karmaşık bileşiklerin ve serbest radikallerin oluşmasıyla biyogaz üretiminin gerçekleşmemesine yol açmış olabilir [31]. Düşük molekül ağırlıklı (LMW) melanoidinler, şeker veya karbonhidrat bozunma ürünlerinin amino asitlerle düşük sıcaklık ve uzun süreli reaksiyonları sonucunda oluşarak geniş çaplı polimerizasyona uğrar ve yüksek molekül ağırlıklı (HMW) melanoidinlerin oluşumuna katkıda bulunur [32].

Ayrıca, önışlem sırasında parçalanma sonucu uçucu yağ asitlerinin birikmesi metanojen aşamasını engellemiş ya da indirgen şekerler ve amino asitlerin reaksiyonu sonucu melanoidin oluşumu biyogaz üretiminin düşmesine neden olmuş olabilir [33,34]. Termal önışlemin uygulanmadığı, ancak asidik-kimyasal ve bazik-kimyasal önışlemlerin uygulandığı K-H₃PO₄, K-HNO₃ ve K-NaOH numunelerine bakıldığında, K-H₃PO₄ ve K-NaOH ile uygulanan önışlemlerde biyogaz üretiminin önışlemsiz K numunesine göre daha düşük hacimlerde kaldığı görülmüştür. Buna karşılık, K-HNO₃, K1-HNO₃, K2-HNO₃ ve K3-HNO₃ önışlemi uygulanan numunelerde, K numunesine kıyasla biyogaz üretiminde sırasıyla yaklaşık 10, 2, 2 ve 1 katlık anlamlı artışlar gözlenmiştir. Bu durum, KMFC içeriğinde bulunan düşük azot derişiminin HNO₃ ile gerçekleştirilen parçalamaya önışlemi sayesinde artırılması ve dolayısıyla biyogaz üretim veriminin önemli ölçüde iyileşmiş olabileceği şeklinde açıklanabilir. Yapılan bir çalışmada düşük azot içeriğini dengelemek amacıyla, zeytin karasuyuna azotlu bileşiklerin eklenmesi veya azot açısından zengin diğer organik atıklarla birlikte sindirim yöntemlerinin uygulanması önerilmektedir [35,36]. Başka bir çalışmada ise asidik önışlemin lignoselülozik yapıları parçalayarak karmaşık organik bileşikleri daha basit formlara dönüştürdüğü, böylece hidroliz aşamasını iyileştirerek substrat kullanılabilirliğini artırdığı ve metan üretimini teşvik ettiği çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir [37,38]. Bunların aksine, asidik ve bazik olarak uygulanan önışlemler, zaten yüksek iletkenlik değerine sahip karasuyun iletkenliğini bir miktar daha artırarak biyogaz üretiminde bir miktar düşüşe de neden olmuş olabilir [39]. Bu açıdan bakıldığında iletkenlik parametresinin ham karasuya uygulanan önışlemlerden sonrada ölçülerek biyogaz üretimine etkisi incelenebilir. Bazik ve asidik önışlemlerde ise TKM miktarının kütlece %10'u oranında kimyasal kullanımı, yapılan literatür incelemeleri doğrultusunda belirlenmiştir. Mesela, şeker kamışı bagasının %5–10'luk H₂SO₄ ve NaOH ile termal önışleminde özellikle %10 NaOH'ın en yüksek sakkarifikasyonu sağladığı ve enzimatik hidrolizin 55 °C, pH 5.0 ve 3:1 enzim oranında en verimli gerçekleştiği rapor edilmiştir [40]. Yapılan bu önışlemler anerobik fermentasyonda hidroliz aşamasının verimini ve tarımsal atıklarda da şeker içeriğini artırması beklenmektedir [41].

Şekil 2'de verilen K numunesinin 30 günlük anaerobik inkübasyon süresi boyunca toplam 20,95 mL hacimsel biyogaz ürettiği

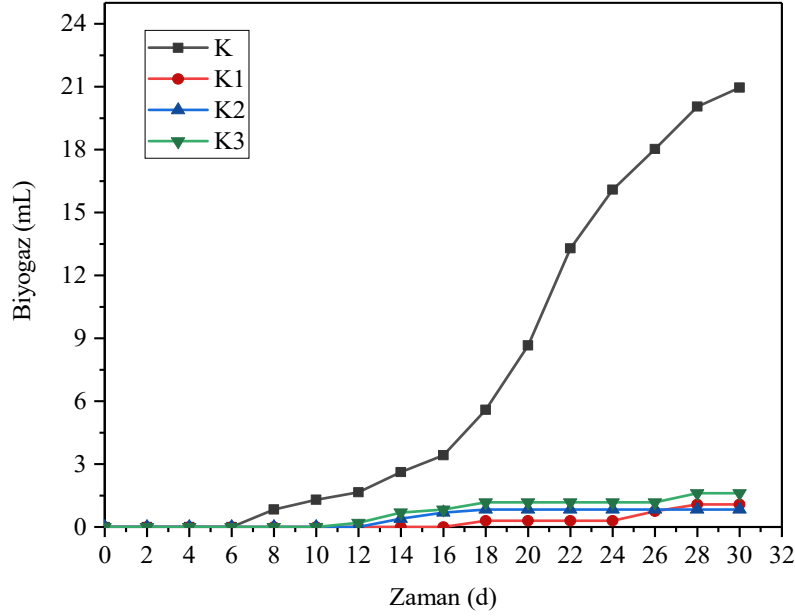
belirlenmiştir. Buna karşılık, K1, K2 ve K3 numunelerine uygulanan termal önışlemin biyogaz üretimini olumsuz etkilediği ve üretimin düştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca, K numunesinde 18. günden itibaren biyogaz hacminde belirgin bir artış meydana gelmiş ve 22. günde en yüksek biyogaz çıkışı kaydedilmiştir (Tablo 2). Termal önışlem uygulanmış K1, K2 ve K3 numunelerinde metan üretimi oldukça sınırlı kalmasına rağmen, termal önışlem uygulanmamış K numunesinde 30. gün sonunda toplam 17,50 mL CH₄ oluştuğu tespit edilmiştir (Şekil 3). KMFC'ye uygulanan termal önışlemin negatif etkisi hem bu çalışmada hem de literatürde açıkça görülmektedir. Örneğin, mutfak atıkları üzerinde yapılan anaerobik bir çalışmada, termal önışlemin (50–70 °C ve 140–160 °C) biyogaz üretimi ve organik madde giderim oranlarında azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir [42]. Karasu üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise bulgular termal işlem sonrası oluşan fenolik ve furan bileşiklerinin anaerobik çürütmeyi önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir [43].

