



**OSMANCIK PİRİNÇ KABUĞUNDAN ETANOL ÜRETİMİ VE ÜRETİM
PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU**

Hazırlayan: Ömer GÜLER

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Selim ŞILBİR

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

IĞDIR/2024

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
IĞDIR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OSMANCIK PİRİNÇ KABUĞUNDAN ETANOL ÜRETİMİ VE ÜRETİM
PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU

Ömer GÜLER

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

IĞDIR/2024

TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ömer GÜLER



ÖZET

OSMANCIK PİRİNÇ KABUĞUNDAN ETANOL ÜRETİMİ VE ÜRETİM PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU

GÜLER, Ömer

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Ana bilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Selim ŞILBİR

Kasım, 2024, 78 sayfa

Ülkemizde ve dünyada lezzeti ve kalitesi ile ün yapmış, 2005 yılında Türk Patent Enstitüsü tarafından tescili yapılmış meşhur “Osmancık Pirinci” ürünü üretilirken çeltik fabrikalarında çeltik atığı olarak elde edilen pirinç kabuğundan etanol üretim verimi araştırılmak istenmiş olup bu yönde çalışmalar yapılmıştır. Çünkü pirinç kabuğu çeltik fabrikalarında pirinç ayıklandıktan sonra arta kalan ve hatta çoğu zaman atık olan bir üründür. Bu tarımsal atık içeriğinde bulundurduğu selüloz oranından ötürü etanol üretimi için değerlendirilmesi sayesinde atık olmaktan çıkarılacak ve en az maliyetle değerli bir ürüne dönüşümü sağlanacaktır. Bu amaçla çalışmada substrat olarak kullanılan Osmancık pirinç kabuğu %1, %2, %3 ve %4 seyreltik H₂SO₄ ile hidrolize edilmiş, ardından 28°C ve 32°C sıcaklıklarda, 12, 24, 36, 48, 60 saat süreyle *Z. mobilis* eşliğinde Entner-Doudoroff yolunu izleyen fermentasyona tabi tutulmuş ve %1 asit konsantrasyonu sonucu elde edilen hidrolizattan 28°C sıcaklıkta 48 saat süre sonunda %58,68 etil alkol eldesi ile çalışma başarılı sonuçlanmıştır. Çalışmada cevap yüzey yöntemi kullanılarak fermentasyon koşullarının optimizasyonu sağlanmıştır. Cevap yüzey yöntemi sonucu optimize edilen koşulların bize %1 asit konsantrasyonunda, 28,14°C sıcaklıkta, 50,77 saat süren fermentasyon sonunda %55,27 etil alkol elde edilebileceğini sunmuştur. Bu sonuç kullandığımız materyalin ve metodun kullanılabilir olduğunu %94 oranında kanıtlamıştır. Bu detaylar ışığında tarımsal, biyobozunur bir ürün olan pirinç kabuğundan fermentasyon sonucu etil alkol elde edilmiş ve çalışma tamamlanmıştır. Çalışmamızda, her bilimsel çalışmada olduğu gibi amaç maliyeti düşürmek ve sonuca giden yolu kısaltmak olduğu için en kısa yol ve yöntemler kullanılarak, en az maliyetle etil alkol elde edilmeye çalışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Pirinç kabuğu, etanol, Osmancık pirinci, optimizasyon, CYY, *Z. mobilis*

