

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YER FISTIĞI KABUĞUNDAN BİYOETANOL ELDESİ

Melek DÖNMEZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2014**

Her hakkı saklıdır

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

09.07.2014

Melek DÖNMEZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YER FISTIĞI KABUĞUNDAN BİYOETANOL ELDESİ

Melek DÖNMEZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Çevre dostu enerji edinmenin yeni yollarının tüm dünyada hızla arandığı bu dönemde, nüfustaki hızlı artışın neden olduğu enerji tüketimindeki artış, çevresel sorunlar ve varolan kaynakların hızla azalması yenilenebilir enerji kaynakların keşfini zorunlu hale getirmiştir. Tez çalışmasında Türkiye’de bol bulunan, ucuz ve tarımsal bir atık olan yer fıstığı kabuğu kullanılarak biyoetanol üretimi ve verimi araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında yer fıstığı kabuğu katı öğütücü ile fiziksel bir ön işleminden geçirilmiştir. H_2SO_4 asit çözeltisinin % 0,5 – 3(v/v) oranları ile hidrolize edilerek yapısındaki kompleks şekerlerin basit şekerlere indirgendiği hidrolizatta *Saccharomyces cerevisiae* mayası tarafından fermentasyon yoluyla biyoetanol elde edilmiştir. Fermentasyon ortamında ilave katkılar (melas – soya unu) kullanılarak biyoetanol verimliliğinde artış elde edilmiştir. Fermentasyon ortamlarına CaO müdahalesi uygulanarak maya gelişimini etkileyen toksik bileşiklerin olumsuz etkisi azaltılmıştır. %4 kabuk içeren hidrolizatta CaO müdahalesi sonrasında, 7,384 g/L şeker harcanarak 2,352 g/L biyoetanol elde edilmiştir.

En uygun hidroliz koşulu %1 (v/v) asit derişimi olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında %8 (w/v) kabuk içeren besiyerine ilave katkılar ve CaO müdahalesi sonrasında 8,632 g/L şeker harcanarak %16 – 18 aralığında değişen bir artışla 2,582 g/L biyoetanol elde edilmiştir.

Temmuz 2014, 86 sayfa

Anahtar Kelimeler: Yer fıstığı kabuğu, biyoetanol, fermentasyon, *Saccharomyces cerevisiae*, soya unu

ABSTRACT

Master Thesis

BİOETHANOL PRODUCTION FROM PEANUT SHELL

Melek DÖNMEZ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

In this period that new ways of acquiring environmentally friendly energy rapidly being sought all over the world, increase in energy consumption caused by the rapid increase in the population, environmental problems and the rapid decline of existing resources made the discovery of renewable energy sources become mandatory. In this study, the production of bioethanol using peanut shell which is abundant and cheap agricultural waste in Turkey, and its yield were investigated. In the first phase of the study, peanut shell was pre-treated by grinder physically Hydrolysade was prepared reducing complex sugar in its structure reduced to simple sugars by hydrolyzed with 0,5-3% percentage of H₂SO₄ acid solution. Bioethanol was obtained by fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* yeast at that hydrolysade. Increase at yield of bioethanol achieved using supplements(melas-soya). Negative effects of toxic compounds that affecting yeast growth were reduced by applying CaO intervention at fermentation environments. At hidrolysade that contains 4% percent of shell bioethanol was obtained by consuming 7.385 g/L sugar after CaO intervention.

The most appropriate condition for hidrolisis is determined as 1% of acid concentration. Under these conditions 2,582 g/L bioethanol was obtained by consuming 7.385 g/L sugar about increase rate of 16%-18% after applying CaO intervention and supplements to medium contains 8% (w/v) of shell.

July 2014, 86 pages

Key Words: Peanut shell, bioethanol, hydrolysis, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, soy flour

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitiminin bir parçası olan tez çalışması sürecinde, mesleki tecrübesinin yanı sıra çalışmaların devamlılığı için gerekli tüm imkânları, fedakârlık ve özveri ile sunan Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e ve Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği öğretim üyesi Prof. Dr. Sedat DÖNMEZ'e, laboratuvar çalışmalarımda bilgi ve deneyimini benimle paylaşıp tezime büyük katkıda bulunan, Doç. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ ve yardımları için Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY ile arkadaşlarıma, motivasyonum için desteğini esirgemeyen aileme ve eşime en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Melek DÖNMEZ

Ankara, Temmuz 2014

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 Enerji Kaynakları İçerisinde Biyokütle ve Biyoetanol	5
2.1.1 Güneş enerjisi	6
2.1.2 Hidroelektrik enerji	6
2.1.3 Rüzgâr enerjisi	6
2.1.4 Jeotermal enerji.....	6
2.1.5 Yenilenebilir enerji kaynağı biyolojik kütle	7
2.2 Biyoyakıtların Tarihçesi ve Çeşitleri.....	8
2.2.1 Tarihçe	8
2.2.2 Biyoyakıt üretimini tetikleyen faktörler	8
2.2.3 Biyoyakıt çeşitleri.....	9
2.3 Biyoetanol	11
2.3.1 Biyoetanolün ilk kullanımı	11
2.3.2 Biyoetanolün özellikleri	12

2.3.3 Biyoetanol üretiminde kullanılan hammaddeler	13
2.4 Biyoetanol Üretim Prosesleri (Lignoselülozik Hammadede)	18
2.4.1 Ön muameleler genel bakış, amacı ve çeşitleri.....	19
2.4.1.1 Mekanik müdahale	20
2.4.1.2 Piroliz	20
2.4.1.3 Buhar patlatılması (otohidroliz-steam explosion)	21
2.4.1.4 Amonyakla muamele edilmiş liflerin soğuk buharla patlatılması.....	22
2.4.1.5 Karbondioksit patlaması	22
2.4.1.6 Islak oksidasyon	23
2.4.1.7 Alkali ön muamelesi.....	23
2.4.1.8 Biyolojik ön muamele	24
2.4.2 Hidroliz	25
2.4.2.1 Asit hidrolizi	26
2.4.2.2 Enzimatik hidroliz.....	29
2.4.3 Fermentasyon	31
2.4.3.1 Biyoetanol üretim prosesinde fermentasyon	33
2.4.4 Etanol eldesi/distilasyon	37
2.5 Lignoselülozik Maddelerden Biyoetanol Üretimi	39
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	45
3.1 Maya Hazırlanışı	45
3.2 Yer Fıstığı Kabuğunun Hazırlanışı	45
3.3 Asit Derişiminin Etkisi.....	45
3.4 Yer Fıstığı Kabuk Derişiminin Etkisi.....	46
3.5 Melas Derişiminin Etkisi	46
3.6 Soya Ununun Etkisi	46

3.7 CaO Uygulaması	47
3.8 Analiz Yöntemleri	48
3.8.1 Optik yoğunluğun tespiti	48
3.8.2 Şeker analizi.....	48
3.8.3 Etanol analizi	49
4. BULGULAR.....	50
4.1 Hidroliz	50
4.2 Maya Gelişimi.....	51
4.3 Melasın Maya Gelişimine Etkisi	52
4.4 Melasın Biyoetanol Üretimine Etkisi.....	56
4.5 Soya Ununun Maya Gelişimine Etkisi	59
4.6 Soya Ununun Biyoetanol Üretimine Etkisi	63
4.7 CaO nun Biyoetanol Üretimine Etkisi.....	65
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	67
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ.....	88

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat
CO ₂	Karbondiyoksit
g	gram
GC	Gaz kromatografi
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
HCl	Hidroklorik asit
L	litre
ml	mililitre
NaOH	Sodyumhidroksit
nm	Nanometre
OD	Optik yoğunluk
rpm	Dakikadaki devir

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Biyoyakıt için tercih edilen hammadde ve üretim sürecinde yapılan İşlemler.....	2
Şekil 2.1 Enerji kaynaklarına genel bakış.....	5
Şekil 2.2 Alg döngüsü.....	10
Şekil 2.3 Hemiselülozun lignoselülozik materyaldeki konumu.....	16
Şekil 2.4 Selülozun yapısı.....	17
Şekil 2.5 Yer fıstığı kabuğunun kimyasal yapısı	18
Şekil 2.6 Etanol fermentasyon oluşum süreci	37
Şekil 2.7 Etanol metabolizması basamakları	38
Şekil 3.1 Fenol-sülfürik asit yöntemi - şeker standartı.....	49
Şekil 4.1 Yer fıstığı kabuğuna asit derişimlerinin etkisi.....	51
Şekil 4.2 Farklı derişimlerdeki yer fıstığı kabuğunun maya gelişimine etkisi.....	52
Şekil 4.3 Artan melas oranlarında biyomas ve kullanılan şeker yüzde değerleri.	54
Şekil 4.4 Artan melas oranlarında biyomas ve kullanılan şeker yüzde değerleri.	55
Şekil 4.5 Artan melas oranlarında biyomas ve kullanılan şeker yüzde değerleri.	56
Şekil 4.6 Farklı melas derişimlerinin biyoetanol üretimine etkisi	57
Şekil 4.7 Farklı melas derişimlerinin biyoetanol üretimine etkisi	58
Şekil 4.8 Farklı melas derişimlerinin biyoetanol üretimine etkisi	58
Şekil 4.9 Farklı derişimlerdeki yer fıstığı kabuğunun %4(v/v) melas ile biyoetanol miktarına etkisi	59
Şekil 4.10 Farklı besiyerlerinde harcanan şekerin yüzde oranı ve optik yoğunluk verileri.....	61
Şekil 4.11 Farklı besiyerlerinde harcanan şekerin yüzde oranı ve optik yoğunluk verileri.....	62
Şekil 4.12 Farklı besiyerlerinde harcanan şekerin yüzde oranı ve optik yoğunluk verileri.....	62
Şekil 4.13 Farklı besiyerlerinin biyoetanol (g/L) miktarları.	64
Şekil 4.14 Artan kabuk oranında elde edilen biyoetanol (g/L) miktarı.....	65
Şekil 4.15 Fermentasyon ortamına CaO ilavesinin biyoetanol verimine katkısı.....	66
Şekil 5.1 CaO müdahalesi ile melas ve soya unu ilavesinin biyoetanol verimi üzerine etkisi.....	74

ÇİZELGELER LİSTESİ

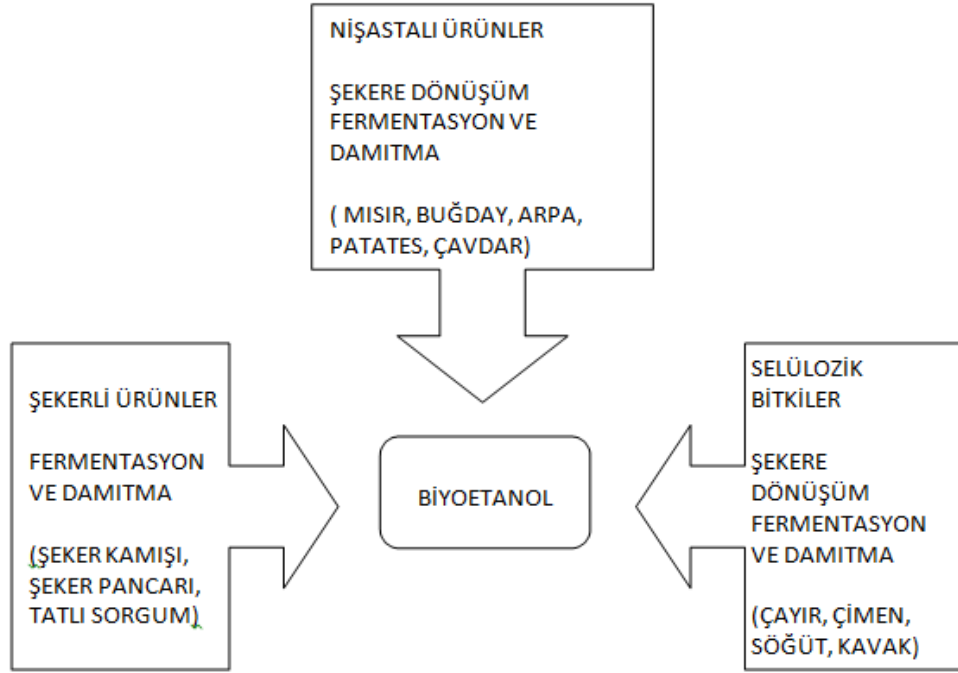
Çizelge 2.1 Bazı ham materyallerin içerdği yapıların yüzde değerleri	15
Çizelge 2.2 Ksilan degradasyonunu kapsayan enzimler ve bunların etki mekanizmaları.	30
Çizelge 2.3 Ksiloz fermente edici bakteriler ve özellikleri.....	35
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan besiyeri ve ihtiva ettiği diğer materyaller ile oranları	47
Çizelge 4.1 Farklı kabuk ve melas derişimlerindeki başlangıç ve kullanılan şeker miktarları.	53
Çizelge 4.2 Farklı kabuk ve besiyeri gruplarının başlangıç ve kullanılan şeker miktarları.	63
Çizelge 5.1 Tarımsal atıkların lignoselülozik hammadde içerikleri.	68

1. GİRİŞ

Enerji gereksinimlerinin artışı ve kaynak sıkıntılarının yaşanması nedeniyle biyoyakıtlar son dönemde oldukça hızlı üretim ve tüketim eğrileri göstermektedir. Üretiminde öncü ülkelere (Brezilya ve ABD) bakılığında üretime ve tüketime yönelik politikaların yanı sıra çok sayıda destekleme politikasını da istikrarlı bir şekilde uygulamaktadırlar.

Dünyanın son dönem önemli problemlerinden biri haline gelen küresel ısınma, iklim ve mevsim değişikliği sorunlarının temelinde yüksek miktarda ısı tutma özelliğine sahip olan sera gazlarının salınımları bulunmaktadır. Bu nedenle klasik fosil yakıtların yerine geçecek ve sera gazı salınımını azaltarak küresel ısınmayı önleyebilecek yenilenebilir enerji kaynaklarına ihtiyaç vardır.

Yenilenebilir enerji kaynaklarından biyoyakıtların üretiminde kullanılan tarımsal hammaddelerin çeşitleri, üretim sürecinde yapılan işlemler ve elde edilen biyoyakıt türleri şekil 1,1’de özetlenmiştir. Nişastalı ve selülozik bitkiler şekere dönüştürülüp, mayalanma olarakta bilinen fermentasyon ve damıtma işlemine tabi tutulurken, şekerli bitkilere doğrudan fermentasyon ve damıtma işlemi uygulanarak biyoetanol elde edilmektedir.



Şekil 1.1 Biyoyakıt için tercih edilen hammadde ve üretim sürecinde yapılan işlemler

1990'lı yıllardan günümüze kadarki gelişiminde tüketimi özellikle son yıllarda artış gösteren biyoyakıtlar 2005 yılında petrol eşdeğeri olarak 19 milyon ton civarında tüketilirken bu rakam 2008 yılında 51 milyon tonu bulmuştur. Biyoyakıt tüketimi ile ilgili FAO tarafından yapılan çalışmalarda tüketimin yıllık % 7 oranında artarak 2030 yılında petrol eşdeğeri cinsinden 102 milyon tona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anonymous 2008).

Biyoyakıtlar, karbonhidrat ekonomisi ve biyoyaşam içinde biyorafineri ürünleri olarak yer bulmaktadır. Ülkemiz iklim ve tarım gücüyle, biyoyakıtlar için iç pazar ve ihracat açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Türkiye son dönem kalkınma planları içerisinde "Üretim sistemi içinde yerli ve yenilenebilir enerji kaynaklarının payının azami ölçüde yükseltilmesi hedefi" ni bulundurmaktadır. Türkiye biyoyakıt yol haritası belirlenmesinin nedenleri ve hedefleri arasında;

- Ulusal enerji stratejisi içinde özellikle yerinde yenilenebilir enerji üretimi için biyoyakıtların öncelikle yer alması,

- Ulusal tarım stratejisi içinde, enerji tarımı planlamasının yapılması ve hızla uygulamaya alınması,
- Atıktan enerji eldesi kapsamında biyoyakıtların öncelikle yer alması,
- Enerji ormancılığının geliştirilmesi doğrudan ve dolaylı biyoelektrik üretiminin artırılması,
- Biyoelektrik üretiminde biyokütlenin Türk kömürleri ile birlikte kullanımının teşvik edilerek hızla uygulamaya alınması,
- Biyogaz üretiminin teşviki ve artırılması AB'ye biyoyakıt ve biyoelektrik ihracatının teşvik edilmesi,
- Biyoyakıt üreticilerinin vergi indirimi, hibe, uluslararası fonlar ve düşük faizli kredilerle desteklenmesi,
- İleri biyoyakıt teknolojileri Ar-Ge çalışmalarının yürütülmesi,
- Motor biyoyakıtlarının akaryakıt sektörü içindeki; üreticiden satış, taşıma, depolama, harmanlama, dağıtım ve satış aşamalarındaki ticaretleri ile kalitelerinin denetlenmesi, yer almaktadır.

Türkiye’de yeni biyoürünler ve ilgili teknolojiler doğrultusunda bazı akademik çalışmalar mevcut ancak, ticari ürünler haline dönüştürülmesi yaygın değildir. Araştırma bilgilerinin uygulamalara katkı sağlaması, devamında ticari ürünlere dönüştürülmesi ve bu dönüşümün değerlendirilerek Türkiye koşullarına uygun biyoürünlerin ve teknolojilerin belirlenmesi son derece önemlidir.

Türkiye’de 50-65 milyon ton/yıl bitkisel atık ortaya çıkmaktadır. Bunların çok büyük bir kısmı toplanma ve imha edilme gibi ek maliyetler getirmekte ve ekonomik bir değere çevrilememektedir. Lignoselülozik yapılı biyokütleler olan bitkisel atıkların kompleks yapısını oluşturan selüloz ve lignin maddeleri önemli birer polimer kaynağı olmakta ve kimyasal yapılarında bulundurdıkları aromatik bileşikler ve birçok fonksiyonel grup

sayesinde çeşitli kimyasalların ve ürünlerin üretimine olanak tanımaktadırlar (Karaosmanoğlu 2006).

İleriki yıllarda, Avrupa Birliği (AB) üyeliğinden ötürü ortaya çıkması muhtemel sınırlandırmalar nedeniyle tarımsal ürün fazlasının yakıt veya diğer ürünlere dönüşümü gündeme alınabilir. Bu tarımsal ürünün bir kısmı beslenme amaçlı kullanıldıktan sonra sapı/samanı hayvan yemi olarak kullanılıp fazlası ile biyoetanol üretilmektedir.

Türkiye’de yetişen ve özellikle ekim alanları geniş olan tarım ürünlerinin üretilmelerini daha verimli kılmanın önemli bir yolu olarak bitkinin bütünsel olarak değerlendirilmesi başka bir deyişle geleneksel kullanım dışında kalan alanlarda tarımsal atıkların kullanılması önemlidir (Karaosmanoğlu 2006).

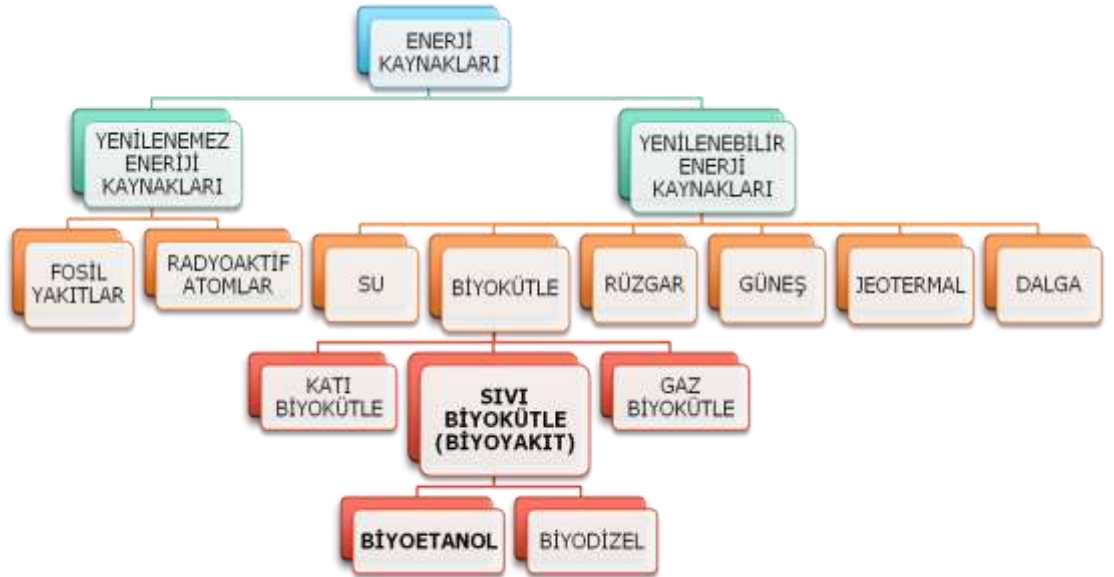
Ülkemizde, Avrupa Birliği Müktesebatının Üstlenilmesine ilişkin Türkiye Ulusal Programının uygulanması için yasal çalışmalar halen sürdürülmektedir. “Yenilenebilir Enerji Kaynaklarının (YEK) Elektrik Enerjisi Üretimi Amaçlı Kullanımına İlişkin Kanun” 10 Mayıs 2005 tarihinde TBMM’de kabul edilmiştir. 27.09.2011 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren karara göre yerli tarım ürünlerinden üretilmiş biyodizel içeriğinin, 1 Ocak 2014 tarihi itibarıyla en az %1; 1 Ocak 2015 tarihi itibarıyla en az %2; 1 Ocak 2016 itibarıyla en az %3 olması zorunluluğu getirilmiştir.

Biyoyakıt üretimin zincirinde, biyokütle kaynağının içeriği, hidroliz ve fermentasyon aşamaları üzerine denemeler yapılan tez çalışması, kuruyemiş fabrikalarından tarımsal bir atık olarak çıkan ve lignin - selüloz içeriği yüksek olan yer fıstığı kabuğuna ön işlem basamağında fiziksel müdahale, içindeki kompleks şekerlerin sıcaklık ve asit ile hidrolizi sonucu basit şekerlere indirgenmesi ve besiyeri olarak kullanılacak hidrolizatın *Saccharomyces cerevisiae* mayası aracılığıyla fermentasyona uğratarak biyoetanol üretilmesini kapsamaktadır. Çalışmada biyoetanol üretiminin etkisini, asit derişimi, CaO müdahalesi, karbon ve azot katkılarının ilavesi ile üretilen biyoetanol miktarı üzerine etkiler incelenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Enerji Kaynakları İçerisinde Biyokütle ve Biyoetanol

Enerji kaynakları, oluşumlarındaki sürecin uzunluğu bakımından iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Bunlardan birincisi, meydana gelişleri çok uzun yıllar alan petrol, kömür, doğalgaz gibi klasik enerji kaynakları ile ağır radyoaktif atomların oluşturduğu yenilenemez enerji kaynaklarıdır. Yenilenmeleri çok uzun bir süre aldığı için yenilenemez denilen bu klasik enerji kaynaklarını kendi içinde fosil yakıtlar ve radyoaktif atomlar olarak sınıflamak mümkündür. Yenilenebilir enerji kaynakları tekrar kullanılabilir olduğu için azalmazlar. Bu özellikleri bakımından diğer kaynaklardan farklılık gösterirler. Enerji kaynaklarına genel bakış şekil 2.1’de gösterilmektedir.



Şekil 2.1 Enerji kaynaklarına genel bakış

2.1.1 Güneş enerjisi

Güneş enerjisi, güneş ışığından enerji elde edilmesine dayalı teknoloji olup, güneşin yaydığı enerjinin, güneşin çekirdeğinde yer alan füzyon sonrası ortaya çıkan ısınım enerjisidir. Güneşteki hidrojen gazının helyuma dönüşmesi şeklindeki süreçten kaynaklanır. Günümüzde yaygın olarak, ısıtma, pişirim, fotovoltaik hücrelerde elektrik oluşturma ve deniz suyunun tuzdan arındırılması gibi faaliyetlerde kullanılmaktadır (Adıgüzel 2011).

2.1.2 Hidroelektrik enerji

Hidroelektrik enerji üretimi suyun potansiyel enerjisinin kinetik enerjiye dönüştürülmesi ile sağlanmakta ve hızla akan suyun enerjisiyle döndürülen elektrik jeneratörlerinden elde edilen elektriktir (Adıgüzel 2011). Deniz, göl veya nehirlerde ki sular güneş enerjisi ile buharlaşmakta, oluşan su buharı rüzgârın etkisiyle sürüklenerek yağmur ve/veya kar haline dönüşmekte ve su kaynaklarını devamlı olarak beslemektedir. Böylelikle hidrolik enerji kendini sürekli yenileyen bir enerji kaynağı olmaktadır.

2.1.3 Rüzgâr enerjisi

Rüzgâr enerjisi, hava akımının sahip olduğu kinetik enerjidir. Bu enerjinin bir bölümü yararlı olan mekanik veya elektrik enerjisine dönüştürülebilir (Adıgüzel 2011). Rüzgârdan enerji elde edilmesi sırasında atmosfere hiçbir zararlı gaz salınımı olmaz ve dolayısıyla rüzgâr enerjisi temiz bir enerjidir.

2.1.4 Jeotermal enerji

Jeotermal kaynaklar, yer kabuğunun farklı derinliklerinde biriken ısınin oluşturduğu ve içerisinde kimyasalların yanı sıra, sıcak su, buhar ve gazdan oluşmaktadır. Ucuz, güvenilir, çevre dostu, yerli ve yeşil bir enerji türü olan jeotermal enerji, bu

kaynaklardan ve bunların oluşturduğu enerjiden doğrudan veya dolaylı yollarla faydalanmayı kapsamaktadır (Adıgüzel 2011).

2.1.5 Yenilenebilir enerji kaynağı biyolojik kütle

Dünyanın son dönem önemli problemlerinden biri haline gelen küresel ısınma ve iklim değişikliği sorunu temelinde yüksek miktarda ısı tutma özelliğine sahip olan sera gazlarının salınımları bulunmaktadır. Bu nedenle klasik fosil yakıtların yerine geçecek ve sera gazı salınımını azaltarak küresel ısınmayı önleyebilecek yenilenebilir enerji kaynaklarına ihtiyaç vardır.

Yenilenebilir enerji kaynaklarından biri olan biyokütle, “100 yıllık periyottan daha kısa sürede yenilenebilen, karada ve suda yetişen bitkiler, hayvan artıkları, besin endüstrisi ve orman ürünleri ile kentsel atıkları içeren tüm organik maddeler” olarak tanımlanmaktadır (Acaroğlu ve Ültanır 2000).

Fosilleşmemiş bitkisel ve hayvansal organik maddelerden meydana gelen biyokütle enerji kaynakları, kendilerinden enerji elde edilirken bulundukları fiziksel hale göre üç ana kısımda sınıflandırılmaktadır.

- Katı biyokütle
- Sıvı biyokütle
- Gaz biyokütle (biyogaz).

Katı biyokütle (odun, bitki atıkları vb.) çok eski zamanlardan günümüze kadar kullanılmakta olup, sıvı ve gaz biyokütle kaynaklarının kullanması son yüzyılda gerçekleşmiştir. Uzun süredir kullanılan ve yenilenebilir enerji kaynaklarının da büyük bir kısmını oluşturan katı biyokütle enerji kaynakları **geleneksel biyokütle**, sıvı ve gaz biyokütle ise **modern biyokütle** enerji kaynakları olarak bilinmektedir.

Son yıllarda ortaya çıkan ve kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşan sıvı biyokütle enerji kaynakları, otomobil motorlarında yakıt hammaddesi olarak kullanıldığı için biyoyakıt adıyla anılmaktadır.

2.2 Biyoyakıtların Tarihçesi ve Çeşitleri

2.2.1 Tarihçe

Biyoyakıtların tarihi sürecinde ilk ortaya çıkan ve kullanılan biyoyakıt, biyodizel olmuştur. Rudolf Diesel'in 1893 yılında bitkisel yağları yakıt olarak kullanan motoru tasarlamasına dayanmaktadır (Gizlenci ve Acar 2009). Diğer yandan, zaman içerisindeki gelişimlerinde biyoetanolün biyodizele kıyasla daha fazla gelişim sağladığı gözlenmiştir. Ama iki biyoyakıt için de beklenenin aksine, ortaya çıkışlarından çok uzun yıllar sonra gelişimlerine hız verdikleri ve son dönemlerde yaşanan enerji krizlerinin etkisiyle dünya gündeminde ön plana çıkan enerji kaynakları konumuna geldikleri söylenebilir.

2.2.2 Biyoyakıt üretimini tetikleyen faktörler

Biyoyakıt üretiminin temelindeki sebeplerin öncelik sırası ülkeden ülkeye değişim göstermekte olup, son yıllarda enerji konusunda başta Brezilya ve ABD gibi ülkeler olmak üzere birçok ülke artan enerji fiyatlarının bütçelerdeki yükü azaltması niyetiyle biyoyakıt üretimine yönelmiştir.

Biyoyakıt üretimini teşvik eden diğer önemli etken ise ithal edilen petrole olan bağımlılığı azaltmaktır.

Temel nedenler arasında 2000'li yıllarda ortaya çıkan çevresel sorunların önlenmesi için biyoyakıtlar bir çare olarak değerlendirilmiş ve biyoyakıt kullanımını küresel ısınma - iklim değişikliği gibi çevresel sorunların önlenmesi amacıyla tercih edilmiştir.

Son olarak, tarım sektöründe istihdamın ve gelirin arttırılarak kırsal kalkınmanın sağlanması amacı, başta Almanya olmak üzere diğer AB ülkelerinin biyoyakıt üretimine yönelmelerini sağlamıştır (Henniges ve Zeddies 2007).

