

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**MEYVE ATIKLARININ İKİNCİ NESİL BİYOETANOL ÜRETİMİNDE
KULLANIM KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Hüseyin Kaan KABADAYI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2025**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

MEYVE ATIKLARININ İKİNCİ NESİL BİYOETANOL ÜRETİMİNDE KULLANIM KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Hüseyin Kaan KABADAYI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Sevgi Ertuğrul KARATAY

Lignoselülozik biyokütle, ucuz ve bol bir hammadde olarak biyoteknolojik uygulamalar açısından büyük avantajlar sunmaktadır.

Bu çalışma, yeni izole edilen ksiloz/glukoz birlikte fermantasyonu yapabilen *Hanseniaspora uvarum* mayası kullanılarak dut posasından biyoetanol üretmeyi amaçlamıştır. Bu amaçla, önce mayanın ksiloz tüketim kapasitesi, sentetik ksiloz içeren bir ortamda karbon kaynağı olarak test edilmiş ve *Hanseniaspora uvarum*'un ksilozu etanol üretmek üzere etkili bir şekilde fermente ettiği görülmüştür. Daha sonra, *Hanseniaspora uvarum*, dut posasının seyreltik asit ön işlemi sonucu elde edilen sıvı hidrolizatının fermantasyonunda kullanılmıştır. Ayrıca, ön işlem görmüş dut posasının ardından enzimatik hidroliz işlemi uygulanarak bu işlemin etkisi araştırılmıştır.

Bu kapsamda, başlangıç biyokütle konsantrasyonu (50–500 g/L), azot kaynakları veya mineral tuzları içeren iki farklı dut posası ortamında optimize edilmiştir. Ön işlem görmüş dut posasının enzimatik hidrolizi, 400 g/L başlangıç biyokütle yüküyle, çözünür soya proteini eklenerek veya eklenmeden gerçekleştirilmiş ve fermente edilebilir şeker konsantrasyonlarında önemli bir artış gözlemlenmiştir. Seyreltik asit ön işlemi sırasında 400 g/L biyokütle yükü kullanıldığında ve ardından 15 FPU/g selüloz ile enzimatik hidroliz yapıldığında, en yüksek şeker konsantrasyonu 159,6 g/L olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca, seyreltik asit ön işlemi ve enzimatik hidroliz sonrasında, *Hanseniaspora uvarum* tarafından üretilen etanol miktarı 61,3 g/L (0,153 g/gbiyokütle) seviyesine ulaşmıştır ki bu değer, literatüre göre verimli bir damıtma için yeterli bir miktardır. Sonuçlar, ksiloz/glukoz birlikte fermantasyonu yapabilen *Hanseniaspora uvarum* mayasının ve dut posasının, ikinci nesil biyoetanol üretimi için uygun olduğunu göstermektedir.

Nisan 2025, 112 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Hanseniaspora uvarum* Dut posası Biyoetanol Enzimatik hidroliz

ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION OF USE CAPACITIES OF FRUIT WASTES IN SECOND GENERATION BIOETHANOL PRODUCTION

Hüseyin Kaan KABADAYI

Ankara University
Graduate School of Nature and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Sevgi Ertuğrul KARATAY

Lignocellulosic biomass as a cheap and abundant raw material offers great advantages in terms of biotechnological applications. The current study aimed to produce bioethanol from mulberry pomace by newly isolated xylose/glucose co-fermenter *Hanseniaspora uvarum*.

For this purpose, the xylose consumption capacity of the yeast was first tested using the synthetic xylose-containing medium as a carbon source, and *Hanseniaspora uvarum* effectively fermented xylose into ethanol. Afterward, *Hanseniaspora uvarum* was used for the fermentation of the liquid hydrolysate obtained by dilute acid pretreatment of mulberry pomace.

Furthermore, a subsequent enzymatic hydrolysis of the pretreated mulberry pomace was performed to investigate its effect. For this purpose, initial biomass concentration (50-500 g/L) for fermentation was optimized in two different mulberry pomace media containing nitrogen sources or mineral salts. Enzymatic hydrolysis of pretreated mulberry pomace was performed at 400 g/L initial biomass loading with or without soluble soy protein addition, and a significant increase in fermentable sugar concentrations was observed. The highest sugar concentration was observed as 159.6 g/L when 400 g/L biomass loading was used during dilute acid pretreatment, and subsequent enzymatic hydrolysis was performed using 15 FPU/g cellulose. Moreover, after dilute acid pretreatment and enzymatic hydrolysis, ethanol production of *Hanseniaspora uvarum* reached 61.3 g/L (0.153 g/g biomass) which is a sufficient amount for efficient distillation according to literature. Results show that xylose/glucose co-fermenter *Hanseniaspora uvarum* and mulberry pomace can be considered for second-generation bioethanol production.

April 2025, 112 pages

Key Words: *Hanseniaspora uvarum* Mulberry pomace Bioethanol Enzymatic hydrolysis

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında, bana yol gösteren, çalışmalarında bana esin kaynağı olan, desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY'a (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarında beni destekleyen, akademik gelişimimde katkıları bulunan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) teşekkürlerimi sunarım.

Çok değerli katkılarından dolayı TİK üyesi hocam Sayın Prof. Dr. Ayşe AVCI'ya (Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ekin Demiray'a (Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu) teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca desteklerini her zaman hissettiğim, bilime olan ilgimi borçlu olduğum sevgili anne ve babama, ayrıca tüm bunların yanı sıra her zaman benim için bir rol model ve esin kaynağı olan ağabeyim Mehmet Emre KABADAYI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hüseyin Kaan KABADAYI
Ankara, Nisan 2025

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Yakıtlar	3
2.2 Biyoyakıtlar	5
2.3 Etanol ve Biyoetanol Elde Yöntemleri	6
2.4 Nesillerine Göre Biyoetanol Üretimi	18
2.4.1 Birinci nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi	18
2.4.2 İkinci nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi	19
2.4.3 Üçüncü nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi	21
2.4.4 Dördüncü nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi	22
2.5 Biyoetanol Üretiminde Kullanılan Biyokütle Uygulanan Ön İşlemler	22
2.5.1 Fiziksel ve fizikokimyasal ön işlemler	23
2.5.2 Kimyasal ön işlemler	28
2.5.3 Biyolojik ön işlemler	32
2.6 Lignoselülozik Materyallerin Yapısı ve Lignoselülozik Materyallere Uygulanan Hidroliz Yöntemleri	34
2.6.1 Kimyasal hidroliz	35
2.6.2 Enzimatik hidroliz	35
2.7 Fermantasyon Teknikleri	36
2.7.1 Ayrı enzimatik hidroliz ve fermantasyon (separate hydrolysis and fermentation – SHF)	37
2.7.2 Eşzamanlı sakarifikasyon ve fermantasyon (Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF)	37
2.7.3 Eşzamanlı Sakkarifikasyon ve Ko-Fermantasyon (Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation – SSCF)	38
2.7.4 Konsolide Biyoproses (Consolidated Bioprocessing – CBP) ile Fermantasyon	39
2.8 Karadut (Morus nigra L.)	39
2.8.1 Karadutun endüstride kullanımı ve atıkları	42

2.9 <i>Hanseniaspora uvarum</i> ve Biyoetanol Eldesinde Kullanılan Diğer Mikroorganizmalar	43
2.10 Literatür Özeti	51
3. MATERYAL ve YÖNTEM	55
3.1 Materyal.....	55
3.1.1 Karadut posası	55
3.1.2 <i>Hanseniaspora uvarum</i>	55
3.2 Yöntem	56
3.2.1 Karadut atığının özelliklerinin belirlenmesi.....	56
3.2.1.1 Su tutma kapasitesinin ölçülmesi.....	56
3.2.1.2 Lignin, selüloz ve hemiselüloz oranının belirlenmesi.....	56
3.2.2 Karadut posasına uygulanan ön işlemler.....	57
3.2.2.1 Öğütme.....	58
3.2.2.2 Asidik hidroliz ve optimizasyon.....	58
3.2.3 Etanojenik mayaların izolasyonu ve taranması	58
3.2.4 Tür tayini	58
3.2.5 <i>Hanseniaspora uvarum</i> 'un şeker tüketim profilinin karakterizasyonu	59
3.2.6 Fermantasyon.....	60
3.2.7 Analiz yöntemleri.....	60
3.2.8 <i>Hanseniaspora uvarum</i> 'un gelişiminin belirlenmesi	61
3.2.9 Şeker konsantrasyonunun belirlenmesi	62
3.2.10 Etanol konsantrasyonunun belirlenmesi	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	63
4.1 Maya İzolasyonu ve Seçimi	63
4.2 Artan Karadut Posası Konsantrasyonlarında Farklı Besiyeri Tiplerinin Mikrobiyal Büyüme ve Etanol Üretimine Etkisi	67
4.3 Karadut posasının enzimatik hidrolizi ile biyoetanol üretimi ve kinetik parametrelerin karşılaştırılması	69
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	73
KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ.....	112

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Nesillerine göre biyoyakıtların sınıflandırılması	6
Şekil 2.2 Nişasta ve selüloz hidrolizinin ardından glikozun maya (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) kullanılarak etanole dönüştürülmesi	7
Şekil 2.3 Bitki hücre duvarı	8
Şekil 2.4 Tarihsel süreçte biyoetanol üretim yöntemleri	10
Şekil 2.5 Biyokütlenin biyoetole dönüştürülmesi süreci	11
Şekil 2.6 Seyreltik asit hidrolizi yönteminin aşamaları	13
Şekil 2.7 Enzimatik hidroliz yönteminde hidroliz ve fermantasyon süreci	14
Şekil 2.8 Enzimatik hidroliz yönteminde sakkarifikasyon ve fermantasyon süreci	15
Şekil 2.9 Kuru öğütme ile etanol üretimi yönteminin aşamaları	16
Şekil 2.10 Yaş öğütme ile etanol üretimi yönteminin aşamaları	17
Şekil 2.11 Biyoetanol üretiminde kullanılan lignoselülozik hammaddeye uygulanan önişlem sonucu yapısal değişim	23
Şekil 2.12 Hanseniaspora uvarum.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Lignoselülozik hammaddeler ve selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri (%).....	20
Çizelge 4.1 İzole edilen mayaların etanol üretim kapasiteleri	64
Çizelge 4.2 Artan karadut posası yüklemelerinin indirgen şeker ve inhibitör konsantrasyonları üzerindeki etkisi.....	66
Çizelge 4.3 H. uvarum'un sentetik ksiloz.....	66
Çizelge 4.4 Artan karadut posası varlığında farklı besiyeri bileşenlerinin etanol üretimine etkisi.....	67
Çizelge 4.5 Artan karadut posası varlığında farklı besiyeri bileşenlerinin mikrobiyal üremeye etkisi	68
Çizelge 4.6 H. uvarum'un 400 g/L enzimatik olarak hidrolize edilmiş KP ortamı 2'de etanol üretimi, şeker tüketimi ve mikrobiyal büyümesi	69
Çizelge 4.7 H. uvarum'un 400 g/L enzimatik olarak hidrolize edilmiş KP ortamı 2'de etanol üretimi, şeker tüketimi ve mikrobiyal büyümesi	70
Çizelge 4.8 Artan KP yüklemelerinin ve farklı ortam bileşimlerinin indirgen şeker ve H. uvarum'un maksimum etanol konsantrasyonları üzerindeki etkisi	71
Çizelge 4.9 Farklı başlangıç Karadut Posası ortamlarında fermentasyon koşulları için tanımlanan kinetik parametreler.....	72

1. GİRİŞ

Alternatif enerji kaynaklarının varlığına karşın; 21. yüzyıl itibariyle dahi fosil yakıtların, küresel ölçekte en fazla kullanılan enerji kaynağı olması söz konusudur. Bununla birlikte geleneksel enerji kaynaklarını kapsayan fosil yakıtların; dünya genelinde nüfusun hızla artmaya devam etmesi doğrultusunda, her geçen gün rezervleri azalmaktadır. Neticesinde de fosil yakıtlar; küresel ısınma ile beraberinde getirdiği iklim değişikliklerinin ve kuraklığın etkilerini artırmakta ve birçok başka çevre sorununu da beraberinde getirmektedir. Bu doğrultuda geleneksel enerji kaynaklarının hem tükenmeye başlaması hem de çevresel etkilerinin bertaraf edilebilmesi amacıyla, alternatif enerji kaynaklarının belirlenmesi ve kullanılması zorunluluğu gündeme gelmiş durumdadır. Yenilenebilir enerji kaynakları ise; bu süreçte, geleneksel enerji kaynaklarına alternatif olması beklenen enerji kaynakları kapsamında değerlendirilmektedir.

21. yüzyıl itibariyle özellikle gelişmiş ülkelerin hem ekonomik hem de çevresel sürdürülebilirliğin olanaklı kılınabilmesi açısından, yenilenebilir alternatif enerji kaynakları arayışında yer almaları söz konusudur (Jambo vd. 2016). Genel olarak yenilenebilir enerji kaynakları içerisinde; güneş, rüzgâr, hidrojen, jeotermal kaynaklar ve biyokütle gibi enerji kaynakları değerlendirilebilmektedir. Bu kapsamda da biyoyakıtlar, biyokütleden üretilen ve geleneksel enerji kaynaklarına alternatif olabileceği öngörülen önemli bir yenilenebilir enerji kaynağını ifade etmektedir (Koppram vd. 2014). Biyoetanol ise; ham petrol kullanımının azaltılmasına ve ekonomik ve çevresel sürdürülebilirliğin geliştirilmesine katkı sağlaması dolayısıyla, küresel ölçekte biyoyakıtlar içerisinde en yaygın kullanılan yenilenebilir enerji kaynağı olma niteliği taşımaktadır.

Biyoetanolün yakıt ya da yakıt katkı maddesi olarak kullanılması ile yenilenebilir enerji kaynaklarının çeşitlendirilmesi, enerji ihtiyacının karşılanması sürecinde alternatif enerji kaynağına sahip olunabilmesi, sera gazı etkisinin artmasına neden olan fosil yakıtlara duyulan ihtiyacın ve bu doğrultuda fosil yakıtların kullanılmasından kaynaklanan olumsuz çevresel etkilerin azaltılabilmesi ve tarım sektörü için yeni bir pazar ve istihdam alanı yaratılabilmesi gibi avantajlar elde edilebilmektedir.

Biyometanol; genel olarak şeker, nişasta ve lignoselülozik esasları kaynakların, bir dizi ön işleme ve fermentasyon proseslerine tabi tutulmaları ile elde edilmektedir. Bununla birlikte şeker ve nişasta esaslı kaynakların büyük bir bölümünün aynı zamanda gıda maddesi olarak tüketilmesi, bu kapsamdaki biyokütlenin biyometanol üretiminde kullanılması sürecinde sınırlılıkları da beraberinde getirmektedir. Ancak lignoselülozik esasları kaynaklar; genel olarak endüstriyel artıklar ve/veya atıkları ifade etmesi doğrultusunda, biyometanol üretimi sürecinde çok daha sık tercih edilmektedir.

Tarımsal ürünlerin işlenmesi ile ortaya çıkan endüstriyel artıklar ve/veya atıklar; biyometanol üretiminde, lignoselülozik biyokütle hammadde olarak kullanılabilir. Karadut (*Morus nigra L.*) da; biyometanol üretiminde, lignoselülozik biyokütle hammadde olarak değerlendirilebilecek ürünler arasında yer almaktadır. Bu yönüyle karadut; bağışıklık sistemini destekleyen ve vücudun enfeksiyonlara karşı korunmasını sağlayan tarımsal bir ürün olmak doğrultusunda, birçok endüstri işletmesi tarafından da hammadde olarak kullanılmaktadır. Karadutun endüstri işletmeleri tarafından işlenmesinin ardından, posasının atık haline gelmesi söz konusudur. Karadut atıklarının biyometanol üretiminde değerlendirilmesi de, posasının işlenmesi ile olanaklı hale gelmektedir.

Çalışma kapsamında da bu doğrultuda; yeni izole edilen ksiloz/glikoz ko–fermentörü *Hanseniaspora uvarum* ile dut posasından biyometanol üretilmesi amaçlanmış ve biyometanol üretimi için hammadde olarak kullanım potansiyeli araştırılmıştır. Buna yönelik olarak çalışma kapsamında; karadut posasının seyreltik asit ön işlemiyle elde edilen sıvı hidrolizatın fermentasyonu için, *Hanseniaspora uvarum* kullanılmış ve etkisinin araştırılması için ön işleme tabi tutulan dut posasının enzimatik hidrolizi gerçekleştirilmiştir.

Söz konusu edilen bu kapsamı itibariyle çalışmanın; yeni izole edilen geleneksel olmayan maya *Hanseniaspora uvarum* ile dut posasından biyometanol üretiminin amaçlanması ile konu ile ilgili literatüre katkı sağlaması ve araştırmacılara yol gösterici olması bakımından önemli olması beklenmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Yakıtlar

Tarihsel süreçte, farklı türdeki enerji kaynaklarından yararlanılması ve enerji kaynaklarından elde edilen enerjinin de mevcut formundan, farklı formdaki yakıtlara dönüştürülmesi ile ısınma, soğutma ve hareket etme sistemlerinde kullanılması söz konusudur. Enerji kaynaklarının, insanoğlunun yaşamını devam ettirebilmesi için alternatifsiz bir önemde olması ve 21. yüzyıl itibariyle de enerji tüketiminin bir önceki yüzyıla göre yaklaşık dörtte bir oranında artması doğrultusunda, farklı enerji kaynaklarına ihtiyaç duyulması gündeme gelmiş durumdadır.

Enerji kaynaklarına sahip olunması ve mevcut enerji kaynaklarının etkin ve verimli kullanılabilmesi, ülkelerin ekonomik gelişmişlik göstergeleri içerisinde önemli bir parametre olarak değerlendirilmektedir. Tarihsel süreçte küresel ölçekli ekonomik krizlerin de genel olarak, petrol maliyetlerinin artması ve dünya genelinde enerji krizi yaşanması ile gündeme geldiği görülmektedir. Bununla birlikte özellikle de 20. yüzyılın sonları ve 21. yüzyılın başı itibariyle küresel ölçekte yaşanan enerji krizleri ile birlikte; alternatif enerji kaynaklarına sahip olunması konusunun, devletler tarafından bir ulusal güvenlik sorunu olarak algılanmaya başlandığı belirlenmesinde bulunulabilmektedir (Horn, 2010; Karagöl ve Kavaz, 2017).

Enerji kaynakları, “birincil enerji kaynakları” ve “ikincil enerji kaynakları” kapsamında incelenebilmektedir. Birincil enerji kaynakları; kullanılabilmesi için herhangi bir işleme tabi tutulmasına ihtiyaç bulunmayan, direkt olarak kullanılabilen ve ikincil enerji formuna dönüştürülebilen doğal kaynakları ifade etmektedir (Şahin vd., 2021). Birincil enerji kaynakları, “yenilenemez ya da geleneksel enerji kaynakları” ve “yenilenebilir enerji kaynakları” bağlamında iki grupta değerlendirilebilmektedir. Yenilenemez ya da geleneksel enerji kaynakları; kömür, doğal gaz, petrol ve nükleer enerji gibi, rezervleri sınırlı düzeyde olan enerji kaynakları kapsamında ifade edilebilmektedir (Akyüz, 2017).

Yenilenebilir enerji kaynakları; yenilenemez ya da geleneksel enerji kaynaklarından farklı olarak, rezervleri sınırlı düzeyde olmayan enerji kaynaklarıdır. Bu bağlamda da yenilenebilir enerji kaynakları; kullanılmalarına karşın tamamıyla tükenmeyen, yenilenebilme özelliğine sahip olan ve güneş ışığı, rüzgâr, yağmur, gel – gitler, hidroelektrik ve jeotermal ısı gibi doğal kaynakları ifade etmektedir (Bohrmann vd., 2003; Cambaz vd., 2022).

İkincil enerji kaynakları ise, birincil enerji kaynaklarının fiziksel dönüşümüne endeksli olarak elde edilen ve yakıtlar kapsamında ifade edilebilen enerji kaynaklarıdır. Yenilenemez ya da geleneksel enerji kaynaklarının ikincil enerji kaynaklarına dönüştürülmesi ile hidrokarbon ve yüksek oranlarda karbon içeren kömür, doğal gaz ve petrol kapsamındaki fosil yakıtlar elde edilmektedir. Ancak fosil yakıt tüketiminin hem tüm yaşam alanlarını bütünüyle etkileyen yıkıcı ürünler ortaya çıkarması hem de sınırlı düzeyde olması, alternatif enerji kaynaklarına duyulan ihtiyacın artmasına neden olmaktadır (Öztürk ve Kaya, 2012; Fawzy vd., 2020). Yenilenebilir enerji kaynaklarının ikincil enerji kaynaklarına dönüştürülmesi ile de; güneş enerjisi, rüzgâr enerjisi, jeotermal enerji, hidroelektrik enerjisi ve biyokütle enerjisi kapsamında yeni enerji kaynakları elde edilmektedir (Karaosmanoğlu, 2006).

Biyokütle, biyolojik kökenli ve fosil kaynaklı olmayan organik madde kitlesini ifade etmektedir. Biyokütle; 100 yıldan daha kısa süre içerisinde yenilenebilen ve karada ve suda yetişen bitkiler, orman ürünleri, hayvan artıkları, gıda endüstrisi atıkları ve kentsel atıklar kapsamında ifade edilebilen tüm organik maddeleri içermektedir. Temel bileşenleri karbohidrat bileşikleri olan bitkisel ya da hayvansal kökenli tüm doğal maddeler, biyokütle enerji kaynağı ve ifade edilen nitelikteki doğal maddelerden elde edilen enerji ise, biyokütle enerjisi olarak nitelendirilmektedir. Biyokütle enerjisinden yararlanılması doğrultusunda; doğada yaygın olarak bulunan tarımsal ürünlerin farklı fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlere tabi tutulmaları ile ticari değere sahip ve belirli özellikleri standartlaştırılan katı, sıvı ve gaz yakıtlara dönüştürülmesi olanaklı olabilmektedir (Hall, 1997; Balat, 2005; de Vries vd., 2007; Wang vd., 2019).

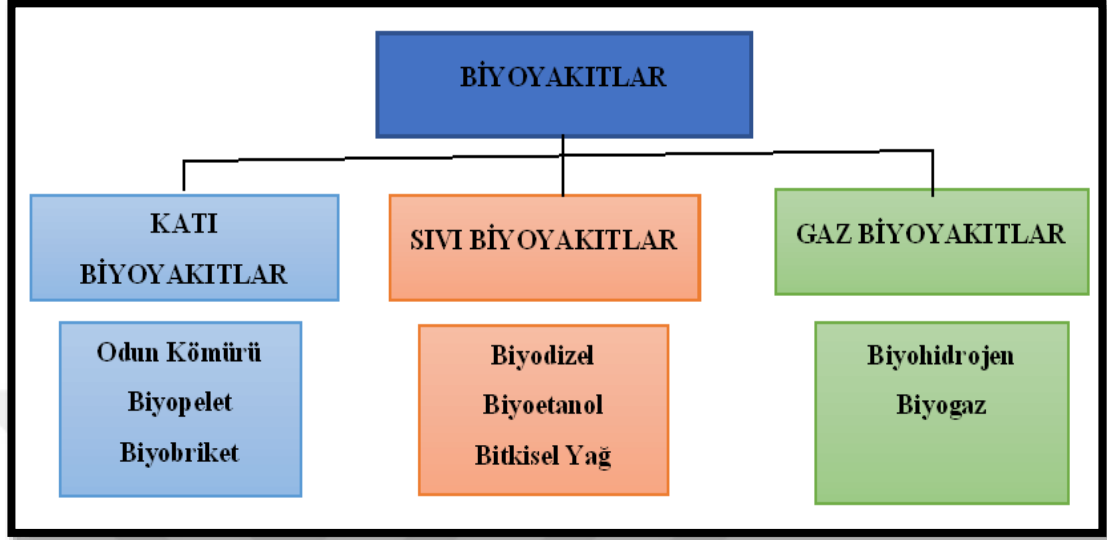
Biyokütle enerjisinden yararlanılması doğrultusunda; ısı ve elektrik ile birlikte, taşıtlar için yakıt üretilmektedir. Biyokütleden ısı ve elektrik elde edilmesi sürecinde; geleneksel yöntemler ve endüstriyel yöntemler kapsamında yakma yöntemleri ile dolaylı yakma yöntemlerinden yararlanılabilmektedir. Biyokütleden üretilen ve fosil yakıtlarla eşdeğer düzeyde kullanılabilen katı, sıvı ve gaz yakıtlar ya da biyoyakıtlar ise; direkt yakma yöntemlerine ya da fiziksel ve kimyasal süreçlere tabi tutularak kullanılabilir (Searchinger vd., 2008; Snäll vd., 2017; Thorn vd., 2018).

2.2 Biyoyakıtlar

Biyoyakıtlar; çeşitli biyokimyasal ya da termokimyasal dönüşüm süreçlerini tamamlayan tarımsal ürünlerden ve farklı türdeki organik atıklardan elde edilen ve katı, sıvı ve gaz halinde olabilen yakıtları ifade etmektedir. Bu doğrultuda biyoyakıtlar, hacminin minimum %80'i canlı organizmalardan elde edilen yakıtları kapsamaktadır. Biyokütle enerjisinin kullanılmasını olanaklı kılan biyoyakıtlar; fosil yakıtlardan farklılık göstermesi doğrultusunda, yenilenebilir enerji kaynağı olma niteliği taşımaktadır (Ranius vd., 2018; Moose vd., 2019).

Biyoyakıtların; odun ve odun parçalarının ısınma ve pişirme amaçlı kullanılmaları doğrultusunda, insanlık tarihinin en eski dönemlerinden itibaren enerji kaynağı olarak kullanıldığı görülmektedir. Sıvı biyoyakıtların ise; kastor tohumu yağının lambalarda aydınlatma yakıtı olarak kullanılması bağlamında, ilk olarak Eski Mısırlılar tarafından kullanılması söz konusudur. Sıvı biyoyakıt olma niteliği taşıyan biyodizel de ilk olarak, 1893 yılı itibariyle Rudolf Diesel tarafından ve yer fıstığı yağından üretilmiştir. Diesel (1893) tarafından yer fıstığından üretilen yağ ile dizel motorların çalıştırılabilmesi ile de, bitki yağlarının yakıt olarak dönüştürülebilmesine ve kullanılabilmesine yönelik araştırmalar ve çalışmalar hızlandırılmıştır. Bununla birlikte tarihsel süreçte gübrenin de yakılarak ve ısınma amacıyla kullanılması, biyoyakıt kullanımını örneklendirmektedir (Lindenmayer vd., 2012; Mason ve Zapponi, 2016; Hiron vd., 2017).

“Haline Göre Biyoyakıtların Sınıflandırılması” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.1.’de yer almaktadır.



Şekil 2.1 Haline göre biyoyakıtların sınıflandırılması (Horuz vd. 2015)

Biyohidrojen ve biyogaz, gaz biyoyakıtlar içerisinde değerlendirilebilmektedir. Biyoetanol de, sıvı biyoyakıtlar arasında yer almaktadır.

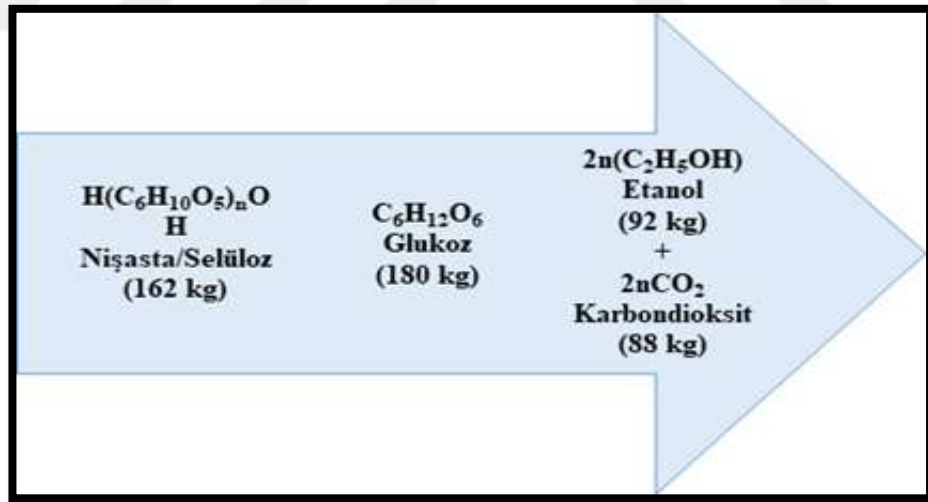
2.3 Etanol ve Biyoetanol Elde Yöntemleri

Kimyasal formülü C_2H_5OH olan etanol (etil alkol); eski çağlardan beri şekerin mayalanması ile elde edilen temiz, renksiz, yanıcı ve oksijenatlı bir hidrokarbon olma niteliği taşımaktadır. Etanolün elde edilmesi sürecinde, öncelikli olarak tarımsal ürünlerde var olan nişasta şekere dönüştürülmekte ve ardından da şekere mayalama işlemi uygulanmaktadır. Etanol; çok farklı hammadde kaynaklarından üretilebilmekle birlikte, genel olarak üretiminde tahıl ürünleri, meyveler, melas ve selüloz sıklıkla kullanılmaktadır (Yüksel ve Yüksel, 2004; Cordier vd., 2007).

Joseph Louis Gay – Lussac (1915) tarafından ($C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$) kapsamındaki fermentasyon formülünün ortaya konulması ve Lavoisier tarafından 18. yüzyılın sonlarına doğru gerçekleştirilen çalışmalar kapsamında, şekerin fermentasyonu sırasında etanol ve CO_2 oluştuğunun belirlenmesi ile etanolün elde edilmesi sürecinin anlaşılması söz konusudur (Bengisu, 2014).

Etanol üretiminde hammadde olarak hangi tarımsal ürün kullanılırsa kullanılsın; genel olarak etanol fermentasyonunda hammadde olarak, basit (monomerik) şeker ve mayaya (*Saccharomyces cerevisiae*) ihtiyaç duyulması söz konusudur. Bu doğrultuda da geleneksel maya fermentasyonunda; glikoz, manoz ya da sakaroz gibi herhangi bir altı karbonlu ve 1 kg ağırlığındaki şekerden, 0,51 kg etanol üretilmesi olanaklı olabilmektedir (Yang vd., 2009).

“Nişasta ve Selüloz Hidrolizinin Ardından Glikozun Maya (*Saccharomyces cerevisiae*) Kullanılarak Etanole Dönüştürülmesi” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.2.’de yer almaktadır.



Şekil 2.2 Nişasta ve selüloz hidrolizinin ardından glikozun maya (*Saccharomyces cerevisiae*) kullanılarak etanole dönüştürülmesi

Şekerlerin direkt olarak etanole dönüştürülmeleri olanaklı olabilmekteyken; nişasta ve selüloz gibi daha karmaşık yapıdaki karbonhidratların, maya fermentasyon işleminin gerçekleştirilmesinden önce basit şekerler olarak parçalanması gerekmektedir. Bununla

Etanolün yakıt olarak; “Susuz Etanol (%100 etanol)”, “Sulu Etanol (%5 su ve %95 etanol)”, “Susuz Etanol – Benzin Karışımları (benzin içerisinde %10 ile %20 arasında değişen oranda etanol)” ve “Etil Tersiyer Bütil Eter (ETBE)” hammaddesi olarak dört farklı şekilde kullanılabilmesi olanaklıdır (Adıgüzel, 2013; Abdulvahitoğlu, 2019).

Biyoeanol; molekül ağırlığı 46,07 g/mol, yoğunluğu 0,789 g/cm³, erime noktası –114 °C ve kaynama noktası 78 °C olan bir sıvıdır. Etanolün ve biyoeanolün, kimyasal olarak aynı formüle sahip olmaları söz konusudur. Biyoeanolün üretilmesi sürecinde kullanılabilen hammaddeler, genel olarak aşağıda verilen kapsamda değerlendirilebilmektedir (Cao vd., 2012; Adıgüzel, 2013):

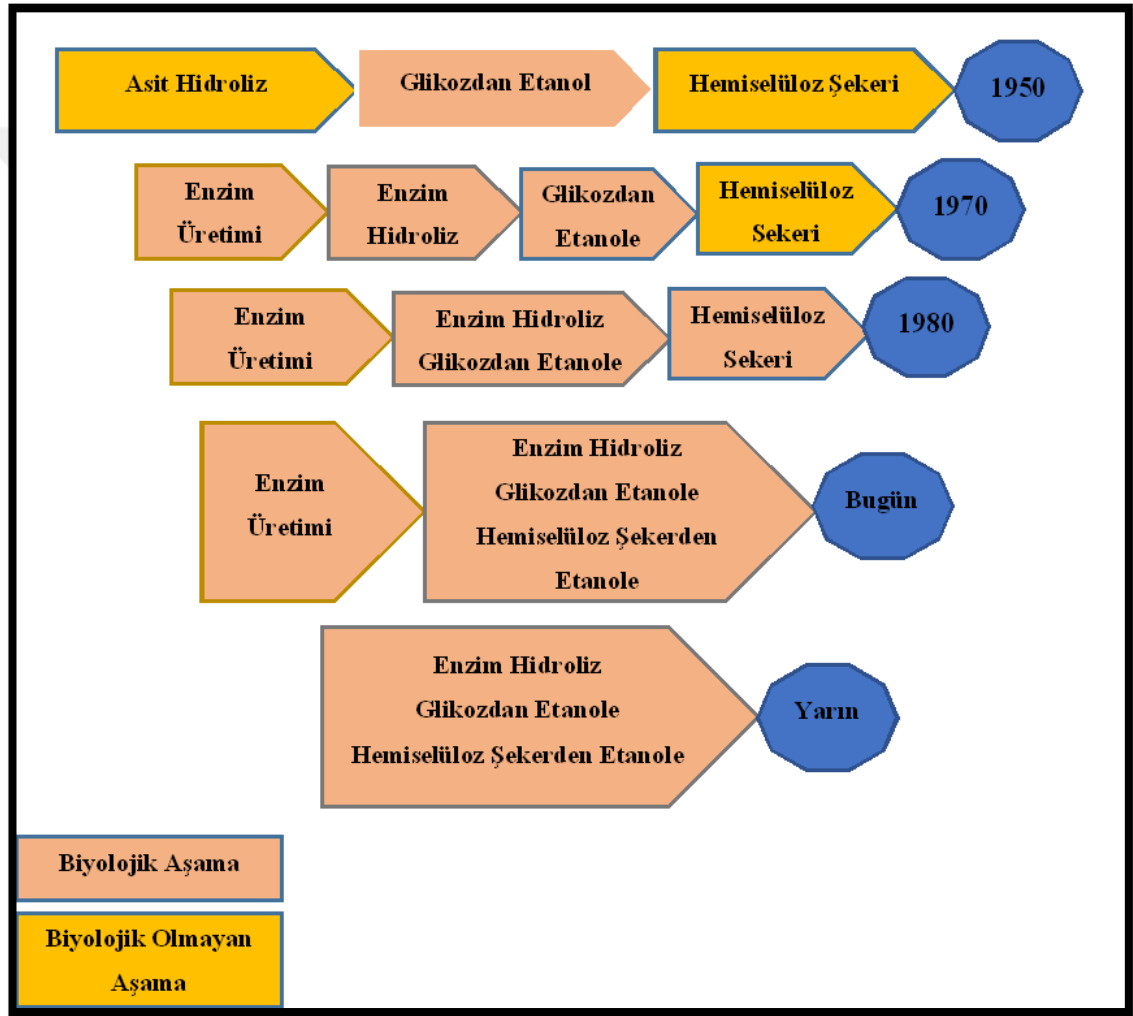
- Şeker kamışı ve şeker pancarı gibi sukroz içeren hammaddeler;
- Mısır, pirinç ve buğday gibi nişasta içeren hammaddeler ve
- Mısır sapı ve buğday çöpü gibi tarımsal atıklar ile odun ve odun parçaları gibi lignoselülozik hammaddeler.

20. yüzyılın başları itibariyle, biyoeanolün taşıt yakıtı olarak kullanılması yaygınlaşmasına karşın; İkinci Dünya Savaşı’nın ardından, biyoeanolün daha az kullanılması söz konusudur. Bununla birlikte Yom Kippur Savaşı’nda Amerika Birleşik Devletleri’nin (ABD) İsrail Ordusu’na destek vermesi dolayısıyla; 15 Ekim 1973 tarihi itibariyle, “Petrol İhraç Eden Arap Ülkeleri Birliği (Organization of Arab Petroleum Exporting Countries – OAPEC)” tarafından petrol ambargosu uygulanmaya başlanmış ve 1973 Petrol Krizi’nin yaşanması gündeme gelmiştir. Neticesinde de 1973 Petrol Krizi ile birlikte, taşıt yakıtı olarak biyoeanol kullanımının yaygınlaştırılması konusu tekrar gündeme gelmiştir (Vallejos vd., 2017; Shakellya vd., 2023).

Söz konusu edilen bu belirlemeler doğrultusunda; 1975 yılı itibariyle Brezilya Hükümeti tarafından finanse edilen, “Şeker Kamışından Biyoeanol Üretimi Programı” başlatılmıştır. Bu çerçevede de Brezilya’da biyoeanol endüstrisinin, küresel ölçekte önemli addedilmesi söz konusudur. 1978 yılı itibariyle ise, ABD tarafından mısırdan biyoeanol üretilmesine yönelik geniş kapsamlı çalışmalar başlatılmıştır. Brezilya’nın ve ABD’nin ardından da; Kanada, Çin, Avustralya, İspanya, Fransa ve İsveç tarafından

biyoetanol üretim programlarının uygulanmasına başlanmıştır (Lynd vd., 2005; Achinas ve Euverink, 2016).

Biyoetanol üretimi sürecinde ilk olarak, hidroliz yönteminin kullanılması ve süreç içerisinde de hidroliz yönteminin yerini, enzim üretimi yöntemine bırakması söz konusudur. “Tarihsel Süreçte Biyoetanol Üretim Yöntemleri” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.4.’te yer almaktadır.

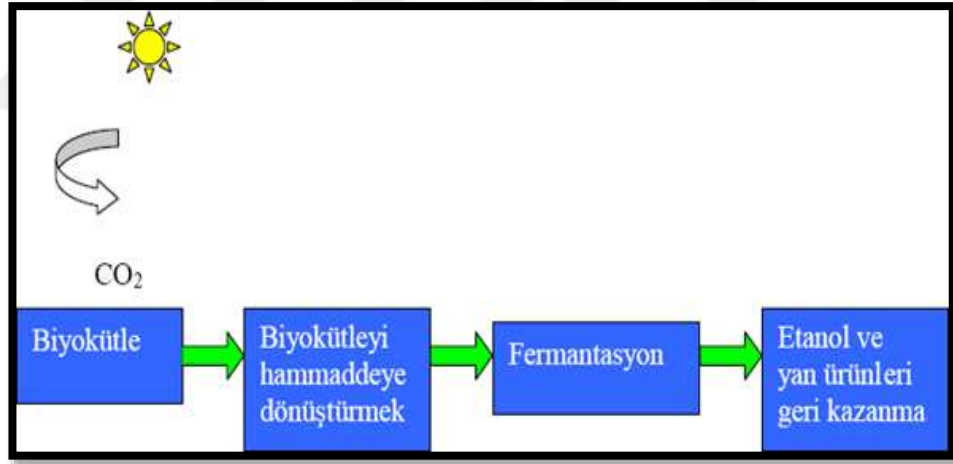


Şekil 2.4 Tarihsel süreçte biyoetanol üretim yöntemleri (Lal, 2009)

Biyokütlenin biyoetanole dönüştürülmesi süreci, aşağıda verildiği şekilde dört aşamalı bir sürece endekslidir (Hammond vd., 2008; Yunoki ve Saito, 2009; Pohit vd., 2009):

1. **Aşama:** Güneş enerjisinin fotosentez ile kimyasal enerjiye dönüştürülmesi ve depolanması doğrultusunda, biyokütlenin üretilmesi aşamasını ifade etmektedir.
2. **Aşama:** Birinci aşama kapsamında üretilen biyokütlenin, farklı üretim prosesleri ve teknolojiler kapsamında kullanılabilecek hammaddelere dönüştürülmesini ifade etmektedir.
3. **Aşama:** İkinci aşama kapsamında dönüştürülen biyokütlenin, biyoetanol üretilmesine yönelik olarak ve katalizatörler kullanılarak fermente edilmesini ifade etmektedir.
4. **Aşama:** Üçüncü aşama kapsamında fermente edilen ve yakıt üretilmesi için biyokütleden elde edilen fermantasyon ürünlerinin, biyoetanole dönüştürülmesini ve yan ürünler olarak geri kazanılmasını ifade etmektedir.

“Biyokütlenin Biyoetole Dönüştürülmesi Süreci” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.5.’te yer almaktadır.



Şekil 2.5 Biyokütlenin biyoetole dönüştürülmesi süreci

Biyoetanol elde yöntemleri; “Dört Teknoloji Platformu Yöntemi”, “Kuru Öğütme ile Etanol Üretimi Yöntemi”, “Yaş Öğütme ile Etanol Üretimi Yöntemi” ve “Şeker Mayalama İşlemine Endeksli Yöntem” kapsamında incelenebilmektedir.