ABSTRACT

ETHANOL PRODUCTION FROM OSMANCIK RICE HUSK AND OPTIMIZATION OF PRODUCTION PARAMETERS

GULER, Omer

Master's Thesis

Food Engineering Department

Advisor: Assist. Prof. Dr. Mehmet Selim SILBIR

November, 2024, 78 pages

While producing the famous “Osmancık Rice” product, which is famous for its taste and quality in our country and in the world and was registered by the Turkish Patent Institute in 2005, it was desired to investigate the ethanol production efficiency from rice husk obtained as paddy waste in paddy factories and studies were carried out in this direction. Because rice husk is a product that remains after rice is sorted in paddy factories and is often even a waste. This agricultural waste will be removed from being waste by being evaluated for ethanol production due to the cellulose content it contains and will be transformed into a valuable product with the least cost. For this purpose, Osmancık rice husk used as a substrate in the study was hydrolyzed with 1%, 2%, 3% and 4% diluted H₂SO₄, then subjected to fermentation following the Entner-Doudoroff pathway with *Z. mobilis* at 28°C and 32°C for 12, 24, 36, 48, 60 hours, and the study was concluded successfully with the production of 58.68% ethyl alcohol at the end of 48 hours at 28°C from the hydrolysate obtained as a result of 1% acid concentration. Optimization of fermentation conditions was provided in the study by using the response surface method. The result of the response surface method presented us that 55.27% ethyl alcohol could be obtained at the end of fermentation lasting 50.77 hours at 28.14°C temperature with the optimized conditions at 1% acid concentration. This result proved that the material and method we used were usable by 94%. In the light of these details, ethyl alcohol was obtained from rice husk, an agricultural, biodegradable product, as a result of fermentation and the study was completed. In our study, as in every scientific study, the aim is to reduce the cost and shorten the path to the result, so we tried to obtain ethyl alcohol with the least cost by using the shortest paths and methods.

Key Words: Rice husk, ethanol, Osmancık rice, optimization, RSM, *Z. mobilis*

TEŞEKKÜR

Tez alıőmamda engin bilgi ve tecrübeleriyle benden desteklerini esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Selim ŞILBİR'a, çalıőmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Elif Duygu KAYA'ya ve çalıőmamı tamamlamam için bana kapılarını açan Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ALUM) alıőanları, öğrencileri ve hocalarına ayrıca bir kongre vesilesiyle tanışma fırsatı bulduğum, tanıdığım ilk günden beri beni alıőmalarımınla teşvik eden, cesaretlendiren ve destekleyen Ege Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Ahsen RAYMAN ERGÜN hocama sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalıőmam süresince sabrını, ilgisini ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan sevgili eşim Tuğba GÜLER'e, başta laboratuvar sürelerim olmak üzere onlardan ayrı kaldığım sürelerde beni sabırla bekleyen çocuklarım Mehmet Mete ve Ertuğrul'a ve sevgili dostum, saygıdeğer hocam Öğretim Görevlisi Çetin İZGİ'ye sonsuz sevgi, saygı ve Őükranlarımı sunarım. Bu tez çalıőmamı, bilimi arkasına alarak geleceğe ışık tutacak olan gerçek genç araştırmacı arkadaşlara adıyorum.

Ömer GÜLER

IĞDIR/2024

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
GRAFİKLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1.Yakıt Olarak Pirinç Kabuğunun Kullanımı	5
2.2. Kimya Endüstrisinde Pirinç Kabuğunun Kullanımı.....	5
2.3. Kozmetik Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:	6
2.4. İlaç Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:	6
2.5. Gıda Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:	6
2.6. İnşaat Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:.....	7
2.7.Seramik Endüstrisinde Baryum Silikat Kullanımı:	8
2.8. Yangına Dayanıklı Malzemelerde Baryum Silikat Kullanımı:	8
2.9.Kimyasal Endüstride Baryum Silikat Kullanımı:.....	8
2.10.Baryum Silikatların Endüstriyel Önemi ve Pirinç Kabuğunun Geri Dönüşümü .	8
2.11.İnşaat endüstrisinde pirinç kabuğunun kullanılması:	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1.Mikroorganizma	11
3.1.2.Substrat	13
3.1.3. Substratların Hazırlanması.....	14
3.2.Yöntem	15

3.2.1. Pirinç kabuğundan etanol üretim aşamaları.....	16
3.3. Cevap Yüzey Yöntemi	34
3.3.1. İkinci derece modellerde kullanılan tasarımlar.....	36
3.3.2.Cevap Yüzey Yönteminin Kullanıldığı Çalışmalar.....	36
3.4. Şeker Miktarı Tayini:	37
4. BULGULAR	49
4.1. Fermentasyon	53
4.2.Etil Alkol Üretim Optimizasyonu	60
4.2.1. Matematiksel model.....	61
4.2.2.ANOVA analiz sonuçları.....	61
4.2.3.Optimizasyon ve Sonuçlar.....	64
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	66
5.1. Ön İşlemsiz Asit Hidrolizi ve Verim Analizi.....	66
5.2. Araştırma Önerileri ve İleri Çalışmalar.....	66
5.2.1.Enzimatik ve alkali hidroliz.....	66
5.2.2. H ₂ SO ₄ konsantrasyonu ve otoklavlama süresi	67
5.2.3. Fermentasyon süresi ve verim	67
5.2.4. Substrat yoğunluğu ve etanol verimi	67
5.2.5.Alternatif azot kaynakları	67
5.2.6. Fermentasyon ortamları	67
5.2.8.Damıtma ve saflaştırma	68
5.2.9.HPLC ile etil alkol veriminin hesaplanması	68
KAYNAKLAR	70
EKLER.....	78
ÖZGEÇMİŞ.....	79