2.2.3 Biyoyakıt çeşitleri

Kimyasal içeriği ve üretim sürecinde kullanılan hammadde tipine göre farklılık arz eden biyoyakıt çeşitleri arasında biyoetanol, biyodizel, biyometanol, biyodimetileter, biyoetiltersiyerbutileter ve çeşitli bitkisel yağlar bulunmakla birlikte, bunların günümüzde en yaygın ve popüler olanlarından **biyoetanol**, nişastalı ve selülozik bitkilerin şekere dönüştürülüp fermentasyon ve damıtma işlemi uygulanarak elde edilmekte, **biyodizel** ise yağlı tohumlu bitkilerin esterleştirme ve ekstraksiyon işlemleri sonucu dönüştürülmesi ile üretilmektedir (Ar 2007).

Biyoyakıtlar, elde edilme sürecinde hammadde olarak kullanılan biyokütlenin gıda amaçlı kullanılıp kullanılmama özelliğine bağlı olarak son dönemde üç ayrı grupta değerlendirilmektedir.

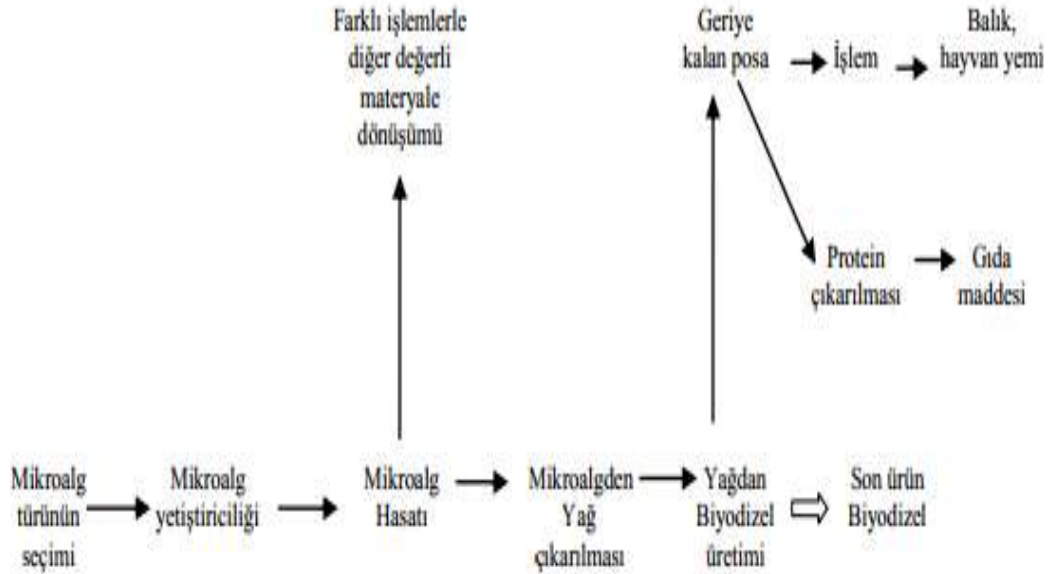
Birinci Nesil Biyoyakıtlar: Tarımsal üretim sonucu elde edilmiş ve gıda amaçlı kullanılabilen bitkisel ürünlerin hammadde olarak kullanıldığı biyoyakıtlardır. Dünyada üretilen biyoyakıtların çok büyük bir kısmını oluşturan bu tür biyoyakıtlara “**birinci nesil biyoyakıtlar**” denilmektedir.

İkinci Nesil Biyoyakıtlar: Diğer yandan, tarım ve ormancılık atıkları gibi gıda amaçlı kullanılmayan lignoselülozik biyokütlelerden ileri teknoloji kullanılarak elde edilen biyoyakıtlar ise “**ikinci nesil biyoyakıtlar**” olarak isimlendirilmektedir.

İkinci nesil biyoyakıtların üretim sürecinde kullanılabilen çayır, çimen, ot ile kavak ve söğüt gibi odunsu bitkiler, biyoyakıt hammadde maliyetini oldukça düşürmektedir (FAO 2008).

Üçüncü Nesil Biyoyakıtlar: Biyogaz, biyodizel ve biyoetanol üreterek geleneksel fosil yakıtlara alternatif bir yakıt oluşturacağı düşünülen ikinci nesil biyokütle enerji kaynaklarının yanı sıra, günümüzde üçüncü nesil olarak nitelendirilen alglerin enerji açığına ve çevreyi korumada çözüm olması düşünülmektedir. Alglar veya genel ismiyle yosunlar, alternatif bir enerji kaynağı olarak son yıllarda biyokütle enerjisi araştırmalarına konu olmuş ve umut vadeden bir enerji kaynağı olarak görülmeye başlanmıştır.

Mikroalgler karbonhidrat, protein, lipid ve vitamin içeren mikroorganizmalardır (Chisti 2004). Genel olarak, türe göre değişmekle birlikte, mikro-alglar yaklaşık % 15-77 yağ içerebilmektedir (Xu vd. 2006). Diğer yağ bitkilerine kıyasla yüksek yağ oranı ve büyüme verimine sahip olmaları mikroalgleri biyodizel ve biyogaz üretimi için cazip kılmaktadır. Bu yakıtların mikroalglerden üretilmesi, artan küresel enerji ihtiyacına cevap verilebilme ve kısmen de olsa atmosferdeki gereğinden fazla karbondioksiti fotosentez yoluyla verimli ürüne dönüştürerek, küresel ısınmanın önlenmesine katkıda bulunma potansiyeline sahiptir (Ulukardeşler ve Ulusoy 2012).



Şekil 2.2 Alg döngüsü (Ulukardeşler ve Ulusoy 2012)

Biyodizel üretiminde kullanılan karasal bitkilerle kıyaslandığında, tüm yıla yayılabilen bir üretim olanağına sahip olan mikroalglerin çeşitli avantajları gözlemlenmiştir. Örneğin karasal alan gereksinimi açısından, kuru ağırlıklarının %20-%50'lik kısmını yağ olarak biriktirebildikleri için en yüksek biyodizel üretim verimine sahip olan kolza bitkisinin 1.190 L/ha'lık biyodizel üretim kapasitesine karşı 12.000 L/ha'lık bir kapasiteye ulaşabilmektedirler (Brennan vd. 2010).

Ayrıca mikroalglerin logaritmik üreme fazındaki ikiye katlanma süreleri 3,5 saate kadar kısalabilmektedir. Karasal bitkilerin ikiye katlanma süresi bu süreden çok daha uzundur (Chisti 2007). Mikroalglerin biyodizel üretimi için kullanılmasının diğer bir avantajı da birçok alg türünün yüksek CO₂ derişimlerinde hızlı büyüme kabiliyetine sahip olması ve bu sayede etkin bir şekilde atık baca gazlarından CO₂ özümsemesine olanak sağlamasıdır (1 kg kuru mikroalg kütlesinin üretimi sırasında 1,83 kg CO₂ havadan özümser) (Brennan ve Owende 2010).

2.3 Biyoetanol

2.3.1 Biyoetanolün ilk kullanımı

Biyoetanolün otomobil motorlarında yakıt olarak kullanılması, ilk olarak ABD'de Henry Ford tarafından üretilen araçlarla başlamıştır. 1908 yılında piyasaya sürülen Model T adındaki araçların yakıt olarak biyoetanol kullanması bir nevi devrim niteliği taşımaktadır (Balat 2009).

Otomobil motorlarında alternatif bir yakıtın keşfedilmesi yeni bir çıkır açsa da biyoetanol kullanımı vergilerden, yasaklamalardan ve yüksek tarımsal hammadde fiyatlarından dolayı 20. yüzyılın ilk yarısında ciddi bir ilerleme kaydedememiştir.

1950 yılına kadar ki biyoyakıtların geçmişine bakıldığında sadece I. ve II. Dünya Savaşı'nın olduğu dönemlerde üretimde artışlar olduğu gözlemlenmekte olup, bu ise savaş ekonomisinden kaynaklanmaktadır. Diğer yandan, ucuz petrol fiyatlarının

etkisiyle, II. Dünya Savaşı'ndan sonraki 20 yılda biyoetanol üretiminde sürekli azalma kaydedilmiştir.

2.3.2 Biyoetanolün özellikleri

Biyoetanol, temiz, renksiz ve zehirli olmayan bir sıvıdır. Isıl değeri benzinden daha düşüktür ve su ile her oranda karışabilme özelliğine sahiptir.

Etanol yüksek oktan sayısına sahip olmasına karşın, çok düşük setan sayısına sahip olması ve kendi kendine tutuşma direnci nedeni ile dizel motorlarda kullanımda bir takım sorunlar yaratabilmektedir. Kendi kendine tutuşma direnci, benzinli motorlarda sıkıştırma oranının arttırılmasına olanak sağladığından, etanolün benzinli motorlarda kullanımı daha avantajlıdır. Düşük setan sayısına sahip olan yakıtların dizel motorlarındaki yanma kalitesini düzeltmek için araştırmalar devam etmektedir. Etanolün motorlarda kullanımı düşüncesi daha çok geniş tarım alanlarına sahip ülkelerde yaygındır (Balat 2009).

Kimyasal formülü C_2H_6O ve yoğunluğu $0,79 \text{ ton/m}^3$ olan biyoetanol 1 tonu yaklaşık 1.270 litre gelmektedir (Dillon vd. 2008). Biyoetanol benzinle çalışan motorlarda benzinle harmanlanarak veya motorda yapılan bazı modifikasyonlar sayesinde tek başına da kullanılmaktadır.

Biyoetanol üretiminde kullanılan hammaddelerden şeker içerenlere doğrudan fermentasyon işlemi gerçekleştirilirken, nişasta içerenler bir dönüşüm basamağıyla glikoza dönüştürülmekte ve akabinde fermentasyona tabi tutularak biyoetanol elde edilmektedir.

Etanol, hava kirliliğini azaltmak ya da petrol ürünlerinin tüketimini azaltmak amacıyla, benzinle değişik oranlarda karıştırılarak kullanılabilir. En yaygın uygulamalar E10 (%10 etanol, %90 benzin) içeren karışımlardır.

Biyoetanol sürdürülebilir bir enerji kaynağı olarak sağladığı çevresel ve ekonomik yararlar nedeniyle fosil yakıtlara göre avantajlar sağlamaktadır.

Bünyesinde yüksek oranda seker veya nişasta-selüloz gibi şekere dönüştürülebilir madde bulunduran biyokütleler etanol üretiminde kullanılabilirler. Dünya etanol piyasası nişasta ve şekere dayalı olarak gelişim göstermektedir (Acaroğlu 2003).

Enerji değeri görece düşük olan biyoetanol, aynı miktar benzinden elde edilen enerjinin yaklaşık %66'sı kadar enerji sağlamaktadır. Buna karşın, oktan seviyesi benzine kıyasla daha yüksek olan biyoetanolün benzinle harmanlanarak kullanılması motor performansını artırmaktadır.

2.3.3 Biyoetanol üretiminde kullanılan hammaddeler

Biyofuel (biyoetanol, biyoyakıt) bitkisel yağlardan, şeker pancarından, tahıllardan, organik atıklardan ve işlenmiş biyokütlelerden elde edilebilir. Kullanılan biyolojik hammaddenin kayda değer miktarda etanole dönüşebilen nişasta veya selüloz gibi içeriğe sahip olması bu noktada önem arz etmektedir.

Biyoetanol üretiminde kullanılan hammaddeler üç sınıfa ayrılmaktadır;

- Sakkaroz içeren hammaddeler (şeker pancarı, şeker kamışı, sorgum vb.),
- Nişastalı materyaller (buğday, mısır, arpa vb.)
- Lignoselülozik biyokütle (odun, saman, tarımsal atıklar vb.)

Biyoetanol üretiminde en önemli problem üretimde kullanılacak hammaddenin varlığıdır. Kullanılacak hammaddenin mevsimsel değişimi ve coğrafik konumu bitoetanol üretiminde önemli etkenler olmaktadır. Öte yandan biyokütle maliyetlerindeki değişim biyoetanol üretim maliyetlerini büyük ölçüde etkilemektedir. Kullanılan biyokütlenin içeriği genel olarak etanol üretiminde verimliliği etkileyen ana faktörlerden biridir.

Sakkaroz içeren hammaddeler: Sakkaroz (veya diğer adlarıyla sükroz veya çay şekeri) $C_{12}H_{22}O_{11}$ formülüyle gösterilen ve bir glikoz ve bir fruktoz molekülünün bir araya gelmesiyle meydana gelen disakkarittir. Sakkaroz içeren hammaddeler, nişastalı hammaddelere veya lignoselülozik biyokütlelere nazaran sadece disakkarit yapısında olduğu için biyoetanole dönüşümünün daha kolay olması nedeniyle üretimde tercih sebebidir. Çünkü bu hammaddeler ön hidroliz gerektirmez ve disakkaritler sadece maya hücreleri tarafından degradasyona uğratılabilir (Cardona ve Sanchez 2007). Biyoetanol üretiminde kullanılan sakkaroz içeren hammaddeler esasen şeker kamışı ve şeker pancarından oluşmaktadır (Zarzycki ve Polska 2007). Avrupa ülkelerinde ise pancar artıkları sakkaroz içeren hammaddeler olarak daha fazla biyoetanol üretimi için kullanılmaktadır. Bizim ülkemizde ise Şeker Fabrikalarında şeker pancarından şeker üretimi sonrası kalan atıklardan (melas) fermentasyon işlemi ile etil alkol üretilmektedir. Diğer taraftan sorgum ise kuraklığa dayanıklı önemli tarımsal ürünlerden bir diğeridir. Özellikle gelişmekte olan ülkeler için bu hammadde kaynağı gerek biyoetanol üretiminde gerekse kimyasal maddeler ve enerji üretiminde büyük potansiyele sahiptir.

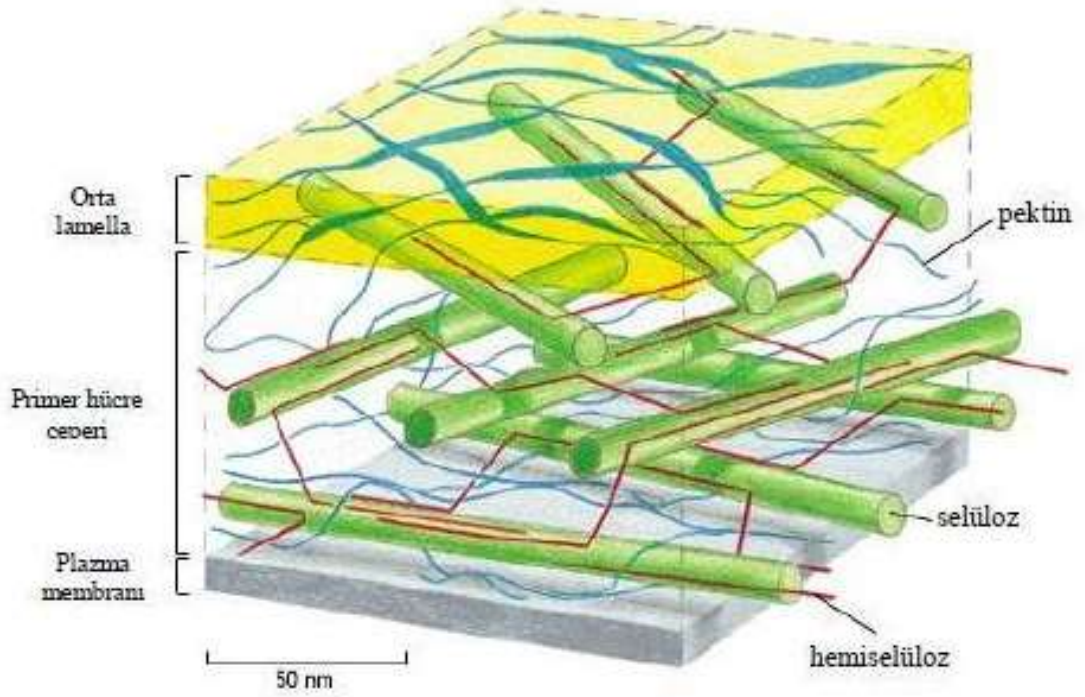
Nişastalı materyaller: Biyoetanol üretiminde kullanılabilecek diğer hammadde kaynakları nişasta bazlı materyallerdir (Yoosin ve Sorapipatana 2007). Nişastadan biyoetanol elde edebilmek için karbonhidrat zincirinin koparılması gerekmekte ve glikoz şurubunun elde edilmesi amacıyla mayalar kullanılmaktadır. Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinde biyoetanol üretimi için bu hammadde kaynakları büyük ölçüde kullanılmakla beraber çoğunlukla bu amaç için mısır ve buğday tercih edilmektedir (Cardona ve Sanchez 2007). Nişasta bazlı biyoetanol endüstrisi yaklaşık 30 yıldır yaşamakta olup, geçen zaman içinde enzim verimliliğinde sağlanan iyileşmeler yanında işlem süresi ve maliyetlerin düşürülmesi biyoetanol verimliliğini olumlu yönde etkilemiştir (Mabee vd. 2006).

Lignoselülozik biyokütle: Bütün lignoselülozik biyokütlelerin temel yapısı üç temel polimerden (Selüloz, Hemiselüloz ve Lignin) oluşmakta ve içerdiği hammaddeye göre çeşitlilik göstermektedir (Şekil 2.3). Hemiselülozların biyolojik dönüştürülme işlemi

(bioconversion) hemiselüloz içeren biyokütlenin, yakıt ve kimyasallara dönüşümü, kâğıt hamuru üretimi ve hayvan yemlerinin sindirilebilirliğini artırması gibi farklı agro-endüstriyel yöntemlerdeki pratik uygulamaları nedeniyle son yıllarda oldukça önem kazanmıştır (Wong vd. 1988). Hemiselülozik şekerler lignoselülozik materyalin biyoetanol ve diğer fermentasyon ürünlerine dönüşümünde büyük önem taşımakla birlikte yapısı heterojen polisakkaritlerden (pentoz, heksoz ve şeker asitleri) oluşmakta ve hidrolizi ile ksiloz, mannoz, glikoz, galaktoz, arabinoz gibi monomerler elde edilmektedir. Hemiselüloz miktarı, lignoselülozik kuru ağırlığın genellikle %11-37'si kadardır (Morohoshi 1991). Alternatif bir enerji kaynağı olarak önemi artan yakıt etil alkol üretiminde yaygın olarak kullanılan selülozik maddeler düşük maliyetli ve yaygın miktarda bulunabilme özelliğinde olmalıdır. Doğal biyolojik bir malzeme olan bitkisel materyalin yapısını oluşturan biyolojik polimerlerin kimyasal özelliklerinin yakından bilinmesi, etanol dönüşüm başarısı için önemlidir. Etanol üretimindeki potansiyel, seçilen hammaddenin içerdiği polimer yapıların analizi ile doğru orantılıdır. Selülozik veya lignoselülozik maddeler, tarımsal, orman ve endüstriyel atıklardan oluşmaktadır.

Çizelge 2.1 Bazı ham materyallerin içerdiği yapıların yüzde değerleri.

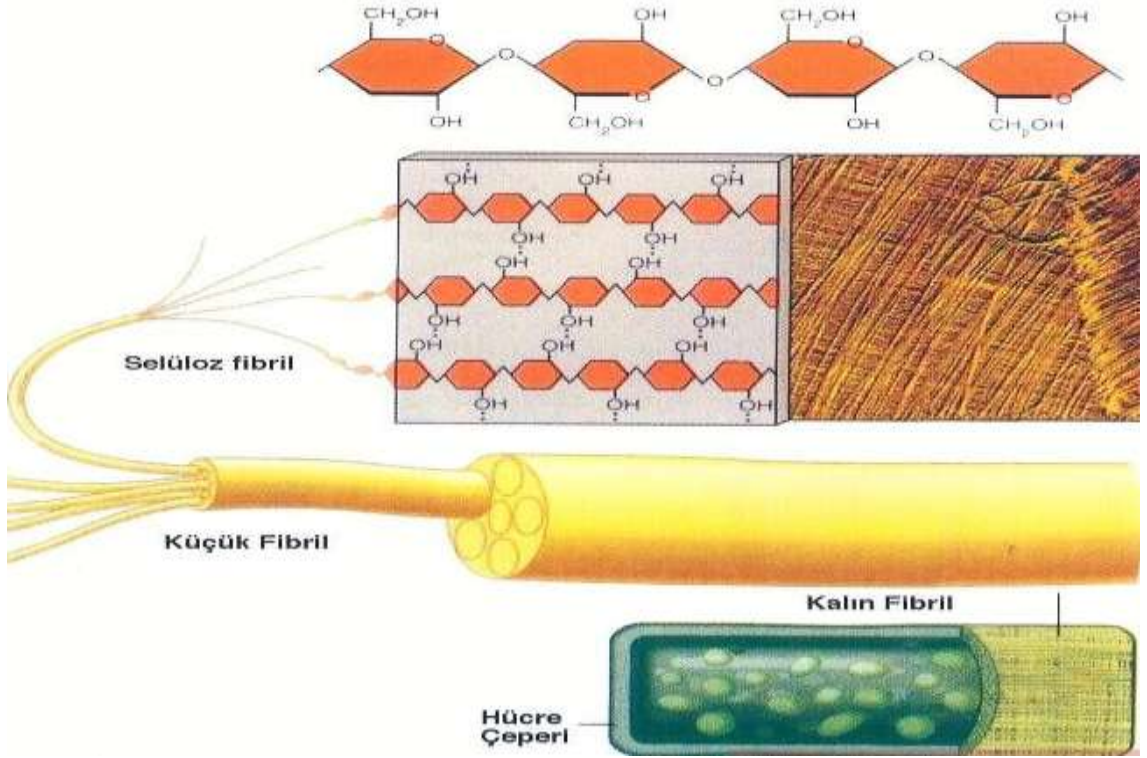
HAM MATERYAL	SELÜLOZ	HEMİSELÜLOZ	LİGNİN
SERT ODUNLAR			
Kızıl akçaağaç	44,1	29,2	24
Melezkavak	41,7	20,2	29,3
Huş ağacı	41	36,2	18,9
TARIMSAL ATIKLAR			
Mısır koçanı	33,7	31,9	6,1-15,9
Pirinç samanı	36,2	19-24,5	8,9-17,3
Fındık kabuğu	25-30	22-28	30-40
Pamuk sapı	38,4-42,6	20,9	21,45
DİĞER			
Bambu	40-50	18-20	23
Zeytin ağacı	25,2	15,8	19,1
Çim	25-40	25-50	10 30



Şekil 2.3 Hemiselülozun lignoselülozik materyaldeki konumu

Lignin doğada oldukça fazla miktarda bulunan ve ekonomik öneme sahip doğal hammadde olması nedeniyle yapısı ve biyosentezi konusunda birçok çalışmaya konu olmuştur. Hücre duvarını hidrofobik yapan amorf bir heteropolimer yapısı olmakla birlikte kimyasal ve enzimatik yıkıma oldukça dirençlidir. Yumuşak odun ve sert odunların lignin içerikleri %20-40 arasında değişirken bu oran şeker kamışı artığı-sapı, mısır koçanı, fıstık kabuğu ve saman gibi otsul bitkilerde %10-40 arasında sınırlı kalmaktadır (Yaman 2004).

Selüloz bitkiler tarafından sentezlenen yapısal bir rolü olan temel karbonhidrat olup, miktarı bitkiye bağlı olarak değişiklik gösterse de, bitki hücre duvarının temel bileşenidir. Dallanmamış lineer bir polimerdir ve yapısına hidroliz reaksiyonu ile su eklendiğinde altı karbonlu bir monosakkarit olan glikoz molekülleri elde edilmektedir.



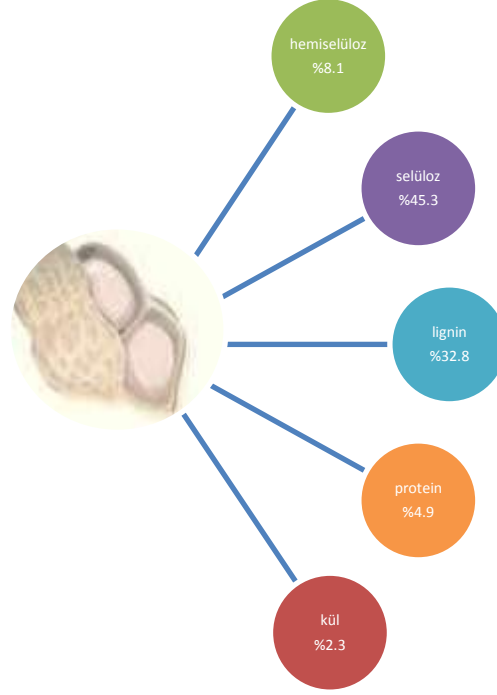
Şekil 2.4 Selülozun yapısı

Yer Fıstığı Kabuğu: Tarımsal ve diğer sürdürülebilir kaynaklardan ve çevresel değerler ile uyumlu şekilde üretilen biyoetanolün hammadde kaynaklarından biri de baklagiller (Fabaceae) familyasında bulunan (tohumlarında %45-60 yağ, %20-30 protein, %18 oranında karbonhidrat, vitaminler ve madensel maddeler içermektedir.) kuruyemiş fabrikalarından çıkan yer fıstığı'nın (*Arachis hypogaea*) kabuğudur.

Pastacılıkta, yem sanayisinde, sabun ve/veya inşaat sektörüne ait bazı malzemelerin yapımında kullanılan yer fıstığının dünyada üretilen miktarı 18.54 milyon ton dur. Dünya üretiminin % 33'ünü Hindistan, % 26'sını Çin, % 24'ünü Afrika, % 17 sini ise Kuzey ve Güney Amerika karşılamaktadır (Çiçek 1998).

Türkiye de ise en çok % 90 - 95 oranında Akdeniz bölgesinde yetişmekte olup, ortalama 70 bin ton ürün elde edilmektedir. Yer fıstığı bitkisinin % 35'ini kabuğu oluşturmaktadır. Dolayısıyla yer fıstığı kabuğunun ortalama olarak dünyadaki potansiyeli 6,49 milyon ton ve Türkiye' de ise 24,50 bin ton'dur (Çiçek 1998).

Yer fıstığı kabuğu kimyasal yapısı şekil 2.5'te belirtilmiş olup, içerdği element analiz sonuçlarında % 45.3 selüloz, %32.8 Lignin, %8.1 Hemiselüloz, %4.9 Protein ve % 2.3 kül ihtiva ettiği tespit edilmiştir (Wartelle vd. 2000).



Şekil 2.5 Yer fıstığı kabuğunun kimyasal yapısı

2.4 Biyoetanol Üretim Prosesleri (Lignoselülozik Hammadede)

Dört ana aşamadan oluşmaktadır:

- Ön muamele,
- Hidroliz,
- Fermentasyon
- Ürünlerin ayrılması/distilasyon.

2.4.1 Ön muameleler genel bakış, amacı ve çeşitleri

Lignoselülozik maddelerin biyo-dönüşümünde birinci adım boyut ön muameledir. Ön muamele aşaması, asit veya enzim katalizörlü hidroliz işlemlerinin etkisini kolaylaştırmak amacıyla lignoselülozik yapının fiziksel bozulmasına katkıda bulunmaktadır. Ön muamele işlemleri sonraki işlemlerin etkinliği ve konfigürasyonu üzerinde etkili olmakla beraber yöntemin ekonomikliğini de büyük ölçüde etkilemektedir. Yapılan çalışmalar karbonhidratların biyoetanole dönüşümünde maliyet-süreç açısından önemli ve belirleyici faktörün ön muamele işlemleri olduğunu göstermiştir. Lif yapısını değiştirebilen çeşitli ön işleme metotları vardır. Bu metotlar seçilirken selülozik materyal yapısı, işlem süresi, işlem etkinliği, ön işlem sırasında oluşabilecek toksik madde miktarı, etanol verimi ve kalitesi gibi çeşitli parametreler dikkate alınmaktadır (Thomas vd. 2008).

Ön muamelenin başarılı olabilmesi için;

- Şekerlerin formasyonunu artırmalı veya şekerleri daha sonraki hidroliz işlemleri için uygun yapıya dönüştürebilmeli,
- Karbonhidratların degradasyonunu ve kaybını önlemeli,

Sonraki hidroliz ve fermentasyon işlemlerinde yan ürün inhibitörlerinin oluşumunu önlemeli ve maliyeti olumsuz etkilememelidir.

Lignoselülozik yapıyı gevşetmek ve böylece hidroliz oranını ve selüloz veya hemiselülozdan fermente edilebilir şeker oluşumu miktarını arttırmak için uygulanan ön işlem metodları fiziksel, kimyasal, biyolojik ve termo/fiziko kimyasal olarak sınıflandırılır.

2.4.1.1 Mekanik müdahale

Biyoetanol üretiminde tercih edilen lignoselülozik hammaddenin doğal formatınının değiştirilmesi için hidroliz öncesinde uygulanan *öğütme* ve mikrodalga veya gama ışınları ile hidrolizi arttıran *ışınlama* teknikleri bu gurubun içerisinde yer almaktadır. Harun ve arkadaşlarının (2010) biyoetanol üretimi üzerine yaptığı çalışmada, hammaddelerin yüzey alanını arttırmaya yönelik kullandıkları ve fiziksel ön müdahalenin bir türü olan araçlar yardımıyla mekanik öğütme metodu sonucu hammaddelerden ya 10-30 mm ya da 0,2-2 mm arasında parça boyutları elde etmişlerdir.

Binod ve arkadaşları (2012) şeker kamışı küspesine yönelik izledikleri ön müdahale yönteminde %1'lik NaOH ile 4 dk boyunca 600 W'lık mikrodalgada uygulamasını tercih etmişlerdir.