Dört teknoloji platformu yöntemi: Biyoetanol üretiminde Dört Teknoloji Platformu; “Konsantre Asit Hidrolizi Yöntemi”, “Seyreltik Asit Hidrolizi Yöntemi” ve “Enzimatik

Hidroliz Yöntemi” kapsamında, biyokütleden şeker elde edilmesi ve şekerin mayalanması ile etanol üretilmesi ve “Biyokütlenin Gazlaştırılması ve Fermantasyon Yöntemi” kapsamında, biyokütleden hidrojen ve CO gazı ile ardından mayalama ve etanol üretimine yönelik termal yöntemlerin kullanılması bağlamında dört temel yöntemle endeksli değerlendirilebilmektedir.

Konsantre asit hidrolizi yöntemi:Konsantre asit hidrolizi yöntemi ya da asit hidroliz toplama yöntemi; %10 nem içeriğine sahip olan biyokütleyle, %70 ile %77 arasında değişen oranda sülfürik asit eklenerek gerçekleştirilmektedir. Bu süreçte karışımın sıcaklığı 50 °C’de tutulmakta ve %20 ile %30 arasında değişen oranda asit elde edilebilmesi amacıyla, karışıma su eklenmektedir. Su eklenerek elde edilen yeni karışım ise, 1 saat süresince 100 °C’ye maruz bırakılmaktadır. Sürecin sonunda elde edilen jel, asit ve şeker karışımının elde edilebilmesine yönelik olarak preslenmektedir (Demirbaş, 2008; Dias vd., 2009).

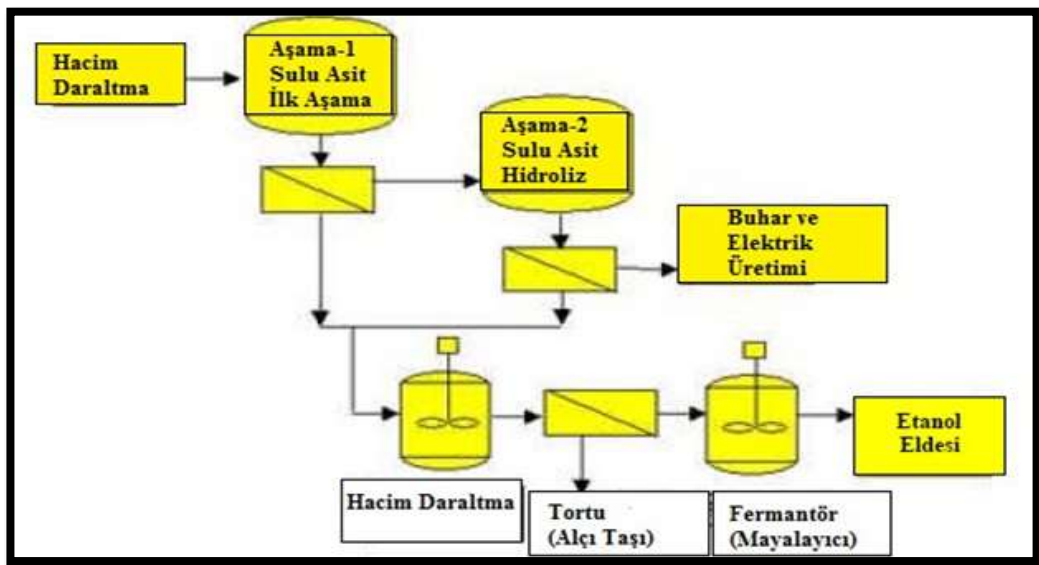
Konsantre asit hidrolizi yönteminin temelini; şekerlerden asidin ayrıştırılması, asidin geri kazanılması ve yeniden konsantre getirilmesi oluşturmaktadır. İfade edilen bu kapsamda uygulanan konsantre asit hidrolizi yöntemine endeksli olarak bu doğrultuda, fermantasyon işlemi ile şekerin etanole dönüştürülmesi söz konusudur. Konsantre asit hidrolizi yöntemi kapsamında dekrizalizasyon işleminin uygulanmasından önce ise; hemiselülozun ayrıştırılmasına yönelik olarak, seyreltik asit ile ön uygulamada bulunmaktadır. Söz konusu edilen ön uygulamanın ardından da; biyokütle, sülfürik asit eklenmeden önce ve asidin absorbe edilebilmesi amacıyla kurutulmaktadır. Belirtilen kapsamdaki işlemler, hidroliz reaktörlerinde gerçekleştirilmektedir (Botella vd., 2009; Talebnia vd., 2010; Wolfaardt vd., 2020).

Seyreltik asit hidrolizi yöntemi: Seyreltik asit hidrolizi yöntemi ya da sulandırılmış asit hidrolizi yöntemi, biyokütleden etanol oluşturulması amacıyla kullanılan en eski ve en verimli yöntem olarak değerlendirilmektedir. Seyreltik asit hidrolizi yöntemi kapsamında sulandırılmış asidin, biyokütleyle sakroza hidroliz edilmesi amacıyla kullanılması söz konusudur. Buna yönelik olarak da seyreltik asit hidrolizi yöntemi kapsamında ilk aşamaya endeksli olarak; biyokütlerde bulunan yarı selülozun hidroliz edilebilmesi için,

180 °C sıcaklık ve %0,7 oranında sülfürik asit kullanılmaktadır. Seyreltik asit hidrolizi yöntemi kapsamında ikinci aşama ise, daha dirençli selüloz parçalarının dağıtılmasının amaçlandığı aşamayı ifade etmektedir. Bu doğrultuda da seyreltik asit hidrolizi yönteminin ikinci aşaması kapsamında, 215 °C sıcaklık ve %0,4 oranında sülfürik asit kullanılması söz konusudur (Hu vd., 2012; Üçüncü vd., 2013; Bhagia vd., 2016; Ariffin vd., 2020).

Seyreltik asit hidrolizi yöntemi, biyokütlenin hemiselüloz ve selüloz kısmından elde edilen şeker düzeyinin maksimize edilebilmesine yönelik olarak iki aşama kapsamında uygulanmaktadır. Seyreltik asit hidrolizi yönteminin birinci aşaması kapsamında, hemiselüloz hidrolizinin daha ılımlı koşullar altında gerçekleştirilmesi söz konusudur. Seyreltik asit hidrolizi yönteminin ikinci aşaması kapsamında ise, daha dayanıklı selülozun hidroliz edilmesine yönelik optimizasyonu söz konusu olmaktadır. Fermantasyon sürecinden de, teorik olarak %90 oranında etanol elde edilmesi beklenmektedir (Sanchez vd., 2004; Kumar ve Gayen, 2011; Zhang vd., 2012; Jang vd., 2018).

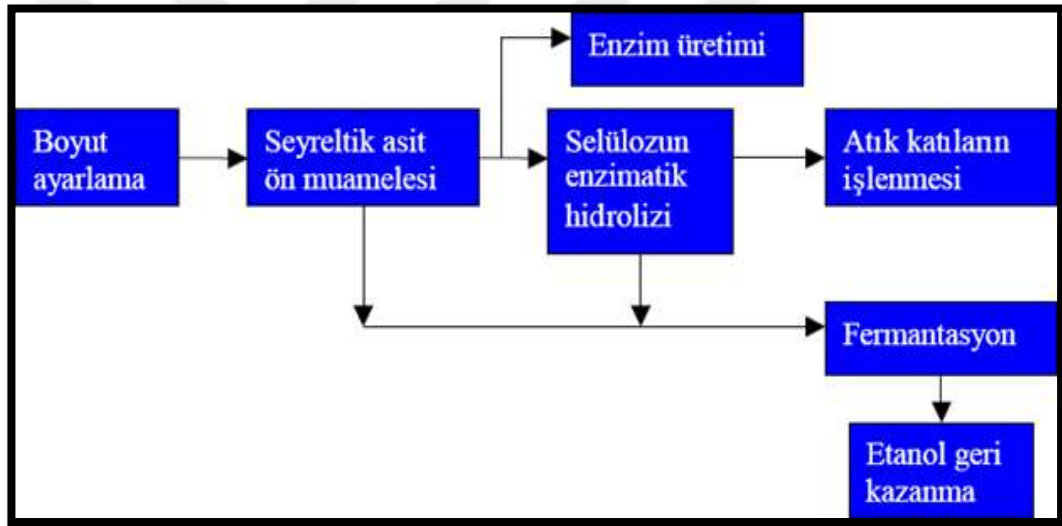
“Seyreltik Asit Hidrolizi Yönteminin Aşamaları” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.6.’da yer almaktadır.



Şekil 2.6 Seyreltik asit hidrolizi yönteminin aşamaları

Enzimatik hidroliz yöntemi: Enzimatik hidroliz yöntemi; biyokütlenin sakroza hidroliz edilmesi sürecinde asit yerine, enzimlerin kullanıldığı yöntemi ifade etmektedir. Bununla birlikte enzimatik hidroliz yöntemi hem diğer yöntemlere göre daha fazla maliyete katlanılmasını gerektirmesi hem de hâlihazırda gelişim sürecinde olması dolayısıyla yaygın olarak kullanılmamaktadır. Enzimatik hidroliz yöntemi kapsamında biyoetanol üretilmesi sürecinde; odunun hidrolizine yönelik ilk enzim uygulaması, basit bir selüloz enzim hidroliz aşaması ile selüloz asit hidrolizinin yer değiştirmesi aşamasına endeksli gerçekleştirilmektedir (Ruiz vd., 2008; Bura vd., 2009; Zhao vd., 2011).

“Enzimatik Hidroliz Yönteminde Hidroliz ve Fermantasyon Süreci” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.7.’de yer almaktadır.

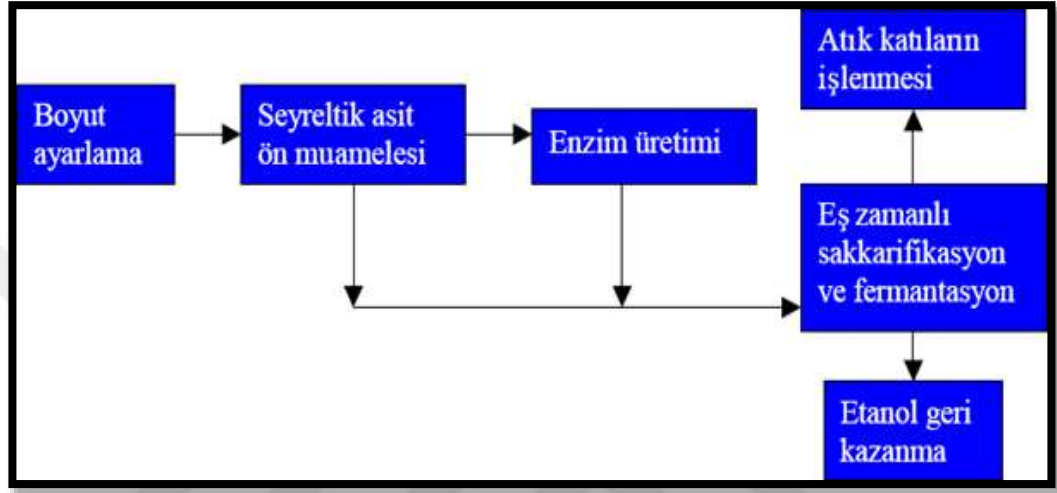


Şekil 2.7 Enzimatik hidroliz yönteminde hidroliz ve fermantasyon süreci

Enzimatik hidroliz yöntemi kapsamında sakkarifikasyon ve fermantasyon işleminin eşzamanlı geliştirilmesi, biyokütlenin enzimatik hidrolizi için önemli bir proses modifikasyonu olma niteliği taşımaktadır. Buna yönelik olarak enzimatik hidroliz yöntemi kapsamında; biyokütlenin enzimatik hidrolizine yönelik olarak, selüloz ve fermente edici organizmalar birleştirilmekte ve şekerlerin ortaya çıkması ile birlikte, fermente edici organizmalar şekerleri etanole dönüştürmektedir. Bu süreçte biyokütlenin ön uygulamaya tabi tutulmasının, selülozun enzimler için daha reaktif hale getirilebilmesi için gerekli olması söz konusudur. Bu temelde de biyokütlenin hem termal hem de

kimyasal işlemlere tabi tutulması gibi, birçok ön uygulamada bulunulması olanaklı olabilmektedir (Slizyte vd., 2005; Thuy vd., 2014).

“Enzimatik Hidroliz Yönteminde Sakkarifikasyon ve Fermantasyon Süreci” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.8.’de yer almaktadır.



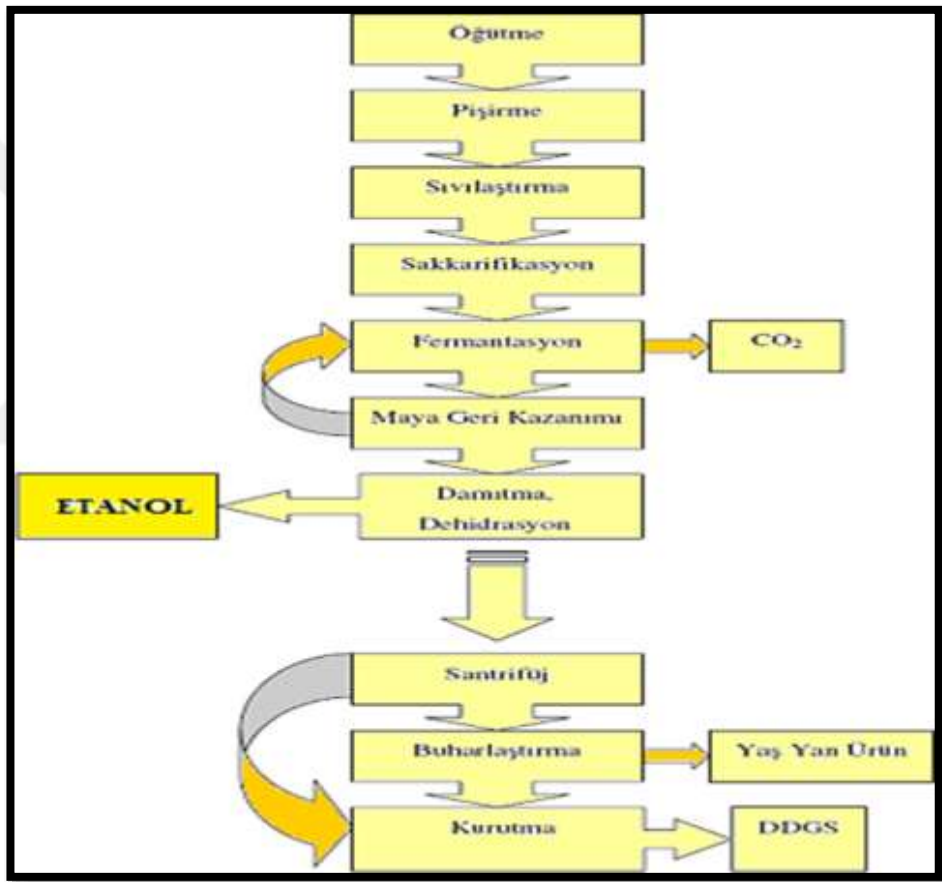
Şekil 2.8 Enzimatik hidroliz yönteminde sakkarifikasyon ve fermantasyon süreci

Biyokütlenin gazlaştırılması ve fermantasyon yöntemi: Biyokütlenin yüksek sıcaklıkta gazlaştırılması ile CO, CO₂ ve H₂ gibi sentez gazlarına dönüştürülmesi sağlanabilmektedir. Bu süreçte ayrıca anaerobik bakteri de, sentez gazlarının biyoetanole dönüştürülmesi amacıyla kullanılmaktadır. Biyokütlenin gazlaştırılması sürecinin ya da gazlaştırma işleminin uygulanmasının, teknik açıdan herhangi bir problem teşkil etmesi söz konusu değildir. Bununla birlikte söz konusu edilen işlemin yüksek maliyetlere katlanılmasını gerektirmesi dolayısıyla, biyokütlenin gazlaştırılması ve fermantasyon yönteminin yaygın olarak kullanılmadığı görülmektedir (Kumar vd., 2009; Klinghoffer vd., 2012; Mai ve Nguyen, 2020).

Kuru öğütme ile etanol üretimi yöntemi: Kuru Öğütme ile Etanol Üretimi Yöntemi; kuru öğütme işlemine endeksli olması doğrultusunda, çekiç öğütme sisteminin kullanılması ile mısır tanelerinin küçük parçalar halinde kırılmasına, temizlenmesine ve un kıvamında mızır tozu üretilmesine dayanmaktadır. Söz konusu işlem kapsamında elde

edilen mısır tozu; mısır tohumu, nişasta ve fiber içermektedir. Mısır tozundan şeker solüsyonu elde edilebilmesi amacıyla da; karışımın enzim ve sulandırılmış asitler kullanılarak, sakroza hidrolize edilmesi söz konusudur. Sürecin sonucunda karışım soğutulmakta ve etanol elde edilmesine yönelik mayalanmaktadır (Murthy vd., 2005; Singh vd., 2006; Taylor vd., 2010; Kumar ve Singh, 2016).

“Kuru Öğütme ile Etanol Üretimi Yönteminin Aşamaları” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.9.’da yer almaktadır.

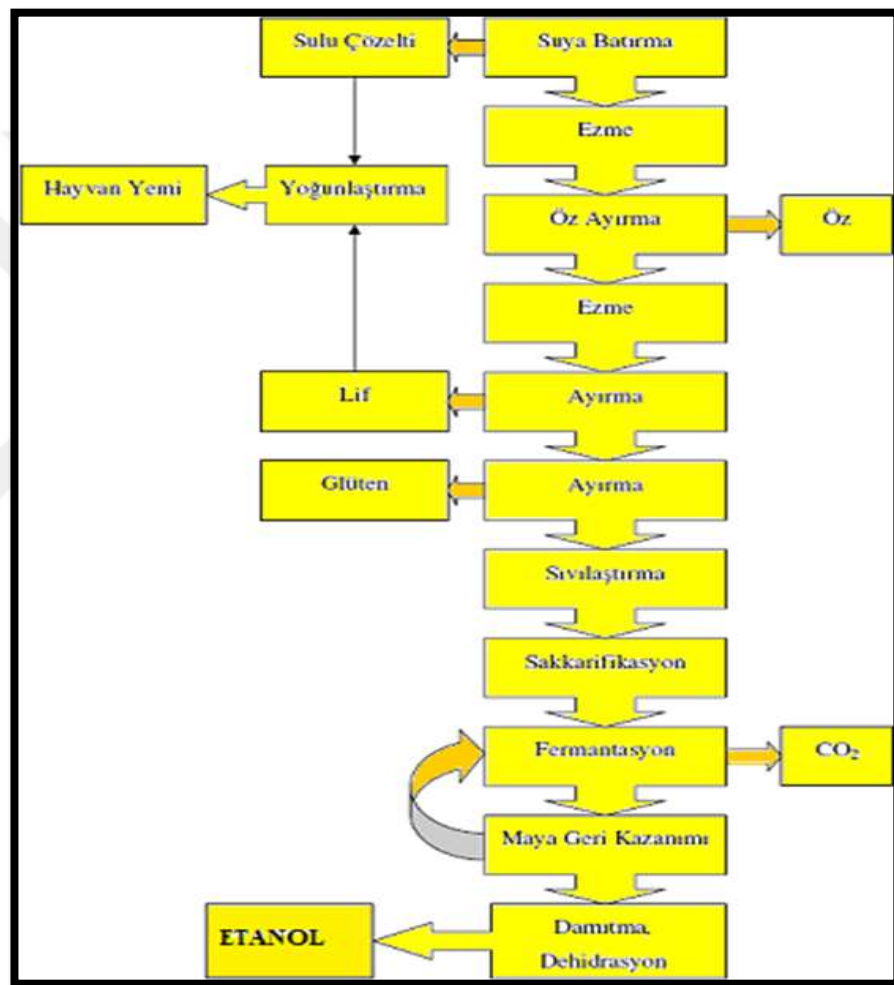


Şekil 2.9 Kuru öğütme ile etanol üretimi yönteminin aşamaları

Yaş öğütme ile etanol üretimi yöntemi: Mısırın, yaş ya da kuru öğütme ile etanole dönüştürülmesi olanaklı olabilmektedir. Yaş Öğütme ile Etanol Üretimi Yöntemi kapsamında; proteinlerin ortaya çıkmasını, nişastanın salınmasını ve öğütme süreci için mısır tanelerinin yumuşatılmasını sağlamaya yönelik olarak, mısır taneleri ılık suya

batırılmaktadır. Ilık suya batırılan mısır tohumları ise; fiber ve yapışkan ezme kısmının oluşturulması amacıyla, santrifüj ve sakkarifikasyon işlemlerine tabi tutulmaktadır. Sürecin sonunda ayırım işleminin ardından ise, etanol elde edilmektedir (Owisa vd., 2023; Katanski vd., 2024).

“Yaş Ögütme ile Etanol Üretimi Yönteminin Aşamaları” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.10.’da yer almaktadır.



Şekil 2.10 Yaş öğütme ile etanol üretimi yönteminin aşamaları

Şeker mayalama işlemine endeksli yöntem: Şeker mayalama işlemine endeksli yöntem kapsamında hidroliz aşaması ile mısır ve selüloz kısımlarının, sonrasında etanole mayalananacak olan şeker karışımlarını hidrolize etmektedir. Bu süreçte maya eklenmekte

ve karışım ısıtılmaktadır. Söz konusu edilen bu süreç; katalizör etkisi yapmakta ve sakrozun, glikoz ve früktoza dönüştürülmesini kolaylaştırmaktadır. Yöntem kapsamında ayrıca, früktozun ve glikozun “zymase” adlı enzimle reaksiyona girmeleri söz konusudur. Zymase enzimi, etanol ve CO₂ üretilebilmesine yönelik olarak mayanın içerisinde yer almaktadır. Mayalama işlemi, yaklaşık üç gün sürmekte ve 250 °C ile 300 °C arasında değişen sıcaklıkta gerçekleştirilmektedir (Wang vd., 2016; Lips, 2021).

2.4 Nesillerine Göre Biyoetanol Üretimi

Nesillerine göre biyoetanol üretimi, üretim türü ve hammadde seçimi bağlamında; “Birinci Nesil Hammaddelerden Biyoetanol Üretimi”, “İkinci Nesil Hammaddelerden Biyoetanol Üretimi”, “Üçüncü Nesil Hammaddelerden Biyoetanol Üretimi” ve “Dördüncü Nesil Hammaddelerden Biyoetanol Üretimi” kapsamında değerlendirilebilmektedir.

2.4.1 Birinci nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi

Birinci nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi; şeker ve nişasta içeren tarımsal ürünlerden ya da birinci nesil (first generation – 1G) hammaddelerden biyoetanol üretilmesini ifade etmektedir. 1G hammaddelerden biyoetanol üretilmesi sürecinde; genel olarak fermantasyon, transesterifikasyon ve anaerobik sindirim gibi basit süreçlerin kullanılması söz konusudur (Clark, 2007; Chisti, 2008).

1G hammaddelerden biyoetanol üretiminin, 1G kapsamında ifade edilen hammaddelerin gıda stoklarına zarar verilmemesi ve biyoçeşitliliğin tehdit edilmemesi amacıyla sınırlandırılmıştır. 1G kapsamındaki hammaddelerin fermantasyon, transesterifikasyon ve anaerobik sindirim süreçlerine tabi tutulması ile biyoetanol elde edilmesi ile birlikte; 1G kapsamındaki tarımsal ürünlerden elde edilen yağ ile de, biyodizel elde edilebilmektedir (Guimarães vd., 2023; Yerizam vd., 2023).

2.4.2 İkinci nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi

İkinci nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi; gıda olarak tüketilemeyen bitkiler, tarımsal kalıntılar, kentsel atıklar ve orman atıkları gibi, lignoselülozik nitelik taşıyan ve ikinci nesil (second generation – 2G) hammaddeler olarak nitelendirilen hammaddelerden biyoetanol üretilmesini ifade etmektedir. 1G hammaddelerin gıda olarak da tüketilebilmeleri dolayısıyla, biyoetanol üretilmesi sürecinde kullanılmalarının tartışma konusu olması söz konusudur. Bununla birlikte 2G hammaddeler gıda dışı biyokütleyle endeksli olduklarından, 2G hammaddelerden biyoetanol üretilmesi daha avantajlı değerlendirilmektedir (Hemansi vd., 2018; Hemansi vd., 2019).

Biyoyakıtlara duyulan ihtiyacın artması doğrultusunda, biyoetanol üretiminde 2G hammaddelerin kullanılmaya başlanması söz konusudur. Bununla birlikte 2G hammaddelerden üretilen biyoetanolün sera gazı emisyonu oranının, 1G hammaddelerden üretilen biyoetanolün sera gazı emisyonu oranından daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir. 2G hammaddelerden biyoetanol üretimi ile biyoetanol üretimi sürecinde hammadde çeşitliliğinin sağlanması, enerji verimliliğinin artırılması ve tarımsal atıklar ile orman atıklarının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır (Gupta vd., 2009; Barros vd., 2014).

2G hammaddelerden üretilen biyoetanol; lignoselülozik hammaddelerden fermantasyon, gazlaştırma ve Fischer – Tropsch (FT) Sentezi ile elde edilmektedir. 2G hammaddelerden üretilen biyoetanol ya da lignoselülozik hammadde kullanımı ile biyoetanol üretilmesi, çevresel atık birikiminin önlenmesini sağlaması açısından da önemli addedilmektedir. Bununla birlikte yapısal bütünlüğün sağlanmasını olanaklı kılan selüloz, hemiselüloz ve lignin içeriğini sahip olan lignoselülozik hammaddelerin; biyoetanol üretimi sürecinde kullanılan şeker içerikli ve nişasta içerikli hammaddelere göre, çok daha bol ve ucuz olması söz konusudur (Melikoğlu ve Albostan, 2011; Kataria ve Ghosh, 2014).

“Lignoselülozik Hammaddeler ve Selüloz, Hemiselüloz ve Lignin İçerikleri (%)” ile ilgili belirlemeler, Çizelge 2.1.’de yer almaktadır.

Çizelge 2.1 Lignoselülozik hammaddeler ve selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri (%)

LİGNOSELÜLOZİK HAMMADDELER	SELÜLOZ	HEMİSELÜLOZ	LİGNİN
Odunsular	40 – 55	24 – 40	18 – 25
Yumuşak Ağaçlar	45 – 50	25 – 35	25 – 35
Fındık Kabuğu	25 – 30	25 – 30	30 – 40
Mısır Koçanı	45	35	15
Çim / Çimen	25 – 40	35 – 50	10 – 30
Kâğıt	85 – 99	0	0 – 15
Buğday Samanı	30	50	15
Ayrılmış Artıklar	60	20	20
Yapraklar	15 – 20	80 – 85	0
Pamuk Kalıntıları	80 – 95	5 – 20	0
Gazete	25 – 40	25 – 40	18 – 30
Kâğıt Üretiminden Arda Kalan Atık Kâğıtlar	60 – 70	10 – 20	5 – 10
Atık Su İçindeki Kalıntılar	8 – 15	NA	24 – 29
Kerestecilik Artıkları	6	28	NA
Bermuda Çimeni	25	35,7	6,4
Dallı Darı	45	31,4	12
Sert Yapılı Ağaç	45 ± 2	30 ± 5	20 ± 4
Sert Yapılı Ağaç Kabuğu	22 – 40	20 – 38	30 – 55

Kaynak: Sun ve Cheng, 2002

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda da, farklı lignoselülozik biyokütlelere endeksli olarak biyoetanol üretilmesi söz konusudur. Bu doğrultuda Kaar ve Holtzaple (2000), Tucker vd. (2003), Schell vd. (2003), Varga vd. (2004) Chena vd. (2007), Öhgren vd. (2007), Yan vd. (2008), Kumar ve Wyman (2009), Qing vd. (2010), Eckard vd. (2013), Eckard vd. (2014), Wang vd. (2014), Yarbrough vd. (2015) ve Lu vd. (2016), mısır koçanından biyoetanol üretilmesine yönelik çalışmalarını gerçekleştirmiştir.

Kristensen vd. (2007), Gao vd. (2012), Agarawal vd. (2017) ve Alarcón vd. (2021), çalışmaları kapsamında, buğday sapından biyoetanol üretmişlerdir. Cao vd. (2012), tatlı sorgumdan biyoetanol üretilmesine yönelik çalışmada bulunmuşlardır. Oberoi vd. (2010), Abraham vd. (2016), Satlewal vd. (2017) ve Phitsuwan vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında, pirinç sapından biyoetanol üretilmiştir.

Tye vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında ise; %80 selüloz içeriğine sahip olmak doğrultusunda pamuğun, diğer lignoselülozik hammaddelere göre biyoetanol üretimi açısından çok daha fazla potansiyel sağladığı belirlenmiştir.

2.4.3 Üçüncü nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi

Üçüncü nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi; genel olarak yüksek verimlilik sağlayan algler ya da üçüncü nesil (third generation – 3G) hammaddeler kullanılarak biyoetanol üretilmesini ifade etmektedir. 3G hammaddelerden elde edilen biyoetanolün, 1G ve 2G hammaddelerden elde edilen biyoetanole göre daha fazla verimlilik sağlaması söz konusudur. Bununla birlikte 3G hammaddeler; CO₂ salınımı ve atık üretimi gibi çevre sorunlarına neden olmamaları ve yetiştikleri sulak alanlarda, su içerisinde bulunan zararlı içerikleri bünyelerine alarak suyu temizlemeleri dolayısıyla, çevresel sürdürülebilirliğin sağlanması açısından önemli görülmektedirler (Schultz – Jensen vd., 2013; Sitompul ve Maftuhin, 2020).

3G hammaddelerden biyoetanol üretilmesi süreci, alglerin mayalanması ile açığa çıkan karbonhidratların kullanılmasına dayanmaktadır. Bu doğrultuda 3G hammaddelerden biyoetanol üretilmesi ile lignoselülozik kaynaklardan selülozik kaynaklara geçilmesinin ve entegre biyorafineri teknolojilerinin kullanılması doğrultusunda, çok daha yüksek oranda yağ ve selüloz içeren genetiği değiştirilmiş bitkiler ile alglerin kullanımının sağlanması amaçlanmaktadır (Behera vd., 2015; Neifar vd., 2016).

2.4.4 Dördüncü nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi

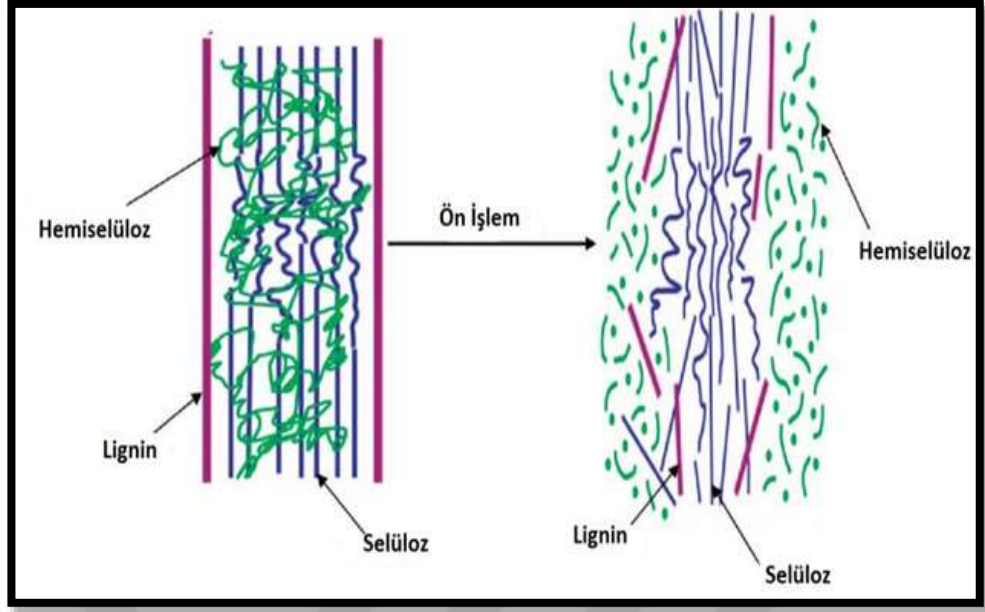
Dördüncü nesil hammaddelerden biyoetanol üretimi; yeni nesil ya da dördüncü nesil (fourth generation – 4G) hammaddeler olarak nitelendirilen hammaddelerden, ultra temiz karbon negatif biyoyakıtlar üretilmesini ifade etmektedir. 4G hammaddelerden biyoetanol üretilmesi sürecinde; mükemmelleştirilmiş hammaddelerin kullanılması ile elde edilen biyoyakıtların, karbon tutma ve depolama teknolojilerine endeksli olarak atmosfere CO₂ salgılamaması öngörülmektedir (Alalwana vd., 2019; Cavelius vd., 2023).

4G hammaddelerden biyoetanol üretilmesi ile sürdürülebilir enerji üretiminin sağlanması, CO₂'nin tutulması ve depolanması amaçlanmaktadır. Bu kapsamda elde edilen biyoyakıtlar ise; karbon tutma ve depolama özelliğine sahip olmaları doğrultusunda, aynı zamanda karbon negatif biyoyakıtlar olarak nitelendirilmektedir. 4G hammaddelerden biyoetanol üretilmesinin, 2030'lu yıllardan yaygınlaştırılmasının öngörülmesi söz konusudur (Sharma ve Sharma, 2018; Lin ve Lu, 2021).

2.5 Biyoetanol Üretiminde Kullanılan Biyokütle Uygulanan Ön İşlemler

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütle uygulanan ön işlemler ile lignoselülozik hammaddede mevcut olan selüloz ve hemiselüloz fraksiyonunun depolimerize edilerek, fermente şekerlere dönüştürülmesi sağlanmaktadır (Sørensen vd., 2008; Rahaman vd., 2023; Juneja vd., 2023).

“Biyoetanol Üretiminde Kullanılan Lignoselülozik Hammaddeye Uygulanan Ön İşlem Sonucu Yapısal Değişim” ile ilgili belirlemeler, Şekil 2.11.'de yer almaktadır.



Şekil 2.11 Biyoetanol üretiminde kullanılan lignoselülozik hammaddeye uygulanan ön işlem sonucu yapısal değişim

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleğe uygulanan ön işlemler; “Fiziksel ve Fizikokimyasal Ön İşlemler”, “Kimyasal Ön İşlemler” ve “Biyolojik Ön İşlemler” kapsamında incelenebilmektedir.

2.5.1 Fiziksel ve fizikokimyasal ön işlemler

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleğe uygulanan ön işlemler kapsamında fiziksel ön işlemler ile biyokütlenin tane büyüklüğünün ve selüloz kristalinitesinin azaltılması sağlanmaktadır. Fiziksel ön işlemler ile biyokütlenin tane büyüklüğünün azaltılması ise, yüzey alanında artışa neden olmaktadır. Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleğe uygulanan fiziksel ön işlemler ile genel olarak; biyokütlenin öğütülmesi, kırılması, ultrasonik hücre bozulmalarının sağlanması ve diğer mekanik yöntemlerin kullanılması doğrultusunda parçalanması kapsamında gerçekleştirilmektedir (Wang vd., 2016; Khan vd., 2022).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleğe uygulanan bazı mekanik ön işlemler; biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleğe uygulanacak kimyasal ön işlemlerden ya da

biyolojik ön işlemlerden önce, biyokütlerde partikül boyutunun elde edilebilmesi açısından ön koşulu niteliği taşımaktadır. Bununla birlikte biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleye uygulanan mekanik ön işlemler kapsamında gerçekleştirilen; bilyalı değirmende öğütme işlemi gibi bazı kapsamlı mekanik ön işlemlerin, selüloz kristalliğinin parçalanması ile biyokütlenin parçalanabilirliğini artırdığı ve bu doğrultuda da tek başına kullanılabildiği görülmektedir. Ancak söz konusu edilen mekanik ön işlemin yüksek güç tüketimine neden olması dolayısıyla, sıklıkla kullanılması olanaklı olamamaktadır (Zhu vd., 2010; Zheng vd., 2014).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleye uygulanan mekanik ön işlemler, bilyalı değirmende öğütme haricinde; “iki silindirli öğütme”, “kolloid freze değirmeni ile öğütme ya da kolloid frezeleme”, “çekiç ile öğütme ya da çekiç frezeleme” ve “vibrasyon motoruyla ve titreşim enerjisiyle öğütme ya da vibro enerji frezelemesi” kapsamında değerlendirilebilmektedir (Taherzadeh ve Karimi, 2008; Zhou vd., 2018).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleye uygulanan fiziksel ön işlemler, “Ekstrüzyon” ve “Piroliz” kapsamında incelenmektedir.

Ekstrüzyon: Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleye uygulanan ve diğer ön işlemlerle kıyaslandığında, görece yeni bir uygulamayı ifade eden fiziksel ön işlem yöntemidir. Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleye uygulanan ekstrüzyon fiziksel ön işlem yöntemi kapsamında; biyokütlerin ekstrüder boyunca geçişleri sürecinde fiziksel ve kimyasal değişikliklere maruz kalmalarını sağlayacak ısıtma, karıştırma ve kesme işlemlerine tabi tutulmaları söz konusudur (Kadam ve McMillan, 2003; Karunanithy vd., 2013).

Ekstrüzyon proseslerinin uygulanması sürecinde; verimliliğin maksimize edilebilmesine yönelik olarak, farklı biyoreaktör parametrelerinin gözetilmesi gerekmektedir. Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda da; ekstrüzyon fiziksel ön işlemi sürecinde enzimlerin uygulanmasının, biyoetanol üretimi açısından önemli bir teknoloji olma niteliği taşıdığı belirlenmiştir (Varga vd., 2003; Hu ve Wen, 2008; Lee vd., 2009).

Piroliz :Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütlenin 300 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda işlenmesi doğrultusunda, bozundurulması ile parçalanması fiziksel ön işlem yöntemini ifade etmektedir. Piroliz fiziksel ön işlem yöntemi, oksijensiz ortamda uygulanmakta ve bu doğrultuda da, biyokütlenin bozundurulması işleminin olabildiğince yavaş gerçekleşmesi sağlanmaktadır. 300 °C'den daha düşük sıcaklıklarda ise biyokütlenin ayrışmasının yavaş olması dolayısıyla, oluşan ürünlerin daha az uçucu olması gündeme gelmektedir (Yu vd., 2014; Verardi vd., 2018).

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda; piroliz fiziksel ön işlem yönteminden elde edilen ürünlerin hafif asit hidrolizinin, %50 ile %80 arasında değişen oranlarda indirgen şekerlere ve %80 ile %85 arasında değişen oranlarda selüloza dönüşümünün sağlanması ile daha ileri düzeyde bir işlem gerçekleştirilebildiği belirlenmiştir (Singh vd., 2014; Torr vd., 2016; Soam vd., 2018).

Biyokütle – FT – biyoetanol eldesi sürecine yönelik uygulanan ön işlemler kapsamında talaşlamanın, topaklaştırmanın, pirolizin ve torrefekasyonun etkinliğinin ve verimliliğinin karşılaştırıldığı çalışmalar doğrultusunda; piroliz ön işleminin, talaşlama ve topaklandırmadan ön işlemlerinden ve torrefekasyon ön işleminin de, piroliz ön işleminden çok daha etkin ve verimli sonuç elde edilmesini sağladığı bulgulanmıştır (Zwart vde., 2006; Luque vd., 2012; Ail ve Dasappa, 2016; Mahmoudi vd., 218).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleye uygulanan fizikokimyasal ön işlemler ise; “Buhar Patlaması (Otohidroliz)”, “Sıcak Su Ekstraksiyonu”, “Amonyak Fiber Patlaması (Ammonia Fiber Explosion – AFEX)” ve “CO₂ Muamelesi” kapsamında incelenebilmektedir.

Buhar Patlaması (Otohidroliz) Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleye uygulanan fizikokimyasal ön işlemler içerisinde en yaygın olarak kullanılan yöntemi ifade etmektedir. Buhar patlaması yöntemi kapsamında, biyokütle yüksek basınçlı doymuş buharla işleminden geçirilmekte ve ardından da basıncın hızla azalması sağlanmaktadır. Söz konusu edilen bu süreç ise, biyokütlenin patlayıcı bir dekompresyona uğramasına neden olmaktadır (Foust vd., 2009; Bals vd., 2012).

Buhar patlaması genel olarak; biyokütlenin atmosfer basıncına maruz kalmasının ardından birkaç saniye ile birkaç dakika arasında değişen bir süre, 160 °C ile 260 °C arasındaki sıcaklıkta ya da basınç değeri karşılığı olarak, 0.69 MPa ile 4.83 MPa arasındaki basınçta başlatılmaktadır. Bu kapsamda buhar patlaması işlemi ile yüksek sıcaklığa maruz bırakılmasıyla, hemiselülozun bozunması ve ligninin dönüşümü sağlanmaktadır. Neticesinde de bu süreç ile selülozun hidroliz olma potansiyeli artırılmaktadır. Söz konusu edilen bu kapsamda da buhar patlaması ön işlem yönteminin işlem prosesleri; işlem süresi, tane büyüklüğü, sıcaklık ya da basınç ve ne içeriği gibi parametreleri bağlamında ifade edilebilmektedir (Duff ve Murray, 1996; Dey ve Bhaskarwar, 2021).

Hemiselülozun optimal çözündürme ve hidroliz işlemleri; 270 °C gibi yüksek bir sıcaklıkta ve 1 dakika gibi kısa bir işlem süresinde ya da 190 °C gibi daha düşük bir sıcaklıkta ve 10 dakika gibi daha uzun bir işlem süresinde gerçekleştirilebilmektedir (Palve vd, 2021; Sharma vd., 2021). Konu ile ilgili çalışmalar ise; hemiselülozun çözündürme ve hidroliz işlemlerinin daha düşük sıcaklıkta ve daha uzun işlem süresinde gerçekleştirilmesinin, daha elverişli sonuçlar sağladığını göstermektedir (Patil vd., 2021; Bordoloi vd., 2021).