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
Abs	Absorbans
g	Gram
H₂SO₄	Sülfürik Asit
NaOH	Sodyum Hidro Oksit
rpm	Devir/Dakika
V	Volume(Hacim)
W	Weight(Ağırlık)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1:Pirinç kısımları	2
Şekil 2: Zymomonas mobilis	12
Şekil 3:Öğütülmemiş Osmancık pirinç kabuğu	16
Şekil 4:Öğütülmüş Osmancık pirinç kabuğu	17
Şekil 5:Öğütme cihazı.....	17
Şekil 6:Çalışmada kullanılan vakumlu etüv	18
Şekil 7:Çalışmada kullanılan infrared nem tayin cihazı (Mettler Toledo MJ33, Greifensee, Switzerland)	21
Şekil 8:Yakma işlemi uygulanmış öğütülmemiş Osmancık pirinç kabuğu	23
Şekil 9:Öğütülerek yakma işlemi uygulanmış Osmancık pirinç kabuğu [2 numaralı kroze üstte, 3 numaralı kroze altta]	24
Şekil 10:Yakma işlemi için kullanılan kül fırını (Carbolite marka ELF 11/14B model Birleşik Krallık menşeli)	25
Şekil 11:% 15 H ₂ SO ₄ çözeltisi ile 1 saat süreyle 121°C sıcaklıkta otoklavlanan ve başka işleme tabi tutulamayacak kadar yanan Osmancık pirinç kabuğu	30
Şekil 12:Çalışmada kullanılan otoklav	34
Şekil 13:Şeker ölçmek için kullanılan şeker ölçme aleti	39
Şekil 14:Çalışmalarda kullanılan spektrofotometre (Agilent Technologies marka Cary 60 UV-Vis model ABD menşeli)	42
Şekil 15:Spektrofotometrede okuma yapmak üzere hazırlanan örnekler	42
Şekil 16:Önişlemeden önce ve sonra lignoselüloz	49
Şekil 17:Glikoliz işlem basamakları (https://osmanesen.com.tr Erişim tarihi 05.04.2024)	53
Şekil 18:EMP ve ED yolunu gösteren metabolik harita	54
Şekil 19:İnkübatöre yerleştirilen üreme ortamları	55

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa No

Grafik 1: Rhina check ile yapılan ölçüm sonucu okunan şeker değerleri (1 numaralı çözeltilerde şeker oranı çok düşük, 2 numaralı çözeltilerde çok yüksek olduğu için cihaz tarafından okuma yapılamamıştır.)	39
Grafik 2: Spektrofotometre ile okunan değerler	41
Grafik 3: Rina check isimli şeker ölçüm cihazıyla okunan hidrolizatların şeker içerikleri	51
Grafik 4: Farklı yoğunluktaki asit hidrolizatlarının spektrofotometre ile 540 nm dalga boyunda okunan şeker değerleri.....	52
Grafik 5: Ağırlık-hacim farkından faydalanılarak deney sonrası etanol miktarını hesaplamak için hazırlanan H ₂ SO ₄ ve EtOH standart çözeltilerinin grafiği	56
Grafik 6: 28 °C Üreme ortamlarından elde edilen EtOH oranı	58
Grafik 7: 5 ve 6 numaralı grafiklerin karşılaştırılması.....	58
Grafik 8: 32°C sıcaklıkta üretilen EtOH grafiği	59
Grafik 9 : Design Expert programı ile elde edilen grafik	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1: Pirinç kabuğunun kullanım alanlarını gösterir bazı çalışmalar	4
Çizelge 2: Etanol fermentasyonunda en verimli mikroorganizmaların karşılaştırılması	11
Çizelge 3: Kültür ortamı kompozisyonu(pH=5).....	14
Çizelge 4: Üretim ortamı kompozisyonu(pH=5)	14
Çizelge 5: Daha önce yapılan çalışmalar neticesinde pirinç kabuğunun kimyasal bileşim analiz değerleri	20
Çizelge 6: Bu çalışma ile tespit edilen selüloz miktarı ve literatürde tespit edilen selüloz miktarı karşılaştırması	29
Çizelge 7: Şeker ölçümüne referans olarak hazırlanan çözeltilerin içerikleri	38
Çizelge 8: Rina Check isimli şeker ölçüm cihazıyla okunan referans değerler.....	38
Çizelge 9: Standart için hazırlanan çözeltilerin DNS çözeltisi ile spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunan değerleri	41
Çizelge 10: Çeşitli biyobozunurlardan etanol üretilen çalışmalar	45
Çizelge 11: Hazırlanan hidrolizatların Rina check isimli şeker ölçüm cihazıyla okunan değerleri.....	51
Çizelge 12: Spektrofotometrede dört farklı konsantrasyondaki hidrolizatta dört farklı okuma sonrası tespit edilen ortalama değerler (Okumalar 540 nm dalga boyunda yapılmıştır)	51
Çizelge 13: Standart oluşturmak için yapılan çözeltilerin ağırlıkları	56
Çizelge 14: Üreme ortamından farklı saatlerde alınan örneklerin etil alkol verimliliği ..	57
Çizelge 15: 32°C sıcaklıkta farklı süreler sonunda çözeltilerde bulunan EtOH yoğunluğunun gram cinsinden değeri	59
Çizelge 16: 28°C ve 32°C sıcaklıklarda farklı sürelerde elde edilen EtOH oranı	60
Çizelge 17: Ampirik tasarımlar ve cevaplar	60
Çizelge 18: ANOVA analizi sonuçları	62