2.4.1.2 Piroliz

Hammaddeleri 300°C'den daha yüksek sıcaklığa maruz bırakarak içeriğindeki selülozun, gaz şeklinde ürünler ve atık kömür oluşturmak için hızla parçalandığı ayrıca nikel dolomit, toprak alkali ve geçiş metali tuzlarını katalizör olarak kullanarak biyokütleden ikincil yakıtların ve kimyasal ürünlerin üretimine başvurduğu piroliz işlemini (Kilzer 1965) Fan ve arkadaşlarının (1987) denedikleri çalışmalarında, ön müdahale metotlarından piroliz işlemi sonrasında atıklar üzerine oksijen varlığında seyreltik asit ile hidroliz müdahalesi sonrası selülozun glukoza dönüşüm oranını % 80 - 85 olarak belirlediler. Proses sırasında çinko klorit veya sodyum karbonat ilave edildiğinde, saf selülozun yıkımı daha düşük sıcaklıklarda da gerçekleştirildiği Shafizadeh ve arkadaşları (1975) tarafından tespit edilmiştir.

2.4.1.3 Buhar patlatılması (otohidroliz-steam explosion)

Biyokütlenin ön parçalanmasında kullanılan işlemlerden biri buhar patlatılmasıdır. Yöntem buhar patlaması, sulu ayırma ve sıcak su sistemlerini kapsamaktadır. Buhar patlaması yüksek sıcaklık ve basınçta biyokütlenin ekstrüzyon işlemini kapsamaktadır. Buhar patlatılması ön muamelesiyle ise hemiselülozun degradasyonu ve çözülebilirliği yüksek sıcaklık ve kısa reaksiyon süresi (270°C, 1 dk.) veya düşük sıcaklık, yüksek reaksiyon süresi (190°C, 10 dk.) işlemlerinin her iki şekliyle de sağlanabilir. Uygulama sonrasında basınç serbest bırakılarak materyalde fazla kayıp olmaksızın, patlatma sonrası lifler bireysel hale dönüştürülmektedir. Bahsedilen yöntem kavramsal olarak basit olmakla beraber hemiselülozlardan elde edilen şekerlerin verimi %65'lerden daha düşük olabilmektedir (Wyman 1999). Amores ve arkadaşları (2013), şeker kamışı küspesinin 215 °C'de 5 dk buhar patlama ile önmuamelesi (2L-SE pilot reaktör, Masonite Technology), enzimatik hidroliz (Selülaz, β -glukosidaz, ksilanaz/Novozymes) ve *S. cerevisiae* ile fermentasyonu sonucunda biyoetanol elde edilmiştir.

Buhar patlatılmasının lignoselülozik maddeler üzerine etkileri:

- Selülozun amorf kısımlarını kristalleştirerek, selülozun kristalinitesini artırır,
- Hemiselülozlar kolaylıkla hidrolize edilebilir,
- Delignifikasyonu artırır.

Buhar patlatılmasının en önemli avantajı mekanik liflendirme (%70'ten fazla enerji gerektirir) ile karşılaştırıldığında daha düşük enerji kullanımını gerektirmesi ve geri dönüşüm ve çevresel açıdan ortaya çıkabilecek maliyetleri azaltması olarak gösterilebilir (Balat vd. 2008). Bu yöntemin tarımsal atıklar ve sert odunlar için maliyet açısından oldukça etkin olduğu düşünülebilir; ancak yumuşak odunlar için aynı durum söz konusu değildir.

Bunun dışında yapılan çalışmalar incelendiğinde enzimatik hidroliz işlemi öncesinde CO₂ muamelesi metodunda selüloz materyali üzerinde oldukça etkin olduğu

görülmüştür. CO₂, buhar ve amonyak patlatılması ön muamele metotları şeker kamışı üzerinde denemiş ve CO₂ patlatılması metodunun diğerlerine nazaran maliyet açısından daha etkin olduğunu ve özellikle buhar patlatılması metodunda odun bileşenlerinde ortaya çıkan olumsuz etkinin CO₂ patlatılması metoduyla indirgendiğini gözlemlemişlerdir (Zheng vd. 1999).

2.4.1.4 Amonyakla muamele edilmiş liflerin soğuk buharla patlatılması (AFEX)

AFEX ön muamelesi liflerin sıvı amonyak ile muamelesini ve ardından soğuk buharla patlatılması işlemlerini kapsamaktadır (Hamelinck vd. 2005). Yöntem basit ve işlem süresi kısadır. Bu sistem hiçbir şekeri direkt olarak serbest bırakmamakta ancak polimerlerin (selüloz ve hemiselüloz) enzimatik atağa karşı daha duyarlı hale gelmesini sağlamakta ve şekerleri azaltmaktadır (Dale ve Moelhman 2000). AFEX metodu amonyağın yüksek maliyeti dolayısıyla, yöntemin ekonomikliğini sağlayabilmek amacıyla amonyağın geri kazanımını gerekli kılmaktadır. Amonyağın geri kazanımında en önemli yaklaşım muamele sonrasında uygulanabilecek olan evaporasyon işlemidir. Yapılan çalışmalarda mısır saplarının ön muamelesi için uygun bir yöntem olduğu belirtilmektedir.

2.4.1.5 Karboksilik asit patlaması

Buhar patlama ve AFEX yöntemine benzeyen yöntemde CO₂ karboksilik asit oluşumunu sağlayarak hidroliz oranını artırır. Dale ve Moreira (1982) yoca bitkisi ile yaptıkları çalışmada farklı ön muamele işlemlerini denemiş ve CO₂ patlama yönteminin buhar patlama ve AFEX yöntemine göre daha az, biyolojik müdahaleye göre daha fazla ürün verimi elde ettiklerini belirtmişlerdir.

2.4.1.6 Islak oksidasyon

Islak oksidasyon, biyolojik parçalanmaya karşı dirençli veya toksik olan organik maddelerin, yüksek sıcaklık ve basınç altında kuvvetli oksidantların varlığında, oksidasyonunu sağlamak için uygulanan bir prosesidir. Haykır ve arkadaşları (2011), pamuk bitkisi atığını iyonik sıvılar aracılığıyla ön işlem uyguladıkları çalışmada 10% (g biyokütle/ g iyonik sıvı) pamuk bitkisi atığı üzerine AMIMCl (1-allyl-3-methyl imidazolium chloride), BMIMCl (1-butyl-3-methyl imidazolium chloride), EMIMCl (1-ethyl-3-methyl imidazolium chloride), HEAF (2-hydroxy ethyl ammonium formate) ve en iyi etkiyi tespit ettikleri EMIMAc (1-ethyl-3-methyl imidazolium acetate) iyonik sıvıları ile 150°C’de 30 dakika boyunca ön işleme tabi tutmaktadırlar.

Petersson ve arkadaşları (2007) lignoselülozik hammadde olarak kış çavdarı, kolza ve bakla çöpünün seçildiği çalışmalarında biyoetanol üretimini incelemişlerdir. Çalışmalarında hammaddelerin ön işlem müdahalesi için 195 °C, 15 dk. 2 gl⁻¹ Na₂CO₃ 12 bar oksijen altında ıslak oksidasyon yöntemi tercih edilmişlerdir.

Palonen ve arkadaşları (2004) ön işlem metodlarından ıslak oksidasyonu Avrupa ladininin üzerinde 200 °C’de, 10 dakika ve nötral pH’da olacak şekilde uygulamıştır ve teorik verimi %79 olarak tespit edilmiştir. Varga ve arkadaşları (2004) ise alkali ve asidik ıslak oksidasyon ön işlem metodunu, mısır koçanı üzerinde 195 °C, 15 dakika 12 bar oksijen altında uygulanmış ve 50 °C’de selülaz enzimi eklemişlerdir.

2.4.1.7 Alkali ön muamelesi

Alkali ön muamelesi, diğer ön muamele teknolojileri ile karşılaştırıldığında daha düşük basınç ve sıcaklığa ihtiyaç duymaktadır. Alkali ön muamelesi çevre koşullarında uygulanabilir ancak muamele saat veya günlerle ifade edilmektedir. Alkali ön muamelesinde bazı alkalilerin geri dönüşümü olmayan tuzlara dönüşümü veya ön muamele sırasında meydana gelen reaksiyonlarla biyokütle içerisine tuz gibi işlemleri yöntemin kullanılabilirliğini sınırlamaktadır (Silverstein 2004). Alkali ön muamelesinin

en önemli özelliği kullanılan alkalinin diğer bileşenler üzerinde büyük etkiler oluşturmaksızın lignini uzaklaştırabilme kapasitesine sahip olmasıdır (McMillan 1997).

Kireç muamelesi alkali ön müdahale yöntemleri arasında yer almakta olup, temelinde biyokütleden karbonhidrat kaybı olmadan lignini ayrıştırmaya yardımcı olmaktadır.

Yöntemler arasında diğer bir müdahale sıvı amonyak ile yapılmaktadır. İki tipi olan bu uygulama (ARP: yüksek yoğunluk - düşük temas zamanı, SAA: düşük yoğunluk – yüksek muamele zamanı) tarım atıkları açısından etkilidir ve enzimatik hidroliz için biyokütlerdeki selülozu kullanılabilir hale getirir.

Kang ve arkadaşları (2013) bir C4 bitkisi olan *Miscanthus*'a alkali ön-muamelesinde NaOH çözeltisinin molaritesi 0,4 M olarak tespit etmişlerdir. Cao ve arkadaşlarının (2012) tatlı sorgum küspesine, enzimatik hidroliz oranını arttırmak için yaptıkları bir çalışmada ön işlem metodu olarak seyreltik NaOH ile otoklavlama, yoğun NaOH ile ön muamele, seyreltik NaOH ile otoklavlama ardından H_2O_2 ile muamele, alkaline peroksit ile ön-muamele ve sadece otoklavlama ile ön muamele yöntemlerini uygulamışlardır. En iyi verim seyreltik NaOH ile otoklavlama ardından H_2O_2 ile muamele yönteminden elde edilmiştir.

2.4.1.8 Biyolojik ön muamele

Biyolojik ön muamele işleminde lignoselülozik madde içerisindeki lignini çözmek amacıyla mantarlar kullanılmaktadır. Biyodelignifikasyon olarak tanımlanan işlemde biyokütle içerisindeki ligninin mikroorganizmalar tarafından biyolojik degradasyonunu ifade edilmektedir. Bu yöntem 1980'li yıllarda ilk anıldığında pahalı olması, uzun muamele süresi gerektirmesi, bazı yönleriyle yetersiz olması ve mikroorganizmaların lignin türevlerince zehirlenebilir yapıda olması gibi nedenler yöntemin kullanılabilirliğini sınırlamakla beraber gelecekte daha etkin bir yöntem olacağı düşünülmektedir (Hamelinck vd. 2005). Bu ön muamele şekli fazlasıyla kolay olmakla

birlikte elde edilen verim düşüktür. Ayrıca yapılan çalışmalar incelendiğinde bu ön muamele işlemini kapsayan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Biyolojik ön-muamele işlemlerinde mikroorganizmaların lignin ve hemiselülozun parçalanması için kullanıldığı ve Mosier ile arkadaşlarının da (2005) Bermuda çimeninin üzerinde yaptığı çalışmada 6 haftada *Ceriporiopsis subvermispora* ile %29-32 oranında, *Cyathus stercoreus* ile ise %63-77 oranında parçalanma sağlandığı tespit edilmiştir.

Değişik çalışmaların sonuçlarına göre *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete sordida* 37 ve *Pycnoporus cinnabarinus* 115 gibi mikroorganizmaların samanı 4-5 haftada %30-50 oranında şekere parçalayabildiği ortaya çıkmıştır (Adıgüzel 2013).

2.4.2 Hidroliz

Ön muamele işleminin ardından biyokütlenin fermente edilebilir şekerlere dönüşümünde gerekli olan ikinci adım su molekülünün ilavesiyle ana molekülün koparılmasını ifade eden hidroliz işlemi etanol üretim basamaklarından birini oluşturmaktadır. Hidroliz işlemi farklı uygulamalar ile gerçekleştirilir.

Selüloz seyreltik asit, derişik asit veya enzim (selülaz) yoluyla katalizlenir. Selüloz polimerini glikoza hidrolizleyen yöntemlerden bir kısmı son birkaç yıl içerisinde geliştirilmiştir. Bu yöntemler genellikle selüloolitik enzimleri veya farklı derişimlerde sülfürik asitleri hidroliz amacıyla kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda enzim kullanımı durumunda pahalı yatırımlar gerekli olmakta buna karşılık sülfürik asitin bu işlemde kullanımının daha ucuz olduğu görülmektedir. Enzimatik uygulamada (pH 4,8 ve sıcaklık 318-323 K, 40-50 °C) yüksek verim sağlanabilmektedir. Alkali veya asit hidroliz işlemlerinin neden olduğu korozyon problemleri bu uygulamaları sınırlamaktadır. (Balat vd. 2008)

Lignoselülozik biyokütlenin hidrolizi saf selüloza nazaran glukan olmayan lignin ve hemiselüloz gibi bileşenler nedeniyle oldukça karmaşıktır.

2.4.2.1 Asit hidrolizi

Asit muamelesi, lignoselülozik biyokütleden yüksek verimlerde şeker üretimini amaçlamakta olup, (Lee 2005) sülfürik asit en çok kullanılan asit olmakla beraber hidroklorik asit, perasetik asit, nitrik asit ve fosforik asit gibi farklı çeşitleri mevcuttur. (Taherzadeh ve Karimi 2007). Asit muamelesi selülozu hidrolize etmek amacıyla seyreltik veya derişik olarak kullanılabilir. Bu metotlar içerisinde seyreltik asit ön muamelesi daha ekonomik ve verimli olduğu için en fazla tercih edilen metottur.

Asit katalizörlü selüloz hidrolizi kompleks heterojen bir reaksiyondur. Bu hidroliz işlemleri hidrolitik kimyasal reaksiyonlar kadar fiziksel bazı faktörleri de kapsamaktadır. (Xiang vd. 2003) Monosakkarit ürünlerinin daha yoğun degradasyonu ise istenilmeyen kimyasalların oluşumuna neden olabilmektedir. Meydana gelmesi mümkün olan yan reaksiyonların sayısı, tamamıyla uygulanan asidin nüfuzuna bağlıdır.

Lignoselülozik biyokütle asit ile hidrolize edildiğinde, değişmeden kalan lignin ve selüloz fraksiyonları yanında ksilanın ksiloza dönüştürüldüğü belirtilmektedir. Bu durum ksilanın selüloz ile karşılaştırıldığında amorf yapıda olması ve asit muamelesi sonucunda hidroliz işlemine daha çok dayanıksız olması ile açıklanabilir.

Seyreltik asit hidrolizi: Bu yöntem selüloz biyokütlesini bioetanole dönüştürmede bilinen en eski teknolojidir. (Anonim 2008) Bu işlemde, biyokütle seyreltik sülfürik asit ile muamele edilerek, hemiselülozlar ksiloz ve diğer şekerlere parçalanır ve devamında da ksilozdan furfural elde etmek amacıyla karıştırılır. Furfural ise distilasyon yoluyla geri kazanılmaktadır. Biyokütle ile karıştırılan asit 433-493 K sıcaklık derecelerinde saniyeden dakikaya kadar değişen reaksiyon sürelerinde muamele edilir.

(Mosier vd. 2005) Seyreltik asit hidrolizinde hemiselüloz fraksiyonları, selüloz fraksiyonlarına nazaran daha düşük sıcaklıklarda depolimerize olmaktadır. Bu yöntemde hemiselülozdan ksiloz veya diğer şekerleri elde etmek amacıyla seyreltik asitle biyokütle işleme sokulmaktadır.

Çoğu seyreltik asit yöntemleriyle elde edilen şeker verimleri yaklaşık %50 ile sınırlı kalmaktadır. Gerçekleştirilen çalışmalar daha yüksek selüloz hidrolizi yanında glikozun bozunmasını minimize ederek ekonomik bir şekilde verimin %70'lerin üzerine çıkarılması doğrultusundadır.

Seyreltik asit hidrolizi selüloz ve hemiselüloz arasındaki farklılıktan ötürü iki kademe uygulanmaktadır. Birinci kademe daha düşük sıcaklıklarda hemiselülozun hidrolizi sağlanırken, ikinci kademe daha yüksek sıcaklıklarda biyokütlenin selüloz kısmının hidrolizi gerçekleştirilir. (Demirbaş 2006; 2007)

Bu yöntemle furfural ve HMF gibi fermentatif mikroorganizmalar için inhibitör olarak kabul edilen yan ürünlerin oluşumu söz konusu olmadığından seyreltik asit muamelesi inhibitör bileşiklerinin oluşumunu engellemek ve devam eden enzimatik sakkarifikasyonda selülozun fermente olabilen şekerlere daha mükemmel bir şekilde dönüşümünü sağlamak amacıyla nispeten düşük sıcaklıklarda uygulanır.

Seyreltik asit yönteminin en önemli avantajı düşük asit tüketimi ve kesintisiz işlemi kolaylaştıran hızlı reaksiyon oranı olmasıdır.

Konsantre asit hidrolizi: Konsantre asit yöntemi, tamamen ve hızlı bir şekilde selülozun glikoza ve hemiselülozların çok az degradasyona uğratılmasıyla 5-karbonlu şekerlere dönüşümünü mümkün kılmaktadır. Konsantre asit yönteminde reaksiyon süresi seyreltik asit yöntemine nazaran daha uzundur. Bu yöntemde 313-323 K, 40-50 °C sıcaklıkta 2-4 saat süreyle, %70'lik sülfürik asit ile biyokütleyle reaktör içerisinde muamele edilmektedir. Bu yöntemde hidroliz işlemi sonrasında materyal yıkanarak şekerlerin ayrılması sağlanmaktadır. Bir sonraki adımda ise selüloz fraksiyonlarının

depolimerize olmasını sağlamak amacıyla materyalin kalan kısmından suyu uzaklaştırıldıktan sonra 373 K, 100 °C, 50 dakika süreyle %30-40 sülfürik asit solüsyonuyla ısıtılmaktadır. (Chandel vd. 2007)

Konsantre asit yönteminin en önemli avantajı yüksek şeker verimi sağlamasıdır. Ancak, konsantre sülfürik veya hidroklorik asitle çalışmak zor olmakla beraber, kullanılan asidin tekrar döngüye katmak için yüksek oranda enerji sarf edilir. (Jeffries ve Jin 2000)

Teliez-Luis ve arkadaşları (2002), Sorghum sapının 122 °C 'de üç farklı sülfürik asit derişiminde (% 2, 4, 6) hidrolizi ile ksiloz üretimini araştırmışlardır. %2 H₂SO₄ derişiminde hidroliz 122 °C ve 71 dakikadd gerçekleştirilmiştir. Bu optimum reaksiyon koşullarındaki çözeltide 18,17 g/l ksiloz, 6,73 g/l glukoz, 0,9g/l furfural ve 1,51 g/l asetik asit içerdiğini tespit etmişlerdir. Zheng ve arkadaşları (2013) şeker pancarı küspesinin optimum koşullarda seyreltik sülfürik asit (%0,66) ile ön-muamele, enzimatik hidroliz ve fermentasyonu sonucunda 1 g kuru biyokütle başına 0,4 g biyoetanol elde edilmiştir. Seyreltik asit ile ilgili diğer bir çalışma, Sindhu ve arkadaşları (2011) şeker kamışı çöpünün seyreltik asit (HCl, H₂SO₄) ile muamelesi sonrasında her bir gram biyokütleden 0,685 g/L indirgenmiş şeker elde edilmiştir.

Hemiselülozlarda bulunan şeker oranı %70 - %90 arasında değişmektedir. Özellikle mikroalglerde bulunan hemiselülozlardaki şekerlerin parçalanabilmesi için kullanılan en verimli metotlardan biri seyreltilmiş asit ile muameledir. Sun ve Cheng (2002) asit ile müdahale çalışmalarında, %1-10 arasında değişen asit derişimlerini denemişlerdir. Isı miktarını ise 100-110 °C'de tutmuşlardır. Naseeruddin ve arkadaşları (2013) ise içeriğinin %67,4 ± 1,6'sı karbonhidrat olan *Prosopis juliflora*'nın %2'lik sodyum ditiyonit (Na₂S₂O₄) ile ön muamelesi sonrasında iki basamaklı hidrolizin ilk aşamasını %1'lik sülfürik asit ile 110 °C'de 20 dk, ikinci aşamasını ise, %2'lik sülfürik asit ile 121 °C'de 30 dk olacak şekilde uygulamışlardır.

Okur (2003) ayçiçeği tohum kabuğundan elde edilen hemiselüloz hidrolizatının *Pichia stipitis* mayası ile etil alkol üretimini incelediği çalışmasında, 90 °C’de 0,7 M H₂SO₄ ile 1/5 katı/sıvı (g/mL) oranında hidroliz yapmıştır. Ruiz ve arkadaşları (2013) ayçiçeği sapına sülfirik asitle ön-muamelesinin optimizasyonu sonucunda en uygun muamele sıcaklığını 167 °C, asit yoğunluğu ise %1,3 olarak belirlemişlerdir.

Bari ve arkadaşları (2013) Kargının (*Arundo donax*) çalışmalarında asit katalizli buhar patlama ön-muamelesi (ACSE) sonrasında 0,07 M H₂SO₄ ile hidroliz işlemini 48 saat boyunca 200 °C’de denemişlerdir.

2.4.2.2 Enzimatik hidroliz

Bir diğer hidroliz metodu enzimatik hidroliz işlemi olup, enzimlerin bitki proteinlerinde bazı kimyasal reaksiyonlara sebep olması ile gerçekleşmektedir. Bu yöntemin uygulanmasında son yıllarda iki teknolojik gelişme sağlanmış olup bunlar enzimatik ve direkt mikrobiyal dönüşüm metotlarıdır (Demirbaş 2005). Selüloz hidrolizinde substratın lignin ve hemiselüloz içeriği, yüzey alanı ve selülozun kristallik derecesi gibi yapısal parametreler lignoselülozik materyallerin enzimatik hidroliz işlemini oldukça etkilemektedir. Enzimatik hidroliz işlemiyle lignoselülozlarda var olan glukanın yalnızca %20’si çözülebilir hale getirilebilirken, yapılan ön muamele işlemleri sayesinde enzimatik etki artırılabilir (Zhang ve Lynd 2004). Uygun koşullar altında ön muamele işlemiyle selülozun neredeyse tamamı orjinal materyal içinde kalmakta ve bu da enzimatik hidrolizi büyük ölçüde etkilemektedir.

Lignoselülozun degradasyonunda enzimatik hidrolizinde temel olarak selülaz, ksilanaz, peroksidaz ve lakkazlar rol oynadığı bilinmektedir. Selülozun enzimatik hidrolizi, yüksek özgünlükte selülaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Bakterilerden *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* ve *Streptomyces*’ler selülaz üretebilirler (Martin 1991).

Filamentli mantarlar selüloz ve hemiselüloz enzimlerinin asıl kaynağını oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda *Trichoderma sp.* (*T. viride*, *T. reesei*, *T. logibrachiatum*) türlerinin kristalin selülozu degrede etme kapasitesine sahip en üretken tür oldukları belirlenmiştir.

Ksilanların biyodegradasyonunda kullanılan enzimler ise endo- β -1,4 ksilanaz, β -ksilosidaz ve dallanmış yapıya sahip ksilanların hidrolizinde kullanılan α -L-arabinofuranosidaz, asetil ksilan esteraz, ferulik asit esteraz ve p-kumarik asit esteraz gibi enzim türleridir. Çizelge 2.1’de ksilan degradasyonunu kapsayan enzimler ile bunların etki mekanizması gösterilmektedir.

Çizelge 2.2 Ksilan degradasyonunu kapsayan enzimler ve bunların etki mekanizmaları

ENZİM	ETKİ
Endo-ksilanaz	Özellikle ksilan ana zincirinde iç kısımlardaki β -1,4-ksiloz bağlarını hidrolize eder
Exo-ksilanaz	Ksilobioz’u serbest bırakarak β -1-4-ksilozu hidrolize eder
β -ksilosidaz	Ksilobiozdan ve kısa zincirli ksilooligosakkaritlerden ksilozu serbest bırakır
α -arabinofuranosidaz	Arabinoksilanlardan indirgen olmayan terminal α -arabinofuronozları hidrolize eder
α -glukouronidaz	Glukouronoksilanlardan glukouronik asitleri uzaklaştırır
Asetil ksilan esteraz	Asetil ksilanlardaki asetil ester bağlarını hidrolize eder
Ferulik asit esteraz	Ksilanlardaki ferulolilesterbağlarını hidrolize eder
p-kumarik asit esteraz	Ksilanlardaki p-kumarik ester bağlarını hidrolize eder

Leathers ve Gupta (1997) *Aurebasidium sp.* türlerinden elde edilen ham enzim preparasyonlarının mısır lifinin sakkarifikasyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. *Aurebasidium pullulans*’dan elde edilen ham enzim preparasyonlarının kısmen çözünür hamurlarda uzaklaşan ksilan fraksiyonları üzerinde etkin olduğunu belirtilmiştir.

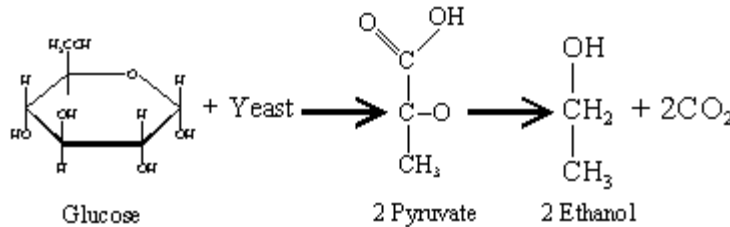
Saritha ve arkadaşları (2012) enzim ile hidrolizi pH 4,8 ve 45-50 °C gibi ılımlı koşullarda gerçekleştirmiştir. Haykırı ve arkadaşları (2011), pamuk bitkisi atığı ile yaptığı çalışmada ön işlem görmüş materyale, 50°C'de 48 saat boyunca 0.05 M sitrat tamponu içerisinde selüloz enzimi (Cellic ctec2) ile enzimatik hidrolize tabi tutulmuştur.

Eisenhuber ve arkadaşları (2013) buğday samanına buhar patlama ile ön-muamelesi ve ardından enzimatik hidrolizi sonucunda 300 g/kg'dan daha fazla glukoz açığa çıkarılmıştır. Bari ve arkadaşlarının (2013) *Arundo donax* ile hazırladığı çalışmada enzimatik hidrolizi sonucunda (0,28 g Ctec2/g) 91 g/l şeker (glukoz + ksiloz) elde edilmiştir. Binod ve arkadaşları (2012) şeker kamışı küspesine yönelik çalışmada selüloz (30 FPU/g'lık Zytex India Private Limited) ile enzimatik hidrolizi sonucunda 1 gr kuru biyokütleden 0,665 g indirgenmiş şeker elde edilmiştir.

Haykırı ve arkadaşları (2011), EMIMAc (1-ethyl-3-methyl imidazolium acetate) ile ön işleme tabi tutulmuş pamuk bitkisi atığından enzimatik hidroliz sonrasında 19 g/L glikoz elde edilmiştir.

2.4.3 Fermentasyon

Fermentasyonun ilk adımları, 1789 yılında Lavosier tarafından atılmış, 1815 yılında Gay Lusac tarafından formüle edilmiştir. Dums ve Bullay ise daha sonra Gay Lusac formülünü düzenlemişlerdir (Soyuduru 2007). Alkol şekerler fermente edildiğinde maya tarafından üretilen bir gıda maddesidir (Andersan 1999)



Fermentasyon 1839 yılında da Alman kimyager Liebig tarafından mekanik bir parçalanma olarak tanımlanmıştır. Pasteur ise 1857 yılında fermentasyonun maya

tarafından gerçekleştirilen fizyolojik ve biyolojik bir olay olduğunu ispatlamıştır. Fermentasyon teknolojisi ile üretilen maddeler arasında, yiyecek-içecek (bira, ekmek, kakao, sirke vb.), endüstriyel (asetik asit, aspartik asit, vanilin) ve farmosötik maddelerin (penisilin, tetrasiklin), yanı sıra vitamin (A, B₂,B₁₂) ile enzimler (amilaz, maltaz, selüloz) yer almaktadır.

Melas mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerini sürdürmeleri ile fermentasyon aktiviteleri için gerekli azot kaynakları, metal iyonları (çinko, mangan, magnezyum vb.) içeren organik maddeleri ve vitaminleri (biyotin, pantotenik asit, inosit vb.) içerdği, kaliteli ve kolay bulunabilen ucuz karbon kaynağı olduğu için biyoetanol üretiminde yaygın kullanılır (Soyuduru 2007).

Arı ve Dönmez'in (1999) sadece melasın kullanımıyla alkol fermentasyonunda, maya özütü yanı sıra ortama eklenen diğer azot kaynakları ile minerallerin, *Saccharomyces* mayaları ile alkol üretimi sırasında ortama ilave edilen soya ununun fermentasyon süresine etkisinin araştırıldığı çalışmalarında, fermentasyon denemelerine 140g/L şeker içeren %25'lik H₂SO₄ ile pH 4.5'e ayarlanmış melas çözeltileri 1g/l (NH₄)H₂PO₄ olarak ilave edilmiştir. Fermentasyon şişelerine alınan melas çözeltisinin 280 ml'sine 20 ml damıtık suda çözünmüş değişen oranlarda (%1, %3, %6, %9, %12) soya unu ilave edilmiş, 110 °C'de 30 dakika süre tutulduktan sonra, soyasız ortamda çoğaltılan 48 saatlik kültürle % 5 oranında aşılansak 28-30 °C'de inkübe edilmiştir. Çalışmaları sonunda etil alkol oranının arttırılması ve fermentasyon süresinin kısaltılması için soya ununun etkili bir katkı olduğu belirlenmiş ve soya unu maya cins ve türüne bağlı olarak, değişik oranlarda etkili olduğu, etil alkol konsantrasyonu, maya sayısı ve şeker tüketim hızı, maya cins ve türüne bağlı olarak değişiklik gösterebileceği belirtilmiştir.