HKMFC içerisindeki toplam katı madde (TKM) miktarının %10'una karşılık gelecek şekilde HNO₃ kullanılarak gerçekleştirilen asidik-kimyasal önışleme tabi tutulmuş K-HNO₃ numunesinde, hacimsel biyogaz üretim miktarının önışlemsiz numunelere kıyasla önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4). Kimyasal önışlemlerin enzimatik reaksiyonları kolaylaştırarak biyoyakıt üretimini artırabildiği bilinmektedir [44]. Kümülatif değerlendirildiğinde, asidik-kimyasal önışlem uygulanan bu numunelerde toplam 217,46 mL biyogaz oluşmuştur. OMW'ye sülfürik asit ile önışlem uygulanarak gerçekleştirilen biyokimyasal metan potansiyeline yönelik bir çalışmada, bu işlemin %80'in üzerinde artış sağladığı bildirilmiştir [45].

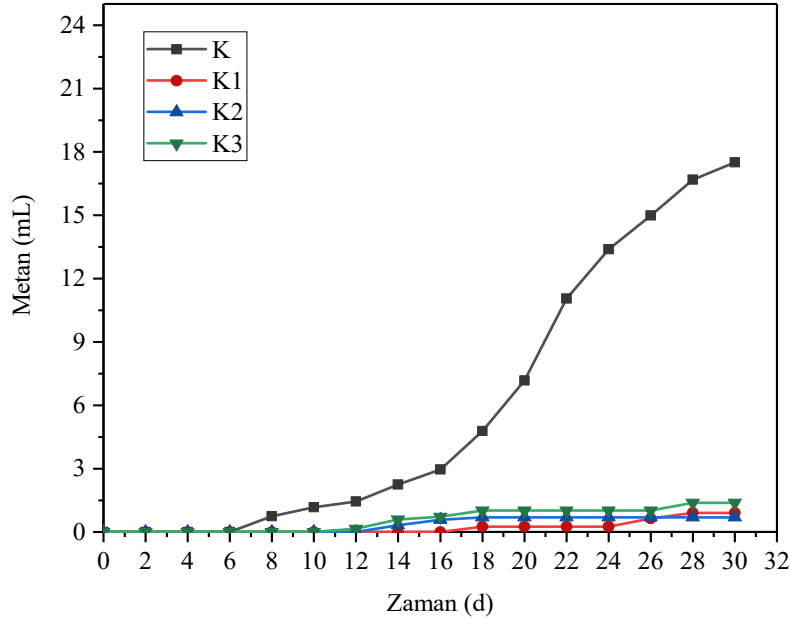
Buna karşılık, geri soğutucu altında 1, 2 ve 3 saat süreyle HNO₃ ile uygulanan asidik-termal önışleme tutulmuş K1-HNO₃, K2-HNO₃ ve K3-HNO₃ numunelerinin sonucunda biyogaz üretiminin dikkate değer hacimde azaldığı belirlenmiştir. Bu durum, geri soğutucu altında gerçekleştirilen önışlemlerin bakteriyel aktiviteyi inhibe ettiğini tekrar göstermektedir. Öte yandan, yalnızca asidik-kimyasal önışleme tabi K-HNO₃ numunesinde 30 gün boyunca ikişer gün aralıklarla yapılan ölçüm sonuçlarına bakıldığında biyogaz üretiminin 8. günde başladığı ve 16. günde 49,50 mL ile maksimum seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Kümülatif hacimsel metan üretim miktarlarına

Tablo 2. Önışlemlili ve önışlemsiz KMFC numunelerinin ikişer günlük aralıklarla ölçülen hacimsel biyogaz üretim miktarları (Volumetric biogas production of pretreated and untreated KMFC samples measured at two-day intervals)