Buhar patlaması ön işlem yöntemi; yüksek oranda biyokütle girişi sağlaması, daha düşük enerji ihtiyacı gerektirmesi ve kimyasal içermeyen bir sürece endeksli olması doğrultusunda, birçok avantaja sahip bir ön işlem yöntemi olma niteliği taşımaktadır. Bununla birlikte buhar patlaması ön işlem yöntemi proseslerinin; özellikle büyük ölçekli projelerin uygulanması sürecinde, mayalarda toksik bileşikler oluşması ve ölçeklendirme esnasında teknik risk oluşturabilmesi açısından hassasiyetle değerlendirilmesi gerekmektedir (Sydney vd., 2021; Dias vd., 2021).

Sıcak Su Ekstraksiyonu: Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle hızlı dekompresyon yapılmasını ve herhangi bir katalizör kullanılmasını gerektirmeyen bir hidrotermal ön işlem yöntemi olarak ifade edilebilmektedir. Sıcak su ekstraksiyonu sürecinde biyokütleyle basınç; suyun, 160 °C ile 240 °C arasında değişen yüksek bir sıcaklıkta sıvı halde tutulabilmesi ve lignoselülozun yapısında değişiklik

oluşturulabilmesi amacıyla uygulanmaktadır. Sıcak su ekstraksiyonu sürecinde sıcak suyun sıvı halde tutulmasının amacı ise; selülozun erişilebilirliğinin artırılmasını olanaklı kılmak ve inhibitörlerin oluşumunun önlenmesine yönelik olarak, başlangıçta hemiselülozun çözündürülmesini sağlamak olarak ifade edilmektedir (Shamsuddin vd., 2021; Shrestha vd., 2021).

Söz konusu edilen bu kapsamda sıcak su ekstraksiyonu sürecinde; katı selüloz bakımından zengin bir fraksiyon ve hemiselülozdan türetilmiş şekerler açısından zengin sıvı bir fraksiyon olmak üzere, biyokütleden filtrelenebilir iki bulamaç fraksiyonu elde edilmektedir. Bu süreçte inhibitörlerin oluşumunun önlenmesi amacıyla da, ön işlem kapsamında pH değerinin 4 ile 7 arasında değişen bir düzeyde belirlenmesi söz konusudur (Saqib vd., 2021; Reshmy vd., 2021).

Amonyak Fiber Patlaması (Ammonia Fiber Explosion – AFEX): Amonyak Fiber Patlaması (Ammonia Fiber Explosion – AFEX); lignoselülozik biyokütleyle, 60 °C ile 100 °C arasında değişen düşük bir sıcaklıkta ve belirli bir süre yüksek basınçta sıvı amonyak ile muamele edilen ve etki derecesi yüksek olan bir fizikokimyasal ön işlem yöntemi olarak ifade edilebilmektedir. Bu kapsamda AFEX sürecinde; basıncın düşürülmesi ile birlikte, amonyak gazının hızlı bir şekilde genleşmesi sağlanmakta ve bu doğrultuda da biyokütlenin liflerinin şişmesi ve fiziksel bozunması ile selülozun kısmen kristalleşmesi olanaklı kılınmaktadır (Mallakpour ve Naghdi, 2021; Ananno vd., 2021).

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda; AFEX'in otsu bitkiler gibi düşük lignin içeriğine sahip olan biyokütleler üzerinde, odun gibi yüksek lignin içeriğine sahip olan biyokütlelere göre daha etkili olduğu bildirilmiştir (Fernández – Ochoa vd., 2021; Rashid vd., 2021).

Buhar patlaması gibi ön işlemlerin, katı ve sıvı fraksiyonlara ayrılabilen bir biyokütle bulamacı üretilmesini sağlamaları söz konusudur. Bununla birlikte AFEX ile sadece önceden muamele edilen bir katı madde üretilmesi olanaklı olabilmektedir. Bu doğrultuda AFEX sürecinde; katı maddenin küçük bir bölümünün çözünür hale getirilmesi ve

hemiselüloz ile ligninden uzaklaştırılması söz konusu olmaktadır (Khatiwada vd., 2021; Santana vd., 2021).

AFEX sürecinde ayrıca; hemiselülozun deasetilasyonu da gözlemlenmekte ve sürecin ardından, biyokütlenin parçalanabilirliği artmakta ve bu doğrultuda enzimatik hidroliz daha yüksek verimle gerçekleştirilebilmektedir. AFEX ön işlemi ile yüksek uçuculuğu bulunmasına karşın, amonyak geri kazanımı olanaklı olabilmektedir. Ancak amonyak geri kazanımının kompleks ve zor olması, AFEX ön işleminin en önemli dezavantajı olarak nitelendirilmektedir (Bwapwa, 2021; Akubude vd., 2021).

CO₂ Muamelesi: CO₂ muamelesi ön işlem yöntemi; CO₂'nin gaz halinin kullanılmasına dayanmakla birlikte, kritik noktanın üzerindeki sıcaklıklarda sıvıya benzer bir yoğunluğa kadar sıkıştırılması ile süperkritik akışkan olarak kullanılabilmesine dayanan bir ön işlem yöntemini ifade etmektedir. Süperkritik CO₂ (SC – CO₂), genel olarak ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte SC – CO₂'nin, sağladığı birçok avantaj dolayısıyla sadece ekstraksiyon amacıyla kullanılmaması söz konusudur (Evans ve Egharevba, 2021; Adetunji vd., 2021).

Sulu çözeltide CO₂ polimerler, hidrolizin desteklenmesini sağlayan karbonik asit oluşturmaları olanaklı kılmaktadır. Bununla birlikte CO₂ molekülleri; büyüklük açısından su ve amonyak ile mukayese edilebilmekte ve biyokütlenin küçük gözeneklerine nüfuz edebilmektedir. Neticesinde de bu süreç, yüksek basınç ile kolaylaştırılabilmektedir. CO₂ muamelesi ile selüloz ve hemiselüloz yapısının bozunması sağlanabilmekte ve sürecin sonunda, fermente edilebilir şeker üretimi gerçekleştirilebilmekte ya da enzimatik ön işlem gibi ön işlemler için uygun ortama oluşturulabilmektedir (Mehmood vd., 2021; Palvasha vd., 2021).

2.5.2 Kimyasal ön işlemler

Biyooetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan ön işlemler kapsamında kimyasal ön işlemler ile biyokütlenin moleküllerine hidrolize edilmesi ve hidroklorik asit, sülfürik asit ve sodyum hidroksit gibi bir asit ya da alkali ajanın eklenmesi söz konusu

olmaktadır. Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan kimyasal ön işlemler kapsamında asitler, ligninin ayrıştırılabilmesi ve selülozun enzimatik hidrolize uğraması amacıyla kullanılmaktadır. Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan asit ön işleminin ise; derişik asitlerle, seyreltik asitlerle ve zayıf organik asitlerle gerçekleştirilmesi söz konusudur. Bu süreçte derişik ve seyreltik formlardaki sülfürik asit ve hidroklorik asit gibi güçlü asitler, biyokütlenin fraksiyonlanmasında kullanılmaktadır (Abraham vd., 2014; Sahoo vd., 2021).

Konu ile ilgili araştırmalar doğrultusunda; biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan kimyasal ön işlemler kapsamında alkali ön işleminin, farklı biyokütle besleme stoklarının artırılabilmesi açısından verimli sonuç elde edilmesini sağladığı bildirilmiştir. Bu temelde biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan kimyasal ön işlemler kapsamında alkali ön işleminin, daha düşük sıcaklı ve basınç olanağı sağlaması dolayısıyla tercih edilmesi söz konusudur. Bununla birlikte alkali ön işlemin; fermantasyon sırasında inhibisyon derecesini azaltmakta ve biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan kimyasal diğer ön işlemlere göre, maliyet avantajı sağlamaktadır (Zhao vd., 2013; Afolabi vd., 2017; Yu vd., 2017).

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda ayrıca; biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan kimyasal ön işlemler kapsamında sodyum hidroksit (NaOH) ile gerçekleştirilen ön işlemin, selülozik kristallikte ve polimerizasyon derecesinde azalmaya neden olan şişmeye yol açtığı bildirilmiştir (Yeh vd., 2016; Xiu vd., 2017; Zhang vd., 2020).

Bununla birlikte konu ile ilgili çalışmalara endeksli olarak; biyokütlenin yüzey alanındaki artışın, lignin ve karbonhidratlar arasındaki yapısal bağların kırılmasının ve lignin yapısının bozulmasının, seyreltik sodyum hidroksit ile gerçekleştirilen ön işlemlerle olanaklı olabileceği gösterilmektedir. Bu kapsamda asit ön işlemlerinin, selülozik hammaddelerin dönüştürülmesi sürecinde daha yüksek verimlilik sağladığı ve bu doğrultuda da daha fazla tercih edildiği belirtilmektedir. Asit ön işleminin sürecinde oluşan toplam fermantasyon şeker miktarını; sıcaklık, süre, substrat miktarı ve asit konsantrasyonu kapsamındaki

çeşitli parametreler önemli ölçüde etkilemektedir (Widodo vd., 2015; Thompson vd., 2016; Wang vd., 2019).

Seyreltik Asit Ön İşlemi: Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan seyreltik asit ön işlemi, biyokütlenin selüloz yapısının kristalin özelliğini bozmak olanaklı olmaktadır. Bu süreçte ise hemiselüloz, büyük ölçüde fermente edilebilir şekerlere parçalanmaktadır. Süreç kapsamında ayrıca; fermantasyon basamağındaki mikroorganizma metabolizmasını etkileyebilecek düzeyde ve furfural bozunum bileşiği, hidroksimetil furfural bozunum bileşiği ve aromatik lignin bozunum bileşiği gibi bozunum bileşikleri oluşabilmektedir (Thanh vd., 2013; Sugumaran vd., 2014).

Seyreltik asit ön işlemi; gereksinim duyulan ön işlemin şiddetine endeksli olarak, bir süre 120 °C ile 200 °C arasında değişen geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleştirilebilmektedir. Bu kapsamda seyreltik asit ön işlemi, yüksek reaksiyon hızı ve hidroliz verimliliği sağlayabilmektedir. Bununla birlikte seyreltik asit ön işlemi; nötralizasyon ve atık su arıtımı gerektirmesi dolayısıyla yüksek miktarda bozunma ürünleri, ekipman korozyonu ve proses karmaşıklığı gibi birtakım dezavantajlara da sahip olan bir ön işlem olma niteliği taşımaktadır (Sparrevik vd., 2014; Sobieszuk vd., 2017).

Alkali Ön İşlemi: Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan alkali ön işlemi; NaOH, KOH, Ca(OH)₂ ve amonyak gibi çözeltiler kullanılması doğrultusunda, daha kısa süreye endeksli olarak yüksek sıcaklık değerlerinde ya da daha uzun süreye endeksli olarak oda sıcaklığında gerçekleştirilmektedir. Alkali ön işlemi ile biyokütlenin şişmesinin sağlanması, iç yüzey alanının artmasının olanaklı kılınması ve selüloz kristalinitesinin azaltılması ile yüzey alanına bağlı olarak parçalanma veriminin artırılması amaçlanmaktadır (Ruiz vd., 2016; Powell vd., 2016).

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda; alkali ön işleminin, tarımsal kalıntılar gibi düşük lignin içeriğine sahip olan biyokütle ile daha etkin sonuçlar elde edilmesini olanaklı kıldığı gösterilmiştir. Bununla birlikte konu ile ilgili çalışmalarda; alkali ön işleminin, ağaç gibi yüksek lignin içeriğine sahip olan biyokütle ile daha az etkin sonuçlar elde edilmesine neden olduğu bildirilmiştir (Ouda vd., 2016; Periyasamy vd., 2018).

Oksidatif Ön İşlem: Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan oksidatif ön işlem; selülozun basit şekerlere dönüşümünün artırılabilmesine yönelik olarak, oksijen ve hidrojen peroksit gibi oksidanlar kullanılarak lignin ve hemiselülozun uzaklaştırılmasını ifade etmektedir. Oksidatif ön işlem sürecinde ligninin bozunmasını sağlamaya yönelik kullanılan mekanizmalar, reaksiyon koşullarına ve kullanılan oksidanlara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Mukherjee vd., 2008; Ning vd., 2018).

Oksidatif ön işlem; ozon ön arıtımının sağlanmasına yönelik, ozon konjuge çift bağlara ve yüksek elektron yoğunluğuna sahip olan fonksiyonel gruplara karşı oldukça reaktif etkiye bulunmaktadır. Bu doğrultuda da oksidatif ön işlem ile doymamış bağlarla zenginleştirilen ligninin; aromatik asitler ve alifatik karboksilik asitler de dahil olmak doğrultusunda, daha az molekül ağırlığına sahip olan çözünür asidik bileşikler oluşturulabilmesi amacıyla ozon ile okside olma ihtimalinin artırılması olanaklı olmaktadır (Monlau vd., 2013; Liu vd., 2019).

Oksidatif ön işlem; biyokütlenin *in vitro* parçalanabilirliğinde artış sağlamak ve diğer kimyasal ön işlemlerden farklı olarak, zehirli atıklar üretmemektedir. Oksidatif ön işlem; buğday samanı, yeşil saman, pamuk saman, küspe, çam, yer fıstığı ve kavak testeresi gibi biyokütlelerde, lignin ve hemiselülozun parçalanabilmesi amacıyla kullanılabilir. Oksidatif ön işlem sürecinde genel olarak ligninin parçalanması söz konusu olmakla birlikte, hemiselülozun da bu süreçte az da olsa etkilenmesi sağlanabilmektedir. Bununla birlikte oksidatif ön işlemin, selülozu etkilemesi olanaklı olamamaktadır (Koutinas vd., 2014; Liu vd., 2015).

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda; oksidatif ön işleminin kullanılması ile ligninin %60 oranında uzaklaştırılmasıyla, enzimatik hidroliz oranının beş kat artırılabilirdiği ve enzimatik hidroliz veriminin, %57'ye yükseltilebildiği bildirilmiştir. Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda ayrıca; ozonoliz kavak talaşının oksidatif ön işleme tabi tutulmasının ardından enzimatik hidroliz oranının, lignin oranının %29'dan %8'e düşürülmesi ile artırıldığı gösterilmiştir (Ji vd., 2017; Ho vd., 2018).

Oksidatif ön işlemleri, reaksiyonların oda sıcaklığında ve normal oksidatif ön basınçla gerçekleştirilmesini sağlaması bakımından avantajlı bir ön işlem yöntemi olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte oksidatif ön işlem; yüksek seçiciliğe sahip olmasına ve olumlu çevresel etkilerine karşın, kütle transferi sorunları ve maliyet avantajı sağlamaması dolayısıyla ön işlem sürecinin büyük oranda sınırlandırılmasına neden olmaktadır (García – Cubero vd., 2009; Hidalgo vd., 2015).

Organik Çözücü Ön İşlemi: Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan organik çözücü ön işlemi; lignin ve hemiselülozun çıkartılabilmesine yönelik olarak etanol, metanol, etilen, aseton ve glikol gibi organik çözücülerin ya da bu organik çözücülerin katalizörlü veya katalizörlü olmayan karışımlarını içeren organik çözücülerin kullanıldığı ön işlem yöntemini ifade etmektedir. Bu doğrultuda organik çözücü ön işlemi ile selülozun yüzey alanı ve gözenek hacmi artmaktadır (Gwak vd., 2017; Fan vd., 2017).

Organik çözücü ön işlemi ile nispeten saf bir lignin ve karbonhidratlar, sırasıyla katılar ve şurup olarak izole edilebilmektedir. Bununla birlikte organik çözücü ön işlemi ile yan ürünlerin geri kazanılması olanaklı olabilmektedir. Bununla birlikte organik çözücü ön işlemi; organik çözücünün uçucu olması dolayısıyla, kimyasal geri kazanım sorununu gündeme getirmektedir. Bu durum ise; organik çözücü ön işleminin, endüstriyel ölçekte ve yaygın ölçüde kullanılmasını engelleyen bir durum olarak değerlendirilmektedir (Zhao vd., 2009; Degfie vd., 2019).

2.5.3 Biyolojik ön işlemler

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan biyolojik ön işlemler; mayalanabilir şekerlerin serbest bırakılması amacıyla, biyokütlenin dönüştürülebilmesi için mikroorganizma ve enzimlerin kullanılmasını ifade eden bir ön işlem yöntemidir (Datta vd., 2018; Chen vd., 2018). Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda; biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan biyolojik ön işlemlere endeksli olarak, bazı mantar ve bakterilerin lignin ile bazı hemiselülozları biyokütleden ayırma yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda ayrıca; lignin ile bazı hemiselülozları biyokütleden ayırma yeteneğine sahip olan bazı mantar ve bakterilerin,

selüloz üzerinde çok az etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Zira selülozun biyolojik ön işleme tabi tutulabilmesi için, biyokütlenin diğer kısımlarına göre daha fazla direnç uygulanması gerekmektedir (Barakat vd., 2014; Chalima vd., 2017; Bušić vd., 2018).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan biyolojik ön işlemler kapsamında biyokütle ön muamelesinde; kahverengi mantar, beyaz mantar ve yumuşak çürük mantarlar gibi farklı mantar türleri kullanılabilmektedir. Bu doğrultuda da biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan biyolojik ön işlemler, proses aşamasının tamamlanma süresinin uzatılmasını olanaklı kılan düşük hidroliz oranı sağlamaktadır (Harun ve Danquah, 2011; Anukam vd., 2019).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan biyolojik ön işlemler kapsamında; ligninin bozulmasını sağlayabilen mikroorganizmaların, biyokütle üzerinde büyümesine izin verilmekte ve bu doğrultuda da, lignin bozulma süreci hızlandırılmaktadır. Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan ana biyolojik ön işlemler, mantarları ve enzimlerini içermektedir. Söz konusu edilen bu kapsamda da biyolojik ön işlemler ile lignin hidrolizi sürecinde, hemiselülozun ksilan ve mannan bileşenleri önemli oranda giderilebilmektedir (Angosto vd., 2015; Zhu vd., 2015).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan ana biyolojik ön işlemler, biyokütleyle uygulanan en verimli ön işlem yöntemleri olarak nitelendirilmektedir. Zira biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan ana biyolojik ön işlemler ile ağırlıklı olarak kahverengi mantar, beyaz mantar ve çürükçül mantar mikroorganizmaları kullanılarak, lignin ve hemiselülozları seçici bir şekilde parçalanabilmekte ve geri kalan katıların ise, enzimatik sindirilebilirliği artırılmaktadır (Shuping vd., 2010; Valdez vd., 2014).

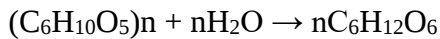
Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda; beyaz çürük mantarların peroksidazlar ve lakkazlar gibi lignin parçalayıcı enzimlerin üretilmesi aracılığıyla, ligninin indirgenmesi için en etkili mantar olduğu bildirilmiştir. Zira beyaz çürük mantarların, lignini parçalaması sürecinde çok etkili ve seçici olması söz konusudur. Bununla birlikte beyaz

çürük mantarların biyolojik ön işlem sürecindeki hidroliz oranının, endüstriyel prosesler açısından oldukça düşük olduğu görülmektedir (Akbaş ve Stark, 2016; Dos Santos vd., 2016).

Biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan biyolojik ön işlemler; genel olarak maliyet avantajı sağlamak ve düşük enerji kullanımı ile çevreye zarar vermemektedir. Bununla birlikte biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan biyolojik ön işlemler, biyolojik materyallerin genel olarak düşük hidroliz verimine sahip olması dezavantajını da beraberinde getirmektedir (Gonzales vd. 2005; İbrahim vd., 2018).

2.6 Lignoselülozik Materyallerin Yapısı ve Lignoselülozik Materyallere Uygulanan Hidroliz Yöntemleri

Lignoselülozik materyallere uygulanan hidroliz yöntemleri; biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan ön işlemlerin ardından, besleme stoklarının biyoetanol üretebilmesi için fermente olabilen şekerlere dönüştürülebilmesi amacıyla gerçekleştirilen işlemleri kapsamaktadır. Hidroliz işlemine ilişkin reaksiyon, aşağıda verildiği gibidir (Shalsh vd., 2016):



Hidroliz işleminde; karbonhidratların yapısına 1 molekül su eklenmesi ile lignoselülozik materyal parçalanmakta ve basit şekerlere ayrıştırılmaktadır. Hidroliz işleminin ardından selüloz ve hemiselüloz; 5 ya da 6 karbonlu monosakkaritlere ya da basit şekerlere dönüştürülmektedir. Asidik hidroliz ve enzimatik hidroliz, en yaygın kullanılan hidroliz yöntemlerini ifade etmektedir. Bununla birlikte asidik hidroliz, en eski hidroliz yöntemi olarak kabul edilmektedir (Shalsh vd., 2016).

2.6.1 Kimyasal hidroliz

Kimyasal hidroliz; “Seyreltik Asit Hidrolizi” ve “Derişik Asit Hidrolizi” kapsamında, iki şekilde gerçekleşebilmektedir.

Seyreltik Asit Hidrolizi: Seyreltik asit hidrolizi; dűşűk asit konsantrasyonu kullanılması dođrultusunda, daha yűksek sıcaklıkta gerçekleřtirilmektedir. Lignoselűlozik biyokűtlenin asit ile hidrolizi sűrecinde; pentoz řekerlerin heksoz řekerlere oranla daha hızlı bozunması dolayısıyla, bazı durumlarda iki ařamalı bir hidroliz iřleminin gerçekleřtirilmesi gerekmektedir. Seyreltik asit hidrolizi, hemiselűlozun hidrolize edilmesine yűnelik olarak ve birinci ařama kapsamında kullanılmaktadır (Fu ve Peiris, 2008; Zong – Wen vd., 2011).

Derişik Asit Hidrolizi: Derişik asit hidrolizi; yűksek asit konsantrasyonu kullanılması dođrultusunda, daha dűşűk sıcaklıkta gerçekleřtirilmektedir. Derişik asit hidrolizi; iki ařamalı hidroliz iřlemi sűrecinde, selűlozun hidrolize edilmesine yűnelik olarak ve ikinci ařama kapsamında kullanılmaktadır. Derişik asit prosesi, daha kısa sűrede ve yaklařık %90 gibi yűksek bir oranda řekere ayrışma sađlamaktadır. Derişik asit ile hidroliz iřleminde ayrıca; ligninin fenollere dűnűřtűrűlmesi ve oranı ve karbonhidratların karbonize olma riski, seyreltik asit hidrolizine gűre daha yűksek olması sűz konusudur (Slininger vd., 2006; Paulo vd., 2010).

2.6.2 Enzimatik hidroliz

Enzimatik hidroliz yűntemi, selűlozun hidrolizine yűnelik olarak yűksek kompleks enzimler kullanılmasını ifade eden bir hidroliz yűntemi olarak deđerlendirilebilmektedir. Enzimler; selűlozun, fermente edilebilen řekerler haline gelmesine yardımcı olmakta ve dođal olarak meydana gelen bitki proteinlerini ifade etmektedir. Enzimatik hidroliz yűntemi kapsamında kullanılan enzimler, dűnűřűm verimliliđinin artırma ve bu dođrultuda da, űretim potansiyelini geliřtirme etkisine sahiptir (Senthilraja vd., 2011; Kalhorinia vd., 2014).

Biyolojik yaklaşımlar kapsamında; enzimatik hidroliz yöntemi ve doğrudan mikrobiyal dönüşüm yöntemi olmak üzere, iki temel yöntemin kullanılması söz konusudur. Enzimatik hidroliz yönteminde; “endo- β -1,4-glukanaz”, “selobiohidrolaz” ve “ β -glukozidazlar” kapsamındaki üç tip enzim, selüloz yıkımına yönelik yaygın olarak kullanılmaktadır. Selilaz enziminin aktivitesi, enzim konsantrasyonuna ve kaynağına göre belirlenmektedir. Bununla birlikte selilaz enziminin aktivitesi, reaktörlerde yüksek şeker verimi ile sonuçlanabilecek korozyon problemine neden olmamaktadır. Enzimatik hidroliz yönteminin etkinliği; süre, sıcaklık, pH değeri, substrat konsantrasyonu ve enzim yükleme gibi koşullara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Enzimatik hidroliz yönteminin dezavantajı ise, maliyet avantajı sağlamaması olarak ifade edilmektedir (Yu ve Zheng, 2006; Hou, 2012; Jairam vd., 2016).

2.7 Fermantasyon Teknikleri

Fermantasyon teknikleri ile biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütleyle uygulanan ön işlemlerden ve lignoselülozik materyallere uygulanan hidroliz yöntemlerinden elde edilen hidrolizat bulunmaktaysa, bir seri inhibe edici materyalin uzaklaştırılmasının ardından fermantasyona tabi tutulması söz konusudur. Bu kapsamda fermantasyon teknikleri; fermente edilebilir nitelikteki şekerlerin, mikroorganizmalar aracılığıyla son ürün olarak biyoetanole dönüştürülmesini sağlamaktadır (Lotze – Campen vd., 2014; Abdullah ve Hussein, 2020).

Fermantasyon tekniklerinin uygulanması sürecinde ise; organik asitler gibi olası yan ürünlerin oluşumunun engellenebilmesi amacıyla, en uygun mikroorganizmanın seçilmesi önem arz etmektedir. *Saccharomyces cerevisiae* gibi mayaların; fermantasyon tekniklerine tabi tutulmak doğrultusunda ve birincil fermentatif suş olarak, mısır bazlı ve şeker bazlı biyoetanol üretiminde kullanılması söz konusudur (Batog vd., 2008; Khare vd., 2015).

2.7.1 Ayrı enzimatik hidroliz ve fermantasyon (separate hydrolysis and fermentation – SHF)

Ayrı Enzimatik Hidroliz ve Fermantasyon (Separate Hydrolysis and Fermentation – SHF) Tekniği, enzimatik hidroliz ile fermantasyon işlemlerinin birbirlerinden bağımsız yürütüldüğü tekniği ifade etmektedir. Bu kapsamda SHF ile ön işleme tabi tutulan lignoselülozik biyokütlenin; birinci aşama kapsamında, enzimler aracılığıyla glikoz ve ksiloz gibi monomer birimlerine indirgenmesi ve ikinci aşama kapsamında da, şekerlerin fermantasyonunun gerçekleştirilmesi söz konusudur (Szambelan vd., 2018).

SHF sürecinde selülozik malzeme; öncelikli olarak optimal koşullarda, selüloz ve hemizelüloz enzimleri ile indirgen şekerlere hidroliz edilmektedir. SHF sürecinde iki aşama kapsamında ise; hidrolizatlarda bulunan şekerlerin, maya ya da diğerk fermantasyon bakterileri tarafından ve farklı çalışma koşullarına endeksli olarak biyoetanole dönüştürülmesi söz konusudur. SHF'nin en önemli avantajı hem enzimatik hidrolizin hem de fermantasyonun, kendilerine özgü optimal koşullarda işlev görmelerinin olanaklı olabilmesi şeklinde ifade edilmektedir. SHF'nin dezavantajı ise, enzim aktivitesini inhibe eden şekerlerin birikmesi ile biyoetanol verimliliğinin düşmesi kapsamında söz konusu olabilmektedir (Vohra vd., 2014; Hawrot – Paw ve Stańczuk, 2023).

2.7.2 Eşzamanlı sakarifikasyon ve fermantasyon (Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF)

Eşzamanlı Sakarifikasyon ve Fermantasyon (Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF); enzimatik hidroliz ve fermantasyon sürecinin, lignoselülozik materyale aynı anda uygulandığı tekniği ifade etmektedir. SSF sürecinde optimal sıcaklığın; fermantasyon için kullanılacak olan mikroorganizmalara endeksli olarak hidroliz için 45 °C ile 50 °C arasında değışen düzeyde ve fermantasyon içinse, 20 °C ile 40 °C arasında değışen düzeyde olması gerekmektedir (Vohra vd., 2014; Arokiasamy vd., 2016).

SSF'nin en önemli özelliği, şekerlerin hızla etanole dönüştürülmesi ile indirgenen şekerlerin birikiminin azaltılmasının sağlanması olarak ifade edilmektedir. SSF sürecinde

selülozun hidrolizinden ya da sakarifikasyonundan üretilen şekerler; eşzamanlı olarak etanolde fermente edildiklerinden, hidroliz ile ürün inhibisyonu büyük oranda azaltılmaktadır. Hem enzimlerin hem de mikroorganizmaların işlem parametrelerinin eşzamanlı optimizasyonuna ilişkin güçlükler ise, SSF'nin dezavantajı olarak ifade edilmektedir. Bu bağlamda enzim hidrolizi için selülozik enzimlerin, en fazla 50 °C'de çalışmaları söz konusudur. Bununla birlikte etanol fermantasyonu için mikroorganizmalara en uygun koşulların, 28 °C ile 37 °C arasında değişen bir sıcaklıkta sağlanması olanaklıdır (Vasquez vd., 2007; Vohra vd., 2014).

Selülozun glikoza dönüştürülebilmesi için uzun süreye gereksinim duyulması da, SSF'nin bir diğer dezavantajı olarak ifade edilmektedir. Bu doğrultuda SSF'nin; substrat türüne endeksli olarak, 3 ile 7 gün arasında değişen bir süre gerektirmesinden söz edilebilmektedir. Zira hidrolizin genel olarak, SSF sürecinde hızın sınırlandırılmasına yönelik bir etkisi bulunmaktadır (Hernandez – Salas vd., 2009; Sills ve Gossett, 2011).

2.7.3 Eşzamanlı Sakkarifikasyon ve Ko–Fermentasyon (Simultaneous Saccharification and Co–Fermentation – SSCF)

Eşzamanlı Sakkarifikasyon ve Ko–Fermentasyon (Simultaneous Saccharification and Co–Fermentation – SSCF); lignoselülozik biyokütlenin ön işlem ve hidroliz süreçlerinde, önceden salınan tüm şekerlerin metabolize edilebilmesine yönelik kullanılan bir tekniği ifade etmektedir. SSCF sürecinde; yüksek dönüşüm sağlanabilmesi ve etanol verimine izin verilebilmesi amacıyla hem heksozların hem de pentozların en iyi şekilde metabolize edilmesini olanaklı kılan ve eşzamanlı fiziksel koşullarda uyum içerisinde yaşayabilen tek bir mikroorganizmanın kullanılması söz konusudur (Sánchez ve Cardona, 2008; Ghosh vd., 2018).

SSCF; maliyet avantajı sağlaması, daha kısa çalışma süresi olanağı sunması, enzimatik hidroliz sürecinde daha az problem yaşanmasına neden olması ve daha düşük kombinasyon riski dolayısıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Koppram vd., 2013; Choudhary vd., 2018).

2.7.4 Konsolide Biyoproses (Consolidated Bioprocessing – CBP) ile Fermantasyon

Konsolide Biyoproses (Consolidated Bioprocessing – CBP) ile Fermantasyon; biyokütlenin, etanolün dönüşümü için gereken ve ön işlem, hidroliz, ayırma ve fermantasyon kapsamında ifade edilebilen tüm reaksiyonları tek bir biyoreaktörde bütünleştirmesi olarak ifade edilebilmektedir. CBP ile fermantasyon hem enzim üretiminin hem de fermantasyonun gerçekleştirilmesini sağlaması ya da enzimlerin üretiminin, enzimatik hidrolizin ve fermantasyonun tek adımda gerçekleştirilmesini olanaklı kılması bakımından, diğer fermantasyon tekniklerinden farklılık göstermektedir (Lynd vd., 2005; Vohra vd., 2014).

Enzim üretimi için herhangi bir işlem maliyetine katlanılmasını gerektirmemesi ve şekerlerin serbest bırakılması için tüm substratın kullanılması, CBP ile fermantasyonun avantajları arasında ifade edilmektedir. Bununla birlikte enzimatik işlemler ile fermantasyon işlemlerinin birbirleriyle uyumlu yürütülmesinin olanaklı olması, CBP ile fermantasyonun bir diğer avantajını ifade etmektedir. Aynı şekilde termofilik mikroorganizmalar; geleneksel mayalara göre, hammaddenin bir miktarını doğrudan kullanabilmeleri ve yüksek sıcaklıklara dayanabilmeleri dolayısıyla belirgin bir avantaj sağlamaktadır (Alkasrawi vd., 2006; Vohra vd., 2014).

2.8 Karadut (*Morus nigra* L.)

Karadut (*Morus nigra* L.); ılıman, tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yetişmektedir. Bununla birlikte Karadut'un (*Morus nigra* L.), İran ve Kafkaslardan orijinlendiği bildirilmektedir (Datta, 2002). Dut (*Morus* spp.); “*Urticales*” takımının, “*Moraceae*” familyası ve “*Morus*” cinsi kapsamında değerlendirilmektedir. Yaygın olarak bilinen dut (*Morus* spp.) türleri ise; Beyaz dut (*Morus alba* L.), Karadut (*Morus nigra* L.), Mor dut (*Morus rubra* L.) ile “*Morus australis* L.”, “*Morus atifolia* L.”, “*Morus multicaulis* L.”, “*Morus ihou* L.”, “*Morus Kagayamae* L.” ve “*Morus bombycis* L.” kapsamında ifade edilebilmektedir (Ercişli ve Orhan, 2007; Ercişli ve Orhan, 2008).

Karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri; 2 cm ile 3 cm arasında değişen uzunluğa ve kendisine özęü bir renge, hafif ekşi lezzete ve sulu özelliğe sahiptir. Bununla birlikte karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri genel olarak; %48 oranında fruktoz ve %52 oranında glukoz olmak doğrultusunda şeker ile %92 oranında sitrik asit ve %8 oranında malik sit gibi organik asitlerden, fenolik astilerden ve anstosiyaninlerden oluşmaktadır (Elmacı ve Altuğ, 2002; Ercişli ve Orhan, 2008).

Konu ile ilgili çalışmalar kapsamında, karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinin bileşimi aşığıda verildiği şekilde ifade edilmektedir (Zhumatov, 1996; Elmacı ve Altuğ, 2002; Akbulut vd., 2006; Ercişli ve Orhan, 2007; Ercişli ve Orhan, 2008; Özgen vd., 2009; Imran vd., 2010; Gündoğdu vd., 2011; Hepsağ vd., 2012; Kara ve Eręelebi, 2013; Koyuncu vd., 2014; Tarko vd., 2014; Sánchez – Salcedo vd., 2015):

- Karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri, %12,5 ile %29,5 arasında değişen oranda kuru madde içermektedir.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri, %0,12 ile %1,04 arasında değişen oranda kül içermektedir.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri, %0,9 ile %2,64 arasında değişen oranda protein içermektedir.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri, %2,5 ile %6,79 arasında değişen düzeyde ham yağ oranına sahiptir.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri, %3,30 ile %5,65 arasında değişen oranda pH değerine sahiptir.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyveleri, %14,30 ile %30,80 arasında değişen düzeyde suda çözünürlük oranına sahiptir.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinin mineral bileşimi incelendiğinde, potasyumun (K) en baskın mineral olduğu belirlenmektedir. Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinin mineral bileşimi; %1,27 mg/g ile %15 mg/g arasında değişen oranda K, %0,40 mg/g ile %5,8 mg/g arasında değişen oranda fosfor (P), %0,21 mg/g ile %6,6 mg/g arasında değişen oranda kalsiyum (Ca), %0,02 mg/g ile %12 mg/g arasında değişen oranda çinko (Zn), %0,91 mg/g ile %3,29 mg/g

arasında değişen oranda sodyum (Na) ve %0,37 mg/g ile %2,40 mg/g arasında değişen oranda magnezyum (Mg) kapsamında ifade edilebilmektedir.

- Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinin şeker içeriği incelendiğinde, glukoz ve fruktozun baskın olduğu belirlenmektedir. Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinde; %6,39 mg/100g ile %7,75 mg/100g arasında değişen oranda glukoz ve %3,40 mg/100g ile %5,77 mg/100g arasında değişen oranda fruktoz bulunmaktadır.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinde, baskın üç yağ asit içeriğinden bulunmaktadır. Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinin yağ asidi içeriği incelendiğinde; %13,6 ile %64,41 arasında değişen oranda linoleik asit, %11,36 ile %22,7 arasında değişen oranda palmitik asit ve %2,33 ile %16 arasında değişen oranda oleik asit olduğu belirlenmektedir.
- Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinde baskın organik asitler, malik asit ve sitrik asit kapsamında ifade edilebilmektedir. Karadut (*Morus nigra L.*) meyvelerinde, %1,4 mg/g ile %218 mg/g arasında değişen oranda malik asit ve %8,80 mg/g ile %670 mg/g arasında değişen oranda sitrik asit bulunmaktadır.

Türkiye’de yetiştirilen dutların (*Morus spp.*); %95 oranında Beyaz dut (*Morus alba L.*), %3 oranında Mor dut (*Morus rubra L.*) ve %2 oranında da Karadutdur(*Morus nigra L.*) . Türkiye’de 2023 yılı itibariyle ise; toplam 83.240 ton karadut (*Morus nigra L.*) üretilmiş ve bu üretimin, 2430 ton düzeyindeki bölümü ihraç edilmiştir. Türkiye’de 2023 yılı itibariyle, 44 ülkeye Karadut (*Morus nigra L.*) ihraç edilmiş ve yaklaşık 8 Milyon ABD Doları gelir elde edilmiştir (Oğuz, 2023).

Bununla birlikte Türkiye’de 2023 yılı itibariyle iller bazında karadut (*Morus nigra L.*) üretim miktarları incelendiğinde, 9.520 ton üretim miktarı ile Malatya’nın ilk sırada yer aldığı ve toplam karadut (*Morus nigra L.*) üretiminin yaklaşık %12’sinin Malatya’da gerçekleştirildiği belirlenmektedir. Türkiye’de 2023 yılı itibariyle iller bazında karadut (*Morus nigra L.*) üretim miktarları incelendiğinde ayrıca; Malatya’nın ardından sırasıyla Erzincan’ın, Elazığ’ın, Adıyaman’ın, Erzurum’un, Ankara’nın ve diğer illerin geldiği görülmektedir (Oğuz, 2023).

2.8.1 Karadutun endüstride kullanımı ve atıkları

Karadut (*Morus nigra*) genel olarak, sofralık ve kurutmalık olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte Türkiye'ye özgü olmak doğrultusunda; karaduttan (*Morus nigra* L.) pekmez, sirke, sucuk ve pestil gibi birçok farklı ürün de üretilebilmekte ve karadut (*Morus nigra* L.) farklı geleneksel tüketim şekillerine konu edilebilmektedir. Bununla birlikte özellikle son dönemlerde; küresel ölçekte doğal ürünlerin tüketilmesine yönelik ilginin artmasına endeksli olarak, karaduttan (*Morus nigra* L.) üretilen alternatif ve geleneksel ürünlerin sadece iç tüketime konu edilmesi değil, aynı zamanda ihraç edilmesi de söz konusudur (Yıldız ve Yılmaz, 1999; Ercişli, 2004; Özelçi ve Yiğit, 2022).

Türkiye'de karadutun (*Morus nigra*) değerlendirilme şekilleri göz önünde bulundurulduğunda; yaklaşık %50'sinin sofralık, %45'inin kurutmalık ve yaklaşık %5'inin de diğer şekillerde tüketildiği belirlenmektedir. Bu hususlar da karadutun (*Morus nigra*); sadece taze olarak tüketilen bir meyve olmadığını ve farklı tüketim şekillerine konu edilmesi ile tüketicilerin isteklerinin farklı şekillerde karşılanabilmesine yönelik çok yönlü bir meyve olduğunu ortaya koymaktadır (Oğuz, 2023).

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda ise; karadutun (*Morus nigra*), endüstriyel kullanım bağlamında farklı alanlarda hammadde olarak kullanılabildiği belirlenmektedir. Bu bağlamda karadut (*Morus nigra*); eczacılık ve kozmetik endüstrisi ile birlikte, aynı zamanda genel olarak kimya endüstrisi bağlamında da özellikle tercih edilmektedir (Habib vd., 2003; Vural vd., 2008; Zaki vd., 2011; Ahalya, 2020; Özelçi ve Yiğit, 2022).

Karadut (*Morus nigra*) ürünleri üretilen fabrikaların atıklarının ve karaduta (*Morus nigra*) ilişkin tarımsal atıkların ya da genel olarak atıkların değerlendirilmesine yönelik konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda ise; karadut (*Morus nigra*) atıklarının, yeni üretim teknolojilerine konu edilebildiği ve bu teknolojiler bağlamında hammadde olarak kullanılabildiği gösterilmiştir (Erkaleli ve Dalkılıç, 2006; Vural vd., 2008; Zaki vd., 2011; Sánchez – Salcedo vd., 2015; Minhas vd., 2016).

Konu ile ilgili çalışmalara endeksli olarak bu doğrultuda, sahip olduğu özellikler doğrultusunda karadut (*Morus nigra*) atıklarından; biyoetanol üretimi için enerji kaynağı olarak yararlanılabilmesi haricinde, aktif karbon ve kimyasal madde üretimi sürecinde de etkin olarak yararlanılabildiği belirlenmiştir. Dolayısıyla da karadut (*Morus nigra*) atıklarından yararlanılması ile temiz ve yenilenebilir enerji üretimi, atıkların uygun bir şekilde bertaraf edilmesinin sağlanması ve düşük maliyetli hammadde eldesi gibi birçok avantaj sağlanabilmektedir (Minhas vd., 2016; Yuan ve Zhao, 2017; Aidynova vd., 2020; Taherzadeh – Fini ve Fattahi, 2021).