Melasın bakterilerde alkol üretimine sağladığı katkıyı anlatan Avcı ve Dönmez (2005) tarafından yapılan çalışmada *Thermoanaerobacter sp.* farklı suşlarının sakkaroz ve melastan biyoetanol üretim oranlarını karşılaştırılmış, optimum sakkaroz konsantrasyonu 4 g/l olarak belirlemiş ve bundan 1.56 g/l biyoetanol elde etmişlerdir.

2.4.3.1 Biyoetanol üretim prosesinde fermentasyon

Fermentasyonda tercih edilen mikroorganizmalar: Genellikle asit muamelesiyle hidrolize olmuş lignoselülozlardan elde edilen hidrolizatlar biyoetanol üretimi amacıyla daha çok maya gibi mikroorganizmalar ile muamele edilmektedirler. Fermentasyon, mikroorganizmaların biyomas değerinin arttırmasıyla başlar. Lignoselüloz hidrolizatları glikoz haricinde ksiloz, mannoz, galaktoz, arabinoz ve oligosakkaritleri de içermekte olup, kullanılan mikroorganizmaların tüm bu şekerleri etkin bir şekilde fermente edebilme kapasitesine sahip olması gerekir (Katahira vd. 2006).

Mikroorganizmaların gelişmesini ve fermentasyon aktivitelerini etkileyen faktörler arasında maya derişimi, sterilizasyon, sıcaklık, pH, oksijen, basınç, zaman, ortamdaki substratın derişiminin etkisi, su ile metabolizma ürünlerini sayabiliriz.

Fermentasyonda en büyük rolü üstlenen mayalar; tek hücreli, spor yaparak veya tomurcuklanarak çoğalan 8-10 mikron (μ) büyüklüğünde bitkisel kökenli mikroskopik canlılardır. Tomurcuklanma ile çoğalmada, maya hücresinin uç tarafında bir siskinlik meydana gelir. Bu siskinlik giderek büyür ve bir tomurcuk şeklini alır. Uygun büyüklüğe gelince ana hücreden kopar. Bu hücre de aynı şekilde çoğalmaya devam eder. Maya hücrelerini morfolojik olarak ayırt etmek zor olmasına rağmen kural olarak genellikle yuvarlak veya eliptik bir şekil gösteren *Saccharomyces cerevisiae* yumurta şeklinde, tek hücreli, uzun çapı 0,01 mm olan bir maya olup gelişiminde azot ve tuzlara (P_2O_5 , SO_2 , K_2O , MgO) ihtiyaç duymaktadır.

Öte yandan fermentasyon işleminde kullanılan bazı mikroorganizmalar fermente edilebilir şekerleri besin kaynağı (yiyecek) olarak görebilmekte ve bunun sonucunda etil alkol ve diğer bazı yan ürünler oluşabilmektedir. Bu mikroorganizmalar daha çok glikoz gibi 6-karbonlu şekerleri tüketmektedirler. Bu yüzden yüksek glikoz içeriğine sahip selülozik biyokütlelerin biyoetanole dönüşümü daha kolay olmaktadır. Öte yandan etanolojenler olarak isimlendirilen mikroorganizmalar, biyokütleden elde edilen şekerlerin yalnızca çok az bir kısmını biyoetanole dönüştürebilir. Ancak önemli

miktarlarda biyoetanol üretimi sağlayabilen çeşitli mikroorganizmalar mevcuttur (Stewart ve Russell 1987).

Saccharomyces cerevisiae heksoz fermentasyonu için yüksek verime sahiptir. *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae* ve *Pichia stipitis* ksilozu etanole fermente edebilen mikroorganizmalara örnek olarak verilebilir.

Fermentasyon amacıyla yakın gelecekte çok daha fazla öneme sahip olacağı düşünülen etanolojenik bakteriler ise *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* ve *Zymomonas mobilis* türleridir.

Yapılan çalışmalar *Z. mobilis* bakteri türlerinin glikoz temelli hammaddelerden hızlı ve etkin bir şekilde biyoetanol üretme kapasitesine sahip olduğunu göstermiş olup, yapılan karşılaştırılabilir performans denemelerinde geleneksel mayalara nazaran %5 daha yüksek verim ve beş katından daha fazla hacimsel verimlilik elde edildiği gözlemlenmiştir (Mohagheghi vd. 2002).

Z. mobilis glikoz ve fruktoz gibi heksoz şekerlerinden etkin şekilde biyoetanol üretebilir; ancak pentoz şekerlerinde aynı başarıyı gösterememektedir.

Etanolojen *Z. mobilis* bir takım avantajlarına rağmen yalnızca glikoz, fruktoz ve sakkarozun dönüşümünü sağladığı için biyokütlenin dönüşümünde tam olarak yeterli bir tür olmamaktadır. Ancak son on yıl içinde NRRL (Enerji Departmanı, USA)'de yapılan bazı çalışmalar ksiloz ve arabinoz fermente edici türlerin varlığını ortaya çıkarmıştır. *E. coli* ve *K. oxytoca* arabinozu doğal bir şekilde metabolize etmekte olup, etanolojenik bu türler tüm lignoselüloz türevli şekerleri fermente edebilmektedirler.

Bakteri, maya ve filamentli mantarlar arasında ksiloz fermente edici mikroorganizmalar bulunmaktadır.

Ksiloz fermente edici bakteriler doğal ve genetik olarak oluşmuş çeşitli organizmalara sahip olup, eş zamanlı sakkarifikasyon ve fermentasyon için yararlı olabilecek birçok özelliğe sahiptirler.

Çizelge 2.3 Ksiloz fermente edici bakteriler ve özellikleri

TÜRLER	ÖZELLİKLERİ
<i>Clostridium acetobutlicum</i>	Ksilozun aseton ve bütanole fermentasyonunda başarılıdır, biyoetanol verimi düşüktür.
<i>Clostridium thermocellum</i>	Selülozu direkt olarak etanole ve asetik asite dönüştürme kapasitesine sahip, biyoetanol konsantrasyonları genellikle 5 g/l'den daha azdır.
<i>Escherichia coli</i>	Ksilozu doğal olarak biyoetanol, sukkinik ve asetik asite fermente etme kapasitesine sahip ancak etanol toleransı düşüktür, genetik olarak çalışılmış türleri genel olarak biyoetanol üretmektedir.
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Ksiloz ve sellobiozu doğal olarak hızlı bir şekilde fermente edebilirler, selülozun fermentasyonu ve biyoetanol üretimi geniş bir şekilde çalışılmaktadır.
<i>Lactobacillus pentoaceticus</i>	Ksiloz ve arabinozu tüketir, glikoz ve sellobiozu yavaş yavaş kullanır, asetik asit ve laktik asit 1/1 oranında üretilir.
<i>Lactobacillus casei</i>	Laktozu çok iyi bir şekilde fermente edebilir.
<i>Lactobacillus xylosus</i>	Besin kaynağı gerekli olduğu durumda sellobiozu kullanır: n-glikoz, D-ksiloz ve L-arabinozu kullanmaktadır.
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Homokatalitik fermentasyon sağlar, bazı alt türleri sülfat atık çözeltisinden laktik asit üretebilir.
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Sellobiozu glikoz, ksiloz ve arabinozdan daha hızlı bir şekilde tüketir, pektinleri depolimerize etmiş gibi görünür, tarımsal atıklardan laktik asit üretir.
<i>Zymomonas mobilis</i>	Normal olarak glikoz ve fruktozu fermente eder, ksiloz fermentasyonu üzerine araştırmalar devam etmektedir.

K. oxytoca ise enterik bir bakteri türü olup kâğıt ve kâğıt hamurunda gelişme gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu bakteri pH 5 ve 308 K, 35 °C sıcaklıkta gelişme gösterme kapasitesine sahip olup, sellobioz ve sellotrioz kadar heksoz ve pentoz içeren şekerler de etkili olmaktadır (Dien vd. 2003).

E. coli ve *K. oxytoca*, *Z. mobilis* nazaran daha fazla şeker substratı üzerinde etkin olmaktadır.

Fermentasyon işlemi amacıyla en fazla kullanılan mikroorganizmalardan biride mayalardır. *Saccharomyces cerevisiae*, heksozlardan yüksek biyoetanol üretimi

sağlaması ve lignoselülozik biyokütlenin asit hidrolizatlarında biyoetanol ve diğer inhibitör bileşikler yüksek toleransı nedeniyle biyoetanol üretiminde kullanılan en etkin maya türüdür; ancak bu maya ksiloz ve arabinoz gibi şekerleri etanole fermente edememektedir.

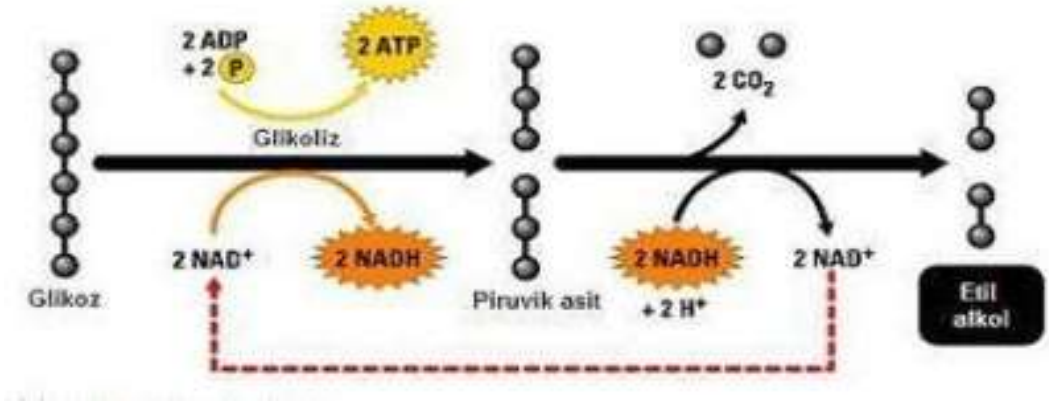
Mikroorganizmaların biyoetanol fermentasyonu performans parametrelerine (sıcaklık aralığı, pH aralığı, alkol toleransı, gelişme oranı, verimlilik, ozmotik tolerans, özgülük, verim, genetik stabilite ve inhibitör toleransı) ve diğer gereksinimlerine (var olan ürünlerle uyum, yöntem ve donanım) bağlı olarak değişim göstermektedir (Demirbaş 2004).

Bir organizma hayatta kalabilmek amacıyla mutlak suretle pH dengesini sürdürebilmelidir, öyle ki çoğu bakteri 6.5 - 7.5 gibi dar bir pH aralığında gelişim gösterebilmektedir.

Mayalar ve mantarlar ise 3.5-5.0 gibi daha geniş bir pH aralığına tolere edebilmektedirler. Bundan başka organizmaların çoğu %10-15 (w/v)'ten yüksek biyoetanol derişimlerini tolere edememektedirler.

Fermentasyon basamakları: Genellikle glikozun alkole dönüştüğü reaksiyonlar için kullanılan bir terim olan fermentasyon (mayalanma) oksijen yokluğunda karbonhidratların bozulmasını içeren metabolik bir işlem olup, tek hücreli olan mayaların stoplazmalarında gerçekleşir. Hücre içerisine giren glikoz tepkimeye girer ve pürivata dönüşür. (Demirbaş 2004).

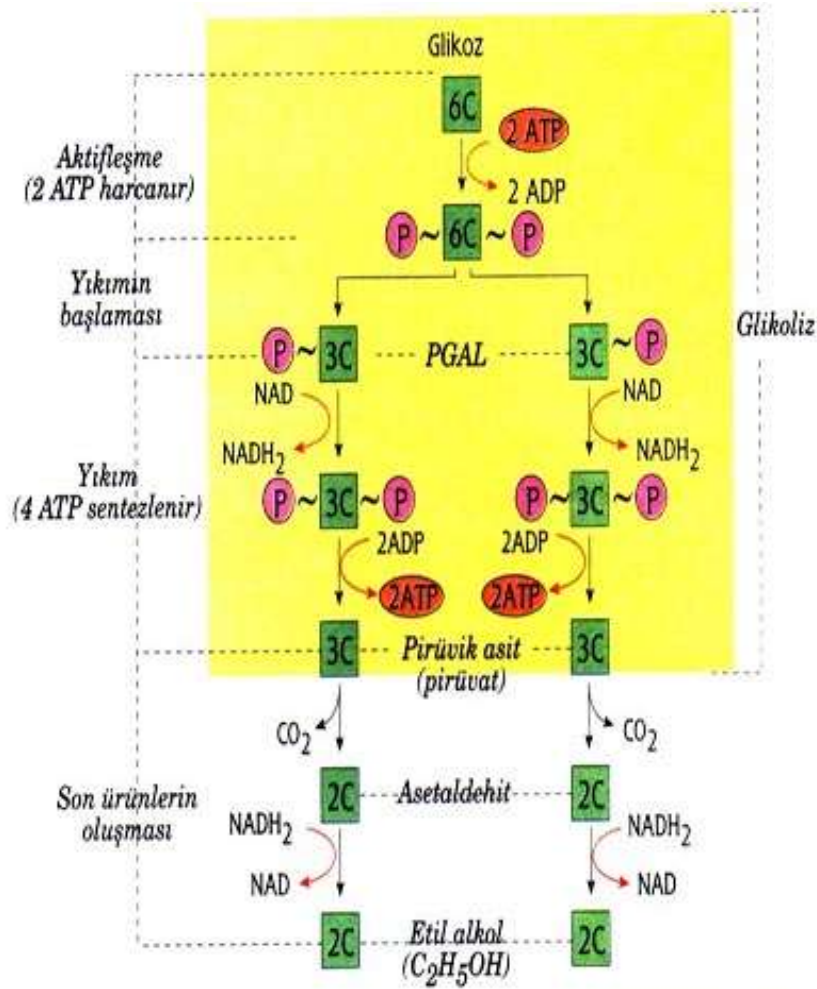
Fermentasyonda son elektron alıcısı, oksijen yerine, hayvanlarda laktik asit, mayalarda etanol, bazı bakterilerde gliserol veya asetik asittir. Mayalarda CO₂ çıkarılarak asetaldehite dönüştürülür.



Şekil 2.6 Etanol fermentasyon oluşum süreci

2.4.4 Etanol eldesi/distilasyon

Fermentasyon ortamında etanol derişimi en yüksek değere ulaştıktan sonra zamanla azalmaya başlar. Bunun anlamı maya hücrelerinin metabolik olarak enerji üretmek için etanolü de kullandığıdır. Ortamda oksijenin varlığında asetil koenzim A'yı meydana getirecek enzimler vardır ve sitrik asit çevrimi meydana gelir. Maya hücreleri etanolü kullanarak ATP sentezler. Etanol metabolizması şekil 2.7'de verilmiştir.



Etil alkol fermentasyonu ve ara basamakları (NAD, hidrojen fazlalığı olan bileşiğin hidrojenini alıp hidrojen eksikliği olan bileşiğe taşıyan bir hidrojen taşıyıcısıdır.)

Şekil 2.7 Etanol metabolizması basamakları

Distilasyon: Biyokütlenin hidrolizi ve fermentasyonunda ilerleyen teknolojik gelişmeler ve ticari uygulanabilirlik çalışmaları yanında, fermentasyon sonucunda elde edilen ürünlerin toplanması üzerine de gerekli çalışmaların yapılması önem arz etmektedir. Fermentasyon ürünleri çoğunlukla sudan daha uçucu olup, toplanmaları daha çok distilasyon yoluyla yapılmaktadır.

Distilasyon sistemiyle sıvı karışım içinde biyoetanol sudan ayrılabilir. İşlenmemiş biyoetanolün su içeriği ise genel olarak %80'den fazladır. Etanolü %95.6 konsantrasyonuna (etanolün suyla eş kaynar karışımı) ulaştırmak amacıyla oldukça yüksek enerji gereksinimi vardır (Anonim 2008).

2.5 Lignoselülozik Maddelerden Biyoetanol Üretimi

Lignoselülozik maddelerin biyoetanole dönüşümünü başlıca iki basamakta özetlemek mümkündür.

- Lignoselülozik maddelerin içeriklerinin monomer şekerlere dönüşümü için hidroliz işlemi.
- Hidroliz sonucu elde edilen şekerlerin mikroorganizmalar ile fermentasyon sonucu biyoetanole dönüşmesi.

Lignoselülozik maddelerin asidik hidrolizi seyreltik sülfirik ve hidroklorik asit ile gerçekleştirilebilir. Kullanılan asitlerle hidroliz %2-5 konsantrasyon aralığında 160 °C'de sıcaklıkta ve 10 atm basınçta gerçekleştirilebilir. Enzimatik hidroliz, pH 4.8 ve sıcaklık 45- 50 °C'de gerçekleşir. Enzimatik hidrolizden önce biyokütlenin kimyasalla ön işleminden geçirilme gerekliliği, asidik hidrolize göre pahalı olması sebebiyle bir dezavantaj oluşturmaktadır (Arslan 2007).

Parekh ve arkadaşları (1986), *Candida shehatae* ATCC 22984 ve *Pichia stipitis* CBS 5776 ile etanol üretimini içeriğinde ksiloz, glukoz-ksiloz karışımı ve kavak ağacının oluşturduğu hidrolizatta araştırmışlardır. Hidrolizat çözeltisine adapte edilen Adapte edilmiş *Candida shehatae* mayası ile 70:30 glukoz- ksiloz çözeltisinde biyoetanol üretimi 24 saat sonunda 45 g/l iken adapte edilmemiş maya için aynı sürede 15 g/l'dir. *Pichia stipitis* mayası ile aynı hidrolizatta 72 saatte 60 g/l etanol, adapte edilmemiş türünde ise aynı sürede 28 g/l etanol elde etmişlerdir.

Wilson ve arkadaşları (1989), buhar ön işlemine tabi tutulmuş kavak ağacı hemiselülozundan hazırladıkları hidrolizatlardan asetik asidi ve etil asetat ekstraksiyonu yöntemiyle de lignin parçalanma ürünlerini uzaklaştırmaya çalışmışlardır. Bu şekilde hazırlanan hidrolizatlardan *Pichia stipitis* CBS 5776 mayası ile etanol fermentasyonunda, enzimatik yolla hazırlanan hidrolizatın daha iyi fermente edildiğini

görmüşlerdir. 72 saatlik kesikli fermentasyon sonucunda, hidrolizat ile elde edilen biyoetanol verimi 0,47 g etanol/g substrat olup, üretim hızı 0,2 g/l saattir.

Delgenes ve arkadaşları (1990), buğday samanını kimyasal ön işlem sonrasında 91,5 °C de % 2 H₂SO₄ ile hidrolize tabi tutmuşlar ve *Pichia stipitis* Y 7124 mayası ile fermentasyonu araştırmışlardır. Kimyasal ön işleme tabi tutulmayan hidrolizattan, *Pichia stipitis* mayası ile etanolü 0,21 g/g verim ile üretmişlerdir. Fermentasyonda kullandıkları hidrolizatı 80 °C' de su ile iki kere çalkaladıktan sonra, önce CaO ile pH'ını 5'e ayarlayıp santrifüj etmişlerdir. Daha sonra 5 M NaOH ile pH'ı 7'ye artırıp santrifüj ile Ca(OH)₂'yi uzaklaştırmışlardır. Elde edilen hidrolizatın pH'ı tekrar 5'e düşürülmüştür. Kimyasal ön işlemlere tabi tutulan hidrolizat ise yukarıda anlatılan işlemlerden sonra konsantre edilmeden aşağıdaki basamaklardan geçirilmiştir. Önce hidrolizatı eterle yıkayıp, 5 N HCl ile pH'ı 2'ye ayarlayıp sonra vakum altında konsantre edip pH'ı tekrar 5'e artırmışlardır. Araştırmacılar, uyguladıkları kimyasal ön işlem ile 0,27g/g etanol üretilmiştir.

Ferrari ve arkadaşları (1992), *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 mayası kullanarak okaliptüs ağacının asidik hidroliz ile fermentasyonunu araştırmışlardır. Hemiselüloz hidrolizatını % 0,5 H₂SO₄ kullanarak 1/8 katı sıvı oranında 120°C'de ve 3 saatte hazırlamışlardır. Hidrolizatta bulunan asetik asitin fermentasyon verimi ve hızını düşüren önemli bir inhibitör olarak gözlemişlerdir. Asetik asitin zehirlilik etkisinin pH'ın artırılması ile azaldığını görmüşler ve pH 6,0 ve 6,5'da en yüksek verime ulaşmışlardır.

Cao ve arkadaşları (1996), mısır koçanından etanol üretiminde yeni ve etkili bir ön işlem olarak biyokütlenin 2,9 M NH₄OH ile yıkanmasını araştırmışlardır. Uyguladıkları bu amonyakla yıkama işlemi sonucu selülozik atıklardaki bütün asetatlar ile ligninin % 80-90'nın uzaklaştığını tespit etmişlerdir. Mısır koçanından elde ettikleri glukoz-ksiloz karışımının, genetik olarak geliştirilmiş *Saccharomyces 1400* (pLNH 33) ile fermentasyonundan 36 saatin sonunda % 84 verimle 47 g/l etanol elde etmişlerdir.

Mısır Koçanı ile Amarte ve JeffMes (1996) tarafından gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise, *Pichia stipitis* mayası ile fermentasyonda Ca(OH)₂ ile ön işleminin ve

mayanın hidrolizata adaptasyonunun etkileri araştırılmıştır. Ön işleme tabi tutulmayan mısır koçanı hidrolizatında şeker kullanımı ve etanol verimi sırasıyla %18 ve 0,21 g/g iken, ön işleme tabi tutulmuş hidrolizat fermentasyonunda bu değerler sırasıyla %82 ve 0,32 g/g olarak bulunmuştur. Hidrolizata mayanın adaptasyonu ile çok daha yüksek fermentasyon hızları elde edilmiş ve bu durumda etanol verimini 0,41 g/g, etanol derişimi de 13,3 g/l olarak tespit edilmiştir.

Moniruzzaman ve Ingram (1998), pirinç kabuklarını 0,4 M H₂SO₄ ile hidrolizinden çoğunluğu D-ksiloz olan hidrolizat elde etmişlerdir. Hidroliz süresince oluşan zehirli bileşenlerin seviyesini 60°C'de 30 dakika boyunca hızlı karıştırma ile Ca(OH)₂ ile muamele ederek azaltmışlardır. Bu ön işleme tabi tutulmuş ve besinler ilave edilmiş hidrolizat pH kontrollü bir fermentörde *Escherichia coli* KO11 fermente edilmiş ve 72 saatte % 92 teorik verimle 46 g/l etanol elde edilmiştir.

Jönsson ve ark.(1998), buhar ve SO₂ ile hidroliz edilmiş ağaç hidrolizatının enzimatik detoksifikasyon yöntemi ile fermentasyon performansını incelemişlerdir. *Trametes versicolor*'dan elde edilen lakkaz, fenoloksidaz ve lignin peroksidaz enzimleri kullanılmıştır. Lakkaz kullanıldığında glukoz tüketiminin daha hızlı olduğu ve etanol verimliliğinin arttığı gözlenmiştir. Hidrolizatın lignin detoksifikasyon mekanizmasının aynı zamanda hidrolizatta bulunan monoaromatik fenolik bileşenlerin uzaklaştırılmasını da içermektedir. Sonuçlar fenolik bileşenlerin fermentasyon için önemli inhibitör olduğunu göstermişlerdir.

Sirohi ve Rai (1998), buğday samannın kireç ile işlemini derişim etkisi, nem içeriği ve ön işlem süresi açısından araştırmışlardır. Buğday samanına 1 ile 3 hafta süre ile %2-%5 w/w derişimlerindeki kireç ile % 40-60 nem içeriğinde muamele etmişlerdir. Kireç ile muamelenin hücre duvarının yapısını çözebilmede etkili olduğu ve organik madde çözünürlüğünü arttırdığı tespit edilmiştir. Ligninin kireç işlemi ile %46,70 çözünebildiği gözlenmiştir. En uygun şartlar % 5 kireç derişiminde, % 60 nem ve üç hafta reaksiyon süresi olarak bulunmuştur.

Lee ve arkadaşları (1999), ağaç hidrolizatından yüksek derişimde ve yüksek verimde etanol üretimini çalışmışlardır. Etanol üretiminde hidrolizatta bulunan inhibitör bileşenlerinin ilavesinin etkilerini de incelemişlerdir. Test edilen inhibitör bileşenleri içinde en inhibitör bileşen olarak lignin bozunum ürünü olan p-hidroksibenzoikaldehit saptanmıştır. Maya hücrelerinin hidrolizata adaptasyonu ve aktif karbon ile CaO ile aşırı muamele işlemlerinin faydalı olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon hızının aktif karbon adsorbsiyonu ile arttığını fakat glukoz derişimi 100 g/l nin üzerindeyken aktif karbon adsorbsiyonunun etanol fermentasyonu üzerine etkisinin olmadığını bulmuşlardır.

Larsson ve arkadaşları (1999), zehir giderme metotlarının hücre büyümesi ile etanol üretimini arttırmak için *Saccharomyces cerevisiae* ile etanol üretimini araştırmışlardır. Çalışma da denedikleri ön işlemler; Sodyum hidroksit ve kalsiyum hidroksit ile ön işlem, %0,1 ve %1 (w/w, pH=5,10) sülfite ile işlem, evaporasyon, anyon değişimi ve enzimatik detoksifikasyondur. Bunların içinde pH 5 ve 10 da lakkaz ile anyon değişim işlemi, kalsiyum hidroksit ile işlem ve *Trichoderma reesei* ile zehir giderme işlemini en etkin ön işlem olarak saptamışlardır.

Amartey ve arkadaşları (1999), buğday samanı asit hidrolizatının kısmi hücre dönüşümü olan sürekli sistemde fermentasyonu üzerine CaO ile aşırı muamele, yeast ekstrakt, tripton ve amonyum klorür gibi maddelerin ilavesinin etkilerini araştırmışlardır. Ham hidrolizatta etanol verimini 0,24 g/g şeker, CaO ile aşırı muamele işlemi yapılmış hidrolizat için etanol verimini 0,32 g/g şeker, CaO ile aşırı muamele ile beraber besi maddesi ilavesinde etanol verimini 0,38 g/g şeker olarak elde etmişlerdir.

Saraçoğlu ve Arslan (2000), *Pichia stipitis* ve *Candida shehatae* mayaları ile etanol fermentasyonuna farklı ön hazırlama işlemlerini mısır koçanı ile hazırladıkları hidrolizatta incelemişlerdir. Hemiselüloz hidrolizatı 98°C, 0.3 M H₂SO₄ ile 1/12 katı-sıvı oranında hazırlanmıştır. Çalışmada başlangıç şeker derişimini sentetik ksiloz ilavesi ile 45 g/l de tutulmuştur. Her iki maya için, CaO ile aşırı muamele ve nötralizasyon ayrı olarak uygulanmış, bunlara ilave olarak farklı zeolitlerle muamele yapılmıştır. Uygulanan zehir giderme metotları *Pichia stipitise* ait biyodönüşümü *Candida shehatae* ye göre daha fazla arttırmıştır. Her iki maya için sadece CaO ile aşırı muamele ve

arkasından zeolitlerin kullanımı, tek nötralizasyon ve nötralizasyonla beraber zeolitlerin kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Maksimum etanol derişimine *Pichia stipitis* mayası ve ön işlem olarak CaO ile aşırı muamelenin uygulandığı 96 saatte 10,4 g/L ile ulaşılmıştır. *Candida shehatae* mayası ile aynı ön işlemle en iyi etanol üretimine 6,7 g/L ile 120 saatte ulaşılmıştır. Her iki maya için denenen ön işlemler içinde en etkin CaO ile aşırı muamele metodu saptanmıştır.

Nigam (2002) yaptığı çalışmada, buğday samanı hemiselüloz hidrolizatına *Pichia stipitis* mayası ile fermente ederek etanol üretimi için incelemiştir. Fermentasyon, pH 6'da 250rpm karıştırma koşullarında gerçekleştirilmiştir. Buğday samanı hemiselüloz hidrolizatının CaO ile aşırı titrasyon işlemi görmüş ve görmemiş hidrolizatın fermentasyonu karşılaştırılmış ve etanol üretim verimleri sırasıyla 1,98g/L ve 2,52 g/L olarak belirlenmiştir

Cantarela ve ark (2004), buharla muamele edilmiş kavak ağacı etanol fermentasyonunda zehirlilik sorunu için farklı zehir giderme metotlarını araştırdığı çalışmasında, CaO ile aşırı muamele, su ile çalkalama, su-etilasetat iki faz teması ve yüksek seviyede maya aşılama yöntemlerini denemişlerdir. Ön işlemden geçirilen substrat (100 g/l), Novozym ve celluclast selüloz (0,06 g/g) ile hidroliz edilmiştir. Glukoz hidrolizatı etanole *Saccharomyces cerevisae* ile ayrı hidroliz ve fermentasyonla (SHF) ve eş zamanlı sakrafikasyon ve fermentayonla dönüşüm yapılmıştır. Glukoz oluşumu 25 ile 49,4 g/L aralığında, sakrafikasyon verimi de % 43,9 ile % 88,4 arasında zehir giderme metoduna bağlı olarak değişmektedir. En yüksek etanol verimine 10 g/L maya ile SHF metodunda, CaO ile aşırı muamele zehir giderme işlemi ile % 9.2 olarak ulaşılmıştır.