d	K	K1	K2	K3	K-	K1-	K2-	K3-	K-	K1-	K2-	K3-	K-	K1-	K2-	K3-	
(gün)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	NaOH	NaOH	NaOH	NaOH	H ₃ PO ₄	H ₃ PO ₄	H ₃ PO ₄	H ₃ PO ₄	HNO ₃	HNO ₃	HNO ₃	HNO ₃	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	0,83	0,00	0,00	0,00	0,37	0,37	0,80	0,47	0,53	0,00	0,00	0,00	2,60	1,55	2,60	0,00	0,00
10	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	12,90	6,30	6,40	1,20	0,00
12	0,35	0,00	0,00	0,20	0,30	0,30	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	26,50	6,70	5,97	3,30	0,00
14	0,97	0,00	0,40	0,50	0,90	0,23	0,00	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00	32,50	6,80	4,97	4,10	0,00
16	0,80	0,00	0,30	0,13	1,53	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	49,50	6,50	3,53	3,40	0,00
18	2,17	0,30	0,13	0,35	1,80	0,40	0,25	0,40	0,27	0,00	0,00	0,00	41,50	5,60	3,30	3,35	0,00
20	3,07	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	22,20	4,17	2,37	2,00	0,00
22	4,63	0,00	0,00	0,00	4,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	9,90	2,90	1,83	1,65	0,00
24	2,80	0,00	0,00	0,00	5,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,36	2,30	1,73	1,50	0,00
26	1,93	0,45	0,00	0,00	2,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,45	1,90	1,53	1,60	0,00
28	2,03	0,33	0,00	0,43	0,50	0,37	0,40	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	3,75	2,10	1,67	2,00	0,00
30	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	0,97	0,77	1,00	0,00



Şekil 2. K, K1, K2 ve K3 numunelerinin biyogaz üretim miktarları (Biogas production of K, K1, K2, and K3 samples)



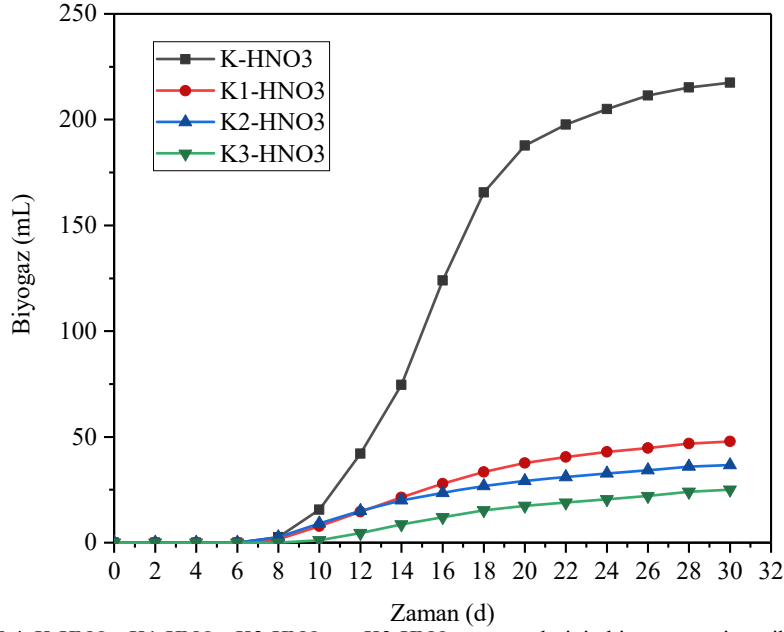
Şekil 3. K, K1, K2 ve K3 numunelerinin metan üretim miktarı (Methane production of K, K1, K2, and K3 samples)

bakıldığında ise, 30. günün sonunda toplam biyogazın 173,85 mL'sinin CH_4 olduğunu saptanmıştır (Şekil 5). Pirinç samanından etanol üretim verimini artırmak amacıyla nötralizasyon işleminden sonra uygulanan nitrik asit önışlemine ilişkin bir çalışmada, nitrik asidin tek başına bir azot kaynağı olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir [46]. Mısır sapı ile gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, mısır sapına uygulanan HNO_3 önışlemi sonrasında nötralizasyonla oluşan nitrat tuzlarının anaerobik fermentasyonu inhibe etmediği ve hatta HNO_3 'ün H_2SO_4 ve HCl gibi diğer mineral asitlere kıyasla belirli avantajlar sağlayabildiği literatürde bildirilmiştir [47].

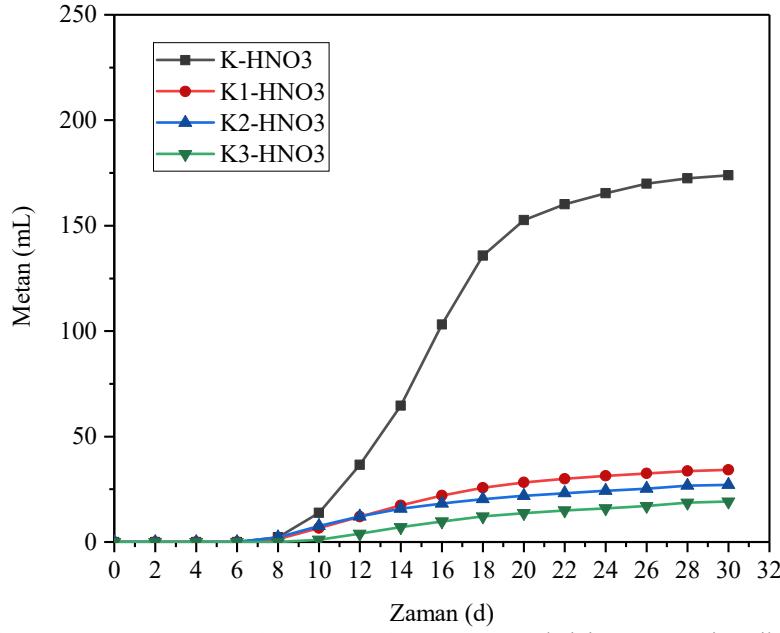
Farklı bir çalışmada ise, pirinç kabuğuna uygulanan %3 ve %5 asetik asit ile yapılan ön işlemlerin sırasıyla 43,28 ve 45,86 mL/g TS, %3 ve %5 nitrik asit ile yapılan ön işlemlerin ise sırasıyla 21,85 ve

12,14 mL/g TS biyogaz ürettiği bildirilmiş ve bu şekilde yapılan bazı önışlem yöntemlerinin de mevcut olduğu bilinmektedir. [48, 49]. Benzer şekilde, çalışmamızda da nitrik asidi hem katı maddenin hidrolizinde hem de bakterilerce azot kaynağı olarak kullanılabilmesi amaçlanmıştır.