2.9 *Hanseniaspora uvarum* ve Biyoetanol Eldesinde Kullanılan Diğer Mikroorganizmalar

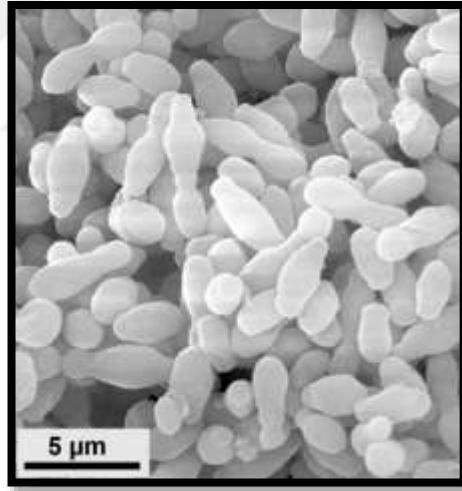
Hanseniaspora, “apiculatus mayaları” olarak da adlandırılmakta ve “*Kloeckera*” türlerini içermektedir. *Hanseniaspora*’nın çoğalması, bipolar tomurcuklanma ile gerçekleşmekte ve çoğalma sürecinde, limon şekilli hücreler oluşmaktadır. *Hanseniaspora*’nın, ask içerisinde 2 ile 3 adet arasında değişen sporları bulunmakta ve *Hanseniaspora* ile şekerler fermente edilebilmektedir. *Hanseniaspora*; özellikle incir, üzüm, karadut, domates, turuncgiller ve çilek gibi meyvelerde bulunmakta ve kakao fermantasyonu sürecinde ortaya çıkmaktadır (Pietrafesa vd., 2020; Matraxia vd., 2021; Pirrone vd., 2022).

“*Saccharomyces*” ve “*Zygosaccharomyces*” türleri ile birlikte; “*Metschnikowia*”, “*Candida*” ve “*Hanseniaspora* / *Kloeckera*” maya türleri de biyoetanol eldesinde kullanılan mikroorganizmalar arasında değerlendirilebilmektedir (Hu vd., 2019; Bourbon – Melo vd., 2021; Huang vd., 2022; Seixas vd., 2023). *Hanseniaspora* genusunda yer alan türler, aşağıda verilen kapsamda ifade edilebilmektedir:

- *Hanseniaspora valbyensis* (Klöcker, 1912);
- *Hanseniaspora guilliermondii* (Pijper, 1928);
- *Hanseniaspora uvarum* (Niehaus) (Shehata vd., 1955);
- *Hanseniaspora osmophila* (Niehaus) (Phaff, Miller and Shifrine, 1956);
- *Hanseniaspora vineae* (van der Walt ve Tscheuschner, 1957);
- *Hanseniaspora occidentalis* (Smith, 1974);
- *Hanseniaspora lachancei* (Čadež vd., 2003);

- *Hanseniaspora clermontiae* (Čadež vd., 2003);
- *Hanseniaspora meyeri* (Čadež vd., 2003);
- *Hanseniaspora opuntiae* (Čadež vd., 2003);
- *Hanseniaspora pseudoguilliermondii* (Čadež vd., 2006);
- *Hanseniaspora nectarophila* (Čadež vd., 2014);
- *Hanseniaspora mollemarum* (Groenewald vd., 2018);
- *Hanseniaspora gamundiae* (Čadež vd., 2019);
- *Hanseniaspora lindneri* (Klöcker) (Čadež ve Libkind, 2019);
- *Hanseniaspora smithiae* (Čadež vd., 2021).

Hanseniaspora uvarum, hedef hücrenin β -1,6–Glukan reseptörüne karşı etkili olan bir katil toksin içermektedir (Hu vd., 2019; Bourbon – Melo vd., 2021; Huang vd., 2022; Seixas vd., 2023). “*Hanseniaspora uvarum*” ile ilgili görsel, Şekil 2.12’de yer almaktadır.



Şekil 2.12 *Hanseniaspora uvarum*

Karadut fermantasyonuna yönelik yapılan birçok çalışma kapsamında; *Saccharomyces* olmayan ve özellikle de *Hanseniaspora uvarum*, *Kloeckera apiculata* ve *Candida stellata* kapsamındaki türlerin fermantasyon süresince önemli ölçüde hayatta kaldıkları, bununla birlikte düşük etanol toleransları dolayısıyla fermantasyon sonunda genel olarak ayırt edilemedikleri belirlenmiştir (Pramateftaki vd., 2006; Giorello vd., 2018; Prestianni vd., 2022).

Konu ile ilgili çalışmalar doğrultusunda ayrıca; *Saccharomyces* olmayan ve *Hanseniaspora uvarum*, *Kloeckera apiculata* ve *Candida stellata* kapsamındaki türlerin, önemli düzeyde proteolitik aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Bununla birlikte konu ile ilgili çalışmalar kapsamında; *Hanseniaspora uvarum*, *Kloeckera apiculata* ve *Candida stellata* kapsamındaki türlerin de, *Saccharomyces cerevisiae* gibi ihtiyaç duyulan aminoasidi salgılayabildikleri saptanmıştır (Zironi vd., 1993; Wang vd., 2015; Watcharawipas vd., 2022; Fathiah vd., 2023). Fermente karadut suyundan elde edilen *Saccharomyces cerevisiae* ve *Hanseniaspora uvarum* izole mayalarının da, fermantasyon sürecinde üstünlük sağladığı ve bu doğrultuda da, fermantasyonu devraldıkları varsayılmaktadır (Tristezza vd., 2009; Tristezza vd., 2016).

Hanseniaspora uvarum haricinde biyoetanol eldesinde kullanılan diğer mikroorganizmalar; “*Candida*”, “*Cryptococcus*”, “*Debaryomyces*”, “*Hansenula*”, “*Kluyveromyces*”, “*Pichia*”, “*Saccharomyces*”, “*Ustilago*”, “*Williopsis*” ve “*Zygosaccharomyces*” kapsamında değerlendirilebilmektedir.

Candida: *Candida*; ilk kez 1923 yılı itibariyle tanımlanmıştır ve kompozisyonel özelliklerine endeksli olarak, elektroforetik karyotipine göre üç temel grup kapsamında değerlendirilmektedir. *Candida*, “parlayan beyaz” anlamına gelmektedir ve *Candida* hücreleri, karotenoid pigment içermemektedir. *Candida*; tanımlandığı ilk dönemler itibariyle “*Torulopsis*” olarak adlandırılan “*Ascomycetes imperfecti*” türleri içerisinde düzenlenmekteyken, zaman içerisinde anaformik özellik gösteren *Candida* türleri “*Kluyveromyces*” ve “*Pichia*” cinsi içerisine aktarılmıştır. Bu süreçte “*Saccharomycopsis lipolytica*” da, “*Candida lipolytica*” olarak adlandırılmaya başlanmıştır (Shin vd., 2000; Zheng vd., 2009; Whaley vd., 2017).

Bazı *Candida* türleri; kefir, bira, kakao ve meyve sularının fermantasyonunda rol oynamaktadır. *Candida tropicalis* ise, genel olarak en sık rastlanan *Candida* türleri türünü ifade etmektedir. Diğer *Candida* türleri ise; “*Candida famata* (eski ismi *Torulopsis candida* ya da *Torulopsis famata*)”, “*Candida kefir* (eski ismi *Candida pseudotropicalis* ya da *Torulopsis kefir* veya *Torulopsis Cremoris*)”, “*Candida stellata* (eski ismi

Torulopsis stellata)” ve “*Candida holmii* (eski ismi *Torulopsis holmii*)” kapsamında değerlendirilebilmektedir (Rajagopalan vd., 1996; Özdemir vd., 2011; Lai vd., 2012).

Cryptococcus: *Cryptococcus* cinsinin üyeleri, çok yönlü tomurcuklanma yoluyla çoğalmakta ve artrospor oluşturabilmektedir. *Cryptococcus* miselleri, kırmızı ya da turuncu renklidir ve *Cryptococcus* genel olarak, bitki ve toprak ile çilek gibi kırmızı renkli meyvelerde bulunmaktadır (Furman – Kuklińska vd., 2009; Gayretli – Aydın vd., 2023).

Debaryomyces: *Debaryomyces* türü mayalar, askospor oluşturmakta ve çok yönlü tomurcuklanma ile çoğalmaktadır. Bununla birlikte *Debaryomyces* türü mayalar, bazen de yalancı misel oluşturmaktadırlar. İlk tanımlandıkları dönemler itibariyle “*Debaryomyces subglobosus*” ve “*Torulaspora hansenii*” olarak *Debaryomyces* türleri, zaman içerisinde “*Debaryomyces hansenii*” olarak adlandırılmaya başlanmıştır. *Debaryomyces hansenii*; gıda kaynaklı en önemli mayalar arasında değerlendirilmektedir ve %24 NaCl’de ve 0,65 gibi düşük su aktivitesinde gelişebilmektedir. Bununla birlikte *Debaryomyces hansenii*, özellikle portakal suyu konsantratlarında bozulmalara neden olmaktadır (Ricaurte ve Govind, 1999; Prista vd., 2007; Ramos – Moreno vd., 2019).

Hansenula: *Hansenula mrakii*; hücre membranının geçirgenliğine zarar vermekte ve 4 ile 11 arasında değişen geniş bir pH aralığında ve yüksek sıcaklıkta stabil olma özelliği göstermektedir. Bununla birlikte *Hansenula mrakii*, *Saccharomyces cerevisiae* tarafından üretilen K1 toksininden daha küçük olma özelliğine sahiptir. HM-I toksini; *Hansenula mrakii*’den salgılanan polipeptik yapıları bir toksindir ve genel olarak da DNA, RNA, protein ve yağ sentezi üzerinde etkili olmayan, ancak β -1,3-Glukan sentezini engelleyen duyarlı maya suşlarının ölmesine neden olmaktadır (Ashida vd., 1983; Takasuka vd., 1995).

Kluyveromyces: *Kluyveromyces*, askospor oluşturan maya cinsini ifade etmektedir ve yalancı misel oluşturabilmektedirler. İlk tanımlandığı dönemlerde “*Kluyveromyces marxianus*”; “*Kluyveromyces fragilis*”, “*Kluyveromyces lactis*”, “*Kluyveromyces bulgaricus*”, “*Saccharomyces lactis*” ve “*Saccharomyces fragilis*” olarak bilinen türler kapsamında değerlendirilmiştir. Genel olarak *Kluyveromyces* türleri, b-galaktozidaz

enzimi üretme yeteneğine sahiptir ve şekerleri fermente edebilmektedirler (Atalay vd., 2021; Qiu vd., 2023).

Kluyveromyces cinsine ilişkin mayalar taksonomi kapsamında, “*Ascomycetes*” sınıfında değerlendirilmekte ve “*Saccharomycetes*” sınıfının “*Saccharomycetaceae*” familyasına dâhil edilmektedir. *Kluyveromyces* cinsi kapsamındaki mayalar, oldukça heterojen bir yapı arz etmektedir ve hâlihazırda 16 türe endeksli olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte *Kluyveromyces* cinsi kapsamındaki mayaların 10 tanesi; filogenetik bağlamda “*Saccharomyces*”, “*Zygosaccharomyces*”, “*Arxiozyma*” ve “*Candida*” cinsleri içerisinde değerlendirilen maya türleri ile karışmış durumdadır (Silva – Santisteban vd., 2009; Rocha vd., 2011).

Kluyveromyces cinsi kapsamında yer alan birçok mayanın, 1990’lü yılların başları itibariyle tanımlanmıştır. Genel olarak da *Kluyveromyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar; oval, küresel ya da uzamış hücre fenotiplerine sahip olabilmektedirler. Bununla birlikte *Kluyveromyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar, vejetatif olarak tomurcuklanma ile üretmektedirler. Diploid olan *Kluyveromyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar ise, spor oluşturabilmektedirler (Fonseca vd., 2007; Mazutti vd., 2010).

Kluyveromyces cinsi kapsamında yer alan mayalar ile *Saccharomyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar, genetik olarak büyük benzerlik göstermektedirler. Buna karşın *Kluyveromyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar, *Saccharomyces* cinsi kapsamında yer alan mayaların hücrelerinden daha küçük yapıda olabilmektedirler. *Kluyveromyces marxianus*, türe özgü değişkenlik gösteren ve 6 ile 12 arasında değişen kromozom içermektedir. *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*, 10 kromozoma sahiptir ve genom büyüklüğü 14 Mb olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*’un genom büyüklüğünün 14 Mb olması, *Saccharomyces cerevisiae* ile arasında anlamlı bir fark oluşmasına neden olmamaktadır (Rajoka vd., 2004; Foukis vd., 2012).

“*Kluyveromyces lactis*”, “*Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum*”, “*Kluyveromyces marxianus*”, “*Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus*” ve “*Kluyveromyces*

thermotolerans” kapsamındaki *Kluyveromyces* türleri, endüstriyel amaçlar için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Özellikle de *Kluyveromyces marxianus* mayasının; hızlı büyüme oranı, sıcaklığa dayanıklı olma, geniş yelpazedeki şeker türlerini asimile etme kapasitesi, çok az besine ihtiyaç duyma, b–galaktosidaz, b–glukozidaz inülinaz ve poligalakturonaz kapsamındaki enzim özellikleri, aroma maddeleri üretebilme, tek hücre proteinine sahip olma, biyoremediasyon ve tıp uygulamalarında kullanılabilme, parçalayıcı enzimleri bulundurma ve fermantasyon ile etanol üretiminde kullanılabilme gibi özellikleri bağlamında, biyoteknolojik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmasını olanaklı kılan birçok özelliğe sahip olması söz konusudur (Tovar – Castro vd., 2008; Gupte ve Nair, 2010; Löser vd., 2015).

Kluyveromyces marxianus türleri, 52 °C’ye kadar olan yüksek sıcaklıklarda dahi büyüebilmektedirler. Bununla birlikte *Kluyveromyces marxianus* genel olarak; 37 °C’de zenginleştirilmiş kültür ortamında, 1 saat içerisinde yaklaşık iki katı düzeyinde büyüebilmektedir. *Kluyveromyces marxianus*; karbon kaynağı olarak glikoz, mannoz, galaktoz, ksiloz, laktoz ve arabinoz gibi çeşitli şekerleri kullanabilmektedir (Wang vd., 2018; Zeng vd., 2024).

Pichia: *Pichia*; oval ve silindirik hücrelere sahiptir ve türlerinin, yalancı misel ve artrospor oluşturulabilmesi söz konusudur. *Pichia* cinsi kapsamında yer alan mayaların çoğalmaları, çok yönlü tomurcuklanma ile gerçekleşmekte ve mayalar, şapka formunda spor meydana getirmektedirler. *Pichia* cinsi kapsamında yer alan mayalardan bazıları; il tanımlandıkları dönemler itibariyle “*Williopsis*” türleri içerisinde değerlendirilmekteyken, yeni taksonomi içerisinde “*Debaryomyces*” cinsi içerisine aktarıldıkları görülmektedir (Wang vd., 2010; Spohner vd., 2015).

İlk tanımlandığı dönemlerde “*Candida guilliermondii*” olarak adlandırılan maya, zaman içerisinde “*Pichia guilliermondii*” olarak ve “*Candida valida*” olarak adlandırılan maya ise, zaman içerisinde “*Pichia membranaefaciens*” olarak adlandırılmaya başlanmıştır. *Pichia guilliermondii* ve *Pichia membranaefaciens*; oksidatif maya olma özelliği göstermekte, sıvı ortamlarda yüzeyde zar tabakası oluşturmakta ve asidik gıdalarda bozulmalara neden olmaktadır (Kobayashi vd., 2000; Goodrick ve Kurtzman, 2009).

Saccharomyces: *Saccharomyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar; askospor üretebilmekte ve oval, yuvarlak ve uzun hücreler oluşturmaktadırlar. *Saccharomyces* cinsi kapsamında yer alan mayaların çoğalmaları; çok yönlü tomurcuklanma ve içerisinde, 1 ile 4 arasında değişen oranda spor bulunan asklarla gerçekleşmektedir. *Saccharomyces* cinsi kapsamında, endüstri açısından büyük önem taşıyan mayalar yer almaktadır. *Saccharomyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar; başta üzüm olmak üzere, birçok meyve ve sebzede bulunmaktadır (Peter vd., 2018; Parapouli vd., 2020).

Saccharomyces cinsi kapsamında yer alan mayalar; şekerleri fermente ederek, alkol ve CO₂ oluşturmaktadırlar. *Saccharomyces cerevisiae*; başta bira olmak üzere tütünlenmiş kuru salam, şampanya, şarap, alkol ve ekmek üretiminde kullanılmaktadır. İlk tanımlandıkları dönemler itibariyle *Saccharomyces* kapsamında değerlendirilen “*Saccharomyces bisporus*” ve “*Saccharomyces rouxii*”, zaman içerisinde “*Zygosaccharomyces*” içerisinde ve ilk tanımlandığı dönem itibariyle *Saccharomyces* kapsamında değerlendirilen “*Saccharomyces rosei*” ise, “*Torulaspora*” cinsi içerisinde değerlendirilmeye başlanmıştır (Bojsen vd., 2014; Furuya vd., 2023).

Saccharomyces cerevisiae, gıdalarda nadiren bozulmaya neden olmaktadır. *Saccharomyces bailli* ise; alkolsüz içeceklerde, meyve sularında, şarapta, salata soslarında ve mayonezde bozulma meydana getirmektedir. Bununla birlikte *Saccharomyces bailli*, benzoat ve sorbat gibi kimyasal koruyuculara karşı direnç göstermektedir (Herbrecht ve Nivoix, 2005; Fadhel vd., 2018).

Saccharomyces cerevisiae; tomurcuklanarak çoğalmaktadır ve hücre çapları 5 µm ile 10 µm arasında değişen yuvarlak biçimli ökaryotik bir maya türünü ifade etmektedir. *Saccharomyces cerevisiae*; çok eski dönemlerden itibaren alkollü içecek ve ekmek yapımında kullanılmaya başlanmıştır ve doğada birçok yerde bulunmaktadır. *Saccharomyces*, mantarlar âleminin “*Ascomycota*” bölümünde yer almaktadır. Bununla birlikte *Saccharomyces*; ökaryotik mikroorganizmaların hücre biyolojisinin ve genetik bilgilerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların temelinde yer almakta ve bu çalışmalar kapsamında, model mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (Edwards – Ingram vd., 2004; Schadeveg ve Boles, 2016)

Saccharomyces cerevisiae; hücre döngüsünün araştırılmasına yönelik çalışmalarda, elverişlilik arz etmesi açısından yaygın olarak kullanılmaktadır. Zira *Saccharomyces cerevisiae* hem kültürlenmesi kolay hem de ökaryot olması dolayısıyla, bitki ve hayvanların kompleks hücre içi yapılarına sahip bir mayadır. *Saccharomyces cerevisiae*'nın ya da ekmek mayasının içerisinde; kuru madde, protein, glusidler, lipidler ve mineral maddeler yer almaktadır (Sadineni vd., 2011; Heitmann vd., 2018).

Saccharomyces cerevisiae, en yaygın olarak kullanılan etanol üreticisi maya olma niteliği taşımaktadır. Yüksek etanol üretimi sağlaması ve yüksek etanol derişimlerine karşı dirençli olması, *Saccharomyces cerevisiae*'in en önemli özellikleri arasında sayılabilmektedir. Bununla birlikte spesifik büyüme oranına sahip olması ile yüksek ozmotik faaliyetleri ve yüksek etanol üretim hızı da, *Saccharomyces cerevisiae*'in etanol üretimi sürecinde sıklıkla tercih edilmesini sağlamaktadır (Balat ve Balat, 2009; Buijs vd., 2013).

Etanol fermantasyonu sürecinde, çok geniş bir aralıkta maya ve bakteri kullanılabilmektedir. Bununla birlikte *Saccharomyces* cinsi kapsamında yer alan mayalar; yüksek etanol verimi ve çeşitli şekerleri dönüştürebilme yetenekleri dolayısıyla, etanol fermantasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu doğrultuda *Saccharomyces cerevisiae* gibi *Saccharomyces bayanus* da, interspesifik hibrit olma niteliği taşımaktadır. *Saccharomyces bayanus* ile birlikte *Saccharomyces pastorianus* da; *Saccharomyces cerevisiae* gibi, özellikle alkollü içecek endüstrisi başta olmak üzere, genel olarak endüstriyel üretimde sıklıkla tercih edilmektedir (Viana vd., 2008; Viana vd., 2011; Vicky vd., 2023).

Ustilago: *Ustilago* cinsi kapsamında yer alan mayalar ve özellikle de *Ustilago maydis* ile suşları, katil toksin üretmektedirler. İlk tanımlandığı dönemler itibariyle *Ustilago maydis*'in, “*Totiviridae*” kapsamında sınıflandırılması söz konusudur. *Ustilago* cinsi kapsamında yer alan mayaların bazı segmentleri, gizli polipeptitlerde kodlanmıştır. Bununla birlikte *Ustilago* cinsi kapsamında yer alan mayalar; genel olarak *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile benzerlik göstermelerine karşın, daha iyi genomik çeşitlilik ortaya koymaktadırlar (Basse ve Farfsing 2006; Djamei vd., 2023).

Williopsis: *Williopsis* cinsi kapsamında yer alan “*Williopsis mraaki*” ve “*Williopsis saturnus*” maya türleri, kromozomal gen temelinde kodlanmış mayalardır. Bununla birlikte *Williopsis saturnus* ve *Williopsis mraaki*, toksin genine sahip mayalar olma niteliği taşımaktadır. *Williopsis* cinsi kapsamında yer alan tür ve suşlar ve özellikle de “*Williopsis saturnus* var. *saturnus*” ve “*Williopsis mraaki* var. *mraaki*”, meyve hastalıklarının biyolojik kontrolünde de kullanılabilmektedir (Yılmaztekin vd., 2008; Yılmaztekin vd., 2009).

Zygosaccharomyces: *Zygosaccharomyces*, ozmofilik bir maya cinsi olma niteliği taşımaktadır ve şekerlerin fermente edilebilmesinde kullanılmaktadırlar. *Zygosaccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces* cinsi kapsamında yer alan en önemli maya türü olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte *Zygosaccharomyces rouxii*; 0,62 gibi oldukça düşük bir su aktivitesinde gelişebilmesi dolayısıyla, *Xeromyces bisporus*’un ardından düşük su aktivitesi gelişebilen ikinci mikroorganizma olarak da ayrıca önemli kabul edilmektedir (Torriani vd., 2011; Peter, 2022).

2.10 Literatür Özeti

Konu ile ilgili literatür incelendiğinde; farklı lignoselülozik maddelerden biyoetanol üretimi kapsamında literatürde, birçok çalışmanın yer aldığı belirlenmektedir. Bununla birlikte konu ile ilgili literatür incelendiğinde; literatürde, karadut posasından biyoetanol üretimi ile ilgili çalışma yer almadığı belirlenmektedir. Bu çerçevede de çalışma kapsamında, konu ile ilgili literatürde yer alan ve farklı biyokütle kaynaklarından biyoetanol üretilmesi ile ilgili gerçekleştirilen çalışmaların bir bölümü ele alınmaktadır.

Rodriguez vd. (2010) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında; üzüm ve şeker pancarı posalarından, katı hal fermantasyonu ile biyoetanol üretimi amaçlanmıştır. Çalışmaları doğrultusunda Rodriguez vd. (2010); katı hal fermantasyonu aracılığıyla, üzüm ve şeker pancarı posalarından biyoetanol üretmişlerdir. Çalışmaları doğrultusunda Rodriguez vd. (2010); üzüm ve şeker pancarı posasını substrat olarak kullanmışlar ve *Saccharomyces cerevisiae* ile SFF fermantasyon tekniğini kullanarak biyoetanol üretimi gerçekleştirmişlerdir. Rodriguez vd. (2010) tarafından çalışmada kullanılan kültür

ortamının başlangıç pH değeri, 4,5 olarak belirlenmiştir. Çalışmaları sonucunda Rodriguez vd. (2010); SFF ile en yüksek verimin alındığı sürenin 48 saat olduğunu ve bu sürenin ardından ise, %82'den fazla teorik verim değerine ulaşıldığını bulgulamışlardır.

Koçoğlu – Soydan (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında; buğday saplarının biyoetanol üretimi sürecinde, asit hidrolizin ve enzimatik hidrolizin etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışması doğrultusunda Koçoğlu – Soydan (2012); buğday saplarını substrat kaynağı olarak kullanmış ve buğday sapları öncelikli olarak, yüksek sıcaklıkta buhar basıncı ve asidik ön hidrolize tabi tutarak, ardından enzimatik hidrolizle monomer şekerlere parçalanmıştır. Koçoğlu – Soydan (2012); oluşan şeker içerikli sıvının içerisinde *Saccharomyces cerevisiae* maya hücreleri ekleyerek, etanol fermantasyonu gerçekleştirmiştir. Bu doğrultuda da Koçoğlu – Soydan (2012); %1 asit konsantrasyonunun, enzim aktivitesi ve etanol üretimi için optimum olduğunu belirlemiştir. Çalışma kapsamında Koçoğlu – Soydan (2012) tarafından ayrıca; üretilen glikoz miktarı 4 g/l'den 16 g/l'ye çıkartılmış ve etanol üretiminin teorik veriminin, yaklaşık %20 düzeyinde artırıldığı belirlenmiştir.

Karagöz (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında; lignoselülozik atıkların ko-fermantasyonla biyoetanole dönüştürülmesi sürecinde, ön arıtım ve fermantasyon proseslerinin incelenmesi ve iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışması kapsamında Karagöz (2013); buğday ve kanola saplarından biyoetanol üretimini incelemiş ve kesikli, sürekli ve serbest immobilize hücreleri ile gerçekleştirilen farklı fermantasyon prosesleri kullanmıştır. Çalışmasında Karagöz (2013); seyreltik asit ön arıtımı için en uygun şartlar altında arıtılan biyokütleden, %12,95 (gr/gr atık) oranında etanol üretimi gerçekleştirmiştir. Karagöz (2013); alkali peroksit arıtımına tabi tutulan buğday sapları için, en yüksek etanol üretim verimini %18,23 olarak bulgulamıştır. Karagöz (2013) tarafından ayrıca; alkali peroksit arıtım metodu ile arıtılan kanola saplarının ko-fermantasyonu sonrasında, %11,66 oranında etanol üretimi gerçekleştirmiştir.

Dönmez (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında, yer fıstığı kabuğundan biyoetanol eldesi amaçlanmıştır. Çalışması kapsamında Dönmez (2014); yer fıstığı kabuğunu katı ögütücüde fiziksel ön işleminden geçirmiş ve H₂SO₄ asit çözeltisinin %0,5

(v/v) ile %3 (v/v) arasında değişen oranlarına endeksli olarak, hidrolize etmiştir. Elde ettiği hidrolizatta Dönmez (2014); *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile fermantasyon sürecini gerçekleştirerek biyoetanol üretmiştir. Bu süreçte Dönmez (2014); fermantasyon ortamına CaO ekleyerek, maya gelişimini etkileyecek toksik bileşiklerin olumsuz etkisini azaltmıştır. Dönmez (2014) tarafından ayrıca; %4 yer fıstığı kabuğu içeren hidrolizatta, CaO ilavesi ile 7,384 g/L şeker tüketilerek 2,352 g/L biyoetanol elde etmiştir. Dönmez (2014) alışmasında; en uygun hidroliz koşulu, %1 (v/v) derişimi olarak belirlemiştir. Neticesinde de alışması Dönmez (2014); söz konusu edilen koşullara endeksli olarak, %8 (w/v) yer fıstığı kabuğu içeren besiyerine ilave katkılar ve CaO müdahalesinin ardından, 8,632 g/L şeker harcamak doğrultusunda ve %16 ile %18 arasında değişen bir artış ile 2,582 g/L elde etmiştir.

Corbin vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında; karbonhidrat kaynağı olarak üzüm posası kullanılarak, biyoetanol üretimi amaçlanmıştır. alışmaları doğrultusunda Corbin vd. (2015) üzüm posasını substrat olarak kullanarak; kuru ağırlık bazında üzüm posasının ağırlıkça %31 ile %54 arasında değişen oranda karbonhidrattan oluştuğunu ve bu oranın ise, %47 ile %80 arasında değişen oranda sulu ortamda çözündüğünü bildirmişlerdir. alışmaları doğrultusunda Corbin vd. (2015) ayrıca; 0,5 M sülfürik asit ön işlemleri ile enzimatik sakkarifikasyon sonrasında, serbest bırakılmış glikoz miktarında %10 oranında artış sağlamışlardır. Corbin vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile üzüm posasının fermantasyonuna endeksli olarak üretilebilecek teorik biyoetanol miktarı, 400 L/ton düzeyine kadar çıkartılmıştır.

Dolęun (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında; dallı darı bitkisinden (*Panicum virgatum* L.) biyoetanol üretiminde, seyreltik asit ve kireç ön uygulamalarının optimizasyonu ve bazı genotiplerin biyoetanol verimliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. alışması kapsamında Dolęun (2016); dallı darı bitkisini (*Panicum virgatum* L.) substrat kaynağı olarak kullanmak doğrultusunda, biyoetanol üretimi için seyreltik asit ve kireç ön uygulamaları ile optimizasyon çalışmaları yapmıştır. alışması kapsamında Dolęun (2016) ayrıca; 3 farklı enzim (Novozymes Cellic CTec2) kullanmak doğrultusunda, 7 gün süre ile hidroliz işlemi gerçekleştirmiş ve optimum süre ile optimum enzim konsantrasyonunu belirlemiştir. Dolęun (2016) tarafından gerçekleştirilen

fermantasyon optimizasyon çalışmaları sonucunda; *Saccharomyces cerevisiae* ile 25 °C ve 30 °C kapsamındaki iki farklı sıcaklık değerine endeksli olarak, ile 4 gL⁻¹ maya ekstraktı, ilaveli ve ilavesiz olmak üzere toplam dört farklı koşul bağlamında denemeler gerçekleştirilmiştir. Çalışması doğrultusunda Dolgun (2016); en yüksek etanol verimini, 0.0966 g etanol/g dallı darı (*Panicum virgatum* L.) olarak belirlemiştir.

Bahry vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında; keçiboynuzu atıklarının değerlendirilebilmesine yönelik olarak, ikinci nesil biyoetanol üretim sürecinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaları doğrultusunda Bahry vd. (2017); keçiboynuzu katı atıklarını substrat olarak tercih etmelerine endeksli olarak, *Saccharomyces cerevisiae* ile derin (SF) ve katı hal fermentasyonu (SFF) avantajlarını ve dezavantajlarını karşılaştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda Bahry vd. (2017); keçiboynuzu atıklarının, ikinci nesil biyoetanol üretimi açısından önemli bir hammadde kaynağı oluşturduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte Bahry vd. (2017); *Saccharomyces cerevisiae* kullanılması ile SF ve SFF işlemlerinin karşılaştırılmasına endeksli olarak, 0.458 g etanol/g şeker tüketimi ile daha yüksek verimlilik elde edilmiştir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan karadut posası, Dutland Co. tarafından sağlanmış ve 70 °C’de kurutulmuştur. Kurutulmuş karadut posaları; MP laboratuvar değirmeninde, 0,24 cm parçacık boyutunda öğütülmüştür (MiproLab / Ankara).

3.1.1 Karadut posası

Etanol üretiminde hammadde konsantrasyonunun optimizasyonu, önemli bir basamaktır. Optimum konsantrasyon seviyelerinin üzerine çıkıldığında, yüksek şeker miktarı kaynaklı osmotik stres ya da fermantasyonu baskılayabilecek inhibitör bileşiklerin varlığı gibi sorunlarla karşılaşılabilir. Bununla birlikte optimal değerlerin altında kalan konsantrasyonlarda, yetersiz şeker miktarı nedeniyle etanol verimi düşebilmektedir. Bu bağlamda da çalışmanın ilgili bölümünde; karadut posaları kullanılarak, etanol üretimi için en uygun başlangıç hammadde konsantrasyonunun belirlenmiştir.

Başlangıç karadut posası miktarının artırıldığı çalışmalarda; artan konsantrasyonlarda hammadde (50 g/L, 100 g/L, 150 g/L, 200 g/L, 300 g/L, 400 g/L ve 500 g/L) %1 H₂SO₄ (v/v) 121 °C sıcaklıkta ve 15 dakika otoklavlama ön işlemine tabi tutulmuştur. Karadut posaları %1 H₂SO₄ ile 121 °C sıcaklıkta ve 15 dakika ön işleme tabi tutulmaları sonucu; seçili izolat için hazırlanan besiyerinde 50 g/L başlangıç biyokütle konsantrasyonunda 28.01 g/L ve 100 g/L başlangıç biyokütle konsantrasyonunda 39.7 g/L ve 150 g/L’de ise, 55.70 g/L heksoz şeker saptanmıştır.

3.1.2 *Hanseniaspora uvarum*

Mayaları izole etmek için, Ankara’daki yerel pazarların gıda atıklarından örnekler toplanmıştır. Toplanan örnekler seri olarak seyreltilerek; 1000 IU/mL penisilin G içeren Potato Dextrose Agar (PDA) Petri kaplarına, öze yardımı ile tek koloni elde etmek amacı ile ekim yapılmıştır. Kaplar; maya kolonilerinin optimum büyüme koşullarını sağlamak

üzere, 30 ± 1 °C’de ve 7 gün süresince inkübe edilmiştir. PDA ortamında gelişen tek maya kolonileri; saflık elde etmek ve kontaminasyon riskini minimize etmek amacıyla, çizgi yöntemi ile tekrar tekrar saflaştırılmış ve daha sonra 4 °C’de saklanarak korunmuştur.

3.2 Yöntem

3.2.1 Karadut atığının özelliklerinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında karadut atığının özelliklerinin belirlenmesine yönelik olarak, su tutma kapasitesinin ölçülmesi ve lignin, selüloz ve hemiselüloz oranının belirlenmesi söz konusudur.

3.2.1.1 Su tutma kapasitesinin ölçülmesi

Su tutma kapasitesi tekrar deneyleri ile hesaplanmıştır. Deneyden önce boş tüplerin ağırlıkları kaydedildi; 500 mg kurutulmuş KP, 15 mL’lik Falcon tüplerine aktarmıştır ve numunelerin ağırlıkları kaydedildi; numunelere 3 mL distile su eklendi; elde edilen süspansiyonların çökmesi için 10 dakika beklendi ve karışım vortekslenerek 50 °C’de 1 saat inkübe edilmiştir. Soğuduktan sonra tüplerin ağırlıkları tekrar ölçülmüştür.

3.2.1.2 Lignin, selüloz ve hemiselüloz oranının belirlenmesi

Karadut posası bileşimlerinin analizleri, aşağıda verilen kapsamda gerçekleştirilmiştir.

Ekstraktif Madde Analizi: Analizlerde kullanılacak olan örnekten 12 g alınarak tartılmış ve 150 mL aseton üzerine eklenmiştir. Elde edilen karışım, 3 saat süre ile karıştırılıp kaynatılmış ve ekstrakt elde edilmiştir. Bu sürecin ardından; ağırlığı belirlenen süzgeç kâğıdı yardımı ile süzülerek elde edilen kalıntı, 80 °C sıcaklığa sahip etüvde sabit tartıma erişilene dek kurutulmuştur. Son aşamada ise, soğutularak tekrar tartılan eldenin ekstraktif madde miktarları hesaplanmıştır (Liu vd., 2004a; Liu vd., 2004b).

Hemiselüloz Analizi: Hemiselüloz analizi kapsamında; ekstraksiyon madde analizine yönelik işlem sürecinin ardından geriye kalan kalıntıdan örnek alınarak, üzerine 150 mL, 0,5 M NaOH çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım tekrar soğutucu altına alınarak, 3,5 saat süre ile karıştırılmıştır. Ardından süzgeç kâğıdı ile süzölmelerinin sonrasında, nötral pH değerine ulaşana dek su ile yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından ise, etüve bırakılmış ve sabit tartıma gelmesi amacıyla kuruması sağlanmıştır. Etüvden alınan örnek, desikatörde soğutularak tartılmış ve hemiselüloz miktarları hesaplanmıştır (Liu vd., 2004a; Liu vd., 2004b).

Lignin Analizi: Lignin analizi kapsamında; ekstraksiyon analizine yönelik gerçekleştirilen işlem sürecinin ardından kalan kalıntı, sabit tartıma erişilene dek kurutulmuş ve kurutulan örnekten 1 g tartılarak, üzerine %72 (v/v)'lık 30 mL H₂SO₄ çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışım, 14 °C sıcaklıkta 14 saat süreyle bekletilmiştir. Bu işlemin ardından; 300 mL saf su, numune üzerine ilave edilerek soğutucu altında 1 saat kaynatılmıştır. Kaynatılan karışım; süzgeç kâğıdında kurutulmasının ardından, sülfat iyonu bitene dek saf su ile yıkanmıştır. Geriye kalan kalıntı ise; etüvde kurutulup sabit tartıma erişmesi sonrasında, desikatörde soğutularak tartılmış ve lignin miktarı belirlenmiştir (Liu vd., 2004a; Liu vd., 2004b).

Selüloz Analizi: Selüloz analizi kapsamında; selüloz miktarının belirlenebilmesine yönelik olarak, analizleri gerçekleştirilmiş lignin, hemiselüloz ve ekstraktif madde yüzdeleri toplanmış ve 100'den çıkartılarak hesaplanmıştır (Liu vd., 2004a; Liu vd., 2004b).

3.2.2 Karadut posasına uygulanan ön işlemler

Karadut posasına uygulanan ön işlemler, öğütme ve asidik hidroliz ve optimizasyon gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1 Öğütme

Daha öncesinde kurutma prosedürü uygulanan karadut posaları, KP laboratuvar değirmeninde 0,24 cm parçacık boyutunda öğütülmüştür. Öğütülen örnekler, 100 meshlik eleklerde elenmiş ve elenen fraksiyonlar, çalışma sürecinde kullanılması amacıyla ağzı kapaklı ve sızdırmaz kaplarda muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2 Asidik hidroliz ve optimizasyon

Karadut posasının asidik hidrolizi için seyreltik H₂SO₄ analiz yöntemi kullanılmıştır. Karadut posasından fermentasyonunla alkol üretilmesi amacıyla; hammaddenin indirgen şekere dönüştürülebilmesi için, deneysel parametreler Design Expert Programı ve Cevap Yüzey Yöntemi (CYY – Response Surface Methodology – RSM) kullanılarak optimize edilmiştir.

3.2.3 Etanojenik mayaların izolasyonu ve taranması

Toplanan örnekler seri olarak seyreltilerek; 1000 IU/mL penisilin G içeren Potato Dextrose Agar (PDA) Petri kaplarına, öze yardımı ile tek koloni elde etmek amacı ile ekim yapılmıştır. Kaplar; maya kolonilerinin optimum büyüme koşullarını sağlamak üzere, 30±1 °C’de ve 7 gün süresince inkübe edilmiştir. PDA ortamında gelişen tek maya kolonileri; saflık elde etmek ve kontaminasyon riskini minimize etmek amacıyla, çizgi yöntemi ile tekrar tekrar saflaştırılmış ve daha sonra 4 °C’de saklanarak korunmuştur.

3.2.4 Tür tayini

Tür tayini için dış bir laboratuvardan pcr cihazı ile dizileme hizmeti alınmıştır. İzolatların katlanarak büyüyen kültür örnekleri, dâhili kopyalanmış aralayıcılar (Internal Transcribed Spacers – ITS) için kullanılmaktadır. Maya suşlarının hızlı tespit edilebilmesi ve tanımlanabilmesi amacıyla, ITS1 – ITS4 primerleri kullanılmıştır. DNA izolasyonu amacıyla da, “EurX GeneMATRIX Bakteriyel & Maya DNA Kiti (Polonya)”

kullanılmıştır. DNA saflık ve konsantrasyonu ise, “Thermo Scientific Nanodrop 2000 (Massachusetts / ABD)” ile kontrol edilmiştir. ITS bölgeleri; ITS1 (5’ TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3’) ve ITS4 (5’TCCTCCGCTTATTGATATGC 3’) ile güçlendirilmiştir (Glass ve Donaldson, 1995).

PCR; ilk denatürasyon (1 dakika boyunca 94 °C), denatürasyon ile birlikte 40 döngüyle (45 saniye boyunca 95 °C), tavlama (45 saniye boyunca 57 °C) ve uzatma (60 saniye boyunca 72 °C) adımlarına endeksli gerçekleştirilmiştir. Son uzatma ise, 5 dakika boyunca 72 °C’de gerçekleştirilmiştir. PCR sonrasında numuneler alınmış ve 1X TAE ile agaroz jel elektroforezinde ayrılmıştır. 100 V’de 90 dakika tamponlama yapılmış ve daha sonra 100 V’de etidyum bromürlü UV lambası eşliğinde izlenmiştir.

PCR ürünü, MAGBIO “HighPrep™ PCR Temizleme Sistemi” (AC – 60005) ile saflaştırılmıştır. DNA, ABI 3730XL’de (Applied Biosystems, Foster City, CA) BigDye Terminator v3.1 Cycle ile (Applied Biosystems, Foster City, CA) sıralama kiti ile dizilmiştir. Bu süreçte, dış laboratuvar desteği alınmıştır (BM Lab., Ankara).