Martin ve arkadaşları (2002) tütün sapından enzimatik hidroliz ile elde etikleri etanol çalışmalarında, önce tarımsal atığı 205°C'de 5 ve 10 dakika boyunca buharlı ön muameleye tabi tutmuşlardır ve ön işlem sonucunda 10 dk'lık ön muameleye tabi tutulan hidrolizatın 5 dk'lık hidrolizattan daha çok miktarda şeker içerdiğini belirtmişlerdir. Hidrolizatlar *Saccharomyces cerevisae* ile fermente edilmiştir. Tütün saplarına pH4,8'de 40 °C'de 96 ssat boyunca selüloz enzimi ile müdahale edilmiştir. Üzerine 0.5 g (NH₄)₂HPO₄, 0.025 g MgSO₄ .7H₂O and 1.38 g NaH₂PO₄ ve 2 M NaOH ilave edilerek

hazırlanan tütün sapı içeren hidrolizatlar aynı besin tuzlarının aynı oranlarını içeren referans hidrolizatların 6, 12 24, ve 48 saatlik periyotlardaki etanol miktarlarının karşılaştırması yapılarak verim değerleri izlenmiştir. 12. saatten sonra aynı değerleri elde ettikleri etanol analiz çalışmalarında, 5 dk'lık ön müdahale sonrası 7g/L etanol (referans hidrolizat: 7,9g/L) 10 dk'lık ön müdahale sonrası 7,6 g/L (referans hidrolizat: 8,5g/L) etanol tespit edilmiştir.

Gupta ve arkadaşları (2009) *Prosopis juliflora* bitkisi artıklarını sellüloz ve glukosidaz enzim karışımıyla hidroliz etmişlerdir ve elde ettikleri pentoz şekerlerinden *Pichia stipitis* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayaları ile etanol üretmişlerdir. 18,24 g/L şeker içeren hemiselülozik hidrolizattan *P. stipitis* mayası ile etanol üretimini 7,13 g/L, üretim hızını 0,3 g/Lsaat ve verimi 0,39 g/g olarak bulmuşlardır. Buna karşılık 37,47 g/L şeker içeren selülozik hidrolizattan *S. cerevisiae* mayası ile maksimum etanol üretimini 18,52 g/L, üretim hızını 1,16 g/Lsaat ve verimi 0,49 g/g olarak belirlemişlerdir

Tarımsal bir atık olan fındık kabuklarının değerlendirilmesi amacıyla, etanol üretiminin araştırıldığı ve Arslan (2007) tarafından yapılan çalışmada, fındık kabuğu çekiçli değirmende öğütülerek elekten geçirilerek, hidroliz işlemi için pH 6'da sülfürik asitin beş farklı (0,1 M, 0,3 M, 0,4 M, 0,5 M, 0,7 M) derişimi ile 100-120°C sıcaklıklarda denenmiştir. Hazırlanan bu çözeltilerden, toplam hacmin % 10'u kadar çekilip atılmış, yine toplam hacmin % 10'u kadar büyüme ortamından maya ilave edilerek fermentasyon ortamları hazırlanmıştır. Büyüme ortamından aşılama, geç eksponansiyel faza denk gelen 27. saatte yapılmıştır. Sallamalı su banyosunda *Pichia stipitis* mayası ile fermentasyonuna, farklı zehir giderme metotlarının etkilerinin araştırıldığı bölümde denenilen yöntemler içinde, elde edilen etanol konsantrasyonu açısından en iyi sonuca, fındık kabuğunun %3 NaOH ile oda sıcaklığında muamele edilmesinden sonra elde edilen hidrolizata, CaO ile aşırı muamele ve aktif karbon ile 60°C'de 1 saat iki kere muamele edilerek ulaşılmıştır. Bu yöntemle 16,79 g/Letil alkol elde edilmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Maya Hazırlanışı

Çalışmada Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarından alınan *Sacharomyces cerevisiae* kullanılmıştır. Maya stok kültürleri yatık Nutrient Agar besiyerinde $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ de 48 saat inkübe edilerek üretilmiş ve 4°C 'de muhafaza edilmiştir.

3.2 Yer Fıstığı Kabuğunun Hazırlanışı

Adana/Yüreğir'de bulunan Ufuk Kuruyemiş fabrikasının atıklarından temin edilen yer fıstığı kabuğu, 0.097 por çapında katı öğütücü (APEX-MILL) ile fiziksel işlem görerek toz haline getirilmiştir.

3.3 Asit Derişiminin Etkisi

Yer fıstığı kabuğu tozu (% 0,5 ve %1w/v), dört farklı derişimde (%0,5, %1, %2, %3 v/v) derişik H_2SO_4 (Sigma) ile distile su içinde karıştırılarak 121°C 'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Karışım filtre kâğıdı yardımıyla süzölmüş ve sıvı kısım besiyeri olarak kullanılmak üzere ayrılmıştır. Elde edilen bu sıvı besiyeri NaOH ile pH 5'e ayarlanıp otoklavlanmıştır.

Yatık agarda 4°C 'de bekletilen *S. cerevisiae*' dan bir öze dolusu alınarak steril koşullarda 20 ml'lik besiyerleri (8 farklı çeşitte) içeren 50 ml'lik erlenlere ekilmiştir. Ekim işleminden hemen sonra erlenler çalkalamalı inkübatörde 150 rpm ve 30°C 'de üç gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Üçüncü gün erlenlerden 2'şer mililitre alınarak aynı besiyerlerine ekim yapılmıştır. Bu işlem üç kez tekrarlanarak mayanın bu besiyerlerine adaptasyonu sağlanmıştır.

Elde edilen besiyerine adapte kültürden 1 ml eklenerek 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Deneylerde 10 ml besiyeri içeren 15 ml'lik Hungate tüpleri kullanılmıştır. Hazırlanan

tüpler 150 rpm karıştırma hızında 30°C sıcaklıkta çalışan çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir.

3.4 Yer Fıstığı Kabuk Derişiminin Etkisi

Yer fıstığı kabuğu tozu % 0,5(w/v), % 1(w/v) ve % 1,5(w/v) içerecek şekilde, %1(v/v) derişik H₂SO₄ ile hazırlanan besiyerleri pH 5'e ayarlanıp otoklavlanmıştır.

Maya yatık kültürlerinden öze ile ekim sonrasında, aynı besiyerlerinde üç kez aktifleştirilmiş kültürlerden %1(v/v) oranında inokülasyon yapılan 10 ml besiyeri içeren Hungate tüpleri, 150 rpm çalkalama hızında ve 30°C'de üç gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca erlenlerden her gün örnek alınarak maya gelişimi izlenmiştir.

3.5 Melas Derişiminin Etkisi

Ankara Şeker Fabrikası atığı olan melas, %0,5(w/v), %1(w/v) ve %1,5(w/v) derişimlerinde yer fıstığı kabuğu içeren besiyerlerine, %1(v/v), %2(v/v), %3(v/v) ve %4(v/v) olacak şekilde eklenmiştir. Besiyerleri, %1(v/v) derişik H₂SO₄ ile pH 5'de hazırlanmıştır.

Aynı besiyerlerinde üç kez aktifleştirilmiş kültürlerden %1(v/v) oranında inokülasyon yapıldan ve 10 ml besiyeri içeren Hungate tüpleri, 150 rpm çalkalama hızında, 30°C'de üç gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca erlenlerden her gün örnek alınarak maya gelişimi, şeker miktarındaki değişim ve alkol üretimi izlenmiştir.

3.6 Soya Ununun Etkisi

Yer fıstığı kabuk oranları sırasıyla %1(w/v), %2(w/v) ve %4(w/v) olan %1(v/v) asitle besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyerlerinin bir kısmına %1(v/v) melas ve %0,01(w/v)

oranında soya unu (Doğalsan) ilave edilerek aşağıdaki çizelgede gösterilen pH 5 olan üç tip besiyeri hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan besiyerleri ve ihtiva ettiği diğer materyaller ile oranları

	KABUK (%w/v)	MELAS (v/v)	SOYA UNU (w/v)
I. GRUP BESİYERLERİ	1,2,4		
II. GRUP BESİYERLERİ	1,2,4	1	
III. GRUP BESİYERLERİ	1,2,4	1	0,01

Sıvı besiyerleri 20 ml'lik erlenlerde hazırlanmıştır. Aynı besiyerlerinde üç kez aktifleştirilmiş kültürlerden %1(v/v) oranında inokülasyon yapıldan Hungate tüpleri, 150 rpm çalkalama hızında ve 30°C'de üç gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca erlenlerden her gün örnek alınarak maya gelişimi, şeker miktarındaki değişim ve alkol üretimi izlenmiştir.

3.7 CaO Uygulaması

İçinde %4(w/v) ve %8(w/v) yer fıstığı kabuğu olan %1(v/v) asitle besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyerlerinin pH'ı 5'e ayarlanmadan önce, içine pH 10 olana kadar karıştırılarak CaO ilave edilmiştir. CaO çöktükten sonra, 10000 rpm'de 20 dk santrifüj edilip içine %1(v/v) melas ve %0,01(w/v) oranında soya unu ilave edilmiştir. Yer fıstığı kabuğu, melas ve soya içeren, CaO uygulaması yapılmayan besiyerleri de hazırlanmıştır.

Denemeler Hungate tüplerinde, 150 rpm çalkalama hızında ve 30°C'de yapılmıştır. Aynı besiyerlerinde üç kez aktifleştirilmiş kültürlerden %1(v/v) oranında inokülasyon

yapılan Hungate tüplerindeki alkol üretimi 24 saatlik inkübasyon periyodu sonrasında belirlenmiştir.

3.8 Analiz Yöntemleri

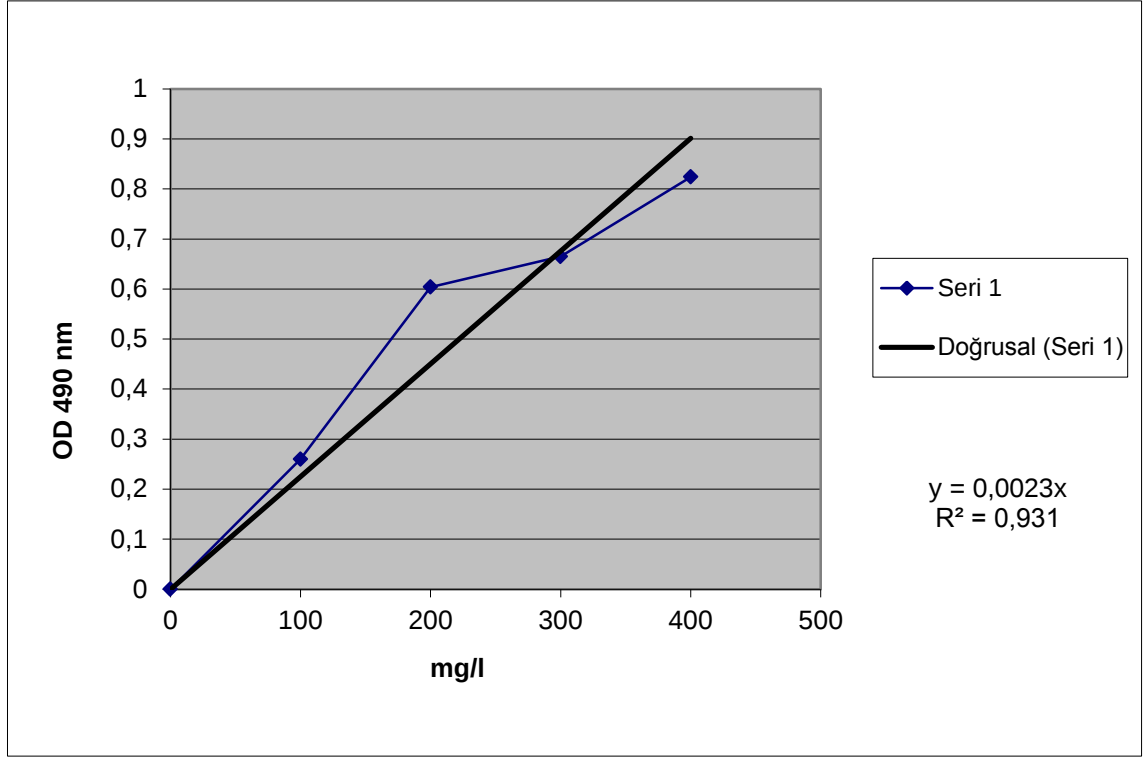
Tez çalışmasında incelenen her bir parametre için OD analizi, şeker analizi ve etanol miktarı tayini yapılmıştır. Her bir analiz yöntemi üç paralel ile çalışılmıştır.

3.8.1 Optik yoğunluğun tespiti

Fermentasyon ortamlarından alınan örneklerin 2 ml'lik kısmı santrifüj tüpleri içerisine alınmış, 5000 rpm'de 10 dk'lık santrifüj sonrasında pellet kısımlarına 2ml su eklenerek vorteks'den geçirilmiş ve 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansları okunarak, mikroorganizma sayısındaki değişim izlenmiştir.

3.8.2 Şeker analizi

Çalışmada fenol-sülfürik asit yöntemi ile hidrolizatın (farklı yüzdelerde materyal içeren bütün besiyerleri) ilk başlangıç (maya ekimi yapılmamış) ve fermentasyon aşamasındaki şeker miktarı, 500 µl örnek üzerine 500 µl fenol (% 5 (w/v)) ve 2,5 ml derişik H₂SO₄ (Sigma) eklenmesi ile oluşan çözeltinin 20 dk bekledikten sonra şeker yoğunluğuna göre gerekli seyreltmeler yapılarak spektrofotometrede 490 nm'de ölçülen absorbans değerleri okunarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.1 Fenol-sülfürik asit yöntemi - şeker standartı

3.8.3 Etanol analizi

Alev iyonizasyon dedektörlü gaz kromatografi (Shimadzu, GC) cihazı kullanılarak karşılaştırmada kullanılacak standart alkol (0,79 g/cm³ lik C₂H₅OH₂'den % 1(v/v), % 2(v/v) ve %6(v/v)'lık alkol çözeltileri hazırlanmıştır.) ve fermentasyon ortamlarından alınan numunelerdeki etanol miktarları tespit edilmiştir. Ependorf türlerde 15000 rpm'de 5 dk santrifüjden sonra cam enjektöre alınan 1 µl'lik örnek 2 mm iç çapa ve 2 m uzunluğa sahip bir cam kolona enjekte edilmiştir. Cihazın çalışma prensibine göre, taşıyıcı gaz olarak azot kullanılmış olup, enjeksiyon deliği 220°C, alev iyonizasyon dedektör 250°C, fırın 160°C sıcaklıkta tutulmuştur (Avcı ve Dönmez 2005).

4. BULGULAR

Yer fıstığı kabuğundan biyoetanol eldesi konulu tez çalışması genel hatlarıyla aşağıda açıklanan bölümlerden oluşmaktadır.

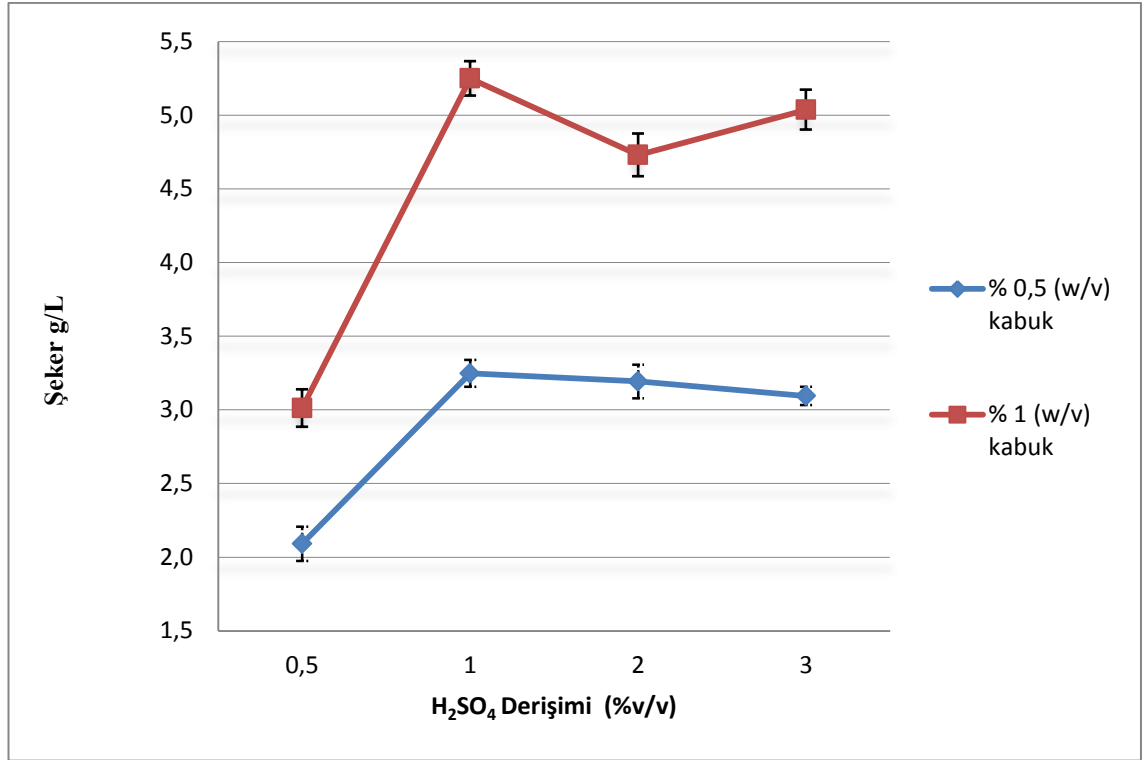
- Yer fıstığı kabuğunun ön işlemlerden geçirilmesi ve hidroliz koşullarının belirlenmesi,
- Etanol üretiminde kullanılan ilave karbon ve azot kaynaklarının yanı sıra CaO'nun biyoetanol verimliliği üzerine etkisi,

4.1 Hidroliz

Biyoetanol üretiminde kullanılacak en uygun hidroliz yönteminin belirlenmesi amacıyla, iki farklı derişimde (%0,5 ve %1 w/v) yer fıstığı kabuğu içeren fermentasyon ortamları hazırlanarak, dört farklı asit derişiminde hidroliz işlemi gerçekleştirilmiştir. Denemeler maya gelişiminin olacağı pH 5'e ayarlanan besiyerlerinde yapılmıştır.

Hidroliz sonrası her iki yer fıstığı kabuğunun içerdiği şeker miktarları şekil 4.1'de gösterilmiştir. Fermentasyon ortamlarının şeker içeriğinde yer fıstığı kabuk derişimindeki artış etkili olmuştur. Denenen tüm asit derişimlerinde en fazla şeker yüksek kabuk içeren ortamda elde edilmiştir. Asit miktarındaki artış yüksek asit derişimlerinde her iki yer fıstığı kabuk oranında da etkili olmamıştır.

Denemeler sonucu en yüksek şeker miktarı, %0,5(w/v) yer fıstığı kabuğu için 3,248 g/L ve %1 (w/v) yer fıstığı kabuğu için de 5,250 g/L olmak üzere, %1(v/v) H₂SO₄ derişiminde elde edilmiştir. Yüksek asit derişimlerinde (%2 ve %3 v/v) elde edilen şeker miktarları arasında, %1 (v/v) aside oranla belirgin bir farklılık olmamıştır. Sonraki denemelerde en az asidin harcanması amacıyla %1(v/v) derişimindeki H₂SO₄ kullanılmıştır.



Şekil 4.1 Yer fıstığı kabuğuna asit derişimlerinin etkisi

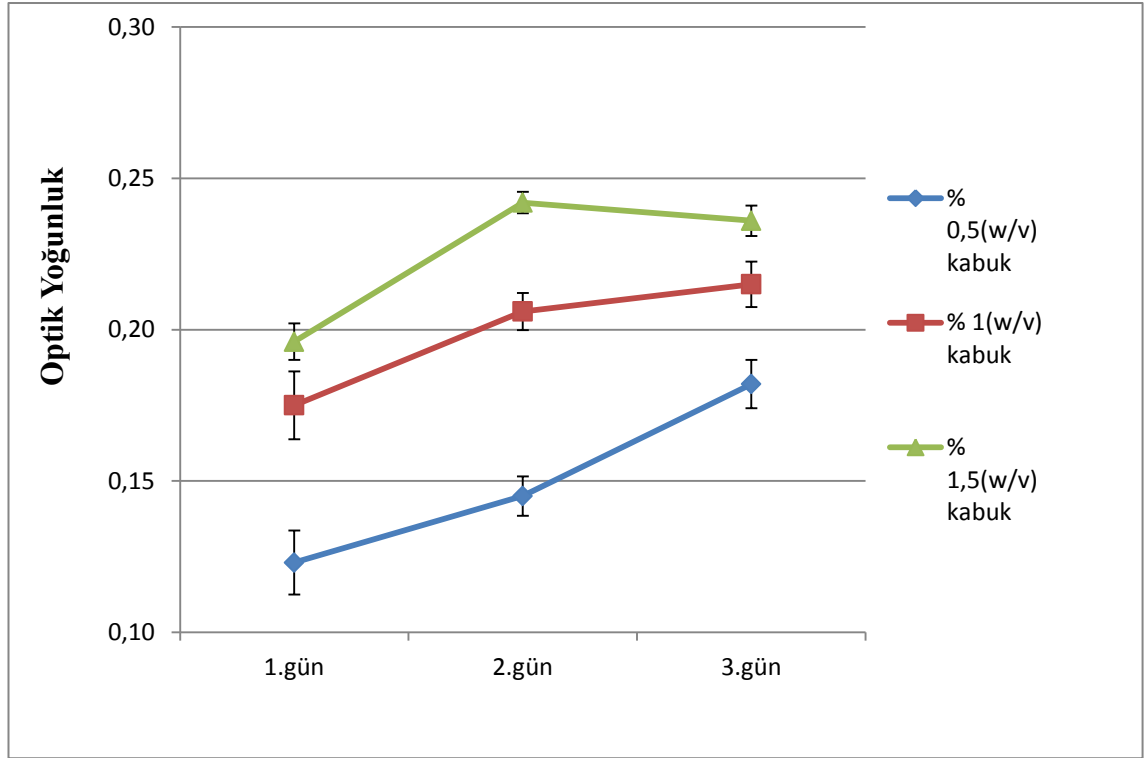
S: 30 °C; KH: 150 rpm; pH:5

4.2 Maya Gelişimi

Fermentasyon ortamlarındaki karbon derişimlerinin maya gelişimine etkisi, üç farklı yer fıstığı kabuğu ile hazırlanan besiyerlerinde, her besiyerinde üç kez aktifleştirilen kültürlerin kullanımıyla üç günlük inkübasyon periyodu sonrasında belirlenmiştir. (Şekil 4.2)

Maya gelişiminin denenen her yer fıstığı kabuğu derişiminde inkübasyon periyodu boyunca arttığı ve en yüksek değerlere üçüncü günde ulaşıldığı gözlenmiştir. Denenen en yüksek yer fıstığı kabuk derişiminde üçüncü günde maya gelişiminde çok az bir düşme olmuştur. Sonraki denemelerde üç günlük inkübasyon periyodu maya gelişimi için kullanılmıştır.

Denemelerde artan yer fıstığı kabuk derişimlerinin maya gelişimini arttırdığı belirlenmiştir. Kullanılan en düşük yer fıstığı kabuğu derişiminde maya gelişiminin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Diğer iki derişimde ise maya gelişiminin yer fıstığı kabuk derişimine bağılı olarak arttığı, ancak derişim artışının maya gelişimini çok da fazla arttırmadığı denemeler sonucu ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.2 Farklı derişimlerdeki yer fıstığı kabuğunun maya gelişimine etkisi

S:30°C; KH:150 rpm; pH:5

4.3 Melasın Maya Gelişimine Etkisi

İlave karbon kaynağı olarak melasın etkisinin belirlenmesinde, üç farklı kabuk oranı için melas bulundurmeyen ve %1(v/v), %2(v/v), %3(v/v) ile %4(v/v)'lük melas derişimlerini içeren hidrolizatların başlangıç ve üç gün sonra kullanılan şeker ölçümleri yapılmıştır. Çizelge 4.1'de verilen melas içermeyen fermentasyon ortamında kabuk oranı arttıkça başlangıç şeker miktarında bir artış olduğu belirlenmiştir. Denenen

%0,5(w/v), %1(w/v) ve %1,5(w/v)'luk kabuk içeren hidrolizatlarda, şeker kullanım oranları sırasıyla %25,4, %37,7 ve %39,9 olarak hesaplanmıştır. Ortama melas ilave edildikçe başlangıç şeker oranında yüksek değerler ölçülmüştür. Ancak, %0,5(w/v) kabuklu hidrolizatın %1(v/v)'den %4(v/v) melas oranına kadarki kullanılan şeker yüzde değerleri % 27,7 – %34,7 aralığında artış göstermiştir. Kullanılan şeker oranı üzerinde melas oranları, kabuk miktarının arttırılması kadar etkili olmamıştır.

Çizelge 4.1 Farklı kabuk ve melas derişimlerindeki başlangıç ve kullanılan şeker miktarları

KABUK (w/v)	ŞEKER g/L	MELAS ORANI (v/v)				
		melassız	1%	2%	3%	4%
0,5%	BAŞLANGIÇ	2,914 ± 0,1	4,322 ± 0,2	5,969 ± 0,4	9,863 ± 0,2	10,685 ± 0,3
	KULLANILAN	0,742 ± 0,2	1,200 ± 0,1	1,816 ± 0,2	3,074 ± 0,2	3,707 ± 0,1
1%	BAŞLANGIÇ	5,293 ± 0,1	7,956 ± 0,3	9,987 ± 0,1	11,024 ± 0,2	11,786 ± 0,1
	KULLANILAN	2,000 ± 0,2	3,060 ± 0,1	4,048 ± 0,2	4,854 ± 0,2	5,588 ± 0,1
1,5%	BAŞLANGIÇ	6,756 ± 0,2	9,265 ± 0,1	11,256 ± 0,1	12,7699 ± 0,3	13,896 ± 0,1
	KULLANILAN	2,698 ± 0,1	3,813 ± 0,2	4,991 ± 0,1	6,119 ± 0,1	6,883 ± 0,1

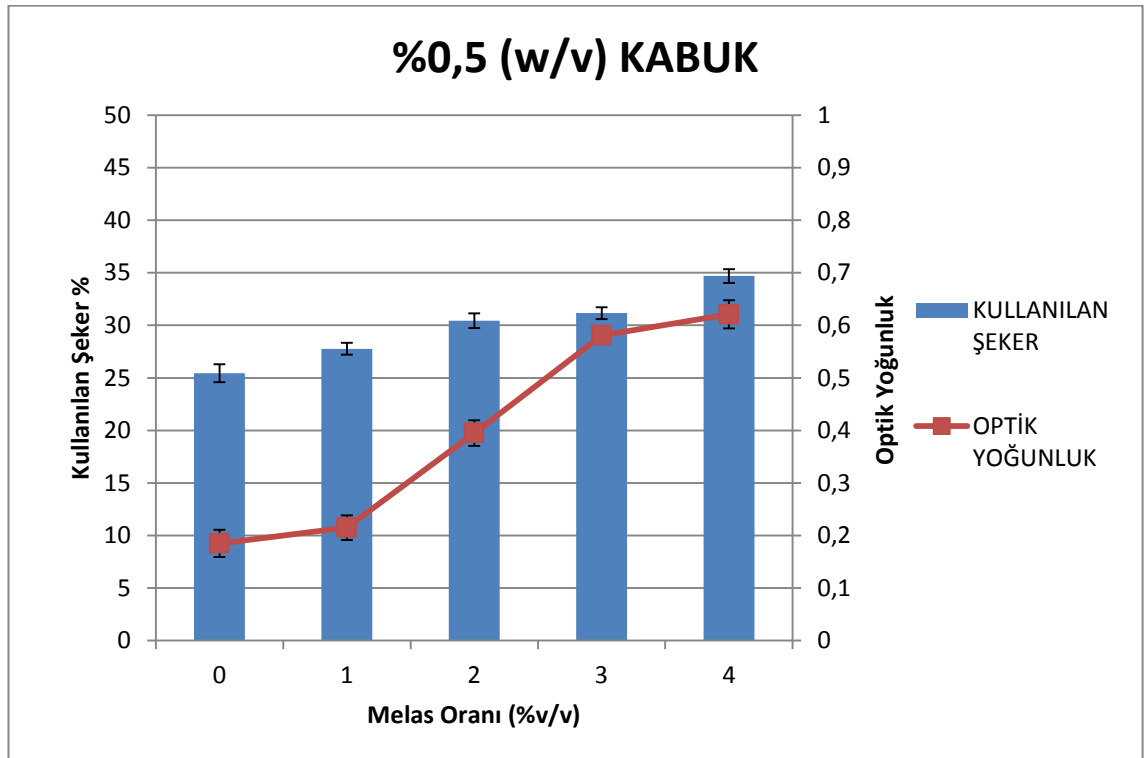
S: 30 °C; IS:3 gün; KH:150 rpm pH:5

Fermentasyon ortamında %0,5(w/v) kabuk içeren hidrolizatta artan melas oranının kullanılan şeker yüzdesi ile optik yoğunluğa olan etkisi şekil 4.3'de gösterilmiştir. Hidrolizattaki melas derişiminin artışı biyomasın artışında etkili olmuştur. Melas içermeyen ortamda 0,185 olarak tespit edilen optik yoğunluk %4(v/v) melas oranında 0,621 olarak ölçülmüştür.

Kullanılan şeker yüzde değerlerinde artan melas oranı etkili olmuştur. Melas içermeyen hidrolizatın %25,4 olarak ölçülen kullanılan şeker değerinin, melas oranı %4(v/v) olduğunda %34,7 seviyesine kadar ulaştığı görülmektedir.