Tablo 3 incelendiğinde, ham, termal, HNO_3 ile asidik ve asidik-kimyasal önışleme uygulanmış numunelerin biyogaz üretimleri karşılaştırıldığında, en yüksek verimin kütlece %10 HNO_3 ile asidik-kimyasal önışleme tabii tutulmuş numunede elde edildiği belirlenmiştir. Anaerobik fermentasyon sonucunda oluşan numunelerin verimleri, günlük toplam katı madde başına üretilen hacimsel biyogaz ve metan miktarı (mL Biyogaz/ CH_4 g⁻¹ TKM d⁻¹) olarak hesaplanmıştır.



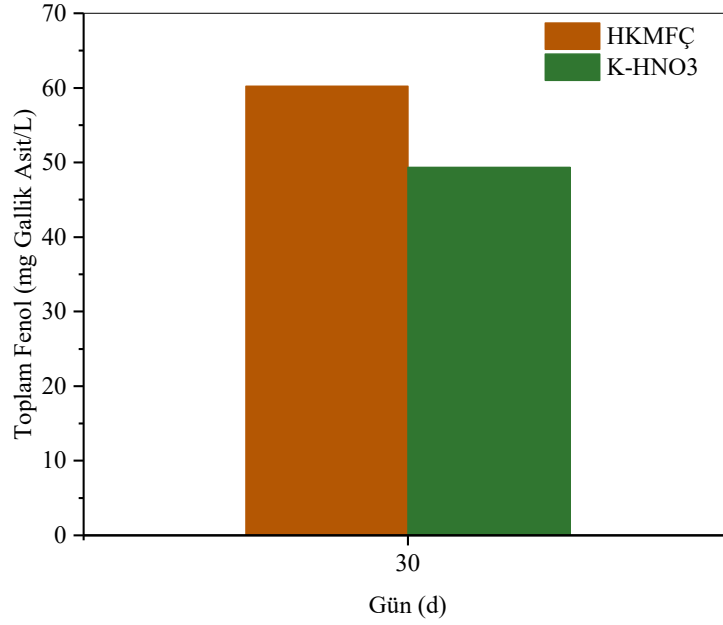
Şekil 4. K-HNO₃, K1-HNO₃, K2-HNO₃ ve K3-HNO₃ numunelerinin biyogaz üretim miktarları (Biogas production of K-HNO₃, K1-HNO₃, K2-HNO₃, and K3-HNO₃ samples)



Şekil 5. K-HNO₃, K1-HNO₃, K2-HNO₃ ve K3-HNO₃ numunelerinin metan üretim miktarları (Methane production of K-HNO₃, K1-HNO₃, K2-HNO₃, and K3-HNO₃ samples)

Tablo 3. Anaerobik fermentasyon sonucunda önışlemlı KMFC numunelerinin hacimsel biyogaz ve metan miktarları ile üretim verimleri (Volumetric biogas and methane production and yields of pretreated KMFC samples after anaerobic fermentation)

Numune	Gün (d)	Biyogaz Miktarı (mL)	Metan Miktarı (mL)	Biyogaz üretim verimi (mL Biyogaz g ⁻¹ TKM d ⁻¹)	Metan üretim verimi (mL CH ₄ g ⁻¹ TKM d ⁻¹)
K	30	20,95	17,50	0,099	0,082
K1	30	1,08	0,91	0,005	0,004
K2	30	0,83	0,70	0,004	0,003
K3	30	1,61	1,39	0,008	0,007
K-HNO ₃	30	217,46	173,85	1,023	0,818
K1-HNO ₃	30	47,79	34,28	0,223	0,172
K2-HNO ₃	30	36,67	27,17	0,161	0,129
K3-HNO ₃	30	25,10	19,28	0,118	0,091



Şekil 6. HKMFÇ ve asidik önışlem görmüş K-HNO₃ numunelerinin toplam fenol derişimleri (Total phenol concentrations of HKMFÇ and acid-pretreated K-HNO₃ samples)

Sonuçlar, çamur numunesine TKM miktarının %10'u oranında HNO₃ ilavesiyle uygulanan önışlemin, biyogaz üretim verimini önışlemsiz numuneye kıyasla yaklaşık 10 kat artırdığını göstermektedir. KHNO₃ ile yapılan ön işlem, karasudaki kompleks organik bileşenleri çözünür hale getirerek mikroorganizmalar için daha erişilebilir substrat sağlayabilmektedir. Bu nedenle, kesikli sistemde elde edilen 0,818 mL CH₄ g⁻¹ TKM d¹ değeri, önışlemin metan üretim potansiyelini artırmasıyla literatürde benzer optimize edilmiş laboratuvar koşullarında raporlanan değerlerle uyumludur [50–52]

Çalışmada en yüksek biyogaz veriminin elde edildiği önışlemlili numune için, kullanılan kimyasalın (%65 HNO₃) yaklaşık maliyeti hesaplanmıştır. 1 m³ membran filtre çamuru baz alınmış ve gerekli HNO₃ miktarı belirlenmiştir. Karasu membran filtre çamurunun TKM oranı %8,86 olup, TKM'nin %10'u oranında %65 Merck markalı HNO₃ çözeltisi önışlem olarak uygulanmıştır. Bu çözeltinin yoğunluğu ve fiyatı sırasıyla 1,4 kg/L ve 54,20 €/L'dir.