1.GİRİŞ

Pirinç, buğdaygiller (Poaceae) ailesine ait olup, dünya genelinde buğday ve mısırdan sonra en fazla üretilen ve tüketilen tahıldır. Özellikle Asya ve Afrika'da olmak üzere, dünya genelinde yaygın bir temel gıda maddesi olarak tüketilmektedir. Pirinç, çeşitli iklim koşullarında yetiştirilebilmekle birlikte, genellikle bol yağış alan bölgelerde daha verimli bir şekilde üretilmektedir (Anonim A Erişim tarihi 18.01.2023)

Pirinç, suyu seven bir tahıl olarak bilinir ve genellikle su içinde yetiştirilir. Bu yöntem sayesinde, pirinç tarlada yetişirken zararlılardan korunur ve gübre, ilaç gibi ek ürünlere duyulan ihtiyaç azalır. Bu nedendir ki üretim maliyetinin çoğunu su oluşturur denilebilir.

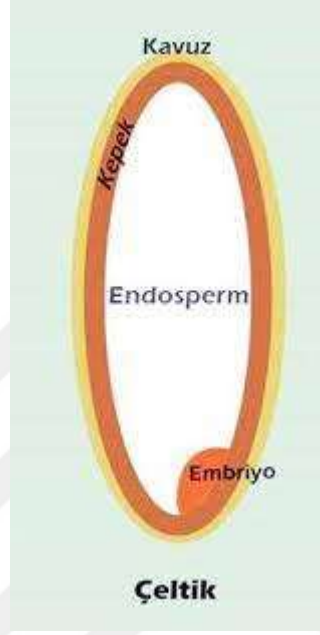
Türkiye'de pirinç üretimi ağırlıklı olarak Karadeniz ve Marmara bölgelerinde yapılmaktadır. Bu bölgeler, bol yağış almaları nedeniyle pirinç yetiştiriciliği için elverişli koşullar sunar ve bölge halkı için hem besin kaynağı hem de ekonomik bir geçim kaynağı oluşturur.

Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı verilerine göre, ülkemizde 129,490 hektar alanda yaklaşık 1 milyon ton çeltik üretimi gerçekleştirilmektedir. Bu üretimin yaklaşık 600 bin tonu pirinç, 400 bin tonu ise pirinç kabuğundan oluşmaktadır. Türkiye'de kişi başına yıllık ortalama 10 kg civarında pirinç tüketimi vardır. (Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı, 2022)

Çeltik' in biyolojik sınıflandırması şöyledir:

- Alem: Plantae
- Bölüm: Magnoliapytha
- Sınıf: Liliopsida
- Takım: Poales
- Familya: Poaceae
- Alt familya: Ehrhartoideae
- Cins: Oryza

Pirinç, yapısal olarak kavuz, kepek, endosperm ve embriyo gibi kısımlardan oluşur.