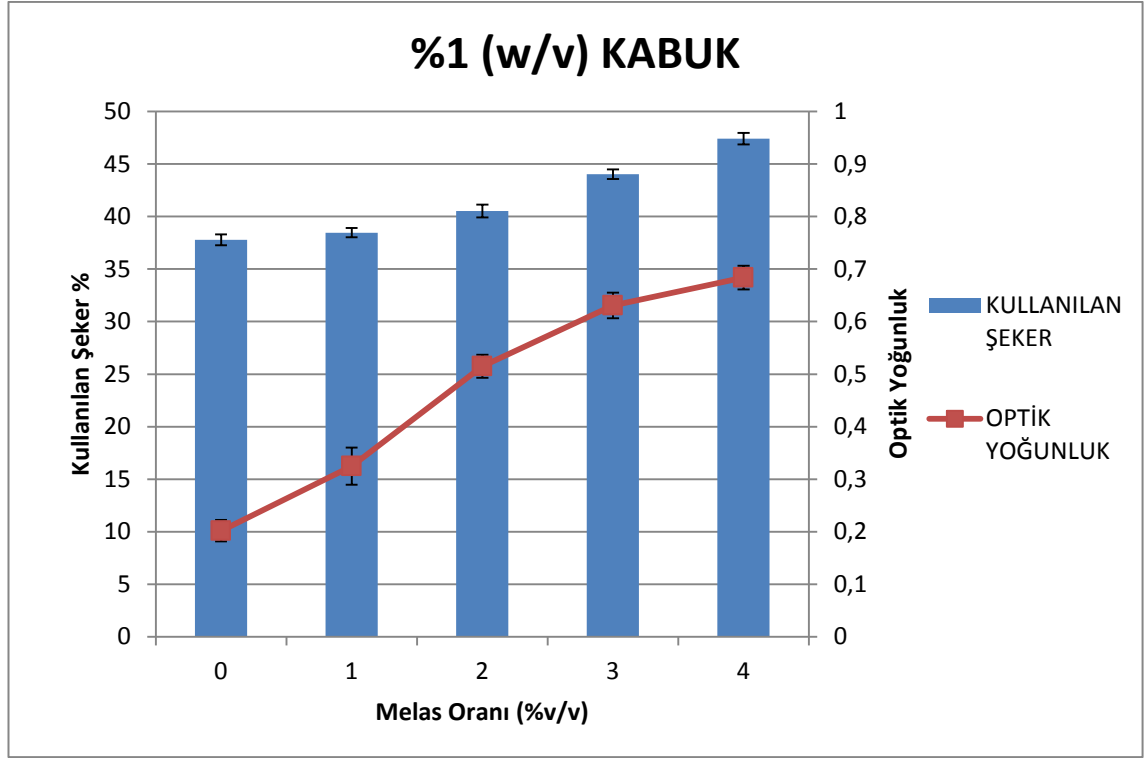
%1(w/v) kabuk içeren hidrolizatta artan melas oranında, kullanılan şeker yüzdesi ve optik yoğunluk değerleri şekil 4.4’de gösterilmiştir. Biyomas miktarındaki yüksek değerler melas derişiminin arttığı durumlarda gözlemlenmiştir. Melas içermeyen ortamda 0,202 olarak tespit edilen optik yoğunluk %4(v/v) melas oranında 0,684 olarak ölçülmüştür.

Biyomas miktarı artış kullanılan şeker yüzde değerlerindeki artışa paralellik göstermiştir. Optik yoğunluğun en düşük ve en yüksek değerlerinin sırasıyla 0,202 ve 0,684 olarak elde edildiği fermentasyon ortamlarında, kullanılan şeker yüzdesinin değerleri en düşük %37,8 ve en yüksek %47,4 olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.3 Artan melas oranlarında biyomas ve kullanılan şeker yüzde değerleri.

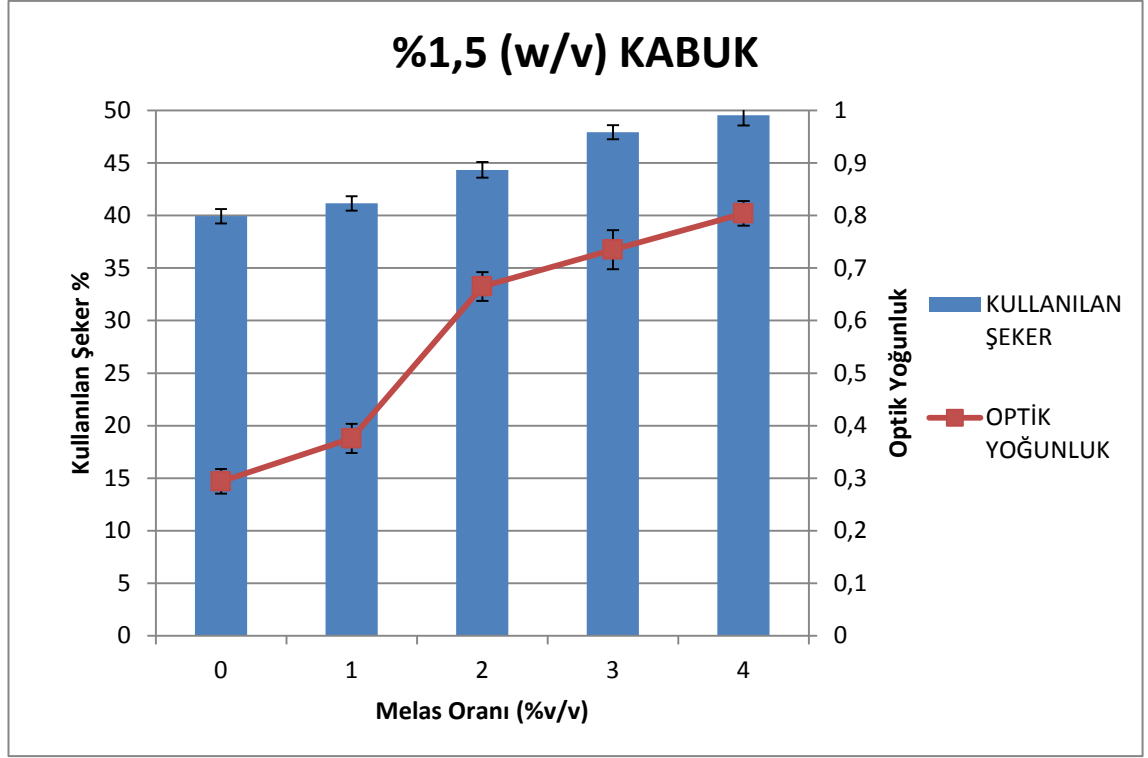
S:30°C; İS:3 gün KH:150 rpm pH:5



Şekil 4.4 Artan melas oranlarında biyomas ve kullanılan şeker yüzde değerleri.

S: 30°C; İS:3 gün KH:150 rpm pH:5

Biyomas ve kullanılan şeker yüzde değerleri %1,5(w/v) kabuk içeren hidrolizat için şekil 4.5’de gösterilmiştir. Melas oranındaki artışın biyomas üzerinde pozitif etkiye sahip olması bu kabuk oranı için de, kullanılan şeker yüzde değerinde artışa sebep olmuştur.



Şekil 4.5 Artan melas oranlarında biyomas ve kullanılan şeker yüzde değerleri.

S: 30°C; İS: 3 gün KH:150 rpm pH:5

Çalışmada denenen %0,5(w/v), %1(w/v) ve %1,5(w/v) kabuklu hidrolizatların melas içermeyen ortamlardaki optik yoğunluk değerleri 0,185, 0,202 ve 0,294 olarak tespit belirlenmiş olup, melas oranını %4(v/v)'e doğru çıkarttığımızda biyomas miktarında iki katın üzerinde artış tespit edilmiştir.

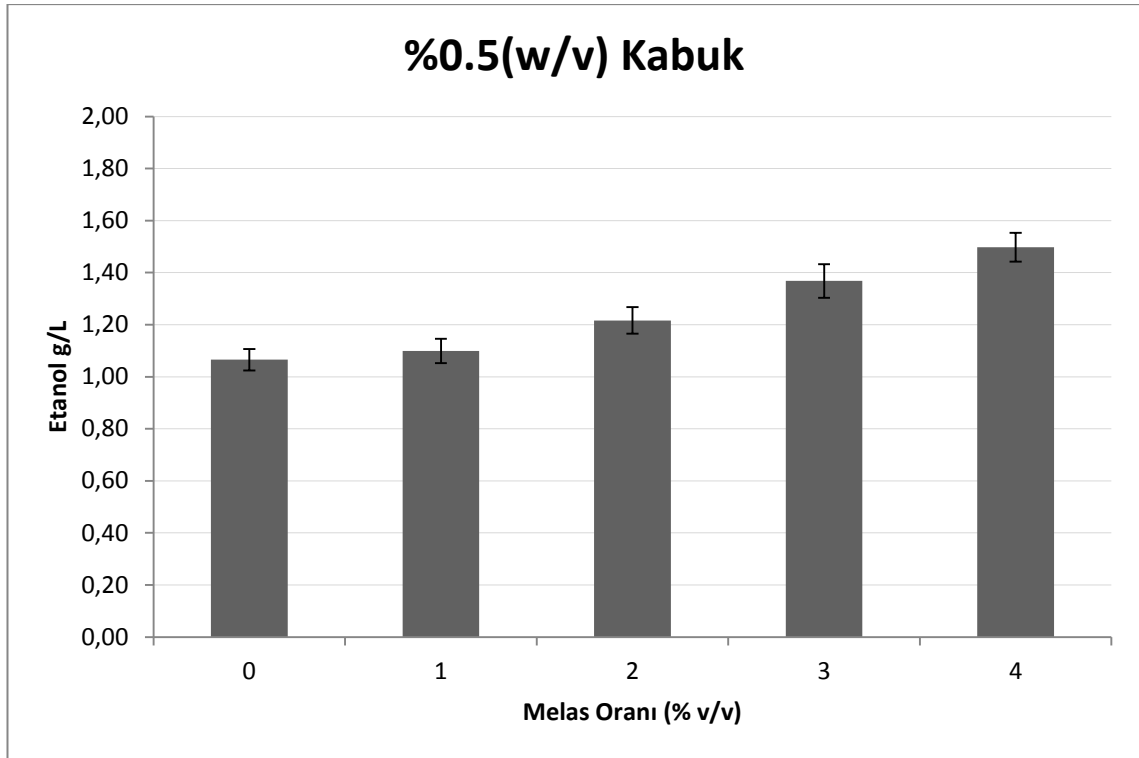
4.4 Melasın Biyoetanol Üretimine Etkisi

Farklı derişimlerde kabuk (%0,5(w/v), %1(w/v) ve %1,5(w/v) içeren ve ilave karbon kaynağı olarak kullanılan melas oranının biyoetanol verimliliği üzerine etkisi şekil 4.6, 4.7, ve 4.8'de gösterilmiştir. Melas içermeyen fermentasyon ortamlarında elde edilen biyoetanol (g/L) miktarı ile en yüksek biyoetanol veriminin elde edildiği %4(v/v) melas oranındaki veriler arasında çok fark olmadığı tespit edilmiştir. Ortamdaki kabuk oranı arttıkça elde edilen biyoetanol miktarında artış gözlenmiştir.

Kabuklu hidrolizatın (%0,5 w/v) melas içermeyen ortamda elde edilen 1,07g/L'lik biyoetanol miktarı %4(v/v) melas oranında 1,50g/L olarak ölçülmüştür (Şekil4.6). Melas oranının, biyomas üzerinde sağladığı artış biyoetanol üretiminde beklenen etkiyi göstermemiştir.

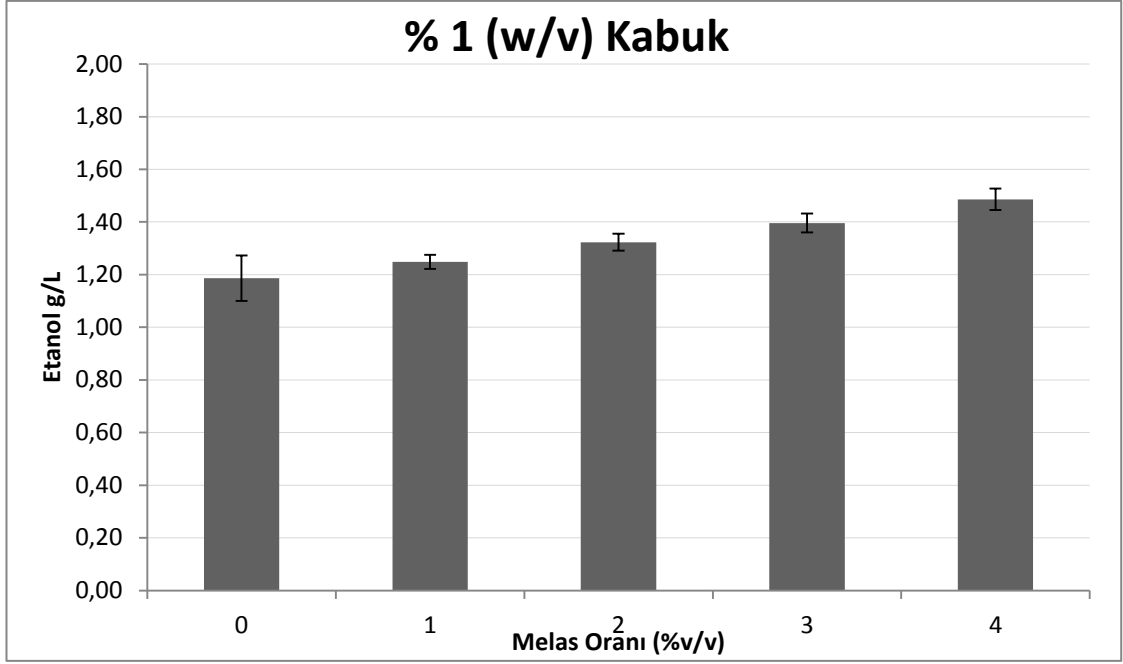
Denenen diğer kabuk oranlarının biyoetanol miktarını gösteren verileri incelendiğinde, %1(w/v) kabuklu hidrolizatta en düşük 1,187g/L en yüksek 1,486g/L biyoetanol elde edilirken bu değerler %1,5(w/v) kabuklu ortamda 1,197g/L ile 1,758g/L olarak tespit edilmiştir.

Farklı kabuk derişimleri için, melas oranı artışı biyoetanol miktarında 0,299 - 0,561 (g/L) arasında değişen farklılık oluşturmuştur.

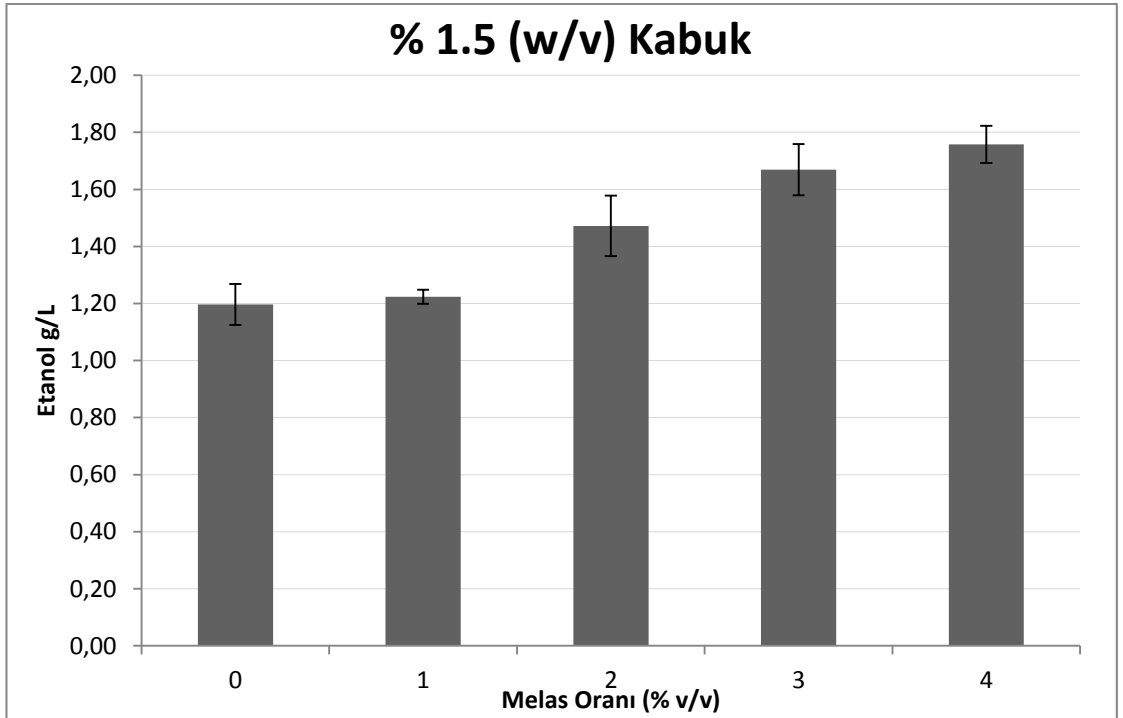


Şekil 4.6 Farklı melas derişimlerinin biyoetanol üretimine etkisi

S:30°C; İS: 24 saat KH:150 rpm; pH:5

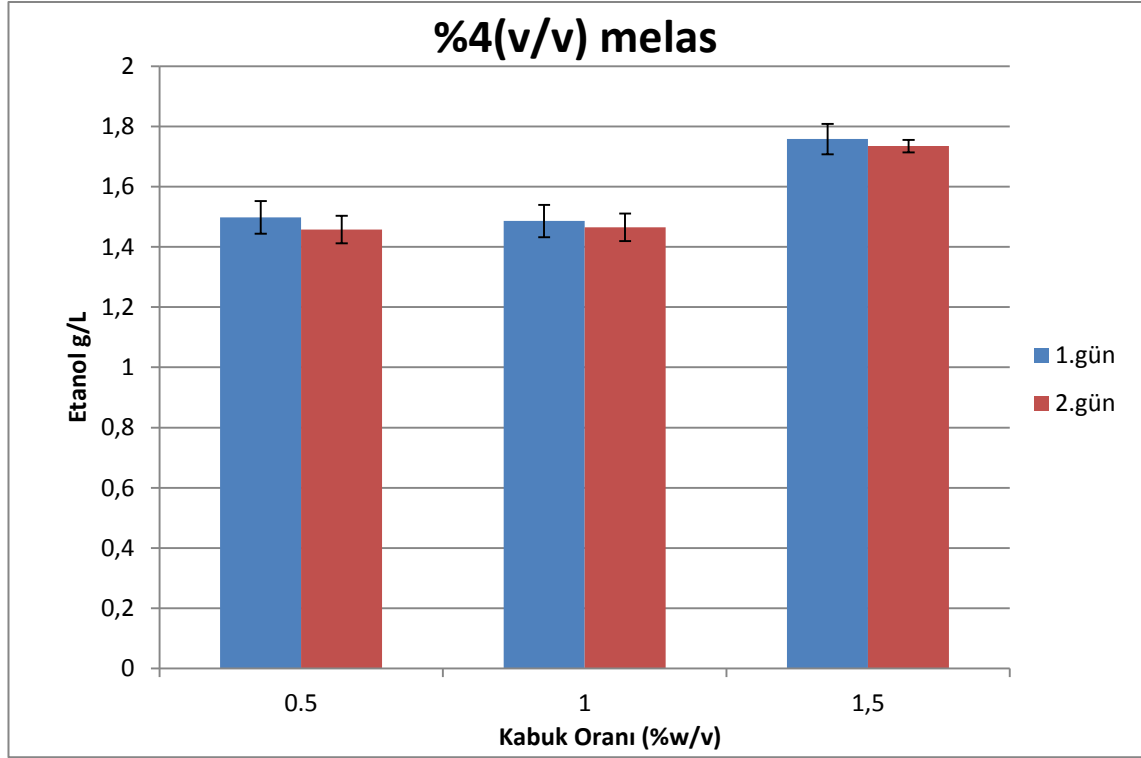


Şekil 4.7 Farklı melas derişimlerinin biyoetanol üretimine etkisi
S: 30°C İS: 24 saat KH:150 rpm; pH:5



Şekil 4.8 Farklı melas derişimlerinin biyoetanol üretimine etkisi
S: 30°C; İS: 24 saat KH:150 rpm; pH:5

Şekil 4.9’da en yüksek biyoetanol değerlerinin elde edildiği %4(v/v) melas ortamında üç farklı derişimdeki kabuklu hidrolizatlardan elde edilen 1. ve 2. gün değerleri verilmiştir. Elde edilen biyoetanol değerleri arasında çok küçük sayısal farklılık olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler göz önüne alınarak çalışmada biyoetanol miktarlarının 1.gün sonuçları değerlendirmede kullanılmıştır.



Şekil 4.9 Farklı derişimlerdeki yer fıstığı kabuğunun %4(v/v) melas ile biyoetanol miktarına etkisi

S: 30°C; KH:150 rpm; pH:5

4.5 Soya Ununun Maya Gelişimine Etkisi

Çalışmanın bu kısmında yalnızca yer fıstığı kabuğu içeren ve ilave karbon kaynağı olarak melasın %1(v/v) derişimi ile azot kaynağı soya ununun %0,01(w/v) derişiminin kullanıldığı hidrolizatta, yer fıstığı kabuk oranları sırasıyla %1(w/v), %2(w/v) ve %4(w/v) olacak şekilde hazırlandı. Çizelge 4.2’de farklı besiyeri gruplarının başlangıç ve kullanılan şeker miktarı verilmiştir.

Kabuk miktarını iki ve/veya dört kat arttırdığımızda besiyerlerinde elde edilen daha yüksek biyoetanol verimi ile soya unu ilavesinin etkisi incelenmiştir.

Sadece kabuk içeren I.grup besiyeri denemelerinde kabuk miktarı arttıkça optik yoğunluk değerlerinde artış tespit edilmiştir. Kabuğun yanı sıra %1(v/v) melas ilave edilen II.grup besiyerinde, biyomas değerinde harcanan şeker yüzdesine bağlı artış gözlemiştir. Farklı kabuk oranları, %1(v/v) melas ile ilave azot kaynağı olarak belirlenen soya ununun %0,01(w/v) derişiminde eklenmesiyle hazırlanan III. grup besiyerlerinde, denenen her üç kabuk oranı içinde en yüksek biyomas değerleri elde edilmiştir.

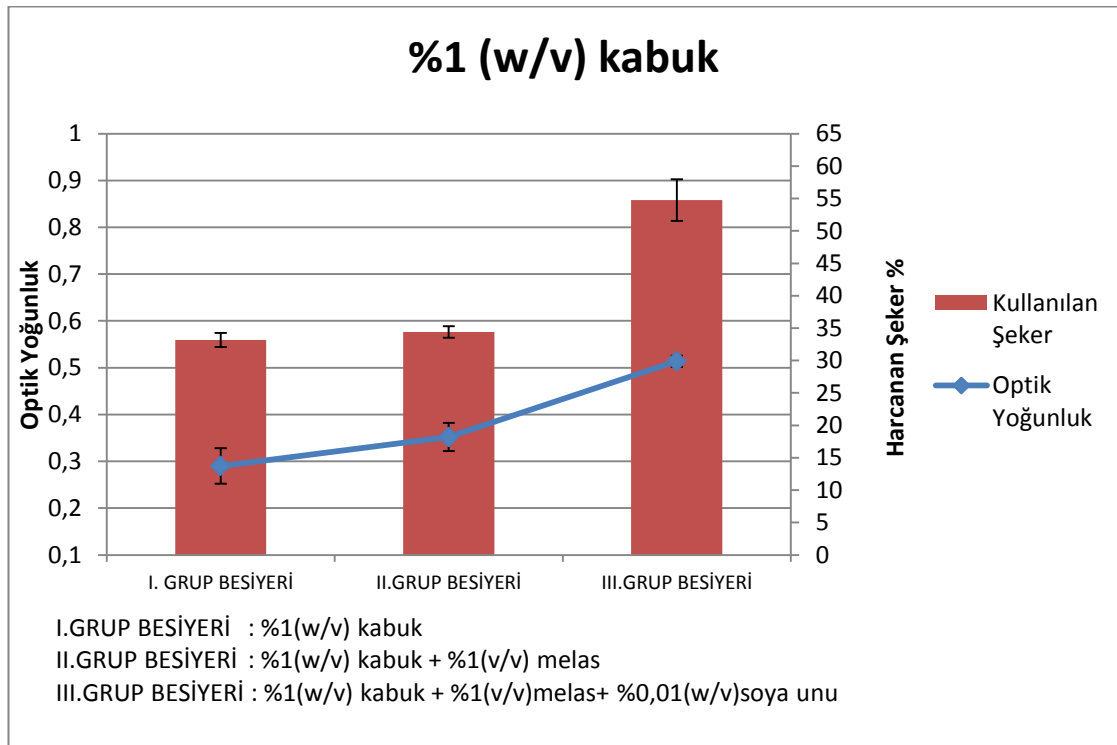
Kabuk içeren (%1 w/v) fermentasyon ortamında harcanan şeker ile biyomas absorbans değerleri şekil 4.10'da gösterilmiştir. I. ve II. grup besiyerine kıyasla en yüksek biyomas değeri olan 0,514, III. grup besiyerinde elde edilmiştir. I. grup besiyerinde %33,2 kullanılan şeker yüzde değerinde III. grup besiyerine doğru ilerledikçe %21,6'lık bir artış tespit edilmiştir.

Şekil 4.11'da gösterilen değerler %2(w/v) kabuk oranını içeren I. II. ve III. grup besiyerlerinde biyomas absorbans ile harcanan şeker yüzdeleri ifade etmektedir. Kabuk oranını iki katına çıkartıldığı bu denemenin biyomas değerinde % 24,7 ile %30,3'lük aralığında bir artış tespit edilmiştir.

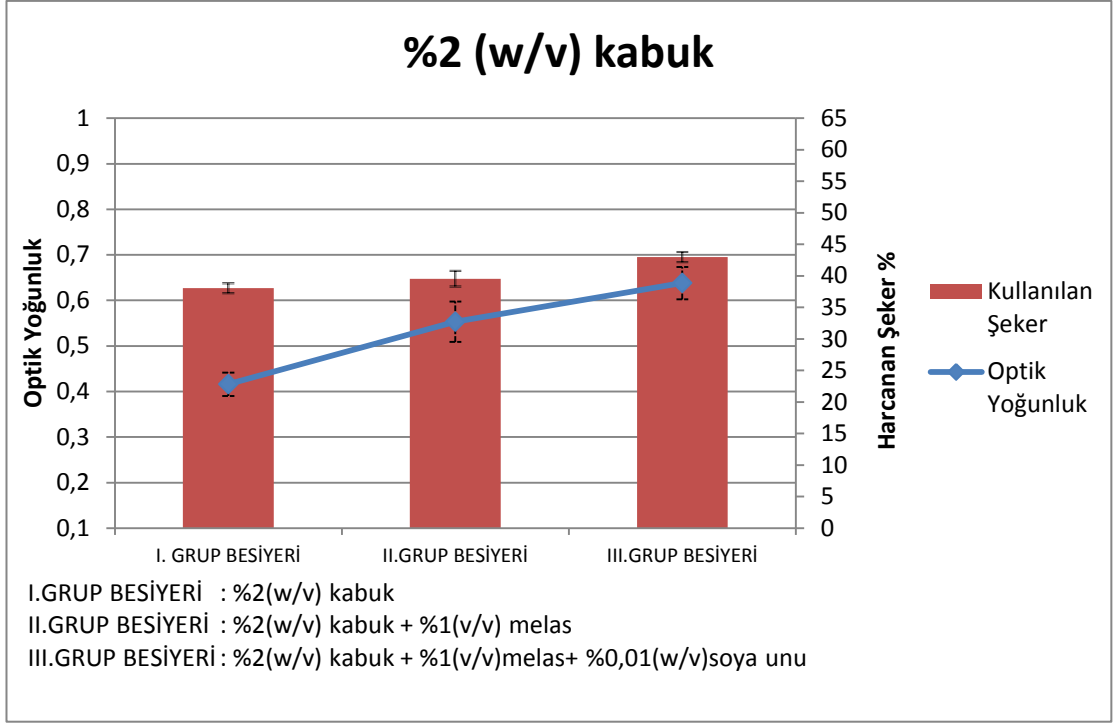
Şekil 4.12'de, besiyeri gruplarında kabuk oranının %4(w/v) olarak denendiği çalışmanın optik yoğunluk ve harcanan şeker verileri gösterilmiştir. I.grup besiyerinde 0,466, II. grup besiyerinde 0,573 ve III. grup besiyerinde 0,714 optik yoğunluk verileri elde edilmiştir. Bu değerler denenen tüm kabuk oranları için hazırlanan besiyeri gruplarının, en yüksek değerlerini oluşturmaktadır. %4(w/v) kabuklu hidrolizatlarda kullanılan şekerlerin yüzdelik artış bazında yapacağımız değerlendirmesinde; II. grup besiyerinde, I. grup besiyerine %2,3, III. grup besiyerinde ise II. grup besiyerine göre %3,7'lik artış tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan her bir kabuk miktarı için hazırlanan I.II. ve III. grup besiyerleri içerisinde en yüksek biyomas değerleri, %0,01(w/v) soya unu ilave edilen III.grup besiyerinde tespit edilmiş ve soya unu ilavesi artışa sebep olmuştur ancak I.grup besiyerinde elde edilen biyomas verileri ile karşılaştırıldığında büyük farklılıklar bulunmadığı belirlenmiştir.

Denenen her üç kabuk oranının tüm besiyeri grupları için kullanılan şeker yüzde değerleri %33,2 ile %57,4 aralığında değişkenlik göstermiştir.