Hesaplamalara göre, bu miktar yaklaşık 9,73 L asit çözeltisine karşılık gelmekte ve maliyeti yaklaşık 528 € olarak tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda önışlem uygulanan çamur doğrudan anaerobik biyogaz ünitesine verilmektedir. Bu yaklaşım sayesinde kimyasalın etkileri büyük ölçüde çamurun biyogaz üretiminde enerji geri kazanımı ile dengelenmektedir. Yani, HNO₃ ile önışlem, hem fenol ve diğer inhibe edici bileşiklerin giderilmesine katkı sağlamakta hem de çamurun biyogaz verimini artırarak çevresel açıdan olumlu bir etki yaratmaktadır.

3.2. Toplam fenol giderimi (Total phenol removal)

HKMFÇ ve HNO₃ ile asidik önışlem uygulanmış K numunelerinin gallik asit cinsinden toplam fenol derişimleri Şekil 6'da sunulmuştur. Anaerobik sürecin 30. gününde gerçekleştirilen toplam fenol analizine göre, ham OMW'deki toplam fenol giderim yüzdesi yaklaşık %18 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, önışlem uygulanmamış ham OMW'nin başlangıç derişimlerine kıyasla sınırlı bir giderim sağladığını göstermektedir. Düşük giderim oranları, önışlemin etkisini değerlendirmek için bir referans noktası oluşturmaktadır.

Anerobik süreçte OMW'nin metanojenik bakteriler tarafından verimli bir şekilde sindiriminin önündeki en önemli engellerden biri, zeytin karasuyunda doğal olarak bulunan bu fenolik bileşiklerdir. Yapılan araştırmada fenol gideriminin düşük olması birçok nedenden kaynaklanabilmektedir. Zeytin karasuyundaki fenolik bileşikler yüksek toksisiteye sahip olduğu için anaerobik sindirim sırasında metan üretimini baskılayabilmektedir [53]. Özellikle basit fenoller, bazı organik asitler ve polifenoller, metan üretiminden sorumlu mikroorganizmaların faaliyetlerini doğrudan inhibe ederek sindirim verimini düşürebilmektedir. Bu nedenle, OMW'nin biyogaz üretimi veya biyolojik olarak işlenebilmesi için, söz konusu doğal inhibitörlerin azaltılması veya ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu nedenle, ham OMW'de fenolik bileşiklerin yüksek toksisiteye sahip olması, anaerobik sindirim sırasında metan üretiminin sınırlı olmasına ve gözlenen düşük fenol giderim oranlarına yol açabilmektedir. Fenollerdeki düşük giderim, bazı çalışmalarda yapılan ön işlemler ile artırılabilir. *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* ve *Candida tropicalis* gibi mantarlarla gerçekleştirilen aerobik önışlemler, OMWW'deki fenolik bileşikleri önemli ölçüde azaltmış ve sonraki anaerobik sindirimde COD kaybını artırarak metan üretimini iyileştirmiştir [54]. Zeytin karasuyu ile yapılan başka bir araştırmada ise, termofilik (55 °C) anaerobik yukarı doğru akışlı dolu yataklı reaktör kullanılmış, fenolik bileşiklerin biyolojik parçalanması ve çürütücü çıkış sularındaki toksisiteyi değerlendirilmiştir. Çalışmada, vanilik asit, kafeik asit, siringik asit, o-kumarik asit, oleuropein ve 4-etilfenol gibi altı fenolik bileşimin tamamen biyobozunduğu, buna karşılık 4-hidroksibenzoik asit, p-kumarik asit ve 3,4-dihidroksibenzoik asidin anaerobik çıkış sularında en dirençli ve kalıcı bileşikler olduğu belirtilmiştir [55]. OMW'deki yüksek fenolik içeriğin olumsuz etkisinin giderilmesine yönelik diğer bir çalışmada da, *Candida tropicalis* kullanılarak 12 günlük aerobik önışlem uygulanmış ve %62 COD ile %51 monositlik fenol giderimi sağlanmıştır. Daha sonra, karasudaki düşük besin içeriğini dengelemek amacıyla domuz gübresi ilave edilmiş ve 37 °C'de, 11–45 günlük hidrolitik bekleme süreleri ile anaerobik süreç yürütülmüştür.

Bu süreç sonucunda %85 COD giderimi ve 29 L_{biyogaz} L⁻¹ d⁻¹'e kadar biyogaz üretimi elde edilmiştir [56]. Karasu üzerindeki biyogaz

veriminin artırılması amacıyla, biyogaz sürecinden önce çeşitli kombine ön işlemlerin uygulanması ve bu sayede fenol gideriminin iyileştirilmesi gerekmektedir. Maksimum toplam fenol giderim verimine yönelik çalışmalara bakıldığında, çok katlı toprak tabakalama + adsorpsiyon, koagülasyon/flokülasyon + biyolojik oksidasyon, aerobik sindirim+ultra filtrasyon membran ve koagülasyon/flokülasyon + adsorpsiyon kombinasyonlarında sırasıyla %100, %99,6, %99,03 ve %99 olarak elde edilmiştir [57].