3.2.5 *Hanseniaspora uvarum*’un şeker tüketim profilinin karakterizasyonu

Ksiloz ve glikoz tüketim profillerini belirlemek amacıyla; *Hanseniaspora uvarum*’un iki farklı sentetik besiyeri, sadece maya ekstraktı, pepton ve ksiloz (YPX) ya sadece maya karbon kaynağı olarak ekstrakt, pepton ve glikoz (YPD) kullanılmıştır (YPX 3 g/L maya ekstraktı, 5 g/L pepton ve 20 g/L ksiloz / YPD 3 g/L maya ekstraktı, 5 g/L pepton ve 20 g/L glikoz). Ayrıca ön aşılama YPD ortamında hazırlanmış ve 24 saat boyunca sürdürülmüştür. Sıcaklık, 30 °C’ye ayarlanmış ve karıştırma hızı, 100 devir/dakika olarak belirlenmiştir. İnokulum hacmi %5 (v/v) olarak belirlenmiş ve tüm deneyler, üçlü kopyalarla gerçekleştirilmiştir.

3.2.6 Fermantasyon

Fermantasyon işlemi öncesinde hazırlanan fermantasyon ortam sıvısı, 50 ml hidrolizat örneği için hazırlanmıştır. Kültür boyunca belirli sürelerle endeksli olarak alınan numuneler; şeker ve alkol miktarlarının belirlenebilmesi amacıyla, şeker ve alkol analizlerine tabi tutulmuştur.

3.2.7 Analiz yöntemleri

Etanol konsantrasyonları (GC2010 / Shimadzu / Japonya) belirlenebilmesi amacıyla, gaz kromatografisi (gas chromatography – GC) kullanılmıştır. Analiz öncesinde; 1,5 mL’lik bir numune, 11.200 g ve 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (Hettich / Universal 320R / Almanya). Supernatant, 0,22 µm’lik membran filtresinden süzölmüş ve 1 µL numune, sistem üzerinden split modla enjekte edilerek, bölünme oranı 1/100 olarak ayarlanmıştır. Restek Rtx–Mum kolonu (60 m uzunluk ve 0,25 mm iç çap) ve alev iyonizasyon dedektörü (flame ionization detector – FID), ürün tespiti için kullanılmıştır.

Enjeksiyon portu sıcaklığı 140 °C ve dedektör sıcaklığı 160 °C olarak ayarlanmıştır. 50 °C olan başlangıç kolon sıcaklığı, 19 dakika içerisinde 150 °C’ye çıkartılmıştır (Wistara vd., 2016). Örnekler, 30 dakika boyunca analiz edilmiş ve toplam indirgeyici şeker, DNS yöntemi ile belirlenmiştir. Deneylerden önce numunelerin dilüsyonları yapılmış ve gereksinim duyulması durumunda, saf su kullanılmıştır. Bu süreçte 3 mL DNS reaktifi 1,5 mL numuneye ilave edilmiş ve karışım, 5 dakika boyunca kaynatılmıştır (Miller, 1959).

Mikrobiyal büyümenin ölçümü için, *Hanseniaspora uvarum* bulanıklık düzeyi ölçülerek konsantrasyon belirlenmiştir (Aksu ve Dönmez, 2000).

Etanol üretkenliği (Q_p) Roca ve Olsson (2013)’e göre aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Etanol\ Üretkenliği\ (Q_p) = \frac{Maksimum\ Etanol(g/L)}{t}$$

Verilen denklemde —Maksimum Etanol (g/L) ifadesi belirli bir zamanda elde edilen maksimum etanol miktarını, —t ise zamanı ifade etmektedir.

Etanol verimi ($Y_{P/S}$) ise aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir (Wang vd. 2004).

$$\text{Etanol Verimi(} Y_{P/S}\text{)g/g} = \frac{\text{Maksimum Etanol(g/L)}}{\text{Kullanılan İndirgen Şeker (g/L)}}$$

Kinetik parametrelerde kullanılan denklemler Maksimum teorik etanol verimi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır (Kim ve Lee 2007).

$$\text{Maksimum Teorik Etanol Verimi} = \frac{\text{Etanol (g/L)}}{\text{Başlangıç Şekeri (g/L)} \times 0.511} \times 100$$

KP'nin selüloz konsantrasyonu, ISO Protokolü'ne (ISO 5498 – 1981) göre belirlenmiştir. Selüloz tayini için, “Düzen Norwest (Ankara)” laboratuvarından dış laboratuvar desteği alınmıştır. Su tutma kapasitesi ise, tekrarlar halinde hesaplanmıştır. Deneyden önce boş tüplerin ağırlıkları kaydedilmiş ve 500 mg kurutulmuş KP, 15 mL'lik Falcon tüplerine aktararak, örneklerin ağırlıkları belirlenmiştir. Numunelere, 3 mL damıtılmış su ilave edilmiş ve elde edilen süspansiyonların 10 dakika boyunca oturmasına izin verilmiştir. Karışım vortekslenmiş ve 50°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Karışım, soğumasının ardından tüpler tartılmıştır (Petravić – Tominac vd., 2011).

3.2.8 *Hanseniaspora uvarum*'un gelişiminin belirlenmesi

Mikrobiyal gelişimin ölçülmesi amacı ile; KP'nin seyreltik asitle ön işleminden sonra, elde edilen hidrolizatta mevcut olan çeşitli fermente edilebilir şekerleri kullanabilmektedir. Çalışmanın amacı doğrultusunda; 50 g/L KP, 121°C'de ve 15 dakika boyunca %1 H₂SO₄ ile ön işleme tabi tutulmuştur. Bu süreçte 16 farklı maya izolatu taranmış ve fermantasyon sürecinde biyoetanol üretim yeteneğinin geliştirilmesine yönelik olarak besiyerleri hazırlanmıştır.

Mayaların biyoetanol üretiminin, 4,95 gr/L ve 8,22 gr/L arasında değiştiği belirlenmektedir. Ayrıca izolatların OD600 değerlerinin 1,53 ile 3,68 arasında olduğu gözlenmiştir.

3.2.9 Şeker konsantrasyonunun belirlenmesi

Şeker tayininden önce besiyerlerinden alınan 3 mL örnek 6000 rpm.'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Nar kabuklarının şeker tiplendirilmesinde Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC/Shimadzu) cihazı kullanılmıştır. Analizler öncesinde örnekler seyreltilerek HPLC viallerine 0.45 µm por çapındaki membran filtrelerden süzülerek alınmıştır. Yürütücü faz olarak saf su kullanılmıştır. Örneklerin okunması için Refractive Index Dedector (RID) ve BioRad Aminex HPX-87-P kolondan yararlanılmıştır. Toplam akış hızı 0.6 mL/dakika ve kolon sıcaklığı ise 80 °C olarak ayarlanmıştır (Saha vd. 2019). HPLC deneylerinde kullanılan yürütücü faz vakum pompasından geçirilerek sterilize edilmiştir.

Toplam indirgen şeker içeriği dinitro salisilik asit (DNS) yöntemi ile (Miller vd. 1959) spektrofotometrede (Shimadzu) 540 nm. dalga boyunda belirlenmiştir. Standart şeker çözeltisinin hazırlanmasında beş karbonlu şeker standartı olarak ksiloz, altı karbonlu şeker standartı olarak ise glukoz kullanılmıştır. *S. cerevisiae* ve *K. marxianus* için altı karbonlu, *P. stipitis* için ise beş karbonlu şeker standartından faydalanılmıştır.

3.2.10 Etanol konsantrasyonunun belirlenmesi

Lignoselüloz, küresel ölçekte en fazla bulunan hammaddeyi ifade etmektedir. Bu doğrultuda da lignoselülozik hammadde içeren biyokütleden biyoetanol üretilmesi, bir anlamda zorunluluk arz etmektedir. Lignoselülozik malzemeler, yiyecek ve içecek endüstrilerinin ucuz ve bol miktarda bulunan bir yan ürünü ifade etmektedir. Her şeyden önce; meyve suyu ekstraksiyonundan sonra, meyve posalarından fermente edilebilir şeker ortaya çıkmaktadır.

Çalışma kapsamında da bu doğrultuda; düşük su tutma kapasitesi ve düşük asetik, formik asit ve 5–hidroksimetilfurfural (HMF) konsantrasyonları, seyreltik asit ön işlemine tabi tutulmuştur. Çalışma kapsamında kullanılan hammaddenin su tutma kapasitesi (water – holding capacity – WHC), 6,85 g su/g kuru ağırlık (%14,6) olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Maya İzolasyonu ve Seçimi

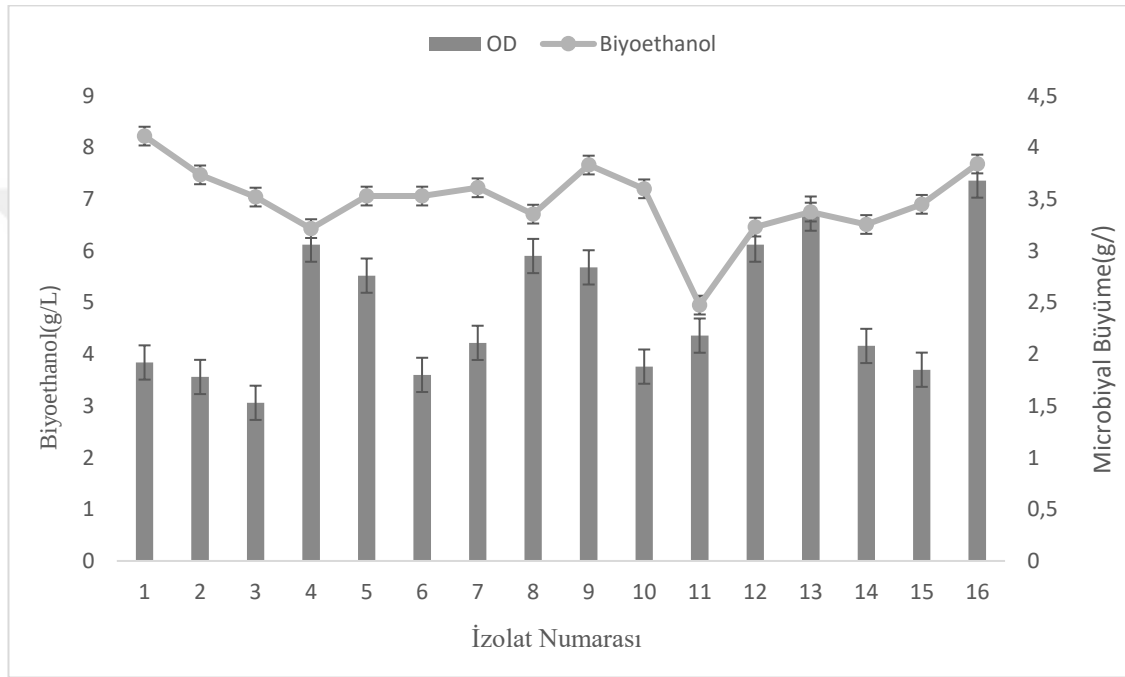
Bu tezin amaçlarından biri farklı şekerleri fermente edebilen biyoetanol üreticisi mikroorganizmaları izole etmektir. Bu amaçla, Ankara'daki yerel pazarların gıda atıklarından örnekler toplanmış ve toplanan örnekler seri olarak seyreltilerek, 1000 IU/mL penisilin G içeren Potato Dextrose Agar (PDA) Petri kaplarına öze yardımı ile tek koloni elde etmek amacı ile ekim yapılmıştır. Kaplar, maya kolonilerinin optimum büyüme koşullarını sağlamak üzere 30 ± 1 °C'de 7 gün süresince inkübe edilmiştir. PDA ortamında gelişen tek maya kolonileri, saflık elde etmek ve kontaminasyon riskini minimize etmek amacıyla çizgi yöntemi ile tekrar tekrar saflaştırmıştır ve daha sonra 4 °C'de saklanarak korunmuştur.

Maya izolatlarının biyoetanol üretim kapasiteleri, seyreltik asit ön işlemiyle elde edilen ve 1% H_2SO_4 (hacim/hacim) ile 121 °C'de 15 dakika muamele edilerek hazırlanan 50 g/L KP kullanılarak test edilmiştir. Bu ön işlem sonucunda, başlangıçta 28.95 g/L indirgen şeker içeren KP elde edilmiştir. Supernatant pH'ı, 10 N NaOH (Merck/Almanya) kullanılarak 5'e ayarlanmıştır. Ön kültür, g/L olarak 3 maya ekstraktı, 10 pepton ve 20 glukoz içeren YPD besiyerinde gerçekleştirilmiştir. Hücreler 24 saat inkübe edildikten sonra, inokülasyon hacmi %5 (hacim/hacim) olarak ayarlanmıştır. KP fermantasyon ortamına 1 g/L $(NH_4)_2SO_4$ ve 0.5 g/L KH_2PO_4 ilave edilmiştir. Sıcaklık 30 °C olarak belirlenmiş ve karıştırma hızı 100 rpm olarak ayarlanmıştır.

Elde edilen izolatlar arasında en yüksek biyoetanol üretim kapasiteli sahip izolatın seçimi için, 50 g/L KP, %1 H_2SO_4 ile 121 °C'de 15 dakika ön işleme tabi tutulmuş ve 16 farklı maya izolatı, KP ile hazırlanan fermantasyon ortamında biyoetanol üretme yetenekleri açısından taranmıştır. Test edilen mayalar arasında, en yüksek etanol üretimi 8.22 g/L ile “G6” (burada 1 olarak verilmiştir) kodlu izolatta tespit edilmiştir. En düşük etanol üretiminin ise 11 numaralı izolatta 4,95 g/L olduğu saptanmıştır. Bununla beraber, en yüksek mikrobiyal büyüme 16 numaralı izolatta 3.68 olarak gözlenirken, en düşük OD_{600} degerinin 3 numaralı izolatta 1,95 olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, en yüksek

etanol üretimini sergileyen 1 numaralı izolatin 72 saat sonunda 1.92 g/l değerine ulaştığı görülmüştür. Bu durum, 1 numaralı izolatta karbon kaynaklarının mikrobiyal büyümeden ziyade etanol üretiminde etkin bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Elshaghabee, F. M. Vd. 2016).

Cizelge 4.1 İzole edilen mayaların etanol üretim kapasiteleri (Biyokütle Oranı:10%, pH 5, çalkalama hızı: 100 devir/dakika; fermentasyon süresi: 72 saat)



En yüksek etanol üretiminin 1 numaralı izolatta gözlenmesi üzerine bu izolat ileri çalışmalar için seçilerek ITS dizileri ile tür tanılaması yapılmıştır. Yapılan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analizleri sonucu izolatin *H. uvarum* NX14, *H. uvarum* PL-51, or *H. uvarum* F1-H524-14 gibi *H. uvarum* türleri ile %100 benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır. Bu nedenle, bahsi geçen türün ITS dizileri NCBI gen bankasına OL685377 erişim kodu ile kaydedilmiştir (Kabadayı vd. 2024).

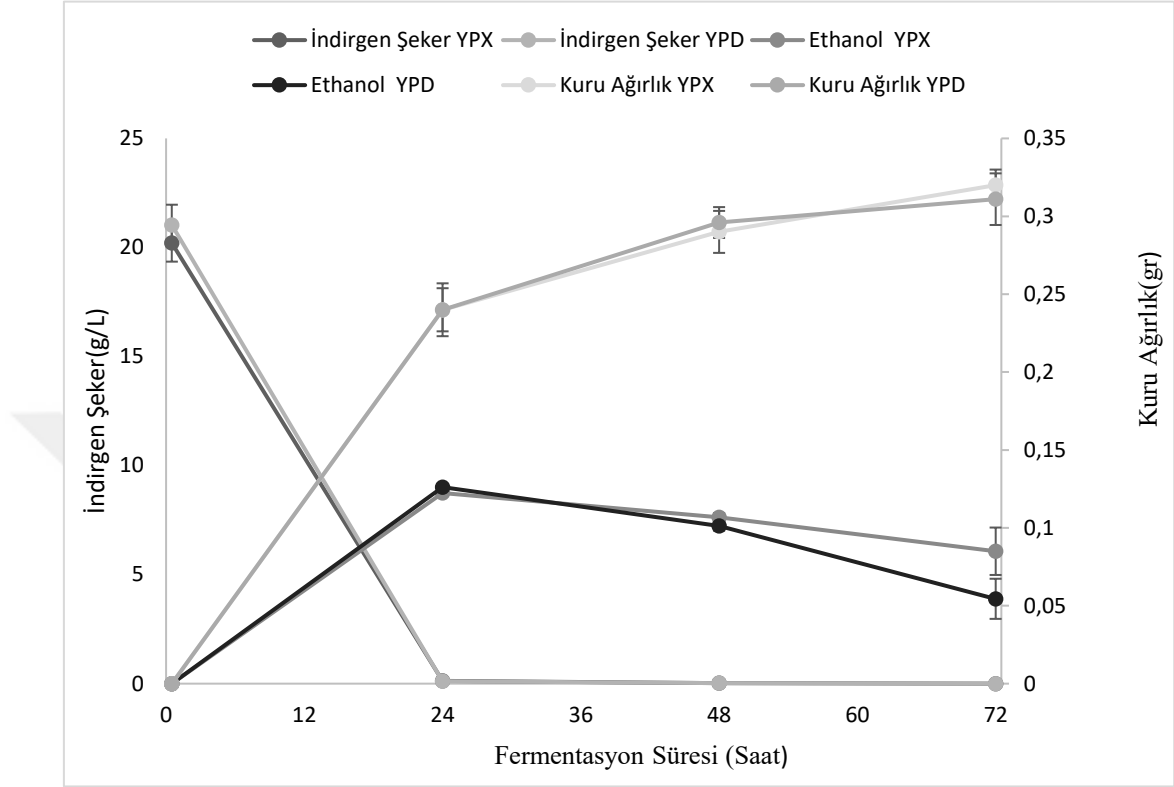
En yüksek etanol üreten izolatin *H. uvarum* olduğunun belirlenmesinden sonra bu izolatin lignoselülozik atıklarda en bol bulunan ikinci şeker olan ksilozu biyoetanol üretimi amacıyla kullanım kapasitesini bir dizi deney tasarlanmıştır. *H. uvarum*'un karbon kaynağı olarak sadece ksiloz içeren YPX besiyerindeki (3 g/L maya, 5 g/L pepton, 20 g/L

ksiloz) ve sadece glukoz içeren YPD besiyerindeki (3 g/L maya, 5 g/L pepton, 20 g/L glukoz) biyoetanol üretimi karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *H. uvarum* ksilozu etkin bir şekilde fermente etmiş ve YPX besiyeri ile YPD besiyerinde benzer etanol üretim profili sergilemiştir. Çizelge 4.3'deki sonuçlara göre YPD ve YPX besiyerlerindeki en yüksek etanol konsantrasyonları 24 saat sonunda sırasıyla 9,01 g/L ve 8,74 g/L olarak belirlenmiştir. Etanol üretiminin 24 saat sonunda en yüksek seviyeye çıkmasının ardından ise etanol miktarlarında bir miktar düşüş gözlenmiştir. Ayrıca 72 saat sonunda aynı besiyerlerinde kuru biyokütle sırasıyla 0,31 g/L ve 0,32 g/L olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.2 Artan karadut posası miktarlarının indirgen şeker ve inhibitör konsantrasyonları üzerindeki etkisi (ön işlem koşulları: %1 H₂SO₄, 121 °C'de 15 dakika boyunca)

İnhibitör Konsantrasyonu(g/L)	Başlangıç Karadut Konsantrasyonu(%)						
	5	10	15	20	30	40	50
Asetik Asit	0,188	0,214	0,331	0,352	0,372	0,414	0,696
Formik Asit	0,067	0,070	0,118	0,144	0,259	0,273	0,318
HMF	0,015	0,017	0,020	0,030	0,040	0,045	0,051

Çizelge 4.3 *H. uvarum*'un sentetik ksiloz (YPX, 3 g/L maya özütü, 5 g/L pepton, 20 g/L ksiloz) ve glikoz (YPD, 3 g/L maya özütü, 5 g/L pepton, 20 g/L glikoz) ortamlarında ksiloz ve glikoz tüketim profili ve etanol üretimi

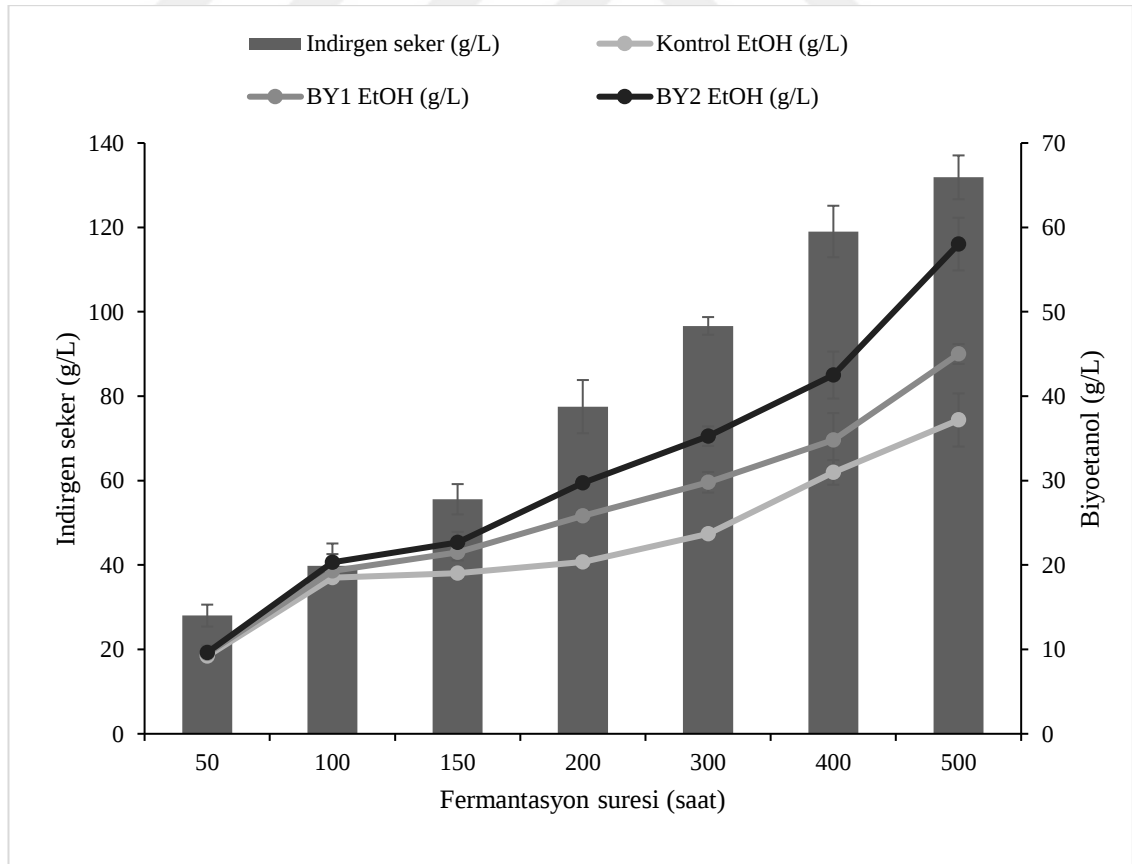


H. uvarum'un hem glukoz hem de ksilozdan etkin bir şekilde etanol ürettiğinin belirlenmesinin ardından ise lignoselülozik bir hammadde olan karadut posası ile ilgili çalışmalara başlanmıştır.

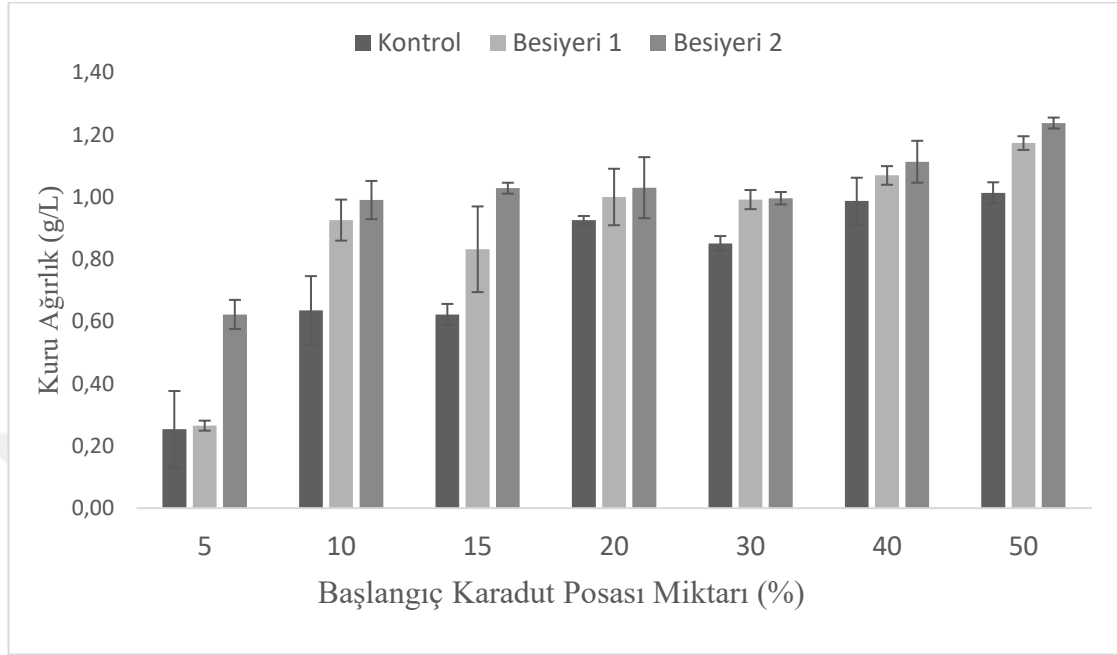
4.2 Artan Karadut Posası Konsantrasyonlarında Farklı Besiyeri Tiplerinin Mikrobiyal Büyüme ve Etanol Üretimine Etkisi

Farklı besiyeri bileşenleri varlığında elde edilen kuru ağırlık miktarları çizelge 4.4'da gösterilmiştir. Besiyeri katkılarının olumlu etkileri mikrobiyal üreme üzerinde de gözlenmiştir. 50 g/L başlangıç karadut posası (KP) varlığında kontrol grubu, besiyeri 1 ve besiyeri 2'de sırasıyla 0,25 g/L, 0,27 g/L ve 0,62 g/L kuru *H. uvarum* elde edilirken bu değer 500 g/L başlangıç karadut posası varlığında aynı ortamlar için sırası ile 1,01 g/L, 1,17 g/L ve 1,24 g/L seviyesine yükseldiği gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek etanol konsantrasyonunun besiyeri 2 varlığında gözlenmesi nedeniyle çözünür soya unu proteininin enzimatik hidrolize olan etkilerinin araştırılması esnasında besiyeri 2 kullanılmıştır.

Çizelge 4.4 Artan karadut Posası miktarlarında farklı besiyeri bileşenlerinin etanol üretimine etkisi (pH 5, çalkalama hızı: 100 devir/dakika; fermantasyon süresi: 24 saat)



Çizelge 4.5 Artan karadut posası varlığında farklı besiyeri bileşenlerinin mikrobiyal üremeye etkisi (pH 5, çalkalama hızı: 100 devir/dakika; fermantasyon süresi: 24 saat)

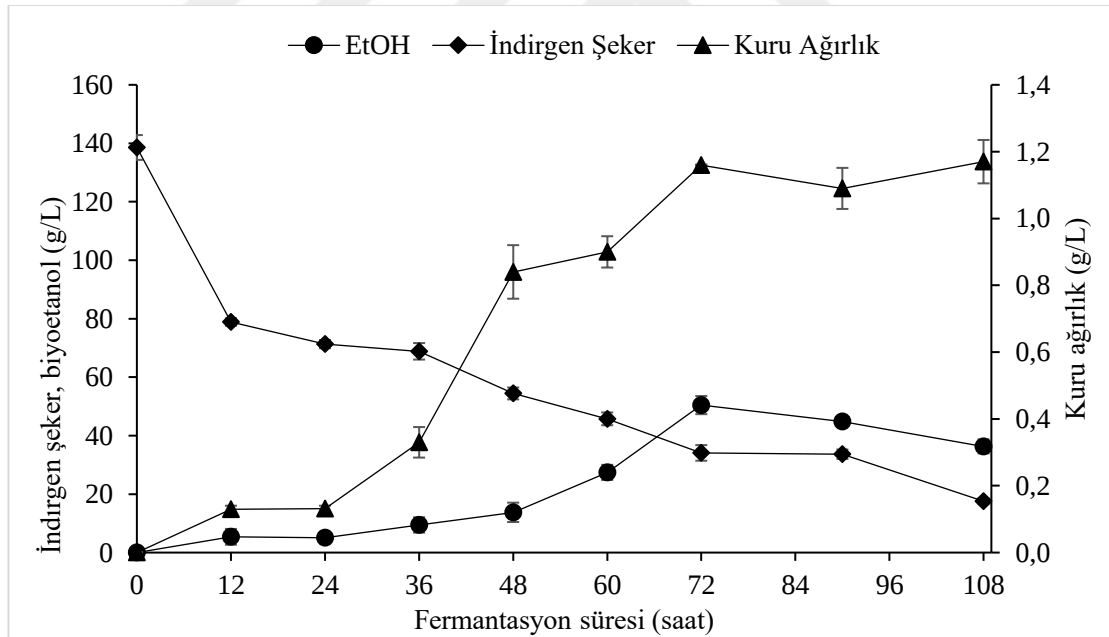


Farklı besiyeri bileşenlerinin etanol üretimine etkisini araştırmak adına 2 farklı besiyeri (besiyeri 1: 0.5 g/L KH_2PO_4 , 1 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, besiyeri 2: 0.5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 g/L KH_2PO_4 , 0.1 g/L CaCl_2 ve 0.05 g/L ZnSO_4) hazırlanmış herhangi bir katkı içermeyen karadut posası besiyeri kontrol olarak kullanılmıştır. Çizelge 4.5'teki sonuçlara göre 50 g/L başlangıç karadut posası kullanıldığında kontrol grubu, besiyeri 1 ve besiyeri 2'de sırasıyla 11.49 g/L, 8.77 g/L ve 9.59 g/L etanol saptanırken, karadut posası miktarının 500 g/L'ye çıkartılmasıyla en yüksek etanol miktarı, besiyeri 2'de 58 g/L olarak saptanmış, besiyeri 1 ve kontrol grubunda ise sırasıyla 45 g/L ve 37.1 g/L etanol üretildiği gözlenmiş ve besiyeri 1 ve 2'de üretilen etanol miktarlarının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %21.1 ve %56.3 artış gösterdiği saptanmıştır.

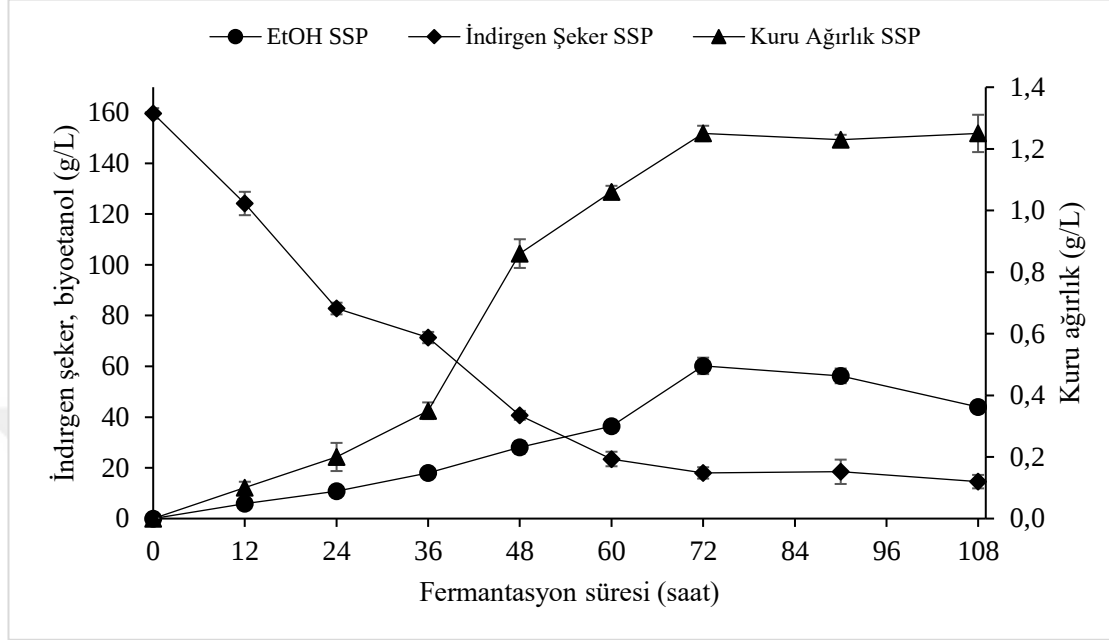
4.3 Karadut posasının enzimatik hidrolizi ile biyoetanol üretimi ve kinetik parametrelerin karşılaştırılması

Enzimatik hidroliz 500 g/L’de gözlenen kütle transfer kısıtlamaları nedeniyle 400 g/L başlangıç karadut posası ile gerçekleştirilmiştir. Enzim miktarı 15 FPU/g_{seluloz} olarak ayarlanmış ve enzimatik hidroliz ortamına 40 mg/g_{seluloz} çözüner soya unu protein katkılanmıştır. Tüm deneylerde besiyeri 2 kullanılmıştır. Enzimatik hidrolize tabi tutulmuş fakat çözüner soya unu katkılanmamış karadut posası ve enzimatik hidrolize tabi tutulup çözüner soya unu katkılanmış karadut posasına ait veriler Çizelge 4.6 ve çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.6 H. uvarum'un 400 g/L enzimatik olarak hidrolize edilmiş KP ortamı 2’de etanol üretimi, şeker tüketimi ve mikrobiyal büyümesi: (a) SSP ilavesiz KP (KP yüklemesi: 400 g/L, enzim yüklemesi: 15 FPU/g selüloz)

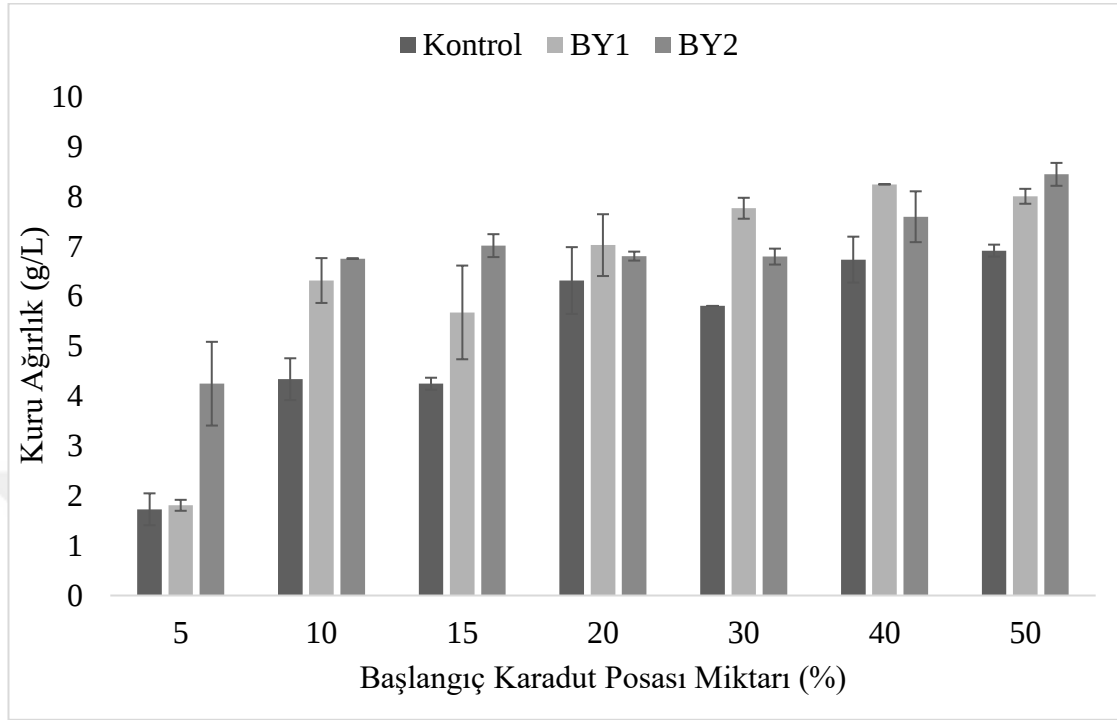


Çizelge 4.7 *H. uvarum*'un 400 g/L enzimatik olarak hidrolize edilmiş KP ortamı 2'de etanol üretimi, şeker tüketimi ve mikrobiyal büyümesi: SSP ilaveli KP (KP yüklemesi: 400 g/L, enzim yüklemesi: 15 FPU/g selüloz).



Sonuçlara göre en yüksek indirgen şeker miktarı ÇSUP katkılanarak enzimatik hidrolize tabi tutulmuş karadut posasında 159.65 g/L şeklinde belirlenmiştir. Aynı koşullarda ÇSUP katkılanmamış ortamda ise 138.56 g/L indirgen şeker saptanmıştır. *H. uvarum*'un maksimum etanol üretimi ise ÇSUP katkılanmayan ortamda 50.65 g/L'ye ulaşırken ÇSUP katkılanan ortamda ise bu değer 61.33 g/L'ye yükseldiği görülmüştür. Etanol üretimine benzer şekilde ÇSUP katkılanan enzimatik hidroliz ortamından elde edilen besiyerinde, mikrobiyal üremede de artış saptanmıştır (Çizelge 4.9). 108 saatlik fermentasyon sonunda ÇSUP katkılanmayan ortamda *H. uvarum*'un kuru ağırlığı 1.17 g/L'ye ulaşılırken, aynı şartlarda ÇSUP katkılanan ortamda kuru ağırlık 1.25 g/L olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.8 Artan KP yüklemelerinin ve farklı ortam bileşimlerinin indirgen şeker ve *H. uvarum*'un maksimum etanol konsantrasyonları üzerindeki etkisi



Gram biyokütle başına düşen etanol miktarları ve *H. uvarum*'a ait kinetik parametre verileri Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Gram biyokütle başına düşen etanol konsantrasyonlarının besiyeri optimizasyonu ve enzimatik hidroliz ile beraber artış gösterdiği saptanmıştır. Gram biyokütle başına en düşük etanol miktarı 400 g/L karadut posası varlığında herhangi bir katkılama içermeyen ortamda 0.077 g/gbiyokütle şeklinde saptanmıştır. Bu değer aynı karadut posası ve besiyeri 2'de enzimatik hidroliz olmaksızın 0.106 g/gbiyokütle' a ulaştığı belirlenmiştir. Dahası gram biyokütle başına düşen etanol miktarı en yüksek değerine ÇSUP ile beraber enzimatik hidrolize tabi tutulan karadut posası kullanıldığında ulaşmış ve aynı değer 0.153 g/gbiyokütle şeklinde hesaplanmıştır. Enzimatik hidroliz olmaksızın besiyeri 2 varlığında yapılan deneylerde teorik etanol verimi, volümetrik etanol verimi ve $Y_{p/s}$ değerleri sırasıyla 86.1%, 1.21 g/L.h, and 0.50 g/g şeklinde belirlenmiştir. Öte yandan aynı parametreler, besiyeri 2 varlığında ÇSUP ile beraber enzimatik hidrolize tabi tutulan 400 g/L karadut posası varlığında ise 75.2%, 0.85 g/L.h, and 0.44 g/g şeklinde gözlenmiştir. 400 g/L biyokütle içeren fakat herhangi bir katkılama içermeyen ve enzimatik hidrolize tabi tutulmamış ortamda ise teorik etanol verimi %51'e düşmüş, volümetrik etanol üretimi 1.29 g/L.h'a

yükselmiş ve etanol verimi 0.46 g/g olarak saptanmıştır, Bununla beraber 400 g/L biyokütle besiyeri 2 varlığında fermentasyona uğratıldığında aynı değerler %69.8, 0.88 g/L.h ve 0.43 g/g olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9 Farklı başlangıç Karadut Posası ortamlarında fermentasyon koşulları için tanımlanan kinetik parametreler

	Başlangıç KP miktarı (g/L)	Enzimatik hidroliz	ÇSÜP miktarı (g/L)	Başlangıç indirgen şeker	Etanol (g/g biyokütle)	Teorik etanol verimi	Qp	Yp/s
Kontrol	400	-	-	119.03±6.1	0.077±0.1	51.0	1.29	0.46
	500	-	-	131.86±5.2	0.074±0.1	55.2	0.77	0.48
BY1	500	-			0.090±0.1	66.8	0.94	0.48
BY2		-			0.116±0.1	86.1	1.21	0.49
BY2	400	-	-	119.03±6.1	0.106±0.1	69.8	0.88	0.43
		+	-	138.56±4.2	0.126±0.1	71.1	0.70	0.48
		+	40	159.65±0.2	0.155±0.1	75.1	0.85	0.43

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Mayaların biyoetanol üretimi 4.95 ve 8.22 g/L arasında değişmiştir. Ayrıca, izolatların OD600 değerleri 1.53 ve 3.68 arasında gözlemlenmiştir. Test edilen mayalar arasında, “G6” olarak kodlanan izolat (burada 1 olarak verilmiştir) maksimum etanol üretimi olan 8.22 g/L'yi sergilemiştir. Glikoz, ksiloz, galaktoz veya arabinoz gibi geniş spekturumdaki şekerlerin kullanması ile etanol üretimi, ikinci nesil biyoetanol üretimi için önemlidir. Ayrıca, ksiloz lignoselülozik biyokütlede en bol bulunan ikinci şekerdir. Bu anlamda, test edilen mayalar arasında en yüksek etanol üretimini gösteren *H. Uvarum* (G6) seçilmiştir.