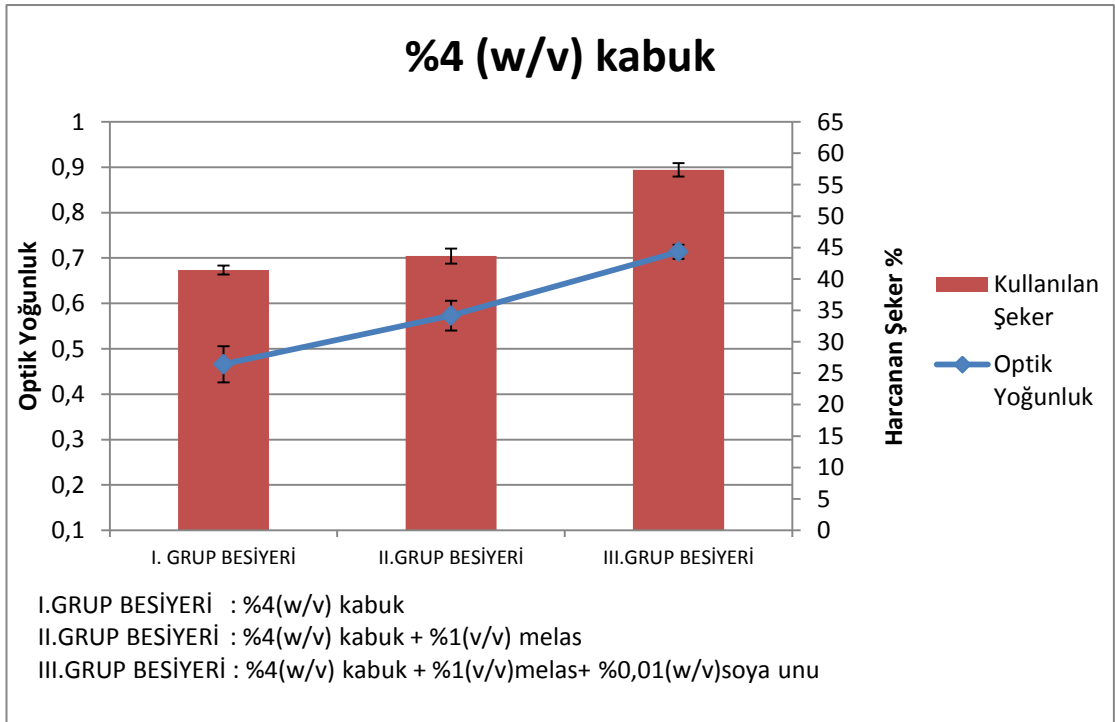


Şekil 4.10 Farklı besiyerlerinde harcanan şekerin yüzde oranı ve optik yoğunluk verileri
 S:30°C; İS:3 gün KH:150 rpm; pH:5



Şekil 4.11 Farklı besiyerlerinde harcanan şekerin yüzde oranı ve optik yoğunluk verileri

S: 30°C; İS:3 gün KH:150 rpm; pH:5



Şekil 4.12 Farklı besiyerlerinde harcanan şekerin yüzde oranı ve optik yoğunluk verileri

S: 30°C; İS:3 gün KH:150 rpm; pH:5

Çizelge 4.2 Farklı kabuk ve besiyeri gruplarının başlangıç ve kullanılan şeker miktarları

KABUK (w/v)	ŞEKER (g/L)	I. GRUP BESİYERİ	II. GRUP BESİYERİ	III. GRUP BESİYERİ
1%	BAŞLANGIÇ	4,644 ± 0,1	7,000 ± 0,1	6,783 ± 0,1
	KULLANILAN	1,540 ± 0,2	2,408 ± 0,1	3,714 ± 0,1
2%	BAŞLANGIÇ	7,568 ± 0,1	9,973 ± 0,2	10,304 ± 0,2
	KULLANILAN	2,879 ± 0,1	3,945 ± 0,2	4,430 ± 0,2
4%	BAŞLANGIÇ	10,722 ± 0,1	12,096 ± 0,1	12,595 ± 0,1
	KULLANILAN	4,440 ± 0,1	5,498 ± 0,1	6,939 ± 0,1

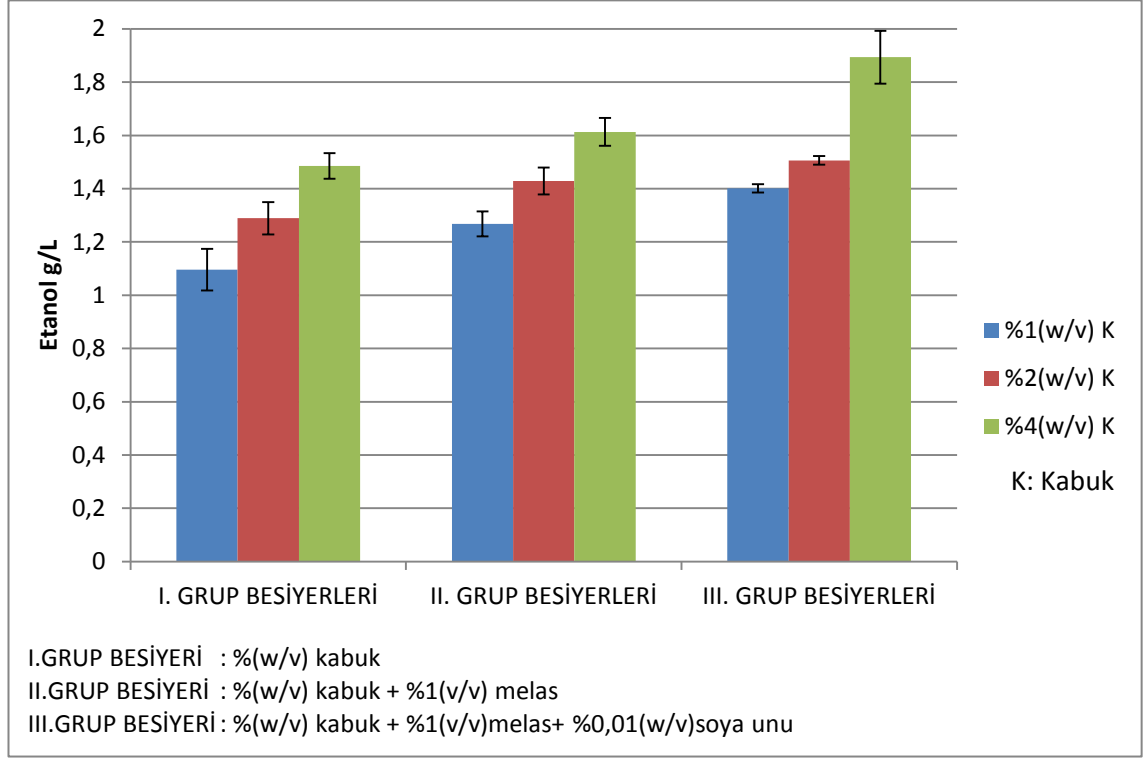
S: 30 °C; IS:3 gün; KH:150 rpm pH:5

4.6 Soya Ununun Biyoetanol Üretimine Etkisi

Çalışmada farklı oranlardaki kabuk miktarları için hazırlanan I. II. ve III. grup besiyerlerinin biyoetanol (g/L) miktarı yüzdelerinin belirlendiği bu aşama, şekil 4.13’de gösterilmiştir.

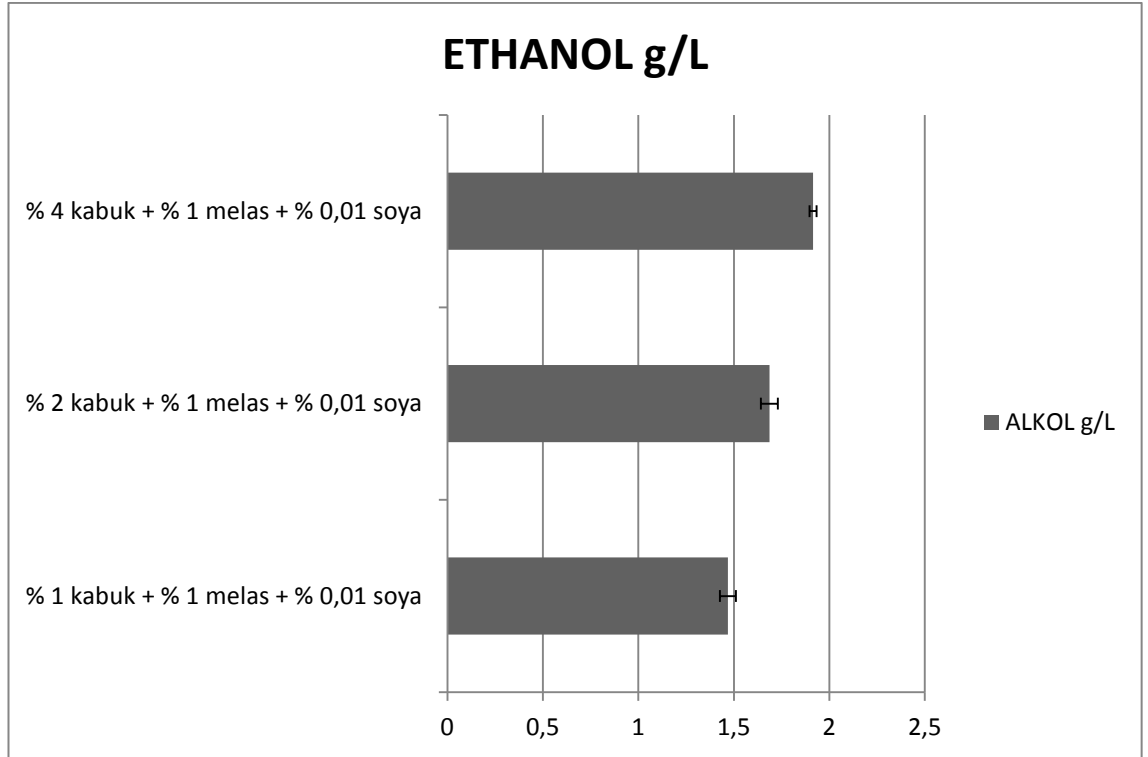
I.grup besiyeri denemelerinde kabuk miktarı arttıkça elde edilen biyoetanol miktarında artış tespit edilmiştir. %1(v/v) melasın ilavesi ile hazırlanan II. grup besiyerinde ve soya ununun %0,01(w/v) derişiminde eklenmesiyle hazırlanan III. grup besiyerlerinde de biyoetanol miktarı üzerinde olumlu etki devam etmiştir. Soya ununun biyoetanol üretimi üzerine pozitif etki sağladığı gözlenmiştir. Her üç kabuk oranı içinde III. grup besiyerinde artış gösteren biyoetanol miktarları olmakla birlikte, en düşük 1,485g/L ve en yüksek 1,894g/L biyoetanol elde edilmiştir.

III. grup besiyerinin kabuk oranını sırasıyla %1 (w/v), %2 (w/v) ve %4 (w/v) şeklinde hazırlandı ve biyoetanol miktarları karşılaştırıldı.(Şekil 4.14)



Şekil 4.13 Farklı besiyerlerinin biyoetanol (g/L) miktarları

S: 30°C; İS: 24 saat KH:150 rpm; pH:5



Şekil 4.14 Artan kabuk oranında elde edilen biyoetanol (g/L) miktarı

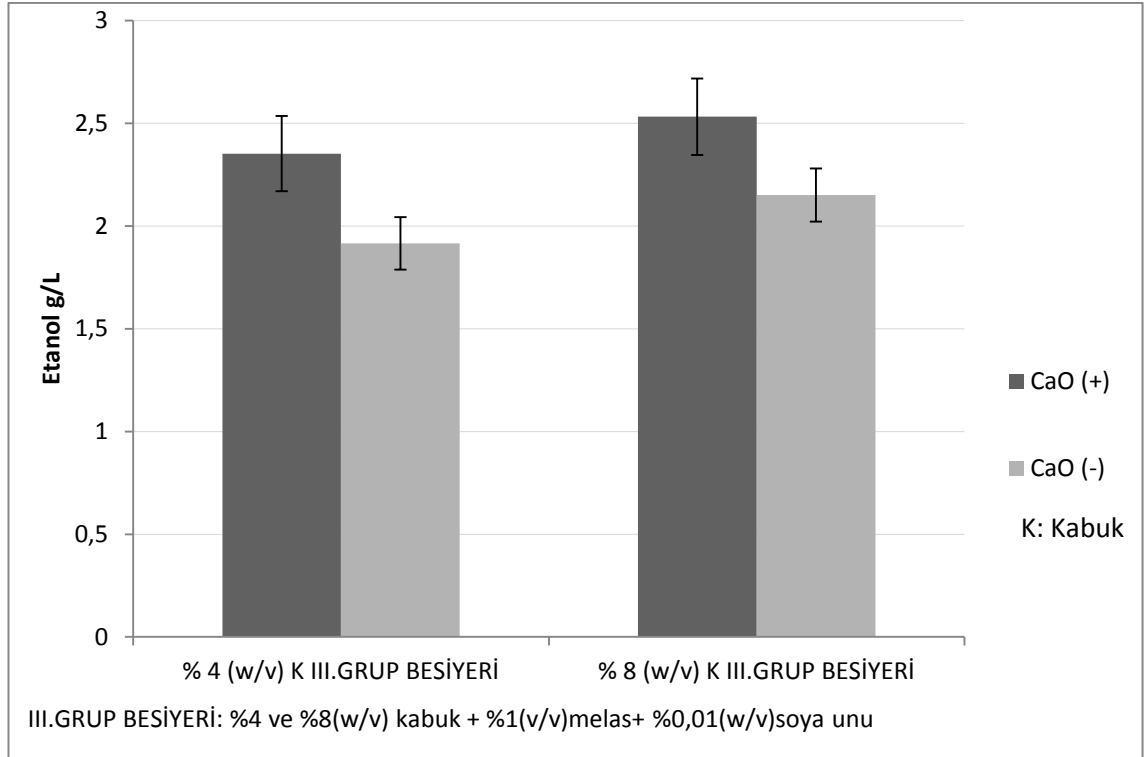
S: 30°C; İS: 24 saat KH:150 rpm; pH:5

4.7 CaO'nun Biyoetanol Üretimine Etkisi

En yüksek biyoetanol miktarının elde edildiği III. grup besiyerlerine CaO ilavesi ile CaO ilavesi yapılmadan hazırlanan fermentasyon ortamlarının biyoetanol üretimine etkisi incelenmiştir. Bahse konu fermentasyon ortamlarında üretilen biyoetanol (g/L) değerleri şekil 4.15' de sunulmuştur.

Fermentasyon ortamlarında aşırı başlangıç karbon kaynağının organik asitlerin birikimine neden olması sebebiyle olumsuz etkilenen biyoetanol veriminin %8(w/v) kabuklu III. grup besiyerinde takibi yapılmıştır.

CaO ilavesi ile zararlı ürün miktarına etkisi elde edilen biyoetanol seviyesi ile tespit edilmiştir. %8(w/v) kabuklu III. grup besiyeri için biyoetanol eldesindeki artışın bir duraklama evresine geçtiği belirlenmiştir.



Şekil 4.15 Fermentasyon ortamına CaO ilavesinin biyoetanol verimine katkısı

S:30°C; İS:24 saat KH:150 rpm; pH:5

%4(w/v) ve %8(w/v)'lik yer fıstığı kabuğu içeren III. grup besiyerlerine CaO'nun biyoetanol üretimine olumlu katkısı, %4(w/v) kabuklu hidrolizatta 7,384 g/L şeker harcanarak, %18,6'lık artış ile 1,915g/L'den 2,352g/L'ye, %8(w/v) kabuklu hidrolizatta ise 8,632 g/L şeker harcanarak, %15,1'lik artış ile 2,151g/L'den 2,532g/L'ye artışı ile gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Büyüyen enerji ihtiyacını karşılamak için, çevreci, ekonomik ve alternatif yakıt arayışlarının hız kazandığı bir dönemde petrol kökenli yakıtların yerini alan biyoyakıtların önemi artmaktadır. Biyoyakıtlar, karbonhidrat ekonomisi ve biyoyaşam içinde biyorafineri ürünleri olarak yer bulmaktadır. Yenilenebilir enerji kaynaklarından olan biyokütle enerjisi büyük bir potansiyele sahiptir (Soyuduru 2007). Geniş kullanım alanı olan biyoyakıt çeşitlerinden biyoetanol, farklı hammadde kullanılarak üretilir. Bunlar içerisinde lignoselülozik hammadde içeren tarımsal atık ve artıklardaki polisakkaritlerin uygun işlemler yardımı ile biyoetanolle dönüştürülmesi son dönemde tüm dünyada ve ülkemizde ilgiyle takip edilen çalışmalara kaynak olmuştur. Tez çalışmasında da tarımsal bir atık olan yer fıstığı kabuğundan *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile alternatif enerji kaynağı olan biyoetanol üretimi amaçlanmış ve araştırılmıştır.

Biyoetanol üretim çalışmalarında kullanılan tarımsal atıkların (mısır koçanı, pirinç samanı, fındık kabuğu gibi) lignoselülozik hammadde içerikleri, atık tipine göre farklılık göstermektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda Parisi (1989), mısır koçanının lignoselülozik içeriğinin, %45 selüloz, %35 hemiselüloz ve %15 lignin olduğunu göstermiştir. Conde-Mejía ve arkadaşları, (2012) yaptıkları çalışmalarda pirinç samanının %41 selüloz, %21,5 hemiselüloz, %9,9 lignin içerdiğini, Menon ve arkadaşları (2012) ise buğday samanında, %36,6 selüloz, %24,8 hemiselüloz, %14,5 lignin bulunduğunu belirlemişlerdir.

Diğer tarımsal atıkların lignoselülozik hammadde içerikleri çizelge 5.1’de gösterilmiştir (http://www.biomasa-info.cz/cs/doc/S3_08.pdf 2011).

Çizelge 5.1 Tarımsal atıkların lignoselülozik hammadde içerikleri.

HAMMADDE	SELÜLOZ %	HEMİSELÜLOZ %	LİGNİN %
KAYISI ÇEKİRDEĞİ KABUĞU	22,4	20,8	51,4
FINDIK KABUĞU	25,2	28,2	42,1
BAKLAGİL SAMANI	28,1	34,1	34,0
TÜTÜN SAPI	21,3	32,9	30,2

Tarımsal bir atık olan ve tez çalışmasında biyoetanol üretimi için tercih edilen yer fıstığı kabuğunun element analizi Wartelle ve arkadaşları (2000) tarafından yapılmış ve sonuçlarda % 45.3 selüloz, %32.8 lignin, %8.1 hemiselüloz, %4.9 protein ve % 2.3 kül ihtiva ettiği tespit edilmiştir.

Lignoselülozik tarımsal atıklar kaynak özetlerinde de belirtildiği gibi fiziksel ve kimyasal ön işlemlerden geçirilmektedir. Fiziksel ön işlemler buharla müdahale ve öğütmeden oluşmaktadır. Kimyasal ön işlemler ıslak oksidasyon, NH_4OH ile biyokütlenin yıkanmasını, iyonik sıvılarla müdahale ve sıvı amonyakla alkali müdahaleden oluşmaktadır.

Fiziksel ön işlemlerin uygulandığı çalışmalarda, Martin ve arkadaşları (2002), tütün sapını 205°C 'de 5 ve 10 dakika boyunca buhara maruz bırakarak ön işlem uygulamışlardır. Arslan (2007) tarafından yapılan çalışmada, tarımsal bir atık olan fındık kabuğunu çekiçli değirmende öğütülerek elekten geçirmiştir.

Kimyasal ön işlemlerin uygulandığı çalışmalarda, Petersson ve arkadaşları (2007), lignoselülozik hammadde olarak kış çavdarı, kolza ve bakla çöpünün seçildiği çalışmalarında hammaddelerin ön işlem müdahalesi için 195°C , 15 dakika 2 gl^{-1} Na_2CO_3 ile 12 bar oksijen altında ıslak oksidasyon yöntemi tercih etmişlerdir.

Haykır ve arkadaşları (2011), pamuk bitkisi atığını iyonik sıvılar aracılığıyla ön işlem uyguladıkları çalışmada %10 (g biyokütle/ g iyonik sıvı) pamuk bitkisi atığı üzerine iyonik sıvılar ile 150°C’de 30 dakika boyunca ön işleme tabi tutmaktadırlar.

Thompson ve arkadaşları (2013), mısır sapına %29,5’lik sıvı amonyakla (1/10-15 katı/sıvı) 10 gün boyunca oda sıcaklığında muamele etmiştir. Kang ve arkadaşları (2012), kanola samanının %60,7 oranında en yüksek glukoz kazanımı sağlayan parametrelerini, %19,8 sulu amonyak (1/10, katı/sıvı), muamele süresi 14,2 saat ve sıcaklığı 69 °C olarak belirlemişlerdir. Varga ve arkadaşları (2004) ise ıslak oksidasyon ön işlem metodunu, mısır koçanı üzerinde 195 °C, 15 dakika 12 bar oksijen altında uygulanmıştır.

Cao ve arkadaşları (1996), mısır koçanından biyoetanol üretiminde etkili bir ön işlem süreci olarak 2,9 M NH₄OH ile biyokütlenin yıkanmasını araştırmışlardır.

Tez çalışmasında yer fıstığı kabuğuna fiziksel ön işlem müdahalesi tercih edilmiş ve bu işlem katı materyal öğütücüsü ile yapılarak yer fıstığı kabuğu toz haline getirilmiştir.

Lignoselülozik tarımsal atıkların fiziksel veya kimyasal ön işlemleri sonrasında maya gelişiminde gerekli şekerlerin oluşabilmesi için atıkların hidrolizi yapılmaktadır. Hidrolizde seyreltik, derişik asit ve enzimatik yöntemler kullanılmaktadır.

Enzimle yapılan çalışmalarda, Haykır ve arkadaşları (2011), pamuk bitkisi atığını 50°C’de 48 saat boyunca 0.05 M sitrat tamponu içerisinde selüloz enzimi (Cellic ctec2) ile enzimatik hidrolize tabi tutmuşlardır. Ballesteros ve arkadaşları (2008) kavak, okaliptüs, süpürge darısı, buğday samanı ve Brassica carinata bitkisi artıklarından elde edilen selülozik hidrolizatı 22 saat boyunca selüloz enzimi ile hidroliz ederek aynı ortamda biyoetanol üretmişlerdir.

Gupta ve arkadaşları (2009) *Prosopis juliflora* bitkisi artıklarını selüloz ve glukosidaz enzim karışımıyla hidroliz etmişlerdir ve elde ettikleri pentoz şekerlerinden 45 -50°C’de biyoetanol üretmişlerdir.

Literatür araştırmasında tarımsal atıklarla yapılan sıcaklık ve asit hidrolizi çalışmalarında, Taherzadeh ve arkadaşları (1999), huş ve ladin ağacı artıklarını seyreltik sülfürik asit (0,04 -0,18 M) ile 100 - 170 °C’de hidroliz etmiştir. Saraçoğlu ve arkadaşları (1998), mısır koçanı ve ayçiçeği kabuğunun seyreltik asit hemiselüloz işemini 0,2 ile 1 N arasındaki sülfürik asit derişiminde ve 98 - 130°C arası sıcaklıkta incelemiştir.

Okur (2003) ayçiçeği tohum kabuğundan elde edilen hemiselüloz hidrolizatını, 90 °C’de 0,7 M H₂SO₄ ile 1/5 katı/sıvı (g/mL) oranında hidroliz yaparken; Saraçoğlu ve Arslan (2000), mısır koçanını 98°C’de, 0.3 M H₂SO₄ ile 1/12 katı-sıvı oranında hidroliz yapmıştır.

Bhandari ve arkadaşları (1984), mısır sapının hemiselüloz ve selüloz hidroliz çalışmalarında, reaksiyonları 160-240°C sıcaklık aralığında ve üç farklı H₂SO₄ derişiminde (0,49, 0,92 ve 1,47 v/v %) denemişlerdir. Ranganathan ve arkadaşları ise (1985), buğday samanının selüloz ve hemiselüloz hidroliz reaksiyonlarını 100 ile 210 °C arasında ve H₂SO₄’in üç farklı (0,5, 1,0 ve 1,5 %) derişiminde çalışmışlardır.

Delgenes ve arkadaşları (1990), buğday samanının hemiselülozik polisakkaritlerini %2 H₂SO₄ ile 91,5 °C de hidrolize tabi tutmuşlardır.

Hidrolizde yaygın kullanımı olan H₂SO₄’ün difüzyonu lignoselülozik biyokütlenin yapısına bağlıdır ve tarımsal atıklarda H₂SO₄’ün difüzyonu odun atıklarına göre daha yüksektir (Kim ve Lee 2002). Tez çalışmasında asidik hidroliz işleminde H₂SO₄’ün farklı derişimleri (%0,5, %1, %2, %3 v/v) su içinde karıştırılarak 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak çalışılmıştır. Lignin içeriği yüksek olan ve Arslan (2007) tarafından yapılan çalışmada, fındık kabuğunun hidroliz işlemi için H₂SO₄’ün beş farklı (0,1 M,

0,3 M, 0,4 M, 0,5 M, 0,7 M) derişimi ile 100-120°C sıcaklıklarda denenmiştir. Yapılan tez çalışmasında da yüksek H₂SO₄'ün derişimlerinde %1 (v/v) aside oranla elde edilen şeker miktarlarında belirgin bir farklılık olmadığı tespit edilmiş ve hidroliz için etkili asit derişimi %1 (v/v) olarak belirlenmiştir.

Tarımsal atıklardan biyoetanol üretiminde fermentasyon çalışmalarında *Pichia stipitis* ile *Saccharomyces cerevisiae* mayaları kullanılmakta ve fermentasyon ortamlarının pH değerleri 5 veya 6 olarak belirlenmektedir.

Cao ve arkadaşları (1996), mısır koçanından *Saccharomyces 1400* (pLNH 33) ile fermentasyonundan 36 saatte % 84 verimle biyoetanol elde etmişlerdir. Saraçoğlu ve Arslan ise (2000), mısır koçanında maksimum biyoetanol derişimine 96. saatte, 0,34 g/g verimle *Pichia stipitis* mayası ile ulaşmıştır.

Arslan (2007) fındık kabuğu ile yaptığı çalışmada, fermentasyon ortamı için pH 6'da hazırlanan hidrolizatlardan, toplam hacmin % 10'u kadar çekip atmış, yine toplam hacmin % 10 'u kadar *Pichia stipitis*'in geç ekspanansiyel faza denk gelen 27. saattinde büyüme ortamından aşılmasını yapmıştır. Biyoetanol üretiminin 48 saatlik periyodu takip edilmiş ve ortalama değerleri hesaplanmıştır.

Tez çalışmasında, inkübasyon süresinin etkisi, her bir besiyerinde aktifleştirilen kültürlerin üç günlük inkübasyon periyodunda günlük şeker ve biyomas ölçümleri ile tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan *Saccharomyces cerevisiae*'ın pH 5'de denenene tüm yer fıstığı kabuğu derişimlerinde, en verimli maya gelişim ve kullandığı şeker yüzde değerlerine üçüncü günde, biyoetanol değerlerine ise birinci günde ulaşılmıştır.

Lignoselülozik tarımsal atıklardan biyoetanol üretiminde biyoetanol verimini arttırmak için fermentasyon ortamına çeşitli azot katkıları eklenmektedir. Bu azot kaynakları arasında üre, maya özütü, pepton, NaNO₃, NH₄NO₃, NH₄Cl, ve NH₄SO₄, (NH₄)HPO₄ yer almaktadır.

Zerva ve arkadaşları (2013) mısır koçanı, buğday kepeği ve bira yapımında kullanılan tahıl atıklarından hazırladıkları hidrolizatlardan biyoetanol üretiminde *Paecillomyces variotii*'in potansiyelini denedikleri çalışmalarında, ilave azot kaynağı olarak farklı miktarlarda üre ve NaNO_3 , NH_4NO_3 ve NH_4SO_4 denemişlerdir. NH_4NO_3 'ün biyoetanol verimi üzerine etkisinin, elde ettikleri $11,9 \text{ g/L}^{-1}$ biyoetanol miktarı ile güçlü olduğunu belirlemişlerdir.

Tez çalışmasında, yer fıstığı kabuğundan oluşan hidrolizatlarda ilave azot kaynağı etkisi soya unu kullanılarak incelenmiştir. Lignoselülozik olmayan materyalden biyoetanol üretim çalışmalarında biyoetanol üretiminde soya unun da etkili olduğu gösterilmiştir. Arı ve Dönmez (1999), *Saccharomyces* mayaları ile melastan biyoetanol üretim çalışmasında maya özütü yanı sıra ortama eklenen farklı derişimlerde soya unu ilavesiyle biyoetanol verimliliğini araştırmışlardır. Denedikleri farklı derişimlerdeki soya unu katkıları içerisinde en yüksek verimi %6 (w/v) derişiminde elde etmişlerdi. Tez çalışmasında literatürde alkol verimini arttıran soya unu tercih edilmiştir.

Tez çalışmasında azot kaynağı olarak tercih edilen soya unu fermentasyon ortamına %0,01 oranında ilave edilerek denendiği üç farklı besiyeri grubunda, biyoetanol verimliliğine katkısının %14,77 - %30,36 aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Lignoselülozik olmayan materyalden etanol üretim çalışmalarında, biyoetanol üretiminde tarımsal bir atık olan melas da kullanılmaktadır. Tez çalışmasında kabuk alkol verimi düşük olduğu için ilave bir tarımsal atığın da kullanılabileceği düşünülmüştür. Tosun ve arkadaşları (2005), *Saccharomyces cerevisiae* mayasını kullanarak melastan fermentasyon yoluyla biyoetanol üretimi yaptığı çalışmasını, 30°C sıcaklıkta, pH'ı 4,5 olan yapay melasla gerçekleştirmiştir. Kopsahelis ve arkadaşları (2007) bira üretilen tahıla tutuklanmış *Saccharomyces cerevisiae* ile substrat olarak kullandıkları melastan biyoetanol üretmişlerdir.