4. Sonuçlar (Conclusions)

Bu çalışmada, üç fazlı sistemle üretilen zeytin karasuyunun taşınabilir membran arıtma sistemi ile artırılması sonucu oluşan KMFÇ'ye uygulanan farklı ön işlemlerinin biyogaz üretim verimine etkileri kapsamlı olarak incelenmiştir. Araştırmada termal, asidik, bazik ve hibrit olmak üzere çeşitli ön işlemler değerlendirilmiştir. Deneysel sonuçlar, özellikle HNO₃ ile gerçekleştirilen asidik-kimyasal ön işlemin, anaerobik fermentasyon sürecinde biyogaz ve metan üretimini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Bu ön işlemler yöntemi, hidroliz aşamasını hızlandırabilmekte, substrat kullanılabilirliğini artırabilmekte ve metanojenik aktiviteyi teşvik edebilmektedir. Deneysel olarak elde edilen metan üretim verileri, literatürde yaygın olarak kullanılan biyogaz kinetik modelleri üzerinden de incelenebilir. Kinetik katsayılar üzerinden farklı ön işlemlerin etkisi daha nicel olarak değerlendirilebilir. Mevcut çalışmada veriler yalnızca deneysel ölçümler üzerinden tartışılmış olup, ilerleyen çalışmalarda bu tür modelleme yaklaşımlarının uygulanması önerilmektedir.

Elde edilen bulgulara göre, HNO₃ ile uygulanan asidik-kimyasal ön işlemler, ön işlemlenmiş numuneye kıyasla biyogaz üretim verimini yaklaşık on kat artırmış ve 30 günlük inkübasyon süresi sonunda 217,46 mL biyogaz ve 173,85 mL metan üretimi sağlanmıştır. Geri soğutucu altında yüksek sıcaklıkta uygulanan termal ön işlemler ile bazik ve asidik termal kombinasyon ön işlemleri sonucunda oluşan ürünlerin yapısal ve kimyasal özellikleri nedeniyle anaerobik fermentasyonu olumsuz etkileyerek biyogaz üretiminde belirgin düşüşlere yol açabilmektedir. Bu durum, yüksek sıcaklık uygulamalarının uçucu yağ asitlerinin birikmesi ile amino asit ve indirgen şekerlerde meydana gelen değişimlere (melanoidin oluşumu gibi) neden olarak mikroorganizmaları olumsuz etkileyebilmesi gibi mekanizmalara yol açabileceğini düşündürmektedir. Gelecekteki çalışmaların, bu inhibitör yan ürünlerin oluşumunu tanımlamak, nicelendirmek ve benzer substratlarla spesifik inhibisyon yollarını doğrulamak üzere tasarlanması önerilmektedir. Bu sayede, termal ön işlemin biyogaz üretimi üzerindeki etkileri daha kesin olarak değerlendirilebilecektir. Ayrıca fenol giderimi açısından değerlendirildiğinde, HNO₃ ön işleminin başlangıç derişimlerine kıyasla daha yüksek giderim oranı sağlayabildiği gözlemlenmiştir. Ek olarak, çalışmada ön işlemler uygulamaları yalnızca TKM miktarının %10'u esas alınarak gerçekleştirilmiş ve değerlendirmeler bu orana göre yapılmıştır. Gelecek çalışmalarda söz konusu yüzdelik oranın azaltılması veya farklı oranlarda ön işlemler uygulanarak elde edilecek sonuçların karşılaştırılması önerilmektedir. Ayrıca, ön işlemler sonrasında çamurun yapısal özelliklerinde meydana gelen değişiklikler (örneğin çözünür organik madde miktarı, uçucu yağ asitleri, fenolik bileşiklerde azalma veya inhibisyona bağlı parametrelerdeki farklılaşmalar) fermentasyon performansını etkileyebilecek önemli faktörlerdir. Bu durum, bilimsel açıdan dikkate değer bir tartışma konusu olup sürecin ayrıntılı olarak analiz edilmesini önerilmektedir.

Sonuç olarak, HNO₃ ile gerçekleştirilen asidik-kimyasal ön işlemin, KMFÇ'nin anaerobik fermentasyonla enerji geri kazanımı sürecinde biyogaz verimini artıran etkili bir yöntem olduğu ortaya konmuştur. Bu yöntem, yüksek organik yük ve toksisiteye sahip zeytin karasuyu kaynaklı atıkların çevresel etkilerinin azaltılmasında ve yenilenebilir

enerji üretiminin teşvik edilmesinde önemli bir katkı sunmaktadır. Çalışma sonuçları, zeytin karasuyu membran filtre çamurlarının sürdürülebilir yönetimi ve enerji geri kazanımı alanında gerçekleştirilecek ileri araştırmalar için bilimsel bir temel teşkil etmektedir.

Teşekkür (Acknowledgement)

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda, Prof. Dr. Fadime Taner danışmanlığında yürütülen yüksek lisans tezinden üretilmiştir. Çalışmanın yürütülmesindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Fadime Taner'e teşekkür ederim.

Kaynaklar (References)