Ksiloz lignoselülozik atıklarda en bol bulunan ikinci indirgen şekerdir (Jagtap vd. 2018). Bu bağlamda izole edilen suşlar arasında G6 kodlu *H. uvarum* en yüksek etanol üretimini gerçekleştirmiştir ve bu nedenle ileri deneylerde bu suştan faydalanılmıştır. İlerleyen deneyler sırasında sadece glukoz içeren YPD besiyeri ile sadece ksiloz içeren YPX besiyeri kullanılmış ve *H. uvarum*'un ksilozu etkin bir şekilde etanole çevirdiği gözlenmiş ve hem YPD hem de YPX besiyerinde benzer etanol üretim performansı saptanmıştır. En yüksek etanol konsantrasyonu YPD ve YPX'te sırasıyla 9.01 g/L ve 8.74 g/L bulunmuştur. Etanol üretim potansiyeline rağmen literatürde *H. uvarum*'un ksiloz asimilasyon kapasitesine ilişkin çalışmalar son derece kısıtlıdır. Bununla beraber Langerberg vd. (2017)'nın daha önceden gösterdiği gibi *H. uvarum* ksiloz asimilasyonu için en az 6 adet gen içerirken bu genlerden *S. cerevisiae*'de sadece bir kopya bulunmaktadır. Bu durum *H. uvarum*'un ksilozdan etanol üretim kapasitesini açıklamada yeterli kanıt teşkil etmektedir.

Etanol konsantrasyonları 24 saat sonunda düşmüştür. Bu durum, biriken etanolün tüketimi ile ilgilidir. Mayalar, ortamda şekerler tükendiğinde etanolü karbon kaynağı olarak kullanabilirler (Thomson vd. 2005). Benzer eğilimler, *S. cerevisiae* veya *K. marxianus* gibi biyoetanol üreticilerinde de daha önce bildirilmiştir (Raamsdonk vd. 2002; de Moura vd. 2022).

Lignoselüloz, dünyadaki en bol hammaddedir. Ancak, selüloz-hemiselüloz/lignin oranı, nakliye, yüksek inhibitör profili veya enzim maliyetleri gibi bazı önemli kriterler,

biyoetanol üretiminde lignoselüloz kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle, biyoetanol üretim süreci için umut verici bir hammadde önermek zorlu bir meseledir. Lignoselülozik malzemeler arasında, KP gıda ve içecek endüstrilerinin ucuz ve bol bulunan bir yan ürünüdür. Ayrıca, KP'nin diğer lignoselülozik yan ürünlere göre ek avantajları vardır. İlk olarak, meyve suyu ekstraksiyonundan sonra KP'de önemli miktarda fermente edilebilir şeker kalmaktadır. İkincisi, KP'nin düşük su tutma kapasitesi, 400 g/L gibi çok yüksek biyokütle yüklemelerinin kullanımına olanak tanır. Ek olarak, KP, *H. uvarum*'un %50 gibi yüksek bir biyokütle konsantrasyonu varlığında dahi mikrobiyal büyümesini desteklemiştir. Bu anlamda, KP'nin ikinci nesil biyoetanol üretimi için umut verici bir aday olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada, KP'nin düşük su tutma kapasitesi ve seyreltilmiş asit ön işlemi sonrası düşük asetik, formik asit ve 5-hidroksimetilfurfural (HMF) konsantrasyonları nedeniyle biyoetanol üretimi için umut verici bir hammadde olduğu gösterilmiştir. Örneğin, deneyler sırasında 400 g/L gibi çok yüksek biyokütle yüklemeleri kullanılsa da homojen karışım eldesi ile ilgili bir problemleri gözlenmemiştir. Bu durum, KP biyokütlesinin düşük su tutma kapasitesi (WHC) ile ilgilidir. Hammaddenin WHC'si, 6.85 g su/g kuru ağırlık (14.6%) olarak bulunmuştur. Bu sonuç, diğer lignoselülozik hammaddelerle karşılaştırılabilir. Örneğin, önceki bir raporda, buğday samanı, sorgum bicolor samanı, mısır sapı, agav posası ve şeker kamışı posasının WHC'si 7.8 ile 10 g su/g kuru ağırlık arasında bildirilmiştir (Sanchez vd. 2019). Ayrıca, literatürle karşılaştırıldığında, 500 g/L KP yüklemesinde bile düşük inhibitör molekül miktarları elde edilmiştir.

Örneğin, Phuttaro vd. (2019) 125 °C'de hidrotermal işlem görmüş 100 g/L Napier otunda 0.29 g/L asetik asit bulmuşlardır. Başka bir çalışmada, 180 °C'de %0.5 H₂SO₄ ile ön işlem görmüş rapiska samanında asetik asit konsantrasyonu 2.70 g/L olarak gözlenmiştir (Lopez-Linares 2014). Ayrıca, hasat sonrası biber kalıntısında 2% H₂SO₄ ile ön işlem görmüş 100 g/L biyokütlerde formik asit konsantrasyonu 0.11 g/L olarak bulunmuştur (Sindhu vd. 2016). Öte yandan, mevcut çalışmada, 50 g/L KP yüklemesinde en düşük asetik, formik asit ve HMF konsantrasyonları sırasıyla 0.188 g/L, 0.067 g/L ve 0.015 g/L olarak gözlenmiştir. Bu değerler, başlangıç KP yüklemesi 500 g/L'ye ayarlandığında sırasıyla 0.696 g/L, 0.318 g/L ve 0.051 g/L'ye yükselmiştir. KP'de gözlenen düşük

inhibitör konsantrasyonları, biyokütlede bulunan düşük selüloz konsantrasyonu ile ilişkili olabilir. Benzer şekilde, önceki bir raporda, %3.5 selüloz içeren arpa kabuğunda 0.159 g/L HMF ve 1.99 g/L asetik asit tespit edilmiş olup, formik asit bulunmamıştır (Germeç vd. 2017). KP'nin toplam selüloz içeriği ise %9.1 olarak bulunmuştur.

Çalışmanın ilerleyen kısımlarında farklı ortam bileşimlerinin biyoetanol üretimi üzerindeki etkisini araştırmak için iki farklı ortam hazırlanmıştır. Hiçbir takviye içermeyen KP ortamı da kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlara göre, Besiyeri 2/BY2'nin (0.5 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1.0 g/L KH_2PO_4 , 0.1 g/L $CaCl_2$, ve 0.05 g/L $ZnSO_4$) kullanımı en yüksek biyoetanol konsantrasyonları ile sonuçlanmıştır (58.0 g/L), bu değerler Orta 1'de (0.5 g/L KH_2PO_4 , 1.0 g/L $(NH_4)_2SO_4$) 45.0 g/L ve kontrol ortamında 37.1 g/L olarak bulunmuştur (Şekil 3). Ayrıca, takviyelerin *H. uvarum*'un mikrobiyal büyümesi üzerinde de olumlu etkileri gözlenmiştir. Mayanın kuru ağırlığı, başlangıç 500 g/L KP yüklemesinde takviyesiz ortamda 1.0 g/L olarak bulunmuştur. Bu değer, BY 2 kullanıldığında 1.24 g/L'ye, BY 1 varlığında ise 1.17 g/L'ye yükselmiştir.

Azot veya iz metaller gibi makro ve mikro elementler, mayaların hayatta kalma, büyüme ve biyoetanol üretimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca, bu moleküller etanol stresine karşı direnç sağlar ve hücrenin glikoliz enzimleri ve fizyolojik fonksiyonlarında önemli roller oynar (Mohd Zakria vd. 2017). Takviyesiz KP ile karşılaştırıldığında, biyoetanol konsantrasyonları BY1 ve BY2 varlığında sırasıyla %21.1 ve %56.3 artmıştır. Bu artış, besiyeri katkılarının kümülatif pozitif etkisi ile açıklanabilir. Azot ve metal tuzları, özellikle magnezyum, fermentasyon hızını, verimliliği ve mikrobiyal büyümeyi artırdığı kanıtlanmıştır. Benzer pozitif etkiler, azot kaynakları ile mineral tuzların, özellikle Mg^{2+} , Ca^{2+} ve Zn^{2+} 'in kombinasyonu ile *P. stipitis*'in etanol üretimi üzerinde de rapor edilmiştir (Slininger vd. 2006). Başka bir çalışmada, azot takviyesinin *H. uvarum*'un hayatta kalma oranını artırdığı ve neredeyse 2 kat daha yüksek alkol asetat seviyelerinin gözlemlendiği gösterilmiştir (Hu vd. 2019). Ayrıca, Liu ve ark. (2008), tatlı sorgum sap suyu kullanarak biyoetanol üretimi için optimal Mg^{2+} dozunu %0.05 olarak bulmuşlardır. Shahirah vd. (2015) palmye gövde özsuğu $MgSO_4$ (%0.2) ile takviye edildiğinde en yüksek etanol verimini (%81.8) gözlemlemişlerdir. Mg^{2+} 'in biyoetanol üretimi üzerindeki olumlu etkilerinin yanı sıra, etanol toleransı üzerinde de önemli bir

etkisi vardır. Önceki bir raporda, 50 mM Mg_2^+ ile muamale edilmiş *S. cerevisiae* hücreleri, hücreler 5% etanol stresi altında 60 dakika tutulduğunda kontrol grubuna kıyasla %20 daha yüksek hayatta kalma oranı göstermiştir (Birch vd. 2000).

Enzimatik hidroliz, başlangıç 400 g/L KP yüklemesinde ve 15 FPU/g selüloz enzim yüklemesinde gerçekleştirilmiştir; ayrıca şeker verimlerini artırmak için KP ortamına 40 mg/gselüloz SSP (çözünür soya proteini) eklenmiştir (Demiray vd. 2021). Fermentasyon ortamı olarak BY2 kullanılmıştır. Maksimum indirgenmiş şeker miktarı, SSP destekli KP'den 159.65 g/L olarak gözlenmiştir. Aynı koşullarda, *H. uvarum*'un biyoetanol üretimi 61.33 g/L olarak elde edilmiştir. SSP eklenmemiş KP ortamında bu değer, daha düşük şeker konsantrasyonları nedeniyle 50.45 g/L olarak bulunmuştur. SSP destekli enzimatik hidroliz edilmiş KP ve SSP eklenmemiş KP'de yetiştirilen *H. uvarum*'un mikrobiyal büyümesinin karşılaştırması da Şekil 4a ve b'de verilmiştir. Gram biyokütle başına etanol konsantrasyonları ve *H. uvarum*'un biyoetanol üretiminin kinetik parametreleri çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Biyokütle başına etanol konsantrasyonu, ortam optimizasyonu ve enzimatik hidroliz ile artmıştır. En düşük biyoetanol, 400 g/L ön işlem görmüş KP takviyesiz kullanıldığında 0.077 g/gbiomass olarak bulunmuştur. Bu değer, enzimatik hidroliz yapılmamış 400 g/L ön işlem görmüş KP'nin BY2 ile takviye edilmesi durumunda 0.106 g/gbiomass'a yükselmiştir. Ayrıca, biyoetanol üretimi, SSP destekli enzimatik hidroliz yapılmış ön işlem görmüş KP'nin BY2 ile kombinatoriyal olarak kullanılması durumunda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Bu koşulda, 0.153 g/gbiyokütle biyoetanol elde edilmiştir. Teorik etanol verimi, hacimsel verimlilik ve YP/S değerleri, enzimatik hidroliz yapılmamış 500 g/L başlangıç KP yüklemesinde sırasıyla %86.1, 1.21 g/L.h ve 0.50 g/g olarak hesaplanmıştır (BY2). Öte yandan, aynı parametreler, enzimatik hidroliz ile 40 mg/g selüloz SSP ile işlenen 400 g/L KP (Orta 2) kullanıldığında sırasıyla %75.2, 0.85 g/L.h ve 0.44 g/g'ye düşmüştür. 400 g/L takviyesiz KP ortamında enzimatik hidroliz yapılmadan teorik etanol verimi %51.0'a düşerken, hacimsel etanol verimliliği 1.29 g/L.h'ye yükselmiş ve etanol verimi (0.46 g/g) önemli ölçüde değişmemiştir. Öte yandan, 400 g/L KP (BY 2) kullanıldığında teorik etanol verimi %69.8'e yükselmiş, hacimsel etanol verimliliği 0.88 g/L.h'ye düşmüş ve YP/S 0.43 g/g olarak gözlenmiştir. Kinetik

parametrelerdeki düşüş, daha yüksek şeker konsantrasyonlarına atfedilebilir. Benzer bir düşüş eğilimi, artan şeker konsantrasyonları içeren soya proteini ile yapılan akasya ağacının enzimatik hidrolizinde de rapor edilmiştir (Lee vd. 2020).

Bu çalışmada, ön işlem görmüş KP'den yeni izole edilen *H. uvarum*'un biyoetanol üretimi ilk kez gösterilmiştir. Ayrıca, KP'nin düşük su tutma kapasitesine sahip olması nedeniyle seyreltik asit ön işlemi ve ardından fermantasyon sırasında 500 g/L gibi çok yüksek KP yüklemeleri kullanılabilir. Seyreltik asit ön işlemi ile 119.03 g/L indirgen şeker konsantrasyonu elde edilmiştir. Bu değer, ön işlem sonrası SSP destekli enzimatik hidroliz ile %34.12 artırılarak 159.65 g/L değerine ulaşmıştır. Aynı koşullar altında, *H. uvarum*'un etanol üretimi 61.3 g/L'ye yükselmiştir. Bu değer, verimli damıtma için kritik eşik olan %4 (w/w) etanol değerinin üzerindedir. Mevcut çalışma ayrıca, yeni izole edilen *H. uvarum*'un glikozun yanı sıra tek karbon kaynağı olarak ksilozu da etkili bir şekilde kullandığını göstermektedir. Bu nedenle, ksiloz/glikoz ko-fermenteri olan *H. uvarum*'un ikinci nesil biyoetanol üretimi için uygun bir mikroorganizma olduğu ve KP'nin bu açıdan uygun bir lignoselülozik substrat olduğu sonucuna varılabilir.

KAYNAKLAR

- Abdullah, M.A. and Hussein, H.A. 2020. Integrated algal biorefinery and palm oil milling for bioenergy, biomaterials and biopharmaceuticals. IOP Conference Series: Earth and Environ Sci, 463; 1 – 12.
- Abdolvahitoğlu, A. 2019. Alternatif yakıt olarak lignoselülozik etanol üretimi: İplikthane pamuk telefleri üzerine bir çalışma. Çukurov Üni Müh Mim Fak Derg, Haziran Dönemi, 34(2); 35 – 44.
- Abraham, A., Mathew, A.K., Sindhu, R., Pandey, A. and Binod, P. 2016. Potential of rice straw for bio – refining: An overview. Bioresour Technol, September, 215; 29 – 36.
- Abraham, J., Gea, T. and Sánchez, A. 2014. Substitution of chemical dehairing by proteases from solid – state fermentation of hair wastes. J Clean Produc, 74; 191 – 198.
- Achinas, S. and Euverink, G.J.V. 2016. Consolidated briefing of biochemical ethanol production from lignocellulosic biomass. Elec J Bio, September, 23; 44 – 53.
- Adetunji, C.O., Olaniyan, O.T., Bodunrinde, R.E. and Ahamed, M.I. 2021. Bioconversion of poultry waste into added – value products. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 337 – 348 pp., Switzerland.
- Adıgüzel, A.O. 2013. Lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretimi için kullanılan ön – muamele ve hidroliz yöntemleri. SAÜ Fen Bil Derg, 17(3); 381 – 397.
- Afolabi, O.O.D., Sohail, M. and Thomas, C.L.P. 2017. Characterization of solid fuel chars recovered from microwave hydrothermal carbonization of human biowaste. Energy, 134; 74 – 89.
- Agrawal, R., Satlewal, A., Kapoor, M., Mondal, S. and Basu, B. 2017. Investigating the enzyme – lignin binding with surfactants for improved saccharification of pilot scale pretreated wheat straw. Bioresour Technol, January, 224; 411 – 418.
- Ahalya, B.N. 2020. Varietal response for in vitro shoot development in mulberry (*Morus* spp.). J Pharmacog Phytochem, 9(4); 1405 – 1407.
- Aidynova, R., Arslan, N. and Aydoğan, M.N. 2020. Use of mulberry pomace as substrate for citric acid production by *Aspergillus niger* MT–4. Trak Univ J Nat Sci, 21; 159 – 165.
- Ail, S.S. and Dasappa, S. 2016. Biomass to liquid transportation fuel via Fischer – Tropsch synthesis – Technology review and current scenario. Renew Sustain Energ Rev, May, 58, 267 – 286.
- Akbaş, M.Y. and Stark, B.C. 2016. Recent trends in bioethanol production from food processing byproducts. J Industr Microbio Biotech, 43(11); 1593 – 1609.
- Akbulut, M., Çetin, Ç. ve Çoklar, H. 2006. Farklı dut çeşitlerinin bazı kimyasal özellikleri ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi. Editör: Gerçekçioğlu, R., II. Ulusal

Üzümsü Meyveler Sempozyumu Bildiriler Kitabı: 14 – 16 Eylül 2006. Nobel Akademik Yayıncılık, ss. 176 – 180, Ankara.

- Aksu, Z. and Dönmez, G. 2000. The use of molasses in copper(II) containing wastewaters: Effects on growth and copper(II) bioaccumulation properties of *Kluyveromyces marxianus*. *Process Biochem*, 36; 451 – 458.
- Akubude, V.C., Okafor, V.C., Oyedokun, J.A., Petinrin, O.O. and Nwaigwe, K.N. 2021. Application of Hemicellulose in Biohydrogen Production. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 315 – 327 pp., Switzerland.
- Akyüz, E. 2017. Advantages and disadvantages of nuclear energy in Turkey: Public perception. *Eurasian Journal of Environmental Research*, 1(1); 1 – 11.
- Alalwana, H.A., Alminshidb, A.H. and Aljaafari, H.A.S. 2019. Promising evolution of biofuel generations: Subject review. *Renew Energ Focus*, March, 28; 127 – 139.
- Alarcón, P.V., Ladero, M., Carbajo, J.M. and Garcia – Ochoa, F. 2021. Effect of additives on the enzymatic hydrolysis of pre – treated wheat straw. *Braz J Chem Eng*, April, 38(2); 1 – 9.
- Alkasrawi, M., Rudolf, A., Liden, G. and Zacchi, G. 2006. Influence of strain and cultivation procedure on the performance of simultaneous saccharification and fermentation of steam pretreated spruce. *Enzyme Microb Technol*, 38; 279 – 286.
- Ananno, A.A., Masud, M.H., Mahjabeen, M. and Dabnichki, P. 2021. Multi – utilisation of cow dung as biomass. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 215 – 228 pp., Switzerland.
- Andorrà, I., Berradre, M., Rozès, N., Mas, A., Guillamón, J.M. and Esteve – Zarzoso, B. 2010. Effect of pure and mixed cultures of the main wine yeast species on grape must fermentations. *Eur Food Res Technol*, 231; 215 – 224.
- Angosto, J.M., Fernández – López, J.A. and Godínez, C. 2015. Brewery and liquid manure wastewaters as potential feedstocks for microbial fuel cells: A performance study. *Environ Techn (UK)*, 36; 68 – 78.
- Anukam, A., Mohammadi, A., Naqvi, M. and Granström, K. 2019. A review of the chemistry of anaerobic digestion: Methods of accelerating and optimizing process efficiency. *Processes*, 7; 5 – 14.
- Ariffin, K.K., Masngut, N., Seman, M.N.A., Saufi, S.M., Jamek, S. and Sueb, M.S.M. 2020. Dilute acid hydrolysis pretreatment for sugar and organic acid production from pineapple residues. *IOP Conf. Series: Mate Sci Eng*, 991(2020); 1 – 9.
- Arokiasamy, W.J., Xavier, V.A.J., Sivasankaran, C., Ramanujam, P.K., Alagurajan, S. and Rajkumar, R. 2016. Simultaneous saccharification and fermentation of rice bran and ground nut shell for the production of ethanol. *J Chem Pharm Sci*, January – March, 9(1); 202 – 205.
- Ashida, S., Shimazaki, T., Kitano, K. and Hara, S. 1983. New killer toxin of *Hansenula mrakii*. *Agricul Biologic Chem*, 47(12); 2953 – 2955.

- Atalay, M.A., Koç, A.N., Çakır, N., Sarıgüzel, F.M. and Sağiroğlu, P. 2021. The investigation of antifungal susceptibilities of *Kluyveromyces marxianus* and *Clavispora lusitaniae* strains isolated from various clinical specimens. *J Surg Med*, 5(11); 1104 – 1106.
- Baeyens, J., Kang, Q., Appels, L., Dewil, R., Lv, Y. and Tan, T. 2015. Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol. *Prog Energy Combust Sci*, 47; 60 – 88.
- Bahry, H., Pons, A., Abdallah, R., Pierre, G., Delattre, C., Fayad, N., Taha, S. and Vial, C. 2017. Valorization of carob waste: Definition of a second generation bioethanol production process, *Biores Techn*, 235; 25 – 34.
- Balat, M. 2005. Use of biomass sources for energy in Turkey and a view to biomass potential. *Biom and Bio*, 29(2005); 32 – 41.
- Balat, M. and Balat, H. 2009. Recent trends in global production and utilization of bio – ethanol fuel. *App Energy*, 86; 2273 – 2282.
- Bals, B.D., Teymouri, F., Campbell, T., Jin, M. and Dale, B.E. 2012. Low temperature and long residence time afex pretreatment of corn stover. *Bioenerg Res*, 5; 372 – 379.
- Barakat, A., Mayer – Laigle, C., Solhy, A., Arancon, R.A.D., De Vries, H. and Luque, R. 2014. Mechanical pretreatments of lignocellulosic biomass: Towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production. *RSC Adv*, 4; 48109 – 48127.
- Barros, E.M., Rodrigues, T.H.S., Pinheiro, A.D.T., Angelim, A.L., Melo, V.M.M., Rocha, M V P. and Gonçalves, L.R.B. 2014. A yeast isolated from cashew apple juice and its ability to produce first – and second – generation ethanol. *Appl Biochem Biotechnol*, 174; 2762 – 2776.
- Basse, C.W. and Farfsing, J.W. 2006. Promoters and their regulation in *Ustilago maydis* and other phytopathogenic fungi. *FEMS Microbiol Lett*, 254; 208 – 216.
- Batog, J., Kozłowski, R. and Przepiera, A. 2008. Lignocellulosic composites bonded by enzymatic oxidation of lignin. *Molec Crys Liq Cry*, 484; 401 – 408.
- Behera, S., Singh, R., Arora, R., Sharma, N., Shukla, W. and Kumar, S. 2015. Scope of algae as third generation biofuels. *Front Bio Biotechn*, 2(90); 1 – 13.
- Ben Atitallah, I., Ntaikou, I., Antonopoulou, G., Alexandropoulou, MM., Brysch – Herzberg, M., Nasri, M., Lyberatos, G. and Mechichi, T. 2020. Evaluation of the non – conventional yeast strain *Wickerhamomyces anomalus* (*Pichia anomala*) X19 for enhanced bioethanol production using date palm sap as renewable feedstock. *Renew Energy*, 154; 71 – 81.
- Bengisu, G. 2014. Alternatif yakıt kaynağı olarak biyoetanol. *Alinteri Derg*, 27(B); 43 – 52.
- Bhagia, S., Dhir, R., Kumar, R. and Wyman, C.E. 2018. Deactivation of cellulase at the air – liquid interface is the main cause of incomplete cellulose conversion at low enzyme loadings. *Sci Rep*, 8; 1 – 12.

- Bhagia, S., Nunez, A., Wyman, C.E. and Kumar, R. 2016. Robustness of two – step acid hydrolysis procedure for composition analysis of poplar. *Bio Tech*, 216(2016); 1077 – 1082.
- Birch, R.M. and Walker, G.M. 2000. Influence of magnesium ions on heat shock and ethanol stress responses of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb Technol*, 26; 678 – 687.
- Bleve, G., Lezzi, C., Chiriatti, M.A., D'Ostuni, I., Tristezza, M., Di Venere, D., Sergio, L., Mita, G. and Grieco, F. 2011. Selection of non – conventional yeasts and their use in immobilized form for the bioremediation of olive oil mill wastewaters. *Bioresour Technol*, 102; 982 – 989.
- Bohrmann, G., Ivanov, M, Foucher, J.P., Spiess, V., Bialas, J., Greinert, J., Weinrebe, W., Abegg, F., Aloisi, G., Artemov, Y., Blinova, V., Drews, M., Heidersdorf, F., Krabbenhöft, A., Klaucke, I., Krastel, S., Leder, T., Polikarpov, I., Saburova, M., Schmale, O., Seifert, R., Volkonskaya, A. and Zillmer, M. 2003. Mud volcanoes and gas hydrates in the Black Sea: New data from Dvurechenskii and Odessa mud volcanoes. *Geo – Marine Letters*, 23: 239 – 249.
- Bojsen, R., Regenber, B. and Folkesson, A. 2014. *Saccharomyces cerevisiae* biofilm tolerance towards systemic antifungals depends on growth phase. *BMC Microbiol*, 14; 1 – 13.
- Bordoloi, N., Narzari, R., Choudhury, P.K. and Kataki, R. 2021. Bioconversion of food waste into biogas. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 81 – 94 pp., Switzerland.
- Botella, C., Diaz, A.B., Wang, R., Koutinas, A. and Webb, C. 2008. Particulate bioprocessing: A novel process strategy for biorefineries. *Process Bio*, 44; 546 – 555.
- Bourbon – Melo, N., Palma, M., Rocha, M.P., Ferreira, A., Bronze, M.R., Elias, H. and Sá – Correia, I. 2021. Use of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora opuntiae* to enhance the aromatic profile of beer in mixed – culture fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol*, May, 95; 10 – 36.
- Buijs, N.A., Siewers, V. and Nielsen, J. 2013. Advanced biofuel production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Curr Opin Chem Biol*, 17; 480 – 488.
- Bura, R., Chandra, R. and Saddler, J. 2009. Influence of xylan on the enzymatic hydrolysis of steampretreated corn stover and hybrid poplar. *Biotechnol Prog*, 25; 315 – 322.
- Bušić, A., Mardetko, N., Kundas, S., Morzak, G., Belskaya, H., Šantek, M.I., Komes, D., Novak, S. and Šantek, B. 2018. Bioethanol production from renewable raw materials and its separation and purification: A review. *Food Tech Biotech*, 56; 289 – 311.
- Bwapwa, J.K. 2021. Treatment and bioconversion of manure effluents. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 299 – 314 pp., Switzerland.

- Čadež, N., Pagnocca, F.C., Raspor, P. and Rosa, C.A. 2014. *Hanseniaspora nectarophila* sp. nov., a yeast species isolated from ephemeral flowers. *Int J Syst Evol*
- Cadež, N. and Libkind, D. 2019. *Hanseniaspora lindneri* (Klöcker). *PLoS One*, 14(1); 10 – 17.
- Cadež, N., Bellora, N., Ulloa, R., Hittinger, C.T. and Libkind, D. 2019. Genomic content of a novel yeast species *Hanseniaspora gamundiae* sp. nov. from fungal stromata (Cyttaria) associated with a unique fermented beverage in Andean Patagonia, Argentina. *PLoS One*, 14(1); 21 – 27.
- Čadež, N., Bellora, N., Ulloa, R., Tome, M., Petković, H., Groenewald, M., Hittinger, C.T. and Libkind, D. 2021. *Hanseniaspora smithiae* sp. nov., a novel apiculate yeast species from Patagonian forests that lacks the typical genomic domestication signatures for fermentative environments. *Sec Evolut Gen Microbiol*, 12; 16 – 29.
- Cadez, N., Poot, G. A., Raspor, P. and Smith, M. T. 2003. *Hanseniaspora meyeri* sp. nov., *Hanseniaspora clermontiae* sp. nov., *Hanseniaspora lachancei* sp. nov. and *Hanseniaspora opuntiae* sp. nov., novel apiculate yeast species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53; 1671 – 1680.
- Čadež, N., Raspor, P. and Smith, M.T. 2006. Phylogenetic placement of *Hanseniaspora* – *Kloeckera* species using multigene sequence analysis with taxonomic implications: Descriptions of *Hanseniaspora pseudoguilliermondii* sp. nov. and *Hanseniaspora occidentalis* var. *citrica* var. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 56; 1157 – 1165.
- Cambaz, A., Gorgulu, Y.F. and Arat, H. 2022. Analysing fluid – structure interaction with CFD and FEA on a marine double – wall LNG piping system. *Multidisciplinary Scientific J Maritime Research*, 36(1); 51 – 60.
- Cao, W., Sun, C., Liu, R., Renzhan, Y. and Xiaowu, W. 2012. Comparison of the effects of five pretreatment methods on enhancing the enzymatic digestibility and ethanol production from sweet sorghum bagasse. *Bio Techn*, 111; 215 – 221.
- Capone, S., Tufariello, M. and Siciliano, P. 2013. Analytical characterization of Negroamaro red wines by “Aroma Wheels”. *Food Chem*, 141; 2906 – 2915.
- Capozzi, V., Garofalo, C., Chiriatti, M.A., Grieco, F. and Spano, G. 2015. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine. *Microbiol Res*, 181; 75 – 83.
- Cavelius, P., Engelhart – Straub, S., Mehlmer, N., Lercher, J., Awad, D. and Bruck, T. 2023. The potential of biofuels from first to fourth generation. *PLoS Biol*, 21(3); 1 – 20.
- Chalima, A., Oliver, L., De Castro, L.F., Karnaouri, A., Dietrich, T. and Topakas, E. 2017. Utilization of volatile fatty acids from microalgae for the production of high added value compounds. *Fermentation*, 3; 1 – 17.
- Chen, W.T., Zhang, Y., Lee, T.H., Wu, Z., Si, B., Lee, C.F.F., Lin, A. and Sharma, B.K. 2018. Renewable diesel blendstocks produced by hydrothermal liquefaction of wet biowaste. *Nat Sustainab*, 1; 702 – 710.

- Chena, M., Xiaaa, L. and Xueb, P. 2007. Enzymatik hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate. *Int Biodet Biodeg*, 59; 85 – 89.
- Chisti, Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol*, 26(3); 126 – 131.
- Choudhary, M., Joshi, S., Bhagyawant, S.S. and Srivastava, N. 2018. Advances in fermentation technology: Principle and their relevant applications. Editors: Kuila, A. and Sharma, V., Principles and applications of fermentation technology. Scrivener Publishing, pp. 53 – 63, New York.
- Christiansen, K., Raman, D.R., Hu, G. and Anex, R. 2018. First – order estimates of the costs, input – output energy analysis, and energy returns on investment of conventional and emerging biofuels feedstocks. *Biofuel Res J*, 5; 894 – 899.
- Ciani, M. and Fatichenti, F. 1999. Selective sugar consumption by apiculate yeasts. *Lett Appl Microbiol*, 28; 203 – 206.
- Ciani, M. and Ferraro, L. 1996. Enhanced glycerol content in wines made with immobilized *Candida stellata* cells. *Appl Environ Microbiol*, 62; 128 – 132.
- Ciani, M. and Maccarelli, F. 1998. Enological properties of non – *Saccharomyces* yeasts associated with wine – making. *World J Microbiol Biotechnol*, 14; 199 – 203.
- Ciani, M., Beco, L. and Comitini, F. 2006. Fermentation behavior and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations. *Int J Food Microbiol*, 108; 239 – 245.
- Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I. and Domizio, P. 2010. Controlled mixed culture fermentation: A new perspective on the use of non – *Saccharomyces* yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Res*, 10; 123 – 133.
- Clark, J.H. 2007. Green chemistry for the second generation biorefinery – sustainable chemical manufacturing based on biomass. *J Chem Technol Biotechnol*, 82; 603 – 609.
- Comitini, F., Gobbi, M., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I. and Ciani, M. 2011. Selected non – *Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol*, 28; 873 – 882.
- Corbin, K.R., Hsieh, Y.S.Y., Betts N.S., Byrt, C.S., Henderson, M., Stork, J., DeBolt, S., Fincher, G.B. and Burton, R.A. 2015. Grape marc as a source of carbohydrates for bioethanol: Chemical composition, pre-treatment and saccharification. *Biores Tech*, 193; 76 – 83.
- Cordier, H., Mendes, F., Vasconcelos, I. and François, J.M. 2007. A metabolic and genomic study of engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains for high glycerol production. *Metabol Eng*, 9; 364 – 378.
- Datta, P., Mohi, G. and Chander, J. 2018. Biomedical waste management in India: Critical appraisal. *J Lab Phy*, 10; 6 – 14.
- Datta, R.K. 2002. Mulberry cultivation and utilization in India. Mulberry for animal production. *FAO Animal Product Health Paper*, 147; 45 – 62.

- De Benedictis, M., Bleve, G., Grieco, F., Tristezza, M., Tufariello, M. and Grieco, F. 2011. An optimized procedure for the enological selection of non – *Saccharomyces* starter cultures. *Anton Leeuw Int J G*, 99; 189 – 200.
- de Moura – Ferreira, M.A., da Silveira, F.A. and da Silveira, W.B. 2022. Ethanol stress responses in *Kluyveromyces marxianus*: Current knowledge and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 106; 1341 – 1353.
- de Vries, B.J.M., van Vuuren, D.P. and Hoogwijk, M.M. 2007. Renewable energy sources: Their global potential for the first – half of the 21st century at a global level – An integrated approach. *Energy Policy*, 35(4); 2590 – 2610.
- Degfie, T.A., Mamo, T.T. and Mekonnen, Y.S. 2019. Optimized biodiesel production from waste cooking oil (WCO) using Calcium Oxide (CaO) Nano – catalyst. *Sci Rep*, 9; 1 – 8.
- Demiray, E., Kut, A., Ertuğrul – Karatay, S. and Dönmez, G. 2021. Usage of soluble soy protein on enzymatically hydrolysis of apple pomace for cost – efficient bioethanol production. *Fuel*, 289; 1–9.
- Demirbaş, A. 2008. Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. *Energ Conv Manag*, 49; 2106 – 2116.
- Dey, N. and Bhaskarwar, A. 2021. Bioconversion of food waste into ethanol: A review. Editor: Inamuddin, A.K., *Sustainable bioconversion of waste to value added products*. Springer Cham Publishing, 45 – 58 pp., Switzerland.
- Dias, M.O.S., Ensinas, A.V., Nebra, S.A., Maciel – Filho, R., Rossell, C.E.V. and Maciel, M.R.W. 2009. Production of bioethanol and other bio – based materials from sugarcane bagasse: Integration to conventional bioethanol production process. *Chem Eng Res Des*, 87; 1206 – 1216.
- Dias, R.R., Maroneze, M.M., de Oliveira, A.S., Caetano, P.A., Zepka, L.Q. and Jacob – Lopes, E. 2021. Bioconversion of industrial wastes into biodiesel feedstocks. Editor: Inamuddin, A.K., *Sustainable bioconversion of waste to value added products*. Springer Cham Publishing, 109 – 120 pp., Switzerland.
- Djamei, A., Depotter, J., Saridis, G., Prokchorchik, M., Barghahn, S., Silva, N.D.S.T.E., Zuo, W., Villamil, J.M. and Doehlemann, G. 2023. Modulation of host immunity and development by *Ustilago maydis*. Editors: Scott, B. and Mesarich, C., *Plant relationships: Fungal – plant interactions*. Springer International, pp. 3 – 30, New York.
- Dolgun, S.B. 2016. Dallı darı bitkisinden (*Panicum virgatum* L.) biyoetanol üretiminde seyreltik asit ve kireç ön uygulamalarının optimizasyonu ve bazı genotiplerin biyoetanol verimliliklerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi (yayımlanmamış). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 92, Adana.
- Domizio, P., Lencioni, L., Ciani, M., Di Blasi, S., Pontremolesi, C. and Sabatelli, M. P. 2007. Spontaneous and inoculated yeast population dynamics and their effect on organoleptic characters of Vinsanto wine under different process conditions. *Int J Food Microbiol*, 115; 281 – 289.

- Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Comitini, F., Gobbi, M., Mannazzu, I. and Ciani, M. 2011. Outlining a future for non – *Saccharomyces* yeasts: Selection of putative spoilage wine strains to be used in association with *Saccharomyces cerevisiae* for grape juice fermentation. *Int J Food Microbiol*, 147; 170 – 180.
- Dos Santos, R.G., Ventura, P., Bordado, J.C. and Mateus, M.M. 2016. Valorizing potato peel waste: An overview of the latest publications. *Rev Environ Sci Bio / Tech*, 15(4); 585 – 592.
- Dönmez, M. 2014. Yer fıstığı kabuğundan biyoetanol eldesi. Yüksek lisans tezi (yayınlanmamış). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, 98, Ankara.
- Duff, S.J.B. and Murray, W.D. 1996. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: A review. *Bio Tech*, 55(1); 1 – 33.
- Eckard, A.D., Muthukumarappan, K. and Gibbons, W. 2013. Enhanced bioethanol production from pretreated corn stover via multi – positive effect of casein micelles. *Bioresour Technol*, 135; 93 – 102.
- Eckard, A.D., Muthukumarappan, K. and Gibbons, W. 2014. The role of polymeric micelles on chemical changes of pretreated corn stover, cellulase structure, and adsorption. *Bio Energy Res*, 7; 389 – 407.
- Edwards – Ingram, L.C., Gent, M.E., Hoyle, D.C., Hayes, A., Stateva, L.I. and Oliver, S.G. 2004. Comparative genomic hybridization provides new insights into the molecular taxonomy of the *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Genome Res*, 14; 1043 – 1051.
- Elmacı, Y. and Altuğ, T. 2002. Flavour evaluation of three black mulberry (*Morus nigra*) cultivars using GC/MS, chemical and sensory data. *J Scie Food Agricul*, 82; 632 – 635.
- Elshagabee, F. M., Bockelmann, W., Meske, D., De Vrese, M., Walte, H. G., Schrezenmeir, J., & Heller, K. J. (2016). Ethanol production by selected intestinal microorganisms and lactic acid bacteria growing under different nutritional conditions. *Frontiers in microbiology*, 7, 47.
- Ercişli, S. 2004. A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Gen Resour Crop Evolut*, 51(4); 419 – 435.
- Ercişli, S. and Orhan, E. 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chem*, 103; 1380 – 1384.
- Ercişli, S. and Orhan, E. 2008. Some physico – chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticul*, 116; 41 – 46.
- Erkaleli, Z.Ö. ve Dalkılıç, Z. 2006. Uşak ili Ulubey ilçesinde yetişen karadutların (*Morus nigra* L.) morfolojik, fenolojik ve pomolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Adnan Menderes Ünivers Ziraat Fakül Derg*, 13(1); 89 – 106.
- Erten, H. 2002. Relations between elevated temperatures and fermentation behaviour of *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* associated with winemaking in mixed cultures. *World J Microbiol Biotechnol*, 18; 373 – 378.

- Evans, E. and Egharevba, S. 2021. Applications of ionic liquids in plastic and lignin waste recycling. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 329 – 336 pp., Switzerland.
- Fadhel, M., Patel, S., Liu, E., Levitt, E. and Asif, A. 2018. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a critically ill patient with acute cholangitis and long term probiotic use. Med Mycol Case Rep, 23; 23 – 25.
- Fan, Y., Su, F., Li, K., Ke, C. and Yan, Y. 2017. Carbon nanotube filled with magnetic iron oxide and modified with polyamidoamine dendrimers for immobilizing lipase toward application in biodiesel production. Sci Rep, 7; 1 – 13.
- Fathiah, M.F., Hartono, F.D., Astuti, R.I., Listiyowati, S. and Meryandini, A. 2023. bioethanol production from non – conventional yeasts *Wickerhamomyces anomalus* (*Pichia anomala*) and detection of ADH1 gene. HAYATI J Biosciences, 31(2); 221 – 228.
- Fawzy, S., Osman, A.I., Doran, J. and Rooney, D.W. 2020. Strategies for mitigation of climate change: A review. Environmental Chemistry Letters, 18(6); 2069 – 2094.
- Fernández – Ochoa, A., Leyva – Jiménez, F.J., Pimentel – Moral, S., Villegas – Aguilar, M.C., Alañón, M.E., Segura – Carretero, A. Cádiz – Gurrea, M.L. 2021. Revalorisation of agro – industrial wastes into high value – added products. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 229 – 245 pp., Switzerland.
- Ferreira, V., Lopez, R. and Cacho, J.F. 2000. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. J Sci Food Agric, 80; 1659 – 1667.
- Fleet, G.H. 2003. Yeast interactions and wine flavor. Int J Food Microbiol, 86; 11 – 22.
- Fleet, G.H. 2008. Wine yeast for the future. FEMS Yeast Res, 8; 979 – 995.
- Fonseca, G.G., Gombert, A.K., Heinzle, E. and Wittmann, C. 2007. Physiology of the yeast *Kluyveromyces marxianus* during batch and chemostat cultures with glucose as the sole carbon source. FEMS Yeast Res, 7; 422 – 435.
- Foukis, A., Stergiou, P.Y., Theodorou, L.G., Papagianni, M. and Papamichael, E.M. 2012. Purification, kinetic characterization and properties of a novel thermo – tolerant extracellular protease from *Kluyveromyces marxianus* IFO 0288 with potential biotechnological interest. Bioresour Technol, 123; 214 – 220.
- Foust, T.D., Aden, A., Dutta, A. and Phillips, S. 2009. An economic and environmental comparison of a biochemical and a thermochemical lignocellulosic ethanol conversion processes. Cellulose, 16; 547 – 565.
- Fu, N. and Peiris P. 2008. Co – fermentation of a mixture of glucose and xylose to ethanol by *Zymomonas mobilis* and *Pachysolen tannophilus*. World J Microbiol Biotechnol, 24; 1091 – 1097.
- Furman – Kuklińska, K., Naumnik, B. and Myśliwiec, M. 2009. Fungaemia due to *Cryptococcus laurentii* as a complication of immunosuppressive therapy – A case report. Adv Med Sci, 54; 116 – 119.