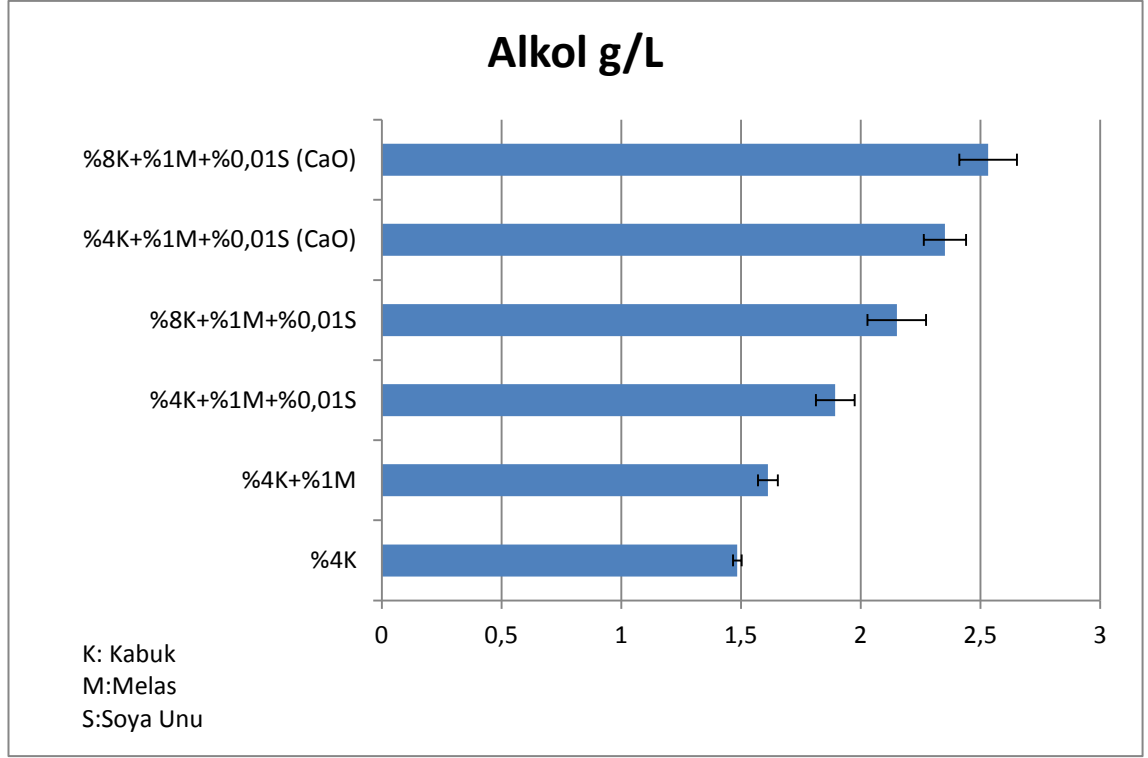
Fermentasyonu sağlayan mikroorganizma gelişiminin, ilave karbon ve azot kaynağı kullanımına rağmen istenilen düzeye çıkarılamadığı durumlarda, ortama CaO müdahalesi uygulanarak, toksik bileşiklerin olumsuz etkisi azaltılmaktadır.

Moniruzzaman ve Ingram (1998), pirinç kabuklarını hidroliz süresince oluşan zehirli bileşenlerin seviyesini 60 °C’de 30 dakika boyunca hızlı karıştırma ile Ca(OH)_2 ile muamele ederek azaltmışlardır.

Nigam (2002) yaptığı çalışmada, buğday samanı hemiselüloz hidrolizatına *Pichia stipitis* mayası ile fermente ederek biyoetanol üretimi CaO ile aşırı titrasyon işlemi görmüş ve görmemiş hidrolizatın fermentasyonu karşılaştırılmış ve biyoetanol üretim verimleri sırasıyla 1,98g/L ve 2,52 g/L olarak belirlenmiştir.

Saraçoğlu ve Arslan (2000), mısır koçanı ile biyoetanol araştırması yaptığı çalışmasında maksimum biyoetanol derişimine (10,4 g/L biyoetanol) *Pichia stipitis* mayası ile ön işlem olarak CaO ile aşırı muamele uygulandığında ulaşılmıştır.

Tez çalışmasında uygulanan CaO ilavesinin etkisi, kabuk, melas ve soya unu içeren fermentasyon ortamında izlenmiş ve sonuçlar şekil 5.1 de verilmiştir. CaO ilavesi ile hidroliz sonrası zararlı ürün miktarı azaltılmış ve bunun olumlu etkisi elde edilen biyoetanol verimliliğinde %16 - %18 arasında bir artış ile kendisini göstermiştir. Anılan hidrolizatlarda elde edilen optik yoğunluk 0,8 - 0,9 aralığında tespit edilmiştir. CaO müdahalesi sonrasında %4 kabuk içeren hidrolizatta, 7,384 g/L şeker harcanarak kullanılan şeker yüzde değerleri %55,6 olurken, %8 kabuk içeren hidrolizattan fermentasyon sonrasında 8,632 g/L şeker harcanarak, kullanılan şeker yüzde değeri %60,5 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.1 CaO müdahalesi ile melas ve soya unu ilavesinin biyoetanol verimi üzerine etkisi

S:30°C; İS:24 saat KH:150 rpm; pH:5

Çalışmada, %4(w/v) kabuğun yanı sıra melas ve soya unu içeren besiyerine CaO müdahalesinin uygulandığı ve uygulanmadığı ortamlarda biyoetanol verimliliğindeki artışın %18,6 seviyesinde, elde edilen biyoetanol miktarının ise 2,352g/L olduğu tespit edilmiştir. Denenen koşullarda en yüksek biyoetanol miktarına, aynı oranlarda melas ile soya unu içeren %8 (w/v) kabuklu fermentasyon ortamında CaO ön müdahalesi uygulandığında ulaşılmıştır. Bu yüksek biyoetanol miktarı, CaO içermeyen aynı içerikteki hidrolizata göre %15,1'lik artış ile 2,532g/L'dir.

KAYNAKLAR

- Acaroğlu, M. ve Ültanır, M.Ö. 2000. Türkiye’de Biyokütle (Biomass) Enerji Potansiyeli ve Değerlendirilmesi İçin Öneriler, Türkiye 8. Enerji Kongresi, WEC-TNC, 8-11 Mayıs 2000 ODTÜ-Ankara.
- Acaroğlu, M. 2003. Alternatif Enerji Kaynakları, ISBN, 975-6574-25-9 208-209.
- Adıgüzel, A.O. 2011. Lignoselülozik Biyokütleden Biyobiyoetanol Üretimi, Yüksek Lisans Semineri, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı.
- Adıgüzel, A.O. 2013. Lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretimi için kullanılan ön-muamele ve hidroliz yöntemleri SAÜ. Fen Bil. Der. 17. Cilt, 3. Sayı, s. 381-397.
- Almarsdottir, A., Sigurbjornsdottir, M. and Orlygsson, J. 2011. Effect of Various Factors on Ethanol Yields From Lignocellulosic Biomass by Thermoanaerobacterium AK17. Biotechnology and Bioengineering, 9999; 1-9.
- Amartey, S. and Jeffries, T. 1996. An improvement in *Pichia stipitis* fermentation of acid-hydrolyses hemicellulose achieved by overliming (calcium hydroxide treatment) and strain adaptation", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12: 281-283.
- Amartey, S.A., Leung, P.C.J., Yazdi, N.B., Leak, D.J. and Hartley, B.S. 1999. Fermentation of wheat straw acid hydrolysate by *Bacillus stearothermophilus* continuous culture with partial cell recycle, *Process Biochemistry*, 34: 289-294.
- Amores, I., Ballesteros, I., Manzanares, P., Sáez, F., Michelena, G. and Ballesteros, M. 2013. Ethanol Production from Sugarcane Bagasse Pretreated by Steam Explosion, *Electronic Journal of Energy & Environment*.
- Delia Anderson, D. and Jones, J.C. 1999 Alcohol Production by Yeasts The University of Southern Mississippi Last updated November 10.
- Anonymous. 2008. FAO (Food and Agriculture Organization), The State of Food Insecurity in the World-2008, Rome.
- Anonymous. 2009. EIA, Energy Kid’s Page. What is Energy? 1-18.

- Anonymous. 2011. Web Sitesi: http://www.biomasa-info.cz/cs/doc/S3_08.pdf, Eriřim Tarihi: 11.06.2014
- Ar, F. 2007. İkinci Kuřak Biyoyakıtlar-Biyorafineriler, Biyoyakıtlar ve Biyoyakıt Teknolojileri Sempozyumu, TMMOB Yayınları, Ankara, 12-13 Aralık 2007,ss.195-202.
- Arı, T. ve Dönmez, S. 1999. Melastan Etilalkol Üretiminde Soya Ununun Alkol ve Hücre Konsantrasyonuna Etkisi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği.
- Avci, A. and Dönmez, S. 2005. Effect of zinc on ethanol production by two Thermoanaerobacter strains. Process Biochemistry, 41; 984–989.
- Avcı, A. ve Dönmez. S. 2005. Bazı Thermoanaerobacter Suşlarının Etanol Üretim Oranlarının Karşılaştırılması, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi Cilt: 03 Sayı: 03 Sayfa: 1
- Balat M., Balat H. and Öz C. 2008. Progress In Bioethanol Processing, Progress In Energy And Combustion Science, 34, 551–573.
- Balat, M. and Balat, H. 2009. Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel. Applied Energy, 86; 2273–2282.
- Ballesteros, M., Oliva, J.M., Negro, M.J., Manzanares, P. and Ballesteros, I. 2004. Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. Process Biochem., 39, 1843–1848.
- Bhandari, N., Macdonald, D.G. and Bakhshi, N.N. 1984. Kinetic studies of corn stover saccharification using sulphuric acid, Biotechnology and Bioengineering 26: 320-327.
- Bari, I.D., Liuzzi, F., Villone, A. and Braccio, G. 2013. Hydrolysis of Concentrated Suspensions of Steam Pretreated *Arundo donax*, Appl. Energ., 102, 179- 189.
- Binod, P., Satyanagalakshmi, K., Sindhu, R., Janu, K. U., Sukumaran, R. K. and Pandey, A. 2012. Hort Duration Microwave Assisted Pretreatment Enhances The Enzymatic Saccharification and Fermentable Sugar Yield from Sugarcane Bagasse, Renew. Energ., 37, 109-116.

- Brennan, L. and Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae – A review of Technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14(2): 557-577.
- Cardona C.A. and Sanchez O.J. 2007. Fuel Ethanol Production: process Design Trends And Integration Opportunities, *Bioresource Technol.*, 98 2415–2457.
- Cao, W., Sun, C., Liu, R., Yin, R. and Wu, X. 2012. Comparison of The Effects of Five Pretreatment Methods on Enhancing The Enzymatic Digestibility and Ethanol Production from Sweet Sorghum Bagasse, *Bioresource Technol.*, 111 215-221.
- Chandel A.K., Es C., Rudravaram R., et. al. 2007. Economics and Environmental Impact of Bioethanol Production Technologies: An Appraisal”, *Biotechnol Molec. Biol. Rev.* 2, 14–32.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25: 294-306.
- Çiçek, İ. 1998. Tarımsal Kaynaklı Atıklardan Aktif Karbon Üretimi. Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Müh., İstanbul.
- Conde-Mejía, C., Jiménez-Gutiérrez, A. and El-Halwagi, M. 2012. A Comparison of Pretreatment Methods for Bioethanol Production from Lignocellulosic Materials, *Process. Saf. Environ.*, 90, 189-202.
- Conterella, M., Conterella, L., Gallifuaco, A., Spera, A. and Alfani, F. 2004. Comparison of different detoxification methods for steam exploded poplar wood as a substrate for the bioproduction of ethanol in SHF and SSF, *Process Biochemistry*, 39: 533-542.
- Dale, B.E. and Moreira, M.J. 1982. A Freeze-Explosion Technique For Increasing Cellulose Hydrolysis”, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 12: 31–43.
- Dale, M.C. and Moelhman, M. 2000. Enzymatic Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) of Biomass to Ethanol in A Pilot 130 L Multistage Continuous Reactor Separator”, Ninth Biennial Bioenergy Conference, Buffalo, New York, October 15–19.
- Demirbaş, A. 2004. Ethanol from Cellulosic Biomass Resources”, *Int. J. Green. Ener.*, 1, 79–87.
- Demirbaş, A. 2006. Global Biofuel Strategies”. *Energy Edu. Sci. Technol.*, 17, 32–63.

- Demirbaş, A. 2007. Progress and Recent Trends in Biofuels, Prog. Energy Combust Sci., 33, 1–18.
- Deepak, R. and Keshwani, J. J. 2008. Cheng Switchgrass for bioethanol and other value-added applications: A review Department of Biological and Agricultural Engineering, North Carolina State University.
- Delgenes, J.P., Moletta, R. and Navarro, S.M. 1990. Acid hydrolysis of wheat straw and process considerations for ethanol fermentation by *Pichia stipitis* Y 7124, Process Biochemistry 25: 132-135.
- Dillon, H.S. and Laan, T. 2008. Biofuels-At What Costs? Government Support for Ethanol and Biodiesel in Indonesia, International Institute for Sustainable Development, Geneva.
- Dien, B.S., Cotta, M.A. and Jeffries, T.W. 2003. Bacteria Engineered for Fuel Ethanol Production: Current Status, Appl. Microbiol. Biotechnol., 63 258–266.
- Eisenhuber, K., Jäger, A., Wimberger, J. and Kahr, H. 2013. Comparison of Different Pretreatment Methods for Straw for Lignocellulosic Bioethanol Production, Agron. Res, 11(1), 173-182.
- Fan, L.T., Gharpuray, M.M. and Lee, Y.H. 1987. Cellulose Hydrolysis Biotechnology Monographs. Springer, 110(11) 211-230.
- Fengel, D. and Wegener, G. 1984. Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions, Walter De Gruyter Verlag, Berlin.
- Ferrari, M.D., Neirotti, E., Albornaz, C. and Soucedo, E. 1992. Ethanol production from eucalyptus wood hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipites*, Biotechnology and Bioengineering, 40: 753-759.
- Galbe, M and Zacchi, G. 2002. A Review of the Production of Ethanol from Softwood. Appl. Microbiol. Biotechnol. 59: 618-628.
- Gizlenci, Ş. ve Acar, M. 2009. Enerji Bitkileri ve Biyoyakıtlar Sektörel Rapor: Enerji Bitkileri Tarımı ve Biyoyakıtlar, Karadeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü.
- 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. Bioresource Technol., 100, 1214–1220.

- Xu, H., Miao, X. and Wu, Q. 2006. High quality biodiesel production from a microalgae *Chlorella Protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters, *Journal of Biotechnology* 126 (2006), 499-507.
- Hamelinck, C.N., Van Hooijdonk, G. and Faaij, A.P.C. 2005. Ethanol From Lignocellulosic Biomass: Techno-Economic Performance in Short-, Middle- and Long-Term”, *Biomass Bioenergy* 28, 384–410.
- Harun, R., Jason, W.S.Y., Cherrington, T. and Danquah, M.K. 2010. Microalgal Biomass AS A Cellulosic Fermentation Feedstock for Bioethanol Production, *Renew. Sust. Energ. Rev.*
- Haykırı,I., Bahçegül,E., Bıçak,N. ve Bölükbaşı, B.U. 2011. İyonik Sıvı Ön İşleminin Pamuk Bitkisine Olan Etkilerinin İncelenmesi Ve Etanol Üretimi.
- Henniges, O. and Zeddies, J. 2007. Biofuels-Experiences and Perspective in Industrialized and Developing Countries, *Quarterly Journal of International Agriculture*, Vol.46, pp.349-37.
- Hong, Y.S. and Yoon, H.H. 2011. Ethanol production from food residue. *Biomass and Bioenergy*, 35; 3271-3275.
- Jeffries, T.W. and Jin, Y.S. 2000. Ethanol and Thermotolerance in The Bioconversion of Xylose By Yeasts”, *Adv. Appl. Microbiol.*, 47 221–268.
- Jonsson, L.J., Palmagvist, E., Nilvenbrant, N.O. and Hahn-Hagerdal, B. 1998. Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*”, *Applied Microbiology*, 49: 691-687.
- Kang, K. E., Jeong, G.T., Sunwoo, C. and Park, D. H. 2012. Pretreatment of Rapeseed Straw by Soaking İn Aqueous Ammonia, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 35, 77-84.
- Kang, K. O., Han, M., Moon, S. K., Kanh, H. W., Kim, Y., Cha, Y. L. and Choi, G. W. 2013. Optimization of alkali-extrusion pretreatment with twin-screw for bioethanol production from *Miscanthus*, *Fuel*, 109, 520-526.
- Karaosmanoğlu, F. 2006. Biyoyakıt Teknolojisi ve İTÜ araştırmaları, ENKÜS 2006-İTÜ Enerji Çalıştay ve Sergisi 22-23 Haziran 2006 İstanbul.

- Katahira, S., Mizuike, A. and Fukuda, H. 2006. Ethanol Fermentation from Lignocellulosic Hydrolysate By A Recombinant Xylose- and Cellooligosaccharide-Assimilating Yeast Strain”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 72, 1136–1143.
- Kilzer, F.J. and Broido, A. 1965. Speculations on The Nature of Cellulose Pyrolysis, *Pyrodynamics* 2, 151-163.
- Kim, B.S. and Lee, Y.Y. 2002. Diffusion of sulfuric acid within lignocellulosic biomass particles and its impact on dilute-acid pretreatment. *Bioresource Technology*, 83; 165-171.
- Kopsahelis, N., Agouridis, N., Bekatorou, A. and Kanellaki, M. 2007. Comparative study of spent grains and deligniWed spent grains as yeas supports for alcohol production from molasses. *Bioresource Technol.*, 98, 1440–1447.
- Larsson, S., Reimann, A., Nilverbrant, N.O. and Jonsson, L.J. 1999. Comparison of different methods for the detoxification of lignocellulose hydrolyzates of spruce”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 77-79: 91-103.
- Leathers, T.D. and Gupta, S.C. 1997. Saccharification of Corn Fiber Using Enzymes from *Aureobasidium* sp. Strain NRRL Y-2311- 1”, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 59, 337–347.
- Lee, W.G., Lee, J.S., Shin, C.S., Park, S.C., Chang, H.N. and Chang, Y.K. 1999. Ethanol production using connectrated oak wood hydrolysates and methods to detoxify”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 77-79: 547-559.
- Lee, Y.J. 2005. Oxidation Of Sugarcane Bagasse Using A Combination of Hypochlorite and Peroxide”, Master’s Thesis, Department of Food Science, Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Mabe, W.E., Saddler, J.N. and Nielsen, C. 2006. Renewable-Based Fuels for Transport. In: *Renewable Energy for Power and Transport*”, Riso Energy Report 5, 47–50.
- Martin, A.M. 1991. *Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products*. Elsevier, London, ISBN: 978-0751404234.
- McMillan, J.D. 1997. Bioethanol Production: Status and Prospects”, *Renew. Energy*, 10 295–302.

- Menon, V. and Rao, M. 2012. Trends in Bioconversion of Lignocellulose: Biofuels, Platform Chemicals & Biorefinery Concept, *Prog. Energ. Combust.*, 38, 522-550.
- Mohagheghi, A., Evans, K. and Chou, Y.C. 2002. Cofermentation of Glucose, Xylose, and Arabinose By Genomic DNA–Integrated Xylose/Arabinose Fermenting Strain of *Zymomonas mobilis* AX101”, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 98–100, 885–898.
- Moniruzzaman, M. and Ingram, D. 1998. Ethanol production from dilute acid hydrolysate of rice hulls wing geneticall engineered *Escherichia coli* *Biotechnology Letters* 20: 943-947.
- Morohoshi, N. 1991. Chemical Characterization Of Wood And Its Components, *Wood and cellulosic chemistry*, 331-392.
- Mosier, N., Wyman, C. and Dale, B. 2005. Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass”, *Bioresource Technol.*, 96, 673–686.
- Mtui, G. Y. S. 2009. Recent Advances in Pretreatment of Lignocellulosic Wastes and Production of Value Added Products, *Afr. J. Biotechnol.*, 8(8), 1398-1415.
- Mussatto, S.I. and Roberto, I.C. 2001. Hydrolsate detoxification with activated charcoal for xylitol production by *Candida guilliermondi*", *Biotechnology Letters* 23: 1681-1684.
- Mussatto, S.L, Santos, J.C. and Roberto, I.C. 2004. Effect of pH and activited char coal adsorption on hemicellulosic hydrolysate detoxification for xylitol production", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 79: 590-596.
- Naseeruddin, S., Yadav, K. S., Sateesh, L., Manikyam, A., Desai, S. and Rao, L. V. 2013. Selection of The Best Chemical Pretreatment For Lignocellulosic Substrate *Prosopis juliflora*, *Bioresource Technol.*, 136, 542-549.
- Nigam, J.N. 2001. Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia sitipitis*", *Journal of Biotechnology*, 87: 17-27.
- Nigam, J.N. 2002-1. Bioconversion of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to motor fuel ethanol by xylose-fermenting yeast, *Journal of Biotechnology*, 97:107-116.

- Nigam, J.N. 2002-2. Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*, *Journal of Biotechnology*, 87:17-27.
- Okur, T.M. 2003. Ayçiçeği Tohum Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının Alkole Fermentasyon Koşullarının ve Kinetiğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Palonen, H., Thomsen, A.B., Tenkanen, M., Schmidt, A.S. and Viikari, L. 2004. Evaluation of wet oxidation pretreatment for enzymatic hydrolysis of softwood. *ApplBiochem Biotechnol* 117:1–17.
- Parajo, J.C., Domínguez, H. and Domínguez, J.M. 1996. Charcoal adsorption of wood hydrolysates for improving their fermentability: Influence of the operational conditions", *Bioresource Technology*, 57: 179-185.
- Parajo, J.C., Domínguez, H. and Domínguez, J.M. 1997. Xylitol production from eucalyptus wood hydrolysates extracted with organic solvents", *Process Biochemistry*, 12: 599-604.
- Parekh, S.R., Yu, S. and Waymen, M. 1986. Adaptation of *Candida shehate* and *Pichia stipitis* to wood hydrolysates for increased ethanol production", *Applied Microbial Biotechnology* 25: 300-304.
- Parisi, F. 1989. Advances in lignocellulosic hydrolysis and in the utilisation of the hydrolysates, *Advances Biochemical Engineering*, 38, 53-87.
- Petersson, A., Thomsen, M.H., Henrik, H.N. and Thomsen, B. 2007. Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic biomass from winter rye, oilseed rape and faba bean, Risø National Laboratory.
- Ranganathan, S., Macdonald, D.G. and Bakhshi, N.N. 1985. Kinetic studies of wheat straw hydrolysis using sulphuric acid", *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 63: 840-844.
- Ruiz, E., Romero, I., Moya, M., Cara, C., Vidal, J.D. and Castro, E. 2013. Dilute Sulfuric Acid Pretreatment of Sunflower Stalks for Sugar Production, *Bioresource Technol.*, 140 292-298.
- Saha B.C. and Bothast, R.J. 1998. Effect of Carbon Source on Production of A-L-Arabinofuranosidase By *Aureobasidium pullulans*, *Curr. Microbiol.*, 37, 337–340.

- Saritha, M., Arora, A., Singh, S. and Nain, L. 2012. *Streptomyces griseorubens* Mediated Delignification of Paddy Straw For Improved Enzymatic Saccharification Yields, *Bioresource Technol.*, 135, 12-17.
- Saraçoğlu, N.E., Mutlu, S.F., Dilmaç, G. and Çavuşoğlu, H. 1998. A comparative kinetic study of acidic hemicellulose hydrolysis in corn cob and sunflower seed hull, *Bioresource Technology*, 65: 29-33.
- Saraçoğlu-Eken, N. and Arslan, Y. 2000. Comparison of different pretreatments in ethanol fermentation using corn cob hemicellulosic hydrolysate with *Pichia stipitis* and *Candida Shehatae*, *Biotechnology Letters* 22: 855-858.
- Silverstein, R.A. 2004. A Comparison of Chemical Pretreatment Methods for Converting Cotton Stalks to Ethanol, Master's Thesis (adv: R. Sharma), Biological and Agricultural Engineering, North Carolina State University.
- Sindhu, R., Kuttiraja, M., Binod, P., Janu, K.U., Sukumaran, R.K. and Pandey, A. 2011. Dilute Acid Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Sugarcane Tops For Bioethanol Production, *Bioresource Technol.*, 102, 10915-10921.
- Sirohi, S.K. and Rai, S.N. 1998. Optimisation of treatment conditions of wheat straw with lime: Effect of concentration, moisture content and treatment time on chemical composition and in vitro digestibility, *Animal Feed Science and Technology*, 74: 57-62.
- Shafizadeh, F. and Lai, Y.Z. 1975. Thermal Degradation of 2-Deoxy-Darabino-Hexonic Acid and 3-Deoxy-D-Ribo-Hexono-1,4-Lactone, *Carbohydr.Res.*, 42, 39-53.
- Soyuduru, D. 2007. Fermentasyonla etanol üretiminde etanol veriminin artırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği, 119, Ankara.
- Stewart, G.G. and Russell, I. 1987. Biochemistry and Genetics of Carbohydrate Utilization By Industrial Yeast Strains", *Pure Appl. Chem.*, 59, 1493–1500.
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresource Technology*, 83:1-11.
- Şahin, H.T. Arslan, M.B. ve Cengiz, M. 2005. Lignoselülozik Maddelerin Asit Hidrolizi, Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Endüstri Mühendisliği, Kimya Bölümü.

- Taherzadeh, M.J., Niklasson, C. and Liden, G. 1999. Conversion of dilute-acid hydrolyzates of spruce and birch to ethanol by fed-batch fermentation. *Bioresource Technol.*, 69, 59-66.
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2007. Acid hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials. *BioResources* 2(3); 472-499.
- Thomas-Pejo, E., Oliva, J.M. and Ballesteros, M. 2008. Realistic approach full-scale bioethanol production from lignocellulose: A review. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 67: 874 - 884.
- Thompson, D.N., Campbell, V., Bals, B., Runge, T., Teymouri, F. and Ovard, L.P. 2013. Chemical Preconversion: Application Of Low-Severity Pretreatment Chemistries For Commoditization Of Lignocellulosic Feedstock, *Biofuels*, 4(3), 323-340.
- Tosun, A. and Ergün, M. 2005. Effect of NaY on Ethanolic Fermentation of Synthetic Molasses 7 th World Congress of Chemical Engineering, 12-14 Temmuz 2005, Glasgow-İngiltere.
- Ulukardeşler, A.H. and Ulusoy, Y. 2012. 3. Nesil Biyoyakıt Teknolojisi Olan Alglerin Türkiye’de Üretilebilirlik Potansiyeli Onuncu Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Koç Üniversitesi, İstanbul.
- Varga, E., Klinke, H.B., Reczey, K. and Thomsen, A.B. 2004. High solid simultaneous saccharification and fermentation of wet oxidized corn stover to ethanol. *Biotechnol Bio eng* ;88:567–74.
- Wartelle, L.H. and Marshall, W.E. 2000. Citric acid modified agricultural by products as copper ion adsorbents. *Advence in Environmental Resarch*, 4, 1-7.
- Wilson, J J., Deschalelets, L. and Nishikawa, N.K. 1989. Comparative fermentability of enzymatic and acid hydrolysates of steam —pretreated aspenwood hemicellulose by *Pichia stipiti* CBS 577& Applied Microbial Biotechnology, 31:592-596.
- Wyman, C.E. 1999. Biomass Ethanol: Technical Progress, Opportunities, and Commercial Challenges”, *Annu. Rev. Energy Environ.* 24, 189–226.
- Wong, K.K.Y., Tan, L.U.L. and Saddler, J.N. 1988. Multiplicity Of B-1,4-Xylanase in Microorganisms: Functions And Applications, *Microbiol. Rev.*, 52, 305–317.

- Xiang, Q., Lee, Y.Y., Pettersson, P.O. 2003. Heterogeneous Aspects of Acid Hydrolysis of A-Cellulose”, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 105–108, 505–514.
- Chisti, Y. 2004. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25 (2007) 294–306.
- Yaman, S. 2004. Pyrolysis of Biomass to Produce Fuels and Chemical Feedstocks, *Energy Convers. Manage.*, 45, 651–671.
- Yoosin S. and Sorapipatana, C. 2007. A Study of Ethanol Production Cost for Gasoline Substitution in Thailand and Its Competitiveness”, *Thammasat Int. J. Sci. Technol.*, 12, 69–80.
- Young, R.A. 1992. Wood and Wood Products’ In: *Riegels Handbook of Industrial Chem.* 9th ed. J.A. Kent, V.N. Reinhold (Eds), New York.
- Zarzycki, A. and Polska, W. 2007. Bioethanol production from sugar beet- European and Polish perspective”, In: *The first TOSSIE workshop on technology improvement opportunities in the european sugar industry*, Ferrara, Italy, January 25–26.
- Zerva, A., Savvides, A.L., Katsifas, A.E., Karagouni, A., D. and Hatzinikolaou, D.G. 2013. Evaluation of *Paecilomyces variotii* potential in bioethanol production from lignocellulose through consolidated bioprocessing *Microbial Biotechnology Unit, Sector of Botany, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, University Campus.*
- Zhang, Y.H.P. and Lynd, L.R. 2004. Toward An Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems”, *Biotechnol. Bioeng.*, 88, 797–824.
- Zheng, Y.Z., Lin, H.M. and Tsao, G.T. 1999. Pretreatment of Cellulose Hydrolysis By Carbon Dioxide Explosion”, *Biotechnol. Prog.*, 14, 890–896.
- Zheng, Y., Lee, C., Yu, C., Cheng, Y.S., Zhang, R., Jenkins, B.M. and VanderGheynst, J.S. 2013. Dilute Acid Pretreatment And Fermentation Of Sugar Beet Pulp To Ethanol, *Appl. Energ.*, 105, 1–7.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Melek DÖNMEZ
Doğum Yeri : Altındağ
Doğum Tarihi : 09.06.1988
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Mimar Sinan Lisesi (2005)
Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2010)
Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül 2010 – Temmuz 2014)