1. Paraskeva P., Diamadopoulos E., Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: A review, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81 (9), 1475–1485, 2006.
2. Oktav E., Ebru Ç.Ç., Şengül F., Treatment of olive oil mill wastewaters with chemical treatment methods, *Dokuz Eylül University Faculty of Engineering Journal of Science and Engineering*, 5 (3), 11–21, 2003.
3. Gök O., Mesutoğlu Ö.Ç., Olive pomace as a low-cost adsorbent for the removal heavy metals, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 32 (2), 507–516, 2017.
4. Çelikler C., Varol M., Investigation of agglomeration for the co-combustion of olive cake with high-sulfur lignites in a bubbling fluidized bed combustor, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 37 (2), 921–937, 2022.
5. Avcı B.B., Erkan G., The investigation of possible use of olive oil production wastes in polyamide (6.6) dyeing, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 39 (3), 1673–1692, 2024.
6. Ochando-Pulido J.M., Vuppala S., García-López A.I., Martínez-Férez A., A focus on anaerobic digestion and co-digestion strategies for energy recovery and digestate valorization from olive-oil mill solid and liquid by-products, *Separation and Purification Technology*, 333, 2024.
7. Boari G., Brunetti A., Passino R., Rozzi A., Anaerobic digestion of olive oil mill wastewaters, *Agricultural Wastes*, 10(3), 161–175, 1984.
8. Rozzi A., Malpei F., Treatment and disposal of olive mill effluents, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 38 (3–4), 135–144, 1996.
9. Chaari L., Elloumi N., Mseddi S., Gargouri K., Bourouina B., Mechichi T., Kallel M., Effects of olive mill wastewater on soil nutrients availability, *Journal of Interdisciplinary and Multidisciplinary Research*, 2 (1), 175–183, 2014.
10. Anh H.Q., Watanabe I., Tomioka K., Minh T.B., Takahashi S., Characterization of 209 polychlorinated biphenyls in street dust from northern Vietnam: Contamination status, potential sources, and risk assessment, *Science of the Total Environment*, 652, 345–355, 2019.
11. Rifi S. K., Aguelmous A., Fels L. E., Hafidi M., Souabi S., Effectiveness assessment of olive mill wastewater treatment by combined process: Natural flotation and anaerobic-aerobic biodegradation, *Water and Environment Journal*, 35, 986–997, 2021.
12. Abbasi B.E., Chemical treatment and enhancement of bioavailability of olive mill wastewater, *Water Quality Research Journal of Canada*, 44 (3), 307–312, 2009.
13. Fiorentino A., Gentili A., Isidori M., Lavorgna M., Parrella A., Temussi F., Olive oil mill wastewater treatment using a chemical and biological approach, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (16), 5151–5154, 2004.
14. Xiao Y., Roberts D.J., A review of anaerobic treatment of saline wastewater, *Environmental Technology*, 31 (8–9), 1025–1043, 2010.
15. Mei W., Li L., Zhao Q., Li X., Wang Z., Gao Q., Wei L., Wang K., Jiang J., A critical review of effects, action mechanisms and mitigation strategies of salinity in anaerobic digestion, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 208, 2025.
16. Qian C., He S., Li X., Wu S., Wang D., Yang C., Effects of salinity on anaerobic digestion: Performance, microbial physiology, and community dynamics, *Bioresource Technology*, 431, 132619, 2025.
17. Güneş S.T., Akdemir E.O., Kinetic evaluation of organic matter removal in olive mill wastewater treatment using microfiltration membrane, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 39 (1), 287–298, 2023.