- Furuya, K., Ito, K., Sugiyama, K., Tokuda, S., Kanemoto, H., Kamei, K. and Shimada, T. 2023. A case of bloodstream co – infection of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida glabrata* while using micafungin. BMC Infectious Diseases, 23; 1 – 4.
- Gao, A.H., Bule, M.V., Laskar, D.D. and Chen, S. 2012. Structural and thermal characterization of wheat straw pretreated with aqueous ammonia soaking. J Agric Food Chem, September, 60(35); 8632 – 8639.
- Garavaglia, J., de Souza – Schneider, R.D.C., Mendes, S.D.C., Welke, J.E., Zini, C.A., Caramão, E.B. and Valente, P. 2015. Evaluation of *Zygosaccharomyces bailii* BCV 08 as a co – starter in wine fermentation for the improvement of ethyl esters production. Microbiol Res, 173; 59 – 65.
- García – Cubero, M.T., González – Benito, G., Indacochea, I., Coca, M. and Bolado, S. 2009. Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. Bioresour Technol, 100(4); 1608 – 1613.
- Garde – Cerdán, T. and Ancín – Azpilicueta, C. 2006. Contribution of wild yeasts to the formation of volatile compounds in inoculated wine fermentations. Eur Food Res Technol, 222; 15 – 25.
- Garofalo, C., El Khoury, M., Lucas, P., Bely, M., Russo, P., Spano, G. and Capozzi, V. 2015. Autochthonous starter cultures and indigenous grape variety for regional wine production. J Appl Microbiol, 118; 1395 – 1408.
- Gayretli – Aydın, Z.G., Özkaya, E. and Tosun, İ. 2023. *Papiliotrema (Cryptococcus) laurentii* fungemia in an infant with Prader Willi Syndrome. J Pediatr Inf, 17(1); 59 – 62.
- Germec, M., Demirel, F., Tas, N., Özcan, A., Yilmazer, C., Onuk, Z. and Turhan, I. 2017. Microwave – assisted dilute acid pretreatment of diferent agricultural bioresources for fermentable sugar production. Cellulose, 24; 4337 – 4353.
- Ghosh, B., Bhattacharya, D. and Mukhopadhyay, M. 2018. Modeling and kinetics of fermentation technology. Editors: Kuila, A. and Sharma, V., Principles and applications of fermentation technology. Scrivener Publishing, pp. 15 – 43, New York.
- Gil, M., Cabellos, J.M., Arroyo, T. and Prodanov, M. 2006. Characterization of the volatile fraction of young wines from the denomination of origin “Vinos de Madrid” (Spain). Anal Chim Acta, 563; 145 – 153.
- Giorello, F., Valera, M.J., Martin, V., Parada, A., Salzman, V., Camesasca, L., Fariña, L., Boido, E., Medina, K., Dellacassa, E., Berna, L., Aguilar, P.S., Mas, A., Gaggero, C. and Carrau, F. 2018. Genomic and transcriptomic basis of *Hanseniaspora vineae*’s impact on flavor diversity and wine quality. Appl Environ Microbiol, December, 85(1); 1959 – 1968.
- Glass, N.L. and Donaldson, G.C. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Appl Environ Microbiol, 61; 1323 – 1330.
- Gobbi, M., Comitini, F., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I. and Ciani, M. 2013. *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in

- simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiol*, 33; 271 – 281.
- Gómez – Mínguez, M.J., Cacho, J.F., Ferreira, V., Vicario, I.M. and Heredia, F.J. 2007. Volatile components of Zalema white wines. *Food Chem*, 100; 1464 – 1473.
- Gonzales, H.B., Takyu, K., Sakashita, H., Nakano, Y., Nishijima, W. and Okada, M. 2005. Biological solubilization and mineralization as novel approach for the pretreatment of food waste. *Chemosphere*, 58(1); 57 – 63.
- Goodrick, J.C. and Kurtzman, C. 2009. Biotechnological strains of *Komagataella (Pichia) pastoris* are *Komagataella phaffii* as determined from multigene sequence analysis. *J Indust Microbil Biotech*, 36(11); 14 – 35.
- Goshima, T., Tsuji, M., Inoue, H., Yano, S., Hoshino, T. and Matsushika, A. 2013. Bioethanol production from lignocellulosic biomass by a novel *Kluyveromyces marxianus* strain. *Biosci Biotechnol Biochem*, 77; 1505 – 1510.
- Grieco, F., Tristezza, M., Vetrano, C., Bleve, G., Panico, E., Grieco, F., Mita, G. and Logrieco, A. 2011. Exploitation of autochthonous micro – organism potential to enhance the quality of Apulian wines. *Ann Microbiol*, 61; 67 – 73.
- Groenewald, M., Lombard, L., de Vries, M., Giraldo – Lopez, M., Smith, M. and Crous, P.W. 2018. Diversity of yeast species from Dutch garden soil and the description of six novel Ascomycetes. *FEMS Yeast Research*, 18(7); 10 – 19.
- Guimarães, C.E.C., Neto, F.S., Bizerra, V.C., Nascimento, J.G.A., Valério, R.B.R., Sousa Junior, P.G., Braz, A.K.S., Melo, R.L.F., Serpa, J.F., Lima, R.K.C., Guimarães, A.P., Souza, M.C.M., Lopes, A.A.S., Rios, M.A.S., Bilal, A.D.M., Smulek, W., Jesionowski, T. and Santos, J.C.S. 2023. Sustainable bioethanol production from first – and second – generation sugar – based feedstocks: Advanced bibliometric analysis. *Bioresource Technology Reports*, September, 23; 1 – 15.
- Gupta, R., Sharma, K.K. and Kuhad, R.C. 2009. Separate hydrolysis and fermentation (SHF) of *Prosopis juliflora*, a woody substrate, for the production of cellulosic ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* – NCIM 3498. *Bioresour Technol*, 100; 1214 – 1220.
- Gupte, A.M. and Nair, A.S. 2010. B–galactosidase production and ethanol fermentation from whey using *Kluyveromyces marxianus* NCIM 3551. *J Sci Ind Res*, 69; 855 – 859.
- Guth, H. 1997. Identification of character impact odorants of different white wine varieties. *J Agric Food Chem*, 45; 3022 – 3026.
- Günan – Yücel, H. and Aksu, Z. 2015. Ethanol fermentation characteristics of *Pichia stipitis* yeast from sugar beet pulp hydrolysate: Use of new detoxification methods. *Fuel*, 158; 793 – 799.
- Gündoğdu, M., Muradoglu, F., Sensoy, R.G. and Yılmaz, H. 2011. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra L.*, *Morus alba L.* and *Morus rubra L.* by HPLC. *Scien Horticultur*, 132; 37 – 41.
- Gwak, I. S., Hwang, J.H., Sohn, J.M. and Lee, S.H. 2017. Economic evaluation of domestic biowaste to ethanol via a fluidized bed gasifier. *J Indust Eng Chem*, 47; 391 – 398.

- Habib, A., Ali, M.R., Amin, M.N. and Rahman, M.M. 2003. Clonal propagation of white mulberry (*Morus alba* L.) using in vitro technique. *J Biolog Science*, 3(12); 1181 – 1187.
- Hall, D.O. 1997. Biomass energy in industrialized countries – A view of the future. *Forest Ecol Manag*, March, 91(1); 17 – 45.
- Hammond, G.P., Kallu, S. and McManus, M.C. 2008. Development of biofuels for the UK automotive market. *App Energ*, 85; 506 – 515.
- Harun, R. and Danquah, M.K. 2011. Influence of acid pre – treatment on microalgal biomass for bioethanol production, *Proc Biochem*, 46(1); 304 – 309.
- Haven, M.Ø. and Jørgensen, H. 2013. Adsorption of β -glucosidases in two commercial preparations onto pretreated biomass and lignin. *Biotechnol Biofuels*, 6: 1 – 14.
- Hawrot – Paw, M. and Stańczuk, A. 2023. From waste biomass to cellulosic ethanol by Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF) with *Trichoderma viride*. *Sustainability*, 15(1); 1 – 16.
- Heard, G.M. and Fleet, G.H. 1985. Growth of natural yeast flora during the fermentation of inoculated wines. *Appl Environ Microbiol*, 50; 727 – 728.
- Heitmann, M., Zannini, E. and Arendt, E. 2018. Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites produced during fermentation on bread quality parameters: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58; 1152 – 1164.
- Hemansi, Gupta, R., Kuhad, R.C. and Saini, J.K. 2018. Cost effective production of complete cellulase system by newly isolated *Aspergillus niger* RCKH–3 for efficient enzymatic saccharification: Medium engineering by overall evaluation criteria approach (OEC). *Biochem Eng*, 132; 182 – 190.
- Hemansi, Gupta, R., Yadav, G., Kumar, G., Yadav, A., Saini, J.K. and Kuhad, R.C. 2019. Second generation bioethanol production: The state of art – From current status to practical implementation. Eds.: Srivastava, N., Srivastava, M., Mishra, P.K., Upadhyay, S.N., Ramteke, P.W. and Gupta, V.K., *Sustainable approaches for biofuels production technologies: From current status to practical implementation*. Springer International Publishing, 121 – 146 pp., New York.
- Hepsağ, F., Hayoğlu, İ. ve Hepsağ B. 2012. Karadut meyvesinin antosiyanin içeriği ve antosiyaninlerin gıda sanayinde renk maddesi olarak kullanım olanakları. *Gıda Tekn Elek Derg*, 7; 9 – 19.
- Herbrecht, R. and Nivoix, Y. 2005. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: An adverse effect of *Saccharomyces boulardii* probiotic administration. *Clin Infect Dis*, 40; 1635 – 1637.
- Hernandez – Salas, J.M., Villa – Ramirez, M.S., Veloz – Rendon, J.S., Rivera – Hernandez, K.N., Gonzalez – Cesar, R.A., Plascencia – Espinosa, M.A. and Trejo – Estrada, S.R. 2009. Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse. *Bio Tech*, 100(3); 1238 – 1245.
- Hidalgo, D., Sacco, A., Hernández, S. and Tommasi, T. 2015. Electrochemical and impedance characterization of microbial fuel cells based on 2D and 3D anodic electrodes working with seawater microorganisms under continuous operation. *Bio Techn*, 195; 139 – 146.

- Hiron, M., Jonsell, M., Kubart, A., Thor, G., Schroeder, M., Dahlberg, A., Johansson, V. and Ranius, T. 2017. Consequences of bioenergy wood extraction for landscape – level availability of habitat for dead wooddependent organisms. *J Environ Manage*, 198; 33 – 42.
- Ho, H.C., Goswami, M., Chen, J., Keum, J.K. and Naskar, A.K. 2018. Amending the structure of renewable carbon from biorefinery waste – streams for energy storage applications. *Sci Rep*, 8; 1 – 13.
- Hong, Y.A. and Park, H.D. 2013. Role of non – *Saccharomyces* yeasts in Korean wines produced from Campbell Early grapes: Potential use of *Hanseniaspora uvarum* as a starter culture. *Food Microbiol*, 34; 207 – 214.
- Horn, G.M. 2010. *Biofuels. Energy today's*. Chelsea Club House, 48 s., New York.
- Horuz, A., Korkmaz, A. ve Akinoğlu, G. 2015. Biyoyakıt bitkileri ve teknolojisi. *Top Bil Bit Bes Derg*, 3(2); 69 – 81.
- Hou, X. 2012. Anaerobic xylose fermentation by *Spathaspora passalidarum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 94; 205 – 214.
- Hu, F., Jung, S. and Ragauskas, A. 2012. Pseudo – lignin formation and its impact on enzymatic hydrolysis. *Bio Tech*, 117; 7 – 12.
- Hu, K., Jin, G.J., Xu, Y.H., Xue, S.J., Qiao, S.J., Teng, Y.X. and Tao, Y.S 2019. Enhancing wine ester biosynthesis in mixed *Hanseniaspora uvarum* / *Saccharomyces cerevisiae* fermentation by nitrogen nutrient addition. *Food Res Int*, 123; 559 – 566.
- Hu, Z. and Wen, Z. 2008. Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave – assisted alkali pretreatment. *Bio Eng J*, 38(3); 369 – 378.
- Huang, M., Liu, X., Li, X., Sheng, X., Li, T., Tang, W., Yu, Z. and Wang, Y. 2022. Effect of *Hanseniaspora uvarum* – *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermentation on aroma characteristics of *Rosa roxburghii* tratt, blueberry, and plum wines. *Molecules*, November, 27(22); 80 – 97.
- Ibrahim, M.F., Kim, S.W. and Abd – Aziz, S. 2018. Advanced bioprocessing strategies for biobutanol production from biomass. *Renew Sustain Energy Rev*, 91; 1192 – 1204.
- Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R. and Khan, F. 2010. Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *J Zhejiang Univ Sci B*, 11; 973 – 980.
- Jacobs, C.J., Fourie, I. and van Vuuren, H.J.J. 1988. Occurrence and detection of killer yeasts on Chenin Blanc grapes and grape skins. *South Afr J Enol Vitic*, 9; 28 – 31.
- Jagtap, S.S. and Rao, C.V. 2018. Microbial conversion of xylose into useful bioproducts. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102; 9015 – 9036.
- Jairam, C., Surender, S. and Lata, N. 2016. Thermotolerant fermenting yeasts for simultaneous saccharification fermentation of lignocellulosic biomass. *Electronic J Biotechnol*, 21; 82 – 92.

- Jambo, S.A., Abdulla, R., Mohd Azhar, S.H., Marbawi, H., Gansau, J.A. and Ravindra, P. 2016. A review on third generation bioethanol feedstock. *Renew Sustain Energy Rev*, 65: 756 – 769.
- Jang, S.K., Kim, J.H., Jeong, H., Choi, J.H., Lee, S.M. and Choi, I.G. 2018 Investigation of conditions for dilute acid pretreatment for improving xylose solubilization and glucose production by supercritical water hydrolysis from *Quercus mongolica*. *Renew Energ*, 117; 150 – 156.
- Ji, C., Kong, C.X., Mei, Z.L. and Li, J. 2017. A review of the anaerobic digestion of fruit and vegetable waste. *Biotech App Biochem*, 183; 906 – 922.
- Jolly, N.P., Augustyn, O.P.H. and Pretorius, I.S. 2006. The role and use of non – *Saccharomyces* yeasts in wine production. *S Afr J Enol Vitic*, 27; 15 – 39.
- Juneja, A., Kumar, D., Rajendran, K. and Mittal, A. 2023. 4 – Pretreatment technologies for lignocellulosic biomass refineries. *Adv Lignocel Bio Produc Syst – App Biotech Rev*, 2023; 81 – 106.
- Kaar, W.E. and Holtzapple, M.T. 2000. Using lime pretreatment to facilitate the enzymic hydrolysis of cornstover. *Bio Bioenerg*, 18; 189 – 199.
- Kabadayı, H.K., Demiray, E., Ertuğrul – Karatay, S. and Dönmez, G. 2023. Bioethanol production from mulberry pomace by newly isolated non – conventional yeast *Hanseniaspora uvarum*. *Biomass Conversion and Biorefnery*, May, 1 – 20.
- Kadam, K.L. and McMillan, J.D. 2003. Availability of corn stover as a sustainable feedstock for bioethanol production. *Bio Tech*, 88(1); 17 – 25.
- Kalhorinia, S., Goli, J.K. and Venkateswar, L.R. 2011. Screening and parameters optimization of pentose fermenting yeasts for ethanol production using simulated media. *Biosci Biotechnol Res Asia*, 11; 641 – 648.
- Kara, Ş. and Erçelebi, E.A. 2013. Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra L.*). *J Food Engineer*, 116; 541 – 547.
- Karagöl, İ.T. ve Kavaz, İ. 2017. Dünya’da ve Türkiye’de yenilenebilir enerji. *SETA Analiz Derg*, Nisan Dönemi, 197; 1 – 30.
- Karagöz, P. 2013. Lignoselülozik atıkların ko–fermantasyonla biyoetanole dönüştürülmesi: Ön arıtım ve fermentasyon proseslerinin incelenmesi ve iyileştirilmesi. Doktora tezi (yayımlanmamış). Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, 111, Gebze.
- Karaosmanoğlu, F. 2006. Biyoyakıt teknolojisi ve İTÜ Araştırmaları. ENKÜS 2006 – İTÜ Enerji Çalıştay ve Sergisi Bildiriler Kitabı: 22 – 23 Haziran 2006. İTÜ Yayınları, 110 – 146 ss., İstanbul.
- Karunanithy, C., Muthukumarappan, K. and Gibbons, W.R. 2013. Effect of extruder screw speed, temperature, and enzyme levels on sugar recovery from different biomasses. *ISRN Biotechnol*, 2013; 1 – 13.
- Katanski, A., Vučurović, V., Vučurović, D., Bajić, B., Šaranović, Z., Šereš, Z. and Dodić, S. 2024. Bioethanol production from a – starch milk and b – starch milk as

- intermediates of industrial wet – milling wheat processing. *Fermentation*, 10; 1 – 25.
- Kataria, R. and Ghosh, S. 2014. NaOH pretreatment and enzymatic hydrolysis of saccharum spontaneum for reducing sugars production, energy sources. Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 36; 1028 – 1035.
- Khan, M.U., Usman, M., Ashraf, M.A., Dutta, N., Luo, G. and Zhang, S. 2022. A review of recent advancements in pretreatment techniques of lignocellulosic materials for biogas production: Opportunities and limitations. *Chem Eng J Adv*, May, 10, 1 – 10.
- Khare, S.K., Pandey, A. and Larroche, C. 2015. Current perspectives in enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass. *Biochem Eng J*, 102; 38 – 44.
- Khatriwada, J.R., Shrestha, S., Sharma, H.K. and Qin, W. 2021. Bioconversion of hemicelluloses into hydrogen. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 267 – 280 pp., Switzerland.
- Kim, T.H. and Lee, Y.Y. 2007. Pretreatment of corn stover by soaking in aqueous ammonia at moderate temperatures. *Appl Biochem Biotechnol*, 136; 81 – 82.
- Klinghoffer, N.B., Castaldi, M.J. and Nzihou, A. 2012. Catalyst properties and catalytic performance of char from biomass gasification. *Ind Eng Chem Res*, 51; 13113 – 13122.
- Klöcker, A. 1912. Beschreibungen von “*Saccharomyces apiculatus*” – Formen. *Zentr Bakteriell Parasitenk Abt*, 2(35); 375 – 388.
- Kobayashi, K., Kuwae, S., Ohya, T., Ohda, T., Ohyama, M. and Tomomitsu, K. 2000. High level secretion of recombinant human serum albumin by fedbatch fermentation of the methylotrophic yeast, *Pichia pastoris*, with minimal protease production and activation; *J Biosci Bioeng*, 90(3); 280 – 288.
- Koçoğlu – Soydan, D. 2012. Buğday saplarının biyoetanol üretimi: Asit hidrolizi ve enzimatik hidrolizin etkisi. Yüksek lisans tezi (yayımlanmamış). Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, 119, Gebze.
- Koppram, R., Nielsen, F., Albers, E., Lambert, A., Wännström, S., Welin, L., Zacchi, G. and Olsson, L. 2013. Simultaneous saccharification and co-fermentation for bioethanol production using corncobs at lab, PDU and demo scales. *Biotechnol Biofuels*, 6(1); 1 – 11.
- Koppram, R., Tomás – Pejó, E., Xiros, C. and Olsson, L. 2014. Lignocellulosic ethanol production at high – gravity: Challenges and perspectives. *Trends Biotechnol*, 32; 46 – 53.
- Koutinas, A.A., Vlysidis, A., Pleissner, D., Kopsahelis, N., Lopez – Garcia, I., Kookos, I.K., Papanikolaou, S., Kwanb, T.H. and Lin, C.S.K. 2014. Valorization of industrial waste and by – product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers. *Chem Soc Rev*, 43; 2587 – 2627.
- Koyuncu, F., Çetinbaş, M. and İbrahim, E. 2014. Nutritional constituents of wildgrown black mulberry (*Morus nigra L.*). *J Appl Botan Food Quality*, 87; 93 – 96.

- Kristensen, J.B., Börjesson J., Bruun, M.H., Tjerneld, F. and Jørgensen, H. 2007. Use of surface active additives in enzymatic hydrolysis of wheat straw lignocellulose. *Enzy Microb Techn*, 40; 888 – 895.
- Kumar, A., Jones, D.D. and Hanna, M.A. 2009. Thermochemical biomass gasification: A review of the current status of the technology. *Energies*, 2; 556 – 581.
- Kumar, D. and Singh, V. 2016. Dry – grind processing using amylase corn and superior yeast to reduce the exogenous enzyme requirements in bioethanol production. *Biotechnol Biofuels*, 9; 1 – 12.
- Kumar, M. and Gayen, K. 2011. Developments in biobutanol production. *Appl Energ*, 88; 1999 – 2012.
- Kumar, R. and Wyman, C.E. 2009. Effect of enzyme supplementation at moderate cellulase loadings on initial glucose and xylose release from corn stover solids pretreated by leading technologies. *Biotechnol Bioeng*, February, 102(2); 457 – 467.
- Lai, C.C., Lee, M.R., Hsiao, C.H., Tan, C.K., Lin, S.H., Liao, C.H., Huang, Y.T. and Hsueh, P.R. 2012. Infections caused by *Candida lipolytica*. *J Infection*, 65(4); 372 – 374.
- Lal, R. 2009. Soil quality impacts of residue removal for bioethanol production. *Soil Til Res*, 102; 233 – 241.
- Lambrechts, M.G. and Pretorius, I.S. 2000. Yeast and its importance to wine aroma. *S Afr J Enol Vitic*, 21; 97 – 129.
- Langenberg, A., Bink, F.J., Wolf, L., Walter, S., von Wallbrunn, C., Grossmann, M., Heinisch, J.J. and Schmitz, H.P. 2017. Glycolytic functions are conserved in the genome of the wine yeast. *Appl Environ Microbiol*, 83; 1 – 20.
- Lee, I. and Yu, J.H. 2020. The production of fermentable sugar and bioethanol from acacia wood by optimizing dilute sulfuric acid pretreatment and post treatment. *Fuel*, 275; 117943.
- Lee, S.H., Teramoto, Y. and Endo, T. 2009. Enzymatic saccharification of woody biomass micro / nanofibrillated by continuous extrusion process I – Effect of additives with cellulose affinity. *Bio Tech*, 100(1); 275 – 279.
- Lennartsson, P.R., Erlandsson, P. and Taherzadeh, M.J. 2014. Integration of the first and second generation bioethanol processes and the importance of by – products. *Bioresour Technol*, 165; 3 – 8.
- Li, S., Xu, S., Liu, S., Yang, C. and Lu, Q. 2004b. Fast pyrolysis of biomass in free – fall reactor for hydrogen – rich gas. *Fuel Proces Tech*, 85; 1201 – 1211.
- Lin, C. Y. and Lu, C. 2021. Development perspectives of promising lignocellulose feedstocks for production of advanced generation biofuels: A review. *Renew Sust Energ Rev*, 136; 1 – 10.
- Lindenmayer, D.B., Hulvey, K.B., Hobbs, R.J., Colyvan, M., Felton, A., Possingham, H., Steffen, W., Wilson, K., Youngentob, K. and Gibbons, P. 2012. Avoiding bio – perversity from carbon sequestration solutions. *Conserv Lett*, 5; 28 – 36.

- Lips, D. 2021. Fuelling the future of sustainable sugar fermentation across generations. *Eng Bio*, 6; 3 – 16.
- Liu, R., Li, J. and Shen, F. 2008. Refining bioethanol from stalk juice of sweet sorghum by immobilized yeast fermentation. *Renew Energy*, 33; 1130 – 1135.
- Liu, X., Lendormi, T. and Lanoisellé, J.L. 2019. Overview of hygienization pretreatment for pasteurization and methane potential enhancement of biowaste: Challenges, state of the art and alternative technologies. *J Clean Produc*, 236; 1 – 17.
- Liu, Y., Wang, Q., Zhang, Y. and Ni, B.J. 2015. Zero valent iron significantly enhances methane production from waste activated sludge by improving biochemical methane potential rather than hydrolysis rate. *Sci Rep*, 5; 1 – 6.
- Liu, Z.L., Slininger, P.J., Dien, B.S., Berhow, M.A., Kurtzman, C.P. and Gorsich, S.W. 2004a. Adaptive response of yeasts to furfural and 5 – hydroxymethylfurfural and new chemical evidence for HMF conversion to 2,5-bis-hydroxymethylfuran. *J Indus Microbiolog Biotech*, 31; 345 – 352.
- López – Linares, J.C., Romero, I., Cara, C., Ruiz, E., Moya, M. and Castro, E. 2014. Bioethanol production from rapeseed straw at high solids loading with different process configurations. *Fuel*, 122; 112 – 118.
- Lotze – Campen, H., von Lampe, M. and Kyle, P. 2014. Impacts of increased bioenergy demand on global food markets: An AgMIP economic model inter – comparison. *Agric Econ*, 45; 103 – 116.
- Löser, C., Urit, T., Gruner, E. and Bley, T. 2015. Efficient growth of *Kluyveromyces marxianus* biomass used as a biocatalyst in the sustainable production of ethyl acetate. *Sustainab Soc*, 5(2); 1 – 15.
- Lu, X., Zheng, X., Li, X. and Zhao, J. 2016. Adsorption and mechanism of cellulase enzymes onto lignin isolated from corn stover pretreated with liquid hot water. *Biotechnol Biofuels*, June, 9(118); 1 – 12.
- Lu, Y., Huang, D., Lee, P.R. and Liu, S.Q. 2015. Assessment of volatile and non – volatile compounds in durian wines fermented with four commercial non – *Saccharomyces* yeasts. *J Sci Food Agric*, 96; 1511 – 1521.
- Lugani, Y., Rai, R., Prabhu, A.A., Maan, P., Hans, M., Kumar, V., Kumar, S., Chandel, A.K. and Sengar, R.K. 2020. Recent advances in bioethanol production from lignocelluloses: A comprehensive review with a focus on enzyme engineering and designer biocatalysts. *Biofuel Res J*, 7; 1267 – 1295.
- Luo, X., Liu, J., Zheng, P., Li, M., Zhou, Y., Huang, L., Chen, L. and Shuai, L. 2019. Promoting enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass by inexpensive soy protein. *Biotechnol Biofuels*, 12; 1 – 13.
- Luque, R., De La Osa, A.R., Campelo, J.M., Romero, A.A., Valverde, J.L. and Sanchez, P. 2012. Design and development of catalysts for Biomass – To – Liquid – Fischer – Tropsch (BTL – FT) processes for biofuels production. *Energy Environ Sci*, 5(1); 5186 – 5202.
- Lynd, L.R., Van Zyl, W.H., McBride, J.E. and Laser, M. 2005. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: An update. *Curr Opin Biotechnol*, 16(2005); 577 – 583.

- Mahmoudi, H., Mahmoudi, M., Doustdar, O., Jahangiri, H., Tsolakis, A., Gu, S. and Wyszynski, M.L. 2018. A review of Fischer – Tropsch synthesis process, mechanism, surface chemistry and catalyst formulation. *Biofuels Eng*, 2(1); 11 – 31.
- Mai, P.T. and Nguyen, Q.D. 2020. Gasification of biomass. *IntechOpen*, October, 1 – 14.
- Mallakpour, S. and Naghdi, M. 2021. Bionanocomposites derived from polysaccharides: green fabrication and applications. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 193 – 214 pp., Switzerland.
- Mallouchos, A., Skandamis, P., Loukatos, P., Komaitis, M., Koutinas, A. and Kanellaki, M. 2003. Volatile compounds of wines produced by cells immobilized on grape skins. *J Agric Food Chem*, 51; 3060 – 3066.
- Marchal, A., Marullo, P., Moine, V. and Dubourdieu, D. 2011. Influence of yeast macromolecules on sweetness in dry wines: role of the *Saccharomyces cerevisiae* protein Hsp12. *J Agric Food Chem*, 59; 2004 – 2010.
- Masneuf – Pomarede, I., Bely, M., Marullo, P. and Albertin, W. 2016. The genetics of non – conventional wine yeasts: current knowledge and future challenges. *Front Microbiol*, 6; 1563.
- Mason, F. and Zapponi, L. 2016. The forest biodiversity artery: Towards forest management for saproxylic conservation. *IForest*, 9; 205 – 216.
- Matraxia, M., Alfonzo, A., Prestianni, R., Francesca, N., Gaglio, R., Todaro, A., Alfeo, V., Perretti, G., Columba, P., Settanni, L. and Moschetti, G. 2021. Non – conventional yeasts from fermented honey by – products: Focus on *Hanseniaspora uvarum* strains for craft beer production. *Food Microbiol*, 99; 10 – 38.
- Mazutti, M.A., Zobot, G., Boni, G., Skovronski, A., de Oliveira, D., Di Luccio, M., Rodrigues, M.I., Maugeri, F. and Treichel, H. 2010. Mathematical modeling of *Kluyveromyces marxianus* growth in solid – state fermentation using a packed – bed bioreactor. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 37; 391 – 400.
- Medina, K., Boido, E., Fariña, L., Gioia, O., Gomez, M. E., Barquet, M., Gaggero, C., Dellacassa, E. and Carrau, F. 2013. Increased flavour diversity of Chardonnay wines by spontaneous fermentation and co-fermentation with *Hanseniaspora vineae*. *Food Chem*, 141; 2513 – 2521.
- Mehmood, T., Nadeem, F., Qamar, S.A., Bilal, M. and Iqbal, H.M.N. 2021. Bioconversion of agro – industrial waste into value – added compounds. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 349 – 368 pp., Switzerland.
- Melikoğlu, M. ve Albostan, A. 2011. Türkiye’de biyoetanol üretimi ve potansiyeli. *Gazi Üniv Müh Mim Fakül Derg*, 26(1); 151 – 160.
- Mendoza, L.M. and Farías, M.E. 2010. Improvement of wine organoleptic characteristics by non – *Saccharomyces* yeasts. *Curr Res Technol Ed Top Appl Microbiol Microb Biotechnol*, 2; 908 – 919.

- Mendoza, L.M., Manca de Nadra, M.C. and Farias, M.F. 2007. Kinetics and metabolic behavior of a composite culture of *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* wine related strains. *Biotechnol Lett*, 29; 1057 – 1063.
- Mendoza, L.M., Merín, M.G., Morata, V.I. and Fariás, M.E. 2011. Characterization of wines produced by mixed culture of autochthonous yeasts and *Oenococcus oeni* from the northwest region of Argentina. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 38; 1777 – 1785.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem*, 31; 426 – 428.
- Mingorance – Cazorla, L., Clemente – Jiménez, J.M., Martínez – Rodríguez, S., Las Heras – Vazquez, F.J. and Rodríguez – Vico, F. 2003. Contribution of different natural yeasts to the aroma of two alcoholic beverages. *World J Microbiol Biotechnol*, 19; 297 – 304.
- Minhas, M.A., Begum, A., Hamid, S., Babar, M., Ilyas, R., Ali, S., Latif, F. and Andleeb, S. 2016. Evaluation of antibiotic and antioxidant activity of *Morus nigra* (Black Mulberry) extracts against soil borne, food borne and clinical human pathogens. *Pak J Zool*, 48; 1381 – 1388.
- Mohd – Zakria, R., Gimbut, J., Asras, M.F.F. and Chua, G.K. 2017. Magnesium sulphate and B-alanine enhanced the ability of *Kluyveromyces marxianus* producing bioethanol using oil palm trunk sap. *Biofuels*, 8; 595 – 603.
- Monlau, F., Trably, E., Barakat, A., Hamelin, J., Steyer, J.P. and Carrere, H. 2013. Two – stage alkaline – enzymatic pretreatments to enhance biohydrogen production from sunflower stalks. *Enviro Sci Tech*, 47; 12591 – 12599.
- Moose, R.A., Schigel, D., Kirby, L.J. and Shumskaya, M. 2019. Dead wood fungi in North America: An insight into research and conservation potential. *Nat Conserv*, 32; 1 – 17.
- Moreira, N., Mendes, F., de Pinho, P.G., Hogg, T. and Vasconcelos, I. 2008. Heavy sulphur compounds, higher alcohols and esters production profile of *Hanseniaspora uvarum* and *Hanseniaspora guilliermondii* grown as pure and mixed cultures in grape must. *Int J Food Microbiol*, 124; 231 – 238.
- Moreira, N., Mendes, F., Hogg, T. and Vasconcelos, I. 2005. Alcohols, esters and heavy sulphur compounds production by pure and mixed cultures of apiculate wine yeasts. *Int J Food Microbiol*, 103; 285 – 294.
- Moreira, N., Pina, C., Mendes, F., Couto, J.A., Hogg, T. and Vasconcelos, I. 2011. Volatile compounds contribution of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora uvarum* during red wine vinifications. *Food Control*, 22; 662 – 667.
- Mukherjee, A.K., Adhikari, H. and Rai, S.K. 2008. Production of alkaline protease by a thermophilic *Bacillus subtilis* under solid – state fermentation (SSF) condition using *Imperata cylindrica* grass and potato peel as low – cost medium: Characterization and application of enzyme in detergent formulation. *Biochem Eng J*, 39; 353 – 361.

- Murthy, G.S., Townsend, D.E., Meerdink, G.L., Bargren, G.L., Tumbleson, M.E. and Singh, V. 2005. Effect of aflatoxin B1 on the dry – grind ethanol process. *Cereal Chem*, 82; 302 – 304.
- Neifar, M., Chatter, R., Chouchane, H., Genouiz, R., Jaouani, A., Masmoudi, A. and Cherif, A. 2016. Optimization of enzymatic saccharification of chaetomorpha linum biomass for the production of macroalgae – based third generation bioethanol. *AIMS Bio*, 3(3); 400 – 401.
- Ning, Z., Zhang, H., Li, W., Zhang, R., Liu, G. and Chen, C. 2018. Anaerobic digestion of lipid – rich swine slaughterhouse waste: Methane production performance, long – chain fatty acids profile and predominant microorganisms. *Bio Tech*, 269; 426 – 433.
- Oberoi, H.S., Vadlania, P.V., Brijwania, K., Bhargav, V.K. and Patil, R.T. 2010. Enhanced ethanol production via fermentation of rice straw with hydrolysate – adapted candidatropicalis ATCC 13803. *Proc Bio*, 45; 1299 – 1306.
- Oğuz, H.İ. (2023). Dut yetiştiriciliği. Antalya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Yayınları, Antalya.
- Ouda, O.K.M., Raza, S.A., Nizami, A.S., Rehan, M., Al – Waked, R. and Korres, N.E. 2016. Waste to energy potential: A case study of Saudi Arabia. *Renew Sust Energy Rev*, 61; 328 – 340.
- Owisa, A.S., Bjerrec, A.B., Tahlawya, Y.E., Houc, X., Lawtherc, M., Bayitsed, R. and Rashamuse, K. 2023. Application of wet milling process for enzymatic hydrolysis of Egyptian and South African peel & flesh green and over – matured banana for bioethanol production. *GSJ*, December, 11(12); 928 – 942.
- Öhgren, K., Vehmaanpera, J., Siika – Aho, M., Galbe, M., Viikari, L. and Zacchi, G. 2007. High temperature enzymatic prehydrolysis prior to simultaneous saccharification and fermentation of steam pretreated cornstover for ethanol production. *Enzy Microb Techn*, 40; 607 – 613.
- Özdemir, H., Karbuz, A., Çiftçi, E., Dinçaslan, H.U., İnce, E., Aysev, D., Yavuz, G. and Doğru, Ü. 2011. Successful treatment of central venous catheter infection due to *Candida lipolytica* by caspofunginlock therapy. *Mycoses*, 54(5); 647 – 649.
- Özelçi, D. ve Yiğit, E. 2022. *Morus nigra* L. (Karadut) cv. Ekşi Kara'nın mikroçoğaltımı. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg*, 25 (1); 49 – 56.
- Özgen, M., Serçe, S. and Kaya, C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin – rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scenti Horticultur*, 119; 275 – 279.
- Öztürk, H. ve Kaya, D. 2012. İkincil enerji üretimi ve elektrik motorları. Umuttepe Yayınları, 33 s., İstanbul.
- Pallmann, C., Brown, J., Olineka, T., Cocolin, L., Mills, D. and Bisson, L. 2001. Use of WL medium to profile native flora fermentations. *Am J Enol Vit*, 52; 198 – 203.
- Palvasha, B.A., Ahmad, S., Abbasi, B.B.K., Nazir, M.S. and Abdullah, M.A. 2021. Bioconversion of straw biomass into bioproducts. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 369 – 383 pp., Switzerland.

- Palve, A.M., Arukula, R. and Gupta, R.K. 2021. Bioconversion of biowastes for energy applications. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 1 – 22 pp., Switzerland.
- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A.S. and Hatziloukas, E. 2020. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. AIMS Microbiol, 6(1); 1 – 31.
- Patil, P.D., Tiwari, M.S., Bhange, V.P., Marghade, D.T. and Kumaran, S.. 2021. Bioconversion of lignocellulosic residues into hydrogen. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 59 – 80 pp., Switzerland.
- Paulo, J.A., Solang, S. and Mussatto, I. 2010. The influence of initial xylose concentration, agitation, and aeration on ethanol production by *Pichia stipitis* from rice straw hemicellulosic hydrolysate. Appl Biochem Biotechnol, 162; 1306 – 1310.
- Pérez – Coello, M.S., Briones – Pérez, A.I., Ubeda – Iranzo, J.F. and Martin – Alvarez, P.J. 1999. Characteristics of wines fermented with different *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from the La Mancha region. Food Microbiol, 16; 563 – 573.
- Periyasamy, K., Santhalembi, L., Mortha, G., Aurousseau, M., Boyer, A. and Subramanian, S. 2018. Bioconversion of lignocellulosic biomass to fermentable sugars by immobilized magnetic cellulolytic enzyme cocktails. Langmuir, 34; 6546 – 6555.
- Peter, G. 2022. Biodiversity of *Zygosaccharomyces* species in food systems. Acta Alimentaria, 51(1); 43 – 51.
- Peter, J., De Chiara, M., Friedrich, A., Yue, J.X., Pflieger, D., Bergström, A., Sigwalt, A., Barre, B., Freel, K., Llored, A., Cruaud, C., Labadie, K., Aury, J.M., Istace, B., Lebrigand, K., Barbry, P., Engelen, S., Lemainque, A., Wincker, P., Liti, G. and Schacherer, J. 2018. Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates. Nature, April, 556; 339 – 351.
- Petravić – Tominac, V., Zechner – Krpan, V., Berković, K., Galovic, P., Herceg, Z., Srecec, S. and Spoljaric, I. 2011. Rheological properties, water – holding and oil – binding capacities of particulate β -glucans isolated from spent Brewer's yeast by three different procedures. Food Technol Biotechnol, 49; 56 – 64.
- Phaff, H.J., Miller, M.W. and Shifrine, M. 1956. The taxonomy of yeasts isolated from *Drosophila* in the Yosemite region of California. Antonie van Leeuwenhoek, 22; 145 – 161.
- Phitsuwan, P., Permsriburasuk, C., Baramée, S., Teeravivattanakit, T. and Ratanakhanokchai, K. 2017. Structural analysis of alkaline pretreated rice straw for ethanol production. Int J Polym Sci, 2017; 1 – 9.
- Phuttaro, C., Sawatdeenarunat, C., Surendra, K.C., Boonsawang, P., Chaiprapat, S. and Khanal, S.S. 2019. Anaerobic digestion of hydrothermally – pretreated lignocellulosic bio mass: influence of pretreatment temperatures, inhibitors and soluble organics on methane yield. Bioresour Technol, 284; 128 – 138.