18. Elalami D., Latique S., Tayibi S., Oulakhir A., Drissi B.E., Barakat A., Oukarroum A., Taarji N., Lyamlouli K., Sequential co-processing of olive mill wastewater and organic residues by anaerobic co-digestion and pyrolysis for the generation of bioadsorbent and low-cost media for microalgae cultivation, *Process Safety and Environmental Protection*, 186, 76–88, 2024.
19. Yadav K., Sircar A., Fundamentals and developments of compressed biogas in city gas distribution network in India: A review, *Petroleum Research*, 7 (3), 409–418, 2022.
20. Kheiredine B., Derbal K., Charbit K., Maryem A., Biogas production by an anaerobic co-digestion process from olive mill waste: Effect of ultrasonic pre-treatment, *Desalination and Water Treatment*, 246, 139–145, 2022.
21. Micoli L., Di Rauso Simeone G., Turco M., Toscano G., Rao M.A., Biochar enhances anaerobic digestion of olive mill wastewater, *Chemical Engineering Transactions*, 99, 85–90, 2023.
22. Sankaya F., Erdirencelebi D., Optimization of anaerobic co-digestion of sewage sludge with fruit and vegetable wastes (FVW): Methane production potential, process performance and stabilized sludge quality, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 37 (3), 1493–1508, 2022.
23. Bai X., Grassino M., Jensen P.D., Effect of alkaline pre-treatment on hydrolysis rate and methane production during anaerobic digestion of paunch solid waste, *Waste Management*, 171, 303–312, 2023.
24. Elalami D., Oukarroum A., Barakat A., Anaerobic digestion and agronomic applications of microalgae for its sustainable valorization, *RSC Adv.*, 11, 26444, 2021.
25. Ateş H., Taner F., Enhancing biogas production efficiency through physical, chemical, thermal, and hybrid pre-treatment of olive mill wastewater, *Bioresource Technology Reports*, 31, 2025.
26. APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Edition, APHA, AWWA, WEF, Washington D.C., 2005.
27. Singleton V.L., Rossi J.A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158, 1965.
28. Farahmand A., Ghorani B., Emadzadeh B., Sarabi-Jamab M., Emadzadeh M., Modiri A., Mendes A.C., Double protection of probiotics in alginate hydrogel through emulsification incorporated with freeze drying and coaxial wet-electrospraying: Survivability and targeted delivery, *LWT*, 204, 116459, 2024.
29. Alibardi L., Cossu R., Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products, *Waste Management*, 47, 69–77, 2016.
30. Abdel-Hadi, A simple apparatus for biogas quality determination, *Misir Journal of Agricultural Engineering*, 25 (3), 1055–1066, 2008.
31. Turnell Suruagy V.M., Ross A.B., Babatunde A., Influence of microwave temperature and power on the biomethanation of food waste under mesophilic anaerobic conditions, *Journal of Environmental Management*, 341, 117900, 2023.
32. Wang H.Y., Qian H., Yao W.R., Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity, *Food Chemistry*, 128 (3), 573–584, 2011.
33. Saha B., Khwairakpam M., Kalamdhad A.S., Thermal pre-treatment – A prerequisite for the reduction of hydrolysis stage during anaerobic digestion of *Ageratum conyzoides*, *Materials Science for Energy Technologies*, 4, 34–45, 2021.
34. Ahn J.H., Shin S.G., Hwang S., Effect of microwave irradiation on the disintegration and acidogenesis of municipal secondary sludge, *Chemical Engineering Journal*, 153 (1-3), 145–150, 2009.
35. Boubaker F., Cheikh Ridha B., Anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with olive mill solid waste in a tubular digester at mesophilic temperature, *Bioresource Technology*, 98 (4), 769–774, 2007.
36. Dareioti M.A., Dokianakis S.N., Stamatelatou K., Zafiri C., Komaros M., Exploitation of olive mill wastewater and liquid cow manure for biogas production, *Waste Management*, 30 (10), 1841–1848, 2010.
37. Hendriks A.T.W.M., Zeeman G., Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, *Bioresource Technology*, 100 (1), 10–18, 2009.
38. Amin F.R., Khalid H., Zhang H., u Rahman S., Zhang R., Liu G., Chen C., Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion, *AMB Express*, 7 (72), 2017.
39. Wang S., Hou X., Su H., Exploration of the relationship between biogas production and microbial community under high salinity conditions, *Scientific Reports*, 7, 1–10, 2017.
40. Mustafa H.M., Abdulrahman B., Dahiru S.M., Production of bio-ethanol from sulfuric acid pretreated rice husk using co-culture of *Saccharomyces cerevisiae*, *Science World Journal*, 14 (1), 107–110, 2019.
41. Tiwari S., Yadav J., Gaur R., Singh R., Verma T., Yadav J.S., Pandey P.K., Rath S.K., Pandey S.K., Rath S.K., Multistep Structural and Chemical Evaluation of Sugarcane Bagasse, Pretreated With Alkali for Enhancing the Enzymatic Saccharification by Cellulase and Xylanase of the *Pseudomonas* sp. CVB-10 (MK443365) and *Bacillus paramycoides* T4 (MN370035) Mix-Culture S, *Front. Energy Res.*, 9, 1–13, 2022.
42. Li Y., Jin Y., Effects of thermal pretreatment on acidification phase during two-phase batch anaerobic digestion of kitchen waste, *Renewable Energy*, 77 (C), 550–557, 2015.
43. Cubero-Cardoso J., Llamas M.P., Trujillo-Reyes Á., Fernández-Prior Á., Rodríguez-Gutiérrez G., Assessing the potential of olive mill solid waste as feedstock for methane and volatile fatty acids production via anaerobic bioprocesses, *New Biotechnology*, 84, 77–84, 2024.
44. Messineo A., Maniscalco M.P., Volpe R., Biomethane recovery from olive mill residues through anaerobic digestion: A review of the state of the art technology, *Science of the Total Environment*, 703, 135508, 2020.
45. Azbar N., Keskin T., Çatalkaya E.C., Improvement in anaerobic degradation of olive mill effluent (OME) by chemical pretreatment using batch systems, *Biochemical Engineering Journal*, 38 (3), 379–383, 2008.
46. Kim I., Lee B., Park J.Y., Choi S.A., Han J.I., Effect of nitric acid on pretreatment and fermentation for enhancing ethanol production of rice straw, *Carbohydrate Polymers*, 99, 563–567, 2014.
47. Zhang R., Liu F., Liu H., Fast acidogenic fermentation of corn stover through a two-step method: Nitric acid hydrolysis combined with the fermentation of hydrolysate, *Bioresources*, 8 (3), 4193–4207, 2013.
48. Obileke K.C., Makaka G., Tangwe S., Mukumba P., Improvement of biogas yields in an anaerobic digestion process via optimization technique, *Environmental Development and Sustainability*, 27, 15025–15051, 2025.
49. Nugraha W.D., Syafrudin, Keumala C.F., Matin H.H.A., Budiyo, The effect of acid pre-treatment using acetic acid and nitric acid in the production of biogas from rice husk during solid state anaerobic digestion (SS-AD), *E3S Web of Conferences*, 31, 01006, 2018.
50. Siciliano A., Stillitano M.A., De Rosa S., Biogas production from wet olive mill wastes pretreated with hydrogen peroxide in alkaline conditions, *Renewable Energy*, 85, 903–916, 2016.
51. Rincón B., Borja R., Martín M.A., Martín A., Kinetic study of the methanogenic step of a two-stage anaerobic digestion process treating olive mill solid residue, *Chemical Engineering Journal*, 160 (1), 215–219, 2010.
52. Tufaner F., Investigation of Anaerobic Treatability and Biogas Production Potential of Olive Mill Wastewater, *BEU Journal of Science*, 9 (4), 1766–1778, 2020.
53. Hamdi M., Anaerobic digestion of olive mill wastewater, *Process Biochemistry*, 31 (2), 105–110, 1995.
54. Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P., Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies, *Process Biochemistry*, 48 (10), 1532–1552, 2013.
55. Genethliou C., Komaros M., Dailianis S., Biodegradation of olive mill wastewater phenolic compounds in a thermophilic anaerobic upflow packed bed reactor and assessment of their toxicity in digester effluents, *Journal of Environmental Management*, 255, 109882, 2020.
56. Martinez-Garcia G., Johnson A.C., Bachmann R.T., Williams C.J., Burgoyne A., Edyvean R.G.J., Anaerobic treatment of olive mill wastewater and piggery effluents fermented with *Candida tropicalis*, *Journal of Hazardous Materials*, 164 (2-3), 1398–1405, 2009.
57. Jamrah A., Al-Zghoul T.M., Darwish M.M., A comprehensive review of combined processes for olive mill wastewater treatments, *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 8, 100493, 2023.