- Pietrafesa, A., Capece, A., Pietrafesa, R., Bely, M. and Romano, P. 2020. *Saccharomyces cerevisiae* and *Hanseniaspora uvarum* mixed starter cultures: Influence of microbial / physical interactions on wine characteristics. *Yeast*, 37; 609 – 621.
- Pijper, A. 1928. Een nieuwe *Hanseniaspora*. Versl. Gewone vergadering Koninkl Akad Wetenschap Afd Natuurk, 37; 868 – 871.
- Pirrone, A., Prestianni, R., Naselli, V., Todaro, A., Farina, V., Tinebra, I., Raffaele, G., Badalamenti, N., Maggio, A., Gaglio, R., Settanni, L., Bruno, M., Moschetti, G., Alfonzo, A. and Francesca, N. 2022. Influence of indigenous *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* from sugar – rich substrates on the aromatic composition of loquat beer. *Int J Food Microbiol*, October, 16(379); 10 – 19.
- Pohit, S., Biswas, P.K., Kumar, R. and Jha, J. 2009. International experiences of ethanol as transport fuel: Policy implications for India. *Energ Pol*, 37; 4540 – 4548.
- Powell, J.T., Pons, J.C. and Chertow, M. 2016. Waste informatics: Establishing characteristics of contemporary U.S. landfill quantities and practices. *Environ Sci Tech*, 50; 10877 – 10884.
- Pramateftaki, P.V., Kouvelis, V.N., Lanaridis, P. and Typas, M.A. 2006. The mitochondrial genome of the wine yeast *Hanseniaspora uvarum*: A unique genome organization among yeast / fungal counterparts. *FEMS Yeast Res*, 6; 77 – 90.
- Prestianni, R., Matraxia, M., Naselli, V., Pirrone, A., Badalamenti, N., Ingrassia, M., Gaglio, R., Settanni, L., Columba, P., Maggio, A., Bruno, M., Francesca, N., Moschetti, G. and Alfonzo, A. 2022. Use of sequentially inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Hanseniaspora uvarum* strains isolated from honey by – products to improve and stabilize the quality of mead produced in Sicily. *Food Microbiol*, October, 107; 10 – 18.
- Prista, C., Gonzalez – Hernandez, J.C., Ramos, J. and Loureiro – Dias, M.C. 2007. Cloning and characterization of two K⁺ transporters of *Debaryomyces hansenii*. *Microbiology*, 153; 3034 – 3043.
- Qing, Q., Yang, B. and Wyman, C.E. 2010. Impact of surfactants on pretreatment of corn stover. *Bioresour Technol*, 101; 5941 – 5951.
- Qiu, Y., Lei, P., Wang, R., Sun, L., Luo, Z., Li, S. and Xu, H. 2023. *Kluyveromyces* as promising yeast cell factories for industrial bioproduction: From bio – functional design to application. *Biotech Advances*, May – June, 64; 1 – 18.
- Raamsdonk, L.M., Diderich, J.A., Kuiper, A., van Gaalen, M., Kruckberg, A.L., Berden, J.A. and Van Dam, K. 2002. Co – consumption of sugars or ethanol and glucose in a *Saccharomyces cerevisiae* strain deleted in the *HXK2* gene. *Yeast*, 19(2); 183.
- Rahaman, T., Biswas, S., Ghorai, S., Bera, S., Dey, S., Guha, S., Maity, D., Dey, S. Ganguly, J. and Das, M. 2023. Integrated application of morphological, anatomical, biochemical and physico – chemical methods to identify superior, lignocellulosic grass feedstocks for bioenergy purposes. *Renew Sust Energ Rev*, November 187; 1 – 13.

- Rajagopalan, B., Mathews, M.S. and Jacob, M. 1996. Vaginal colonisation by *Candida lipolytica*. Genitourin Med, 72(2); 146 – 147.
- Rajoka, M.I., Khan, S., Latif, F. and Shahid, R. 2004. Influence of carbon and nitrogen sources and temperature on hyperproduction of a thermotolerant β -glucosidase from synthetic medium by *Kluyveromyces marxianus*. Appl Biochem Biotechnol, 117(2); 75 – 92.
- Ramos – Moreno, L, Ramos, J. and Michán, C. 2019. Overlapping responses between salt and oxidative stress in *Debaryomyces hansenii*. World J Microbiol Biotechnol, 35; 17 – 28.
- Ranius, T., Hämäläinen, A., Egnell, G., Olsson, B., Eklöf, K., Stendahl, J., Rudolphi, J., Sténs, A. and Felton, A. 2018. The effects of logging residue extraction for energy on ecosystem services and biodiversity: A synthesis. J Environ Manag, 209; 409 – 425.
- Rantsiou, K., Dolci, P., Giacosa, S., Torchio, F., Tofalo, R., Torriani, S., Suzzi, G., Rolle, L. and Cocolin, L. 2012. *Candida zemplinina* can reduce acetic acid produced by *Saccharomyces cerevisiae* in sweet wine fermentations. Appl Environ Microbiol, 78; 1987 – 1994
- Rapp, A. 1990. Natural flavours of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. J Anal Chem, 337; 777 – 785.
- Rapp, A. and Mandery, H. 1986. Wine aroma. Experientia, 42; 873 – 883.
- Rashid, R., Ejaz, U. and Sohail, M. 2021. Biomass to xylose. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 247 – 265 pp., Switzerland.
- Reshmy, R., Philip, E., Madhavan, A., Sindhu, R., Binod, P., Balakumaran, P.A. and Pandey, A. 2021. Potential utilisation of fruit and vegetable waste: An overview. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 179 – 191 pp., Switzerland.
- Ricaurte, M.L. and Govind, N.S. 1999. Construction of plasmid vectors and transformation of the marine yeast *Debaryomyces hansenii*. Mar Biotechnol, 1; 15 – 19.
- Roca, C. and Olsson, L. 2003. Increasing ethanol productivity during xylose fermentation by cell recycling of recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Microbiol Biotechnol, 60; 560 – 563.
- Rocha, S.M., Rodrigues, F., Coutinho, P., Delgadillo, I. and Coimbra, M.A. 2004. Volatile composition of Baga red wine assessment of the identification of the would – be impact odourants. Anal Chim Acta, 513; 257 – 262.
- Rocha, S.N., Abrahão – Neto, J. and Gombert, A.K. 2011. Physiological diversity within the *Kluyveromyces marxianus* species. Antonie Van Leeuwenhoek, 100; 619 – 630.
- Rodriguez, L.A., Toro, M.E., Vazquez, F., Correa – Daneri, M.L., Gouiric, S.C. and Vallejo, M.D. 2010. Bioethanol production from grape and sugar beet pomaces by solid – state fermentation. Inter J Hydrogen Energy, 35; 5914 – 5917.

- Rojas, V., Gil, J.V., Pinaga, F. and Manzanares, P. 2001. Studies on acetate ester production by non – *Saccharomyces* wine yeasts. *Int J Food Microbiol*, 70; 283 – 289.
- Rojas, V., Gil, J.V., Piñaga, F. and Manzanares, P. 2003. Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratories fermentations. *Int J Food Microbiol*, 86; 181 – 188.
- Romano, P., Fiore, C., Paraggio, M., Caruso, M. and Capece, A. 2003. Function of yeast species and strains in wine flavour. *Int J Food Microbiol*, 86; 169 – 180.
- Romano, P., Suzzi, G., Comi, G. and Zironi, R. 1992. Higher alcohol and acetic acid production by apiculate wine yeasts. *J Appl Bacteriol*, 73; 126 – 130.
- Romano, P., Suzzi, G., Comi, G., Zironi, R. and Maifreni, M. 1997. Glycerol and other fermentation products of apiculate wine yeasts. *J Appl Microbiol*, 82; 615 – 618.
- Ruiz, E., Cara, C., Manzanares, P., Ballesteros, M. and Castro, E. 2008. Evaluation of steam explosion pretreatment for enzymatic hydrolysis of sunflower stalks. *Enzyme Microb Technol*, 42; 160 – 166.
- Ruiz, H. A., Martínez, A. and Vermerris, W. 2016. Bioenergy potential, energy crops, and biofuel production in Mexico. *BioEnergy Res*, 9; 981 – 984.
- Sadineni, V., Kondapalli, N. and Obulam, V.S.R. 2011. Effect of co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* or *Metschnikowia pulcherrima* on the aroma and sensory properties of mango wine. *Ann Microbiol*, 62; 1353 – 1360.
- Safaripour, M., Ghanbari, A., Seyedabadi, E. and Pourhashem, G. 2021. Investigation of environmental impacts of bioethanol production from wheat straw in Kermanshah, Iran. *Biomass Convers Biorefnery*, July, 1 – 11.
- Sahoo, T., Panda, J., Senapati, D.K., Rath, C.K., Behera, M. and Sahu, R. 2021. Production of biodiesel from organic wastes by bioconversion. Editor: Inamuddin, A.K., *Sustainable bioconversion of waste to value added products*. Springer Cham Publishing, 385 – 393 pp., Switzerland.
- Sánchez – Salcedo, E.M., Mena, P., García – Viguera, C., Martínez, J.J. and Hernández, F. 2015. Phytochemical evaluation of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits, a starting point for the assessment of their beneficial properties. *J Function Food*, 12; 399 – 408.
- Sanchez, A., Hernández – Sánchez, P. and Puente, R. 2019. Hydration of lignocellulosic biomass. Modelling and experimental validation. *Ind Crop Prod*, 131; 70 – 77.
- Sanchez, G., Pilcher, L., Roslander, C., Modig, T., Galbe, M. and Liden, G. 2004. Dilute – acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja brava. *Biores Technol*, 93; 249 – 256.
- Sánchez, Ó.J. and Cardona, C.A. 2008. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresour Technol*, 99; 5270 – 5295.
- Santana, A.A., Brito Júnior, C.A.R., da Silva, D.F., Jacinto, G.S.S., Gomes, W.C. and Cruz, G. 2021. Bioconversion of food waste into bioplastics. Editor: Inamuddin,

- A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 281 – 297 pp., Switzerland.
- Saqib, S., Mukhtar, A., Ullah, S., Sagir, M., Tahir, M.B., Amen, R., Babar, M., Al – Sehemi, A.G., Assiri, M.A. and Ibrahim, M. 2021. Biological methods for carbon dioxide conversion and utilization. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 165 – 177 pp., Switzerland.
- Satlewal, A., Agrawal, R., Bhagia, S., Dass, P. and Ragauskas, A.J. 2017. Rice straw as a feedstock for biofuels: Availability, recalcitrance, and chemical properties. *Biofuel Bioprod Biorefin*, October, 12; 83 – 107.
- Saurina, J. 2010. Characterization of wines using compositional profiles and chemometric. *Trends Anal Chem*, 29; 234 – 245.
- Schadeweg, V. and Boles, E. 2016. n-butanol production in *Saccharomyces cerevisiae* is limited by the availability of coenzyme A and cytosolic acetyl – CoA. *Biotechnol Biofuels*, 9; 1 – 14.
- Schell, D.J., Farmer, J., Newman, M. and McMillan, J.D. 2003. Dilute – sulfuric acid pretreatment of corn stover in pilot – scale reactor: Investigation of yields, kinetics, and enzymatic digestibilities of solids. *Appl Biochem Biotechnol*, Spring, 105(108); 69 – 85.
- Schultz – Jensen, N., Thygesen, A., Leipold, F., Thomsen, S., Roslander, C., Lilholt, H. and Bjerre, A. 2013. Pretreatment of the macroalgae *Chaetomorpha linum* for the production of bioethanol – Comparison of five pretreatment technologies. *Micro Fuel Cells: Mater Appl*, 46(2013); 307 – 334.
- Searchinger, T., Heimlich, R., Houghton, R.A., Dong, F., Elobeid, A., Fabiosa, J., Tokgoz, S., Hayes, D. and Yu, T.H. 2008. Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land – use change. *Science*, February, 319(5867); 1238 – 1240.
- Seixas, I., Santos, D., Vasconcelos, I., Mira, N.P. and Mendes – Ferreira, A. 2023. Insights into the transcriptional regulation of poorly characterized alcohol acetyltransferase – encoding genes (HGAATs) shed light into the production of acetate esters in the wine yeast *Hanseniaspora guilliermondii*. *FEMS Yeast Res*, January, 4(23); 21 – 29.
- Senthilraja, P., Kathiresan, K. and Saravanakumar, K. 2011. Comparative analysis of bioethanol production by different strains of immobilized marine yeast. *J Yeast Fungal Res*, 2; 113 – 116.
- Shahirah, M.N.N., Gimbut, J., Pang, S.F., Zakria, R.M., Cheng, C.K., Chua, G.K. and Asras MFF. 2015. Influence of nutrient addition on the bioethanol yield from oil palm trunk sap fermented by *Saccharomyces cerevisiae*. *J Ind Eng Chem*, 23; 213 – 217.
- Shakellya, N., Pérez – Cardona, J.R., Deng, S., Maania, T., Li, Z., Sutherland, J.W. 2023. Comparative life cycle assessment of bioethanol production from different generations of biomass and waste feedstocks. *Procedia CIRP*, 116(2023); 630 – 635.

- Shalsh, F.J., Ibrahim, N.A, and Arifullah, M. 2016. Bioethanol production from the co – fermentation and co – culture fermentation of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* ATCC 58785 in a stirred tank bioreactor. Editor: Sun, Y., Advances in power and energy engineering. CRC Press, 171 – 176 pp., Boca Raton.
- Shamsuddin, R., Singh, G., Kok, H.Y., Rosli, M.K., Cahyono, N.A.D., Lam, M.K., Lim, J.W. and Low, A. 2021. Palm oil industry – processes, by – product treatment and value addition. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 121 – 143 pp., Switzerland.
- Sharma, K., Toor, S.S., Shah, A.A. and Rosendahl, L.A. 2021. Green and sustainable biomass processing for fuels and chemicals. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 23 – 44 pp., Switzerland.
- Sharma, N. and Sharma, N. 2018. Second generation bioethanol production from lignocellulosic waste and its future perspectives: A review. Int J Curr Microbiol Appl Sci, 7(5); 1285 – 1290.
- Shehata, A.M.E.T., Mrak, M.E. and Phaff, S.M. 1955. *Hanseniaspora uvarum* (Niehaus). Mycologia, 47(6): 807 – 815.
- Shin, J.H., Kook, H., Shin, D.H., Hwang, T.J., Kim, M., Suh, S.P. and Ryang, D.W. 2000. Nosocomial cluster of *Candida lipolytica* fungemia in pediatric patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 19(5); 344 – 349.
- Shrestha, S., Khatiwada, J.R., Sharma, H.K. and Qin, W. 2021. Bioconversion of fruits and vegetables wastes into value – added products. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 145 – 163 pp., Switzerland.
- Shuping, Z., Yulong, W., Mingde, Y., Kaleem, I., Chun, L. and Tong, J. 2010. Production and characterization of bio – oil from hydrothermal liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* cake. Energy, 35(12); 5406 – 5411.
- Sills, D.L. and Gossett, J.M. 2011. Assessment of commercial hemicellulases for saccharification of alkaline pretreated perennial biomass. Bio Techn, 102(2); 1389 – 1398.
- Silva – Santisteban, B.O.Y., Converti, A. and Filho, F.M. 2009. Effects of carbon and nitrogen sources and oxygenation on the production of inulinase by *Kluyveromyces marxianus*. Appl Biochem Biotechnol, 152; 249 – 261.
- Sindhu, R., Binod, P. and Pandey, A. 2016. A novel sono – assisted acid pretreatment of chili post harvest residue for bioethanol production. Bioresour Technol, 213; 58 – 63.
- Singh, R., Shukla, A., Tiwari, S. and Srivastava, M. 2014. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. Renew Sustain Energ Rev, 32; 713 – 728.
- Singh, V., Batie, C.J., Aux, G.W., Rausch, K.D. and Miller, C. 2006. Dry – grind processing of corn with endogenous liquefaction enzymes. Cereal Chem, 83(4); 317 – 320.

- Sitompul, S.N. and Maftuhin, W. 2020. Third generation bioethanol production from *Chaetomorpha* sp. isolated from pulau seribu seawater using acid pretreatment. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Sci J*, September, 37(3); 162 – 167.
- Slininger, P.J., Dien, B.S., Gorsich, S.W. and Liu, Z.L. 2006. Nitrogen source and mineral optimization enhance d–xylose conversion to ethanol by the yeast *Pichia stipitis* NRRL Y–7124. *Appl Microbiol Biotechnol*, 72; 1285 – 1296.
- Slizyte, R., Rustad, T. and Storro, I. 2005. Enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by – products: Optimization of yield and properties of lipid and protein fractions. *Pro Bio*, 40(12); 3680 – 3692.
- Smith, M.T. 1974. *Hanseniaspora occidentalis* sp. nov. *Taxonomy*, 40; 441 – 444.
- Snäll, T., Johansson, V., Jönsson, M., Ortiz, C., Hammar, T., Caruso, A., Svensson, M. and Stendahl, J. 2017. Transient trade – off between climate benefit and biodiversity loss of harvesting stumps for bioenergy. *GCB Bioenergy*, 9; 1751 – 1763.
- Soam, S., Kapoor, M., Kumar, R., Gupta, R.P., Puri, S.K. and Ramakumar, S.S.V. 2018. Life cycle assessment and life cycle costing of conventional and modified dilute acid pretreatment for fuel ethanol production from rice straw in India. *J Clean Prod*, 197; 732 – 741.
- Sobieszuk, P., Zamojska – Jaroszewicz, A. and Makowski, Ł. 2017. Influence of the operational parameters on bioelectricity generation in continuous microbial fuel cell, experimental and computational fluid dynamics modelling. *J Pow Sou*, 371; 178 – 187.
- Sørensen, A., Teller, P.J., Hilstrøm, T. and Ahring, B.K. 2008. Hydrolysis of *Miscanthus* for bioethanol production using dilute acid presoaking combined with wet explosion pre – treatment and enzymatic treatment. *Bioresour Technol*, September, 99(14); 6602 – 6607.
- Spano, G., Russo, P., Lonvaud – Funel, A., Lucas, P., Alexandre, H., Grandvalet, C., Coton, E., Coton, M., Barnavon, L., Bach, B., Rattray, F., Bunte, A., Magni, C., Ladero, V., Alvarez, M., Fernández, M., Lopez, P., de Palencia, P.F., Corbi, A., Trip, H. and Lolkema, J.S. 2010. Biogenic amines in fermented foods. *Eur J Clin Nutr* 64(3); 95 – 100.
- Sparrevik, M., Lindhjem, H., Andria, V., Fet, A.M. and Cornelissen, G. 2014. Environmental and socioeconomic impacts of utilizing waste for biochar in rural areas in Indonesia – A systems perspective. *Environ Sci Tech*, 48; 4664 – 4671.
- Spohner, S.C., Müller, H., Quitmann, H. and Czermak, P. 2015. Expression of enzymes for the usage in food and feed industry with *Pichia pastoris*. *J Biotech*, 202; 118 – 134.
- Suárez – Lepe, J.A. and Morata, A. 2012. New trends in yeast selection for winemaking. *Trends Food Sci Technol*, 23; 39 – 50.
- Sugumaran, K.R., Jothi, P. and Ponnusami, V. 2014. Bioconversion of industrial solid waste – *Cassava bagasse* for pullulan production in solid state fermentation. *Carbohydr Poly*, 99; 22 – 30.

- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Biores Techn*, 83(1); 1 – 11.
- Suzzi, G., Schirone, M., Sergi, M., Marianella, R.M. and Fasoli, G., Aguzzi, I. and Tofalo, R. 2012. Multistarter from organic viticulture for red wine Montepulciano d'Abruzzo production. *Front Microbiol*, 3; 135.
- Swiegers, J.H. and Pretorius, I.S. 2005. Yeast modulation of wine flavor. *Adv Appl Microbiol*, 57; 131 – 175.
- Swiegers, J.H., Bartowsky, E.J., Henschke, P.A. and Pretorius, I.S. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Aust J Grape Wine Res*, 11; 139 – 173.
- Sydney, E.B., Schneider, J., Martinez, D.G., Smaniotto, B., Estevam, F.N.L., Brandt, L.S., de França, T.J.L., Novak, A.C. and Pinheiro, B.C. 2021. Bioconversion of food waste to biogas. Editor: Inamuddin, A.K., Sustainable bioconversion of waste to value added products. Springer Cham Publishing, 95 – 108 pp., Switzerland.
- Szambelan, K., Nowak, J., Szwengiel, A., Jeleń, H. and Łukaszewski, G. 2018. Separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods in bioethanol production and formation of volatile by – products from selected corn cultivars. *Indust Crops Produc*, August, 118; 355 – 361.
- Şahin, G., Taksim, M.A. and Yitgin, B. 2021. Effects of the european green deal on Turkey's electricity market. *İşlet Ekon Yön Arş Derg*, 4(1); 40 – 58.
- Taherzadeh – Fini, A. and Fattahi, A. 2021. Bioethanol production from wastes: An experimental evaluating study for Iran. *J Renewab Energ Environ (JREE)*, 8(3); 86 – 93.
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *Int J Molec Sci*, 9; 1621 – 1651.
- Takasuka, T., Komiyama, T., Furuichi, Y. and Watanabe, T. 1995. Cell Wall synthesis specific cytotoxic effect of *Hansenula mrakii* toxin-1 on *Saccharomyces cerevisiae*. *Cel Mol Biol Res*, 41; 575 – 581.
- Talebnia, F., Karakashev, D. and Angelidaki, I. 2010. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bio Tech*, 101; 4774 – 4753.
- Tarko, T., Duda – Chodak, A., Satora, P., Sroka, P., Pogoń, P. and Machalica, J. 2014. *Chaenomeles japonica*, *Cornus mas*, *Morus nigra* fruits characteristics and their processing potential. *J Food Scie Techno*, 51; 3934 – 3941.
- Taylor, F., Kurantz, M.J., Goldberg, N., McAloon, A.J. and Craig, J.C. 2010. Dry – grind process for fuel ethanol by continuous fermentation and stripping. *Biotechnol Pro*, 16(4); 541 – 547.
- Thanh, L.T., Okitsu, K., Sadanaga, Y., Takenaka, N., Maeda, Y. and Bandow, H. 2013. A new co – solvent method for the green production of biodiesel fuel – Optimization and practical application. *Fuel*, 103; 742 – 748.

- Thompson, K.A., Shimabuku, K.K., Kearns, J.P., Knappe, D.R.U., Summers, R.S. and Cook, S.M. 2016. Environmental comparison of biochar and activated carbon for tertiary wastewater treatment. *Environ Sci Tech*, 50; 11253 – 11262.
- Thomson, J.M., Gaucher, E.A., Burgan, M.F., De Kee, D.W., Li, T., Aris, J.P. and Benner, S.A. 2005. Resurrecting ancestral alcohol dehydrogenases from yeast. *Nat Genet*, 37; 630 – 635.
- Thorn, S., Bässler, C., Brandl, R., Burton, P.J., Cahall, R., Campbell, J.L., Castro, J., Choi, C.Y., Cobb, T., Donato, D.C., Durska, E., Fontaine, J.B., Gauthier, S., Hebert, C., Hothorn, T., Hutto, R.L., Lee, E.J., Leverkus, A.B., Lindenmayer, D.B., Obrist, M.K., Rost, J., Seibold, S., Seidl, R., Thom, D., Waldron, K., Wermelinger, B., Winter, M.B., Zmihorski, M. and Müller, J. 2018. Impacts of salvage logging on biodiversity: A meta – analysis. *J Appl Ecol*, 55: 279 – 289.
- Thuy, C.X., Minh, N.P. and Lam, T.B. 2014. Enzymatic hydrolysis optimization of (*Pangasius hypophthalmus*) by – products to obtain fish protein isolate (FPI) with foaming function. *Int J Innov App Res*, 2(4); 8 – 15.
- Tofalo, R., Schirone, M., Torriani, S., Rantsiou, K., Cocolin, L., Perpetuini, G. and Suzzi, G. 2012. Diversity of *Candida zemplinina* strains from grapes and Italian wines. *Food Microbiol*, 29; 18 – 26.
- Toro, M.E. and Vazquez, F. 2002. Fermentation behaviour of controlled mixed and sequential cultures of *Candida cantarellii* and *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *World J Microbiol Biotechnol*, 18; 347 – 354.
- Torr, K.M., Love, K.T., Simmons, B.A. and Hill, S.J. 2016. Structural features affecting the enzymatic digestibility of pine wood pretreated with ionic liquids. *Biotechnol Bioeng*, 113; 540 – 549.
- Torriani, S., Lorenzini, M., Salvetti, E. and Felis, G.E. 2011. *Zygosaccharomyces gambellarensis* sp. nov., an ascosporogenous yeast isolated from an Italian 'passito' style wine. *Inter J System Evolut Microb*, 61; 3084 – 3088.
- Tovar – Castro, L., García – Garibay, M. and Saucedo – Castañeda, G. 2008. Lactase production by solid – state cultivation of *Kluyveromyces marxianus* CDBBL 278 on an inert support: Effect of inoculum, buffer, and nitrogen source. *Appl Biochem Biotechnol*, 151; 610 – 617.
- Tristezza, M., Gerardi, C., Logrieco, A. and Grieco, F. 2009. An optimized protocol for the production of interdelta markers in *Saccharomyces cerevisiae* by using capillary electrophoresis. *J Microbiol Meth*, 78; 286 – 291.
- Tristezza, M., Tufariello, M., Capozzi, V., Spano, G., Mita, G. and Grieco, F. 2016. The oenological potential of *Hanseniaspora uvarum* in simultaneous and sequential co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for industrial wine production. *Front Microbiol*, 7; 670.
- Tristezza, M., Vetrano, C., Bleve, G., Grieco, F., Tufariello, M., Quarta, A., Mita, G., Spano, G. and Grieco, F. 2012. Autochthonous fermentation starters for the industrial production of Negroamaro wines. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 39; 81 – 92.

- Tristezza, M., Vetrano, C., Bleve, G., Spano, G., Capozzi, V., Logrieco, A., Mita, G. and Grieco, F. 2013. Biodiversity and safety aspects of yeast strains characterized from vineyards and spontaneous fermentations in the Apulia Region, Italy. *Food Microbiol*, 36; 335 – 342.
- Tse, T.J. and Wiens, D.J. 2021. Production of bioethanol – A review of factors affecting ethanol yield. *Fermentation*, 7: 1 – 18.
- Tucker, M., Kyoung, H.K., Newman, M.M., and Nguyen, Q.A. 2003. Effects of temperature and moisture on dilute acid steam explosion pretreatment of corn stover and cellulase enzyme digestibility. *App Bioch Biotech*, Spring, 105(108); 165 – 167.
- Tufariello, M., Capone, S. and Siciliano, P. 2012. Volatile components of Negroamaro red wines produced in Apulian Salento area. *Food Chem*, 132; 2155 – 2164.
- Tye, Y.Y., Lee, K.T., Wan – Abdullah, W.N. and Leh, C.P. 2016. The world availability of non – wood lignocellulosic biomass for the production of cellulosic ethanol and potential pretreatments for the enhancement of enzymatic saccharification. *Renew Energ Rev*, 60; 155 – 172.
- Üçüncü, C., Tari, C., Demir, H., Büyükkileci, A.O. and Özen, B. 2013. Dilute – acid hydrolysis of apple, orange, apricot and peach pomaces as potential candidates for bioethanol production. *J Bio Mat Bio*, 7; 1 – 14.
- Valdez, P.J., Tocco, V.J. and Savage, P.E. 2014. A general kinetic model for the hydrothermal liquefaction of microalgae. *Bio Tech*, 163; 123 – 127.
- Vallejos, M.E., Kruyeniski, J. and Area, M.C. 2017. Second – generation bioethanol from industrial wood waste of South American species. *Bio Res J*, 15(2017); 654 – 667.
- Van der Walt, J.P. and Tscheuschner, I.T. 1957. *Hanseniaspora vineae* sp. nov. *Transact British Mycologic Soc*, 40(2); 211 – 212.
- Varga, E., Réczey, K. and Zacchi, G. 2004. Optimization of steam pretreatment of corn stover to enhance enzymatic digestibility. *Appl Biochem Biotechnol*, Spring, 113(116); 509 – 523.
- Varga, E., Schmidt, A.S., Réczey, K. and Thomsen, A.B. 2003. Pretreatment of corn stover using wet oxidation to enhance enzymatic digestibility. *App Bio Biotech Part A*, 104(1); 37 – 50.
- Vasquez, M.P., Silva, J.N.C., Souza, M.B. and Pereira, N. 2007. Enzymatic hydrolysis optimization to ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation, *App Biochem Biotechnol*, 137(140); 141 – 153.
- Verardi, A., Blasi, A., Marino, T., Molino, A. and Calabrò, V. 2018. Effect of steam – pretreatment combined with hydrogen peroxide on lignocellulosic agricultural wastes for bioethanol production: Analysis of derived sugars and other by – products. *J. Energ Chem*, 27; 535 – 543.
- Viana, F., Belloch, C., Vallés, S. and Manzanares, P. 2011. Monitoring a mixed starter of *Hanseniaspora vineae* – *Saccharomyces cerevisiae* in natural must: Impact on 2–phenylethyl acetate production. *Int J Food Microbiol*, 151, 235 – 240.

- Viana, F., Gil, J.V., Genovés, S., Vallés, S. and Manzanares, P. 2008. Rational selection of non – *Saccharomyces* wine yeast for mixed starters based on ester formation and enological traits. *Food Microbiol*, 25; 778 – 785.
- Vicky, T., Maria, D., Yves, G., Etienne, D. and Yorgos, K. 2023. Comparison of the influence of *Saccharomyces pastorianus* to *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* inoculation ratio to oenological characteristics of Sauvignon Blanc wine. *BIO Web of Conferences*, 68; 1 – 7.
- Vohra, M., Manwar, J., Manmode, R., Padgilwar, S. and Patil, S. 2014. Bioethanol production: Feedstock and current technologies. *J Environ Chem Eng*, 2(1); 573 – 584.
- Vural, U., Dumanoglu, H. and Erdogan V 2008. Effect of grafting / budding techniques and time on propagation of black mulberry (*Morus nigra* L.) in cold temperate zones. *Propagat Ornament Plants*, 8(2); 55 – 58.
- Walker, G.M. and Basso, T.O. 2020. Mitigating stress in industrial yeasts. *Fungal Biol*, 124; 387 – 397.
- Wang, C., Mas, A. and Esteve – Zarzoso, B. 2015. Interaction between *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation. *Int J Food Microbiol*, 206; 67 – 74.
- Wang, D., Kim, D.H. and Kim, K.H. 2016. Effective production of fermentable sugars from *Brown macroalgae* biomass. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100(22); 9439 – 9450.
- Wang, D., Wu, D., Yang, X. and Hong, J. 2018. Transcriptomic analysis of thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* in multiple inhibitors tolerance. *RSC Adv*, 8(26); 14177 – 14192.
- Wang, F., Zhang, D., Wu, H., Yi, W., Fu, P., Li, Y. and Li, Z. 2016. Enhancing biogas production of corn stover by fast pyrolysis pretreatment. *Bioresour Technol*, 218(2016); 731 – 736.
- Wang, G., Li, Q., Gao, X. and Wang, X.C. 2019. Sawdust – derived biochar much mitigates VFAs accumulation and improves microbial activities to enhance methane production in thermophilic anaerobic digestion. *ACS Sustain Chem Eng*, 7; 2141 – 2150.
- Wang, W., Chen, X., Donohoe, B.S., Ciesielski, P.N., Katahira, R., Kuhn, E.M., Kafle, K., Lee, C.M., Park, S., Kim, S.H., Tucker, M.P., Himmel, M.E. and Johnson, D.K. 2014. Effect of mechanical disruption on the effectiveness of three reactors used for dilute acid pretreatment of corn stover Part 1: chemical and physical substrate analysis. *Biotechnol Biofuels*, April, 9(7); 1 – 15.
- Wang, X., Hua, F., Wang, L., Wilcove, D.S. and Yu, D.W. 2019. The biodiversity benefit of native forests and mixed – species plantations over monoculture plantations. *Divers Distrib*, 25; 1721 – 1735.
- Wang, Z., Wang, Y., Zhang D., Li, J., Hua, Z., Du, G. and Chen, J. 2010. Enhancement of cell viability and alkaline polygalacturonate lyase production by sorbitol cofeeding with methanol in *Pichia pastoris* fermentation, *Bioresource Technology*, 101(4); 1318 – 1323.

- Watcharawipas, A., Mat – Nanyan, N.S.B. and Astuti, R.I. 2022. Waste to wealth: The importance of yeasts in sustainable bioethanol production from lignocellulosic biomass. Editors: Yaser, A.Z., Tajarudin, H.A. and Embrandiri, A., Waste management, processing and valorisation. Springer, pp. 265 – 283. Singapore.
- Whaley, S.G., Berkow, E.L., Rybak, J.M., Nishimoto, A.T., Barker, K.S. and Rogers, P.D. 2017. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non – albicans *Candida species*. Front Microbiol, 7; 21 – 27.
- Widodo, Y., Wahyuningsih, S. and Ueda, A. 2015. Sweet potato production for bio – ethanol and food related industry in Indonesia: Challenges for sustainability. Proc Chem, 14; 493 – 500.
- Wistara, N.J., Pelawi, R. and Fatriasari, W. 2016. The effect of lignin content and freeness of pulp on the bioethanol productivity of Jabon wood. Waste and Biomass Valorization, 7; 1141 – 1146.
- Wolfaardt, F.J., Leite – Fernandes, L.G., Cangussu – Oliveira, S.K., Duret, X., Görgens, J.F. and Lavoie, J.M. 2020. Recovery approaches for sulfuric acid from the concentrated acid hydrolysis of lignocellulosic feedstocks: A mini – review. Energ Conv Manag, January, 10(2), 1 – 58.
- Xing – Cai, L., Jian – Guang, Y., Wu – Gao, Z. and Zhen, H. 2004. Effect of cetane number improver on heat release rate and emissions of high speed diesel engine fueled with ethanol – diesel blend fuel. Fuel, 83; 2013 – 2020.
- Xiu, S., Zhang, B., Boakye – Boaten, N. A. and Shahbazi, A. 2017. Green biorefinery of giant miscanthus for growing microalgae and biofuel production. Fermentation, 3; 1 – 12.
- Yan, L., Zhang, H., Chen, J., Lin, Z., Jin, Q., Jia, H. and Huang, H. 2008. Dilute – sulfuric acid cycle spray flow – through pretreatment of corn stover for enhancement of sugar recovery. Bioresour Technol, March, 100(5); 1803 – 1808.
- Yang, Y., Sharma – Shivappa, R.R., Burns, J.C. and Cheng, J. 2009. Saccharification and fermentation of dilute – acid – pretreated freeze-dried switchgrass. Energ & Fuel, 23(11); 5626 – 5635.
- Yarbrough, J.M., Mittal, A., Mansfield, E., Taylor – II, L.E., Hobdey, S.E., Sammond, D.W., Bomble, Y.J., Crowley, M.F., Decker, S.R., Himmel, M.E. and Vinzant, T.B. 2015. New perspective on glycoside hydrolase binding to lignin from pretreated corn stover. Biotechnol Biofuels, 8; 1 – 21.
- Ye, G., Zeng, D., Zhang, S., Fan, M., Zhang, H. and Xie, J. 2018. Ethanol production from mixtures of sugarcane bagasse and *Dioscorea composita* extracted residue with high solid loading. Bioresour Technol, 257; 23 – 29.
- Yeh, S.I., Huang, Y.C., Cheng, C.H., Cheng, C.M. and Yang, J.T. 2016. Development of a millimetrically scaled biodiesel transesterification device that relies on droplet – based co – axial fluidics. Sci Rep, 6; 1 – 7.
- Yerizam, M., Jannah, A.M. and Aprianti, N. 2023. Bioethanol production from *Chlorella Pyrenoidosa* by using enzymatic hydrolysis and fermentation method. J Eco Eng, 24(1); 34 – 40.

- Yıldız, K. ve Yılmaz, H. 1999. In vitro kültüre alınan karadut (*Morus nigra* L.) eksplantlarında farklı hormon ve dozlarının sürgün oluşumuna etkileri üzerinde bir araştırma. KÜKEM (Kültür Koleksiyonları ve Endüstriyel Mikrobiyoloji) Biyoteknoloji Derg, 11. Biyoteknoloji Kongresi Özel Sayısı, 23(2); 211 – 216.
- Yılmaztekin, M., Erten H. and Cabaroğlu, T. 2008. Production of isoamyl acetate from sugar beet molasses by *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. J Inst Brew, 114(1); 34 – 38.
- Yılmaztekin, M., Erten, H. and Cabaroglu, T. 2009. Enhanced production of isoamyl acetate from beet molasses with addition of fusel oil by *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. Food Chem, 112; 290 – 294.
- Yu, H.T., Chen, B.Y., Li, B.Y., Tseng, M.C., Han, C.C. and Shyu, S.G. 2018. Efficient pretreatment of lignocellulosic biomass with high recovery of solid lignin and fermentable sugars using Fenton reaction in a mixed solvent. Biotechnol Biofuels, 11; 1 – 11.
- Yu, T. and Zheng, X.D. 2006. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of the antagonist *Cryptococcus laurentii* in apple fruit. J Plant Growth Regul, 25; 166 – 174.
- Yu, T., Deng, Y., Liu, H., Yang, C., Wu, B., Zeng, G., Lu, L. and Nishimura, F. 2017. Effect of alkaline microwaving pretreatment on anaerobic digestion and biogas production of swine manure. Sci Rep, 7; 1 – 8.
- Yu, X., Makkawi, Y., Ocone, R., Huard, M., Briens, C. and Berruti, F. 2014. A CFD study of biomass pyrolysis in a downer reactor equipped with a novel gas – solid separator – I: Hydrodynamic performance. Fuel Process Techn, 126, 366–382.
- Yuan, Q. and Zhao, L. 2017. The Mulberry (*Morus alba* L.) Fruit – a review of characteristic components and health benefits. J Agric Food Chem, 65; 10383 – 10394.
- Yunoki, S. and Saito, M. 2009. A simple method to determine bioethanol content in gasoline using two – step extraction and liquid scintillation counting. Bio Tech, 100; 6125 – 6128.
- Yüksel, F. and Yüksel, B. 2004. The use of ethanol – gasoline blend as a fuel in an SI engine. Renew Energ, 29; 1181 – 1191.
- Zabed, H., Sahu, J.N., Boyce, A.N. and Fasruq, G. 2016. fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: An overview on feedstocks and technological approaches. Renew Sust Energ Rev, 66; 751 – 774.
- Zaki, M., Kaloo, Z.A. and Sofi, M.S. 2011. Micropropagation of *Morus nigra* L. from nodal segments with axillary buds. World J Agricul Scie, 7(4); 496 – 503.
- Zaky, A.S., Greetham, D., Tucker, G.A. and Du, C. 2018. The establishment of a marine focused biorefinery for bioethanol production using seawater and a novel marine yeast strain. Sci Rep, 8; 1 – 14.
- Zeng, D.W., Yang, Y.Q., Wang, Q., Zhang, F.L., Zhang, M.D., Liao, S., Liu, Z.Q., Fan, Y.C., Liu, C.G., Zhang, L. and Zhao, X.Q. 2024. Transcriptome analysis of *Kluyveromyces marxianus* under succinic acid stress and development of robust strains. App Microbiolog Biotechn, 108; 1 – 12.

- Zhang, C., Wu, D. and Ren, H. 2020. Economical production of vitamin K₂ using crude glycerol from the by – product of biodiesel. *Sci Rep*, 10; 2 – 9.
- Zhang, D., Ong, Y.L., Li, Z. and Wua, J.C. 2012. Optimization of dilute acid – catalyzed hydrolysis of oil palm empty fruit bunch for high yield production of xylose. *Chem Eng J*, 181 – 182; 636 – 642.
- Zhao, W., Zhang, Y., Du, B., Wei, D., Wei, Q. and Zhao, Y. 2013. Enhancement effect of silver nanoparticles on fermentative biohydrogen production using mixed bacteria. *Bio Tech*, 142; 240 – 245.
- Zhao, X., Cheng, K. and Liu, D. 2009. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *App Microbiol Biotechnol*, 82(5); 815 – 827.
- Zhao, X., Song, Y. and Liu, D. 2011. Enzymatic hydrolysis and simultaneous saccharification and fermentation of alkali / peracetic acid-pretreated sugarcane bagasse for ethanol and 2, 3-butanediol production. *Enzyme Microb Technol*, 49; 413 – 419.
- Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F. and Li, Y. 2014. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Prog Energ Comb Sci*, June, 42; 35 – 53.
- Zheng, Y.C., Zeng, J.S., Li, J.W., Wang, D.J., Wu, Y.Q. and Wu, Y. 2009. Granuloma caused by *Candida lipolytica* in China: First case report. *J Clin Dermatol*, 38(1); 9 – 11.
- Zhou, J., Sui, H., Jia, Z., Yang, Z., He, L. and Li, X. 2018. Recovery and purification of ionic liquids from solutions: A review. *RSC Adv*, 8; 32832 – 32864
- Zhu, J., Wan, C. and Li, Y. 2010. Enhanced solid – state anaerobic digestion of corn stover by alkaline pretreatment. *Bioresour Technol*, 101; 7523 – 7528.
- Zhu, Z., Rosendahl, L., Toor, S.S., Yu, D. and Chen, G. 2015. Hydrothermal liquefaction of barley straw to bio – crude oil: Effects of reaction temperature and aqueous phase recirculation. *App Energ*, 137; 183 – 192.
- Zhumatov, U. Z. 1996. Elementary compositions of the fruits of *Morus nigra* and *Zizyphus jujuba* and their biological activities. *Chem Nat Compoun*, 32; 100 – 101.
- Zironi, R., Romano, P., Suzzi, G., Battistuta, F. and Comi, G. 1993. Volatile metabolites produced in wine by mixed and sequential cultures of *Hanseniaspora guilliermondii* or *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Lett*, 15; 235 – 238.
- Zong – Wen, P., Jing – Juan, L. and Ri – Bo, H. 2011. Fermentation of xylose into ethanol by a new fungus strain *Pestalotiopsis* sp. XE–1. *J Indust Microbiol Biotechnol*, 38; 927 – 933.
- Zwart, R.W.R., Boerrigter, H. and Van der Drift, A. 2006. The impact of biomass pretreatment on the feasibility of overseas biomass conversion to Fischer – Tropsch products. *Energy Fuels*, 20(5); 2192 – 2197.