Şekil 1:Pirinç kısımları

Pirinç Tanesinin Bileşenleri ve Fonksiyonları

Embriyo: Embriyo, pirinç tanesinin genetik materyalini taşıyan ve yeni bir tanenin oluşumunu sağlayan kısımdır. Bu yapı, bitkinin üremesi ve gelişimi için hayati öneme sahiptir.

Endosperm: Endosperm, embriyonun yeni bir pirinç tanesi oluştururken ihtiyaç duyduğu karbonhidratı depolayan bölümdür. Halk arasında "pirinç" olarak bilinen beyaz taneli kısmı endospermdir.

Kepek: Kepek, pirinç tanesinin değirmenlenmeden önce kavuzun iç kısmında, tanenin dışında bulunan lif, antioksidan, mineral ve vitamin açısından zengin olan katmandır. Kepek, pirinç tanesinden % 8-10 oranında elde edilir ve içerdiği yaklaşık %20 oranındaki yağ ile önemli bir bitkisel yağ kaynağıdır (Özgül, 1991).

Kavuz: Kavuz, pirinç tanesini dış etmenlere karşı koruyan sert bir kabuk katmanıdır. (<https://sofrayakadar.com> Erişim tarihi 02.02.2023) Pirinç kabuğu olarak da bilinir ve su tutma özelliği sayesinde tanenin nemli kalmasını sağlar. Tüketilemeyen bu dış katman,

pirinç tanesinden uzaklaştırılır. Pirinç kabuğuyla birlikte, kabuklu haliyle pirinç "çeltik" olarak adlandırılır.

Pirinç kabuğu, pirinç tanesini dış etmenlere karşı koruyan sert bir dış kaplama ve kabuktan oluşan tabakadır. Bu yapı, pirinç tanesini zararlılar, rüzgâr ve su gibi çevresel faktörlere karşı korur, böylece tanenin bütünlüğünü ve sağlıklı gelişimini sağlar. (Pirinc.gen.tr, 2024)

Pirinç kabuğu, sert yapısının yanı sıra oldukça hafif ve biyobozunur bir üründür. İçerdiği silis ve karbon bileşenleri nedeniyle, insan metabolizması tarafından sindirilemez. Bu özellikler, pirinç kabuğunun hem dayanıklılığını artırır hem de doğada kolayca parçalanabilmesini sağlar. Ancak, pirinç kabuğunun biyobozunur yapısı, doğada çabuk parçalanmasına rağmen, kısa süreli de olsa çevresel kirliliğe yol açabilir.

Çalışmamızda kullanılan pirinç kabuğu, Çorum ilinin Osmancık ilçesinde bulunan yerel bir işletme olan Kanitemiz Pirinç Fabrikası'ndan ücretsiz olarak temin edilmiştir. Bu kabuklar, yüksek verimli *Osmancık-97* tohumundan üretilen pirinçlerden elde edilmiştir.

Çeltik, pirinç fabrikasına geldikten sonra değirmenler aracılığıyla kabuğundan ayrılarak günlük kullanım amacıyla pirinç formuna dönüştürülür. Pirinç kabuğu, bu işlem sırasında pirinçten ayrıldıktan sonra tarımsal bir yan ürün olarak değerlendirilebilir ve çeltiğin yaklaşık %40'ını oluşturur. Bu yüksek oranda pirinç kabuğu, eğer geri dönüştürülmeden atık olarak bırakılırsa, ciddi çevresel kirlilik yaratabilir ve aynı zamanda ekonomik kayıplara yol açabilir. Ancak, pirinç kabuğu, içerdiği bileşenler ve özellikler sayesinde çeşitli alanlarda geri dönüştürülerek katma değerli ürünlere dönüştürülebilir.

Bu tez çalışmasının konusu, Osmancık pirinci kabuğunun etanole dönüştürülmesidir. Bu süreç, pirinç kabuğunun atık olarak değerlendirilmesinin önüne geçilmesini ve aynı zamanda etanol gibi katma değeri yüksek bir ürünün elde edilmesini amaçlar. Böylece, pirinç kabuğunun oluşturabileceği çevresel atıklar engellenmiş olur ve bu atık, değerli bir ürün haline dönüştürülerek ekonomik ve çevresel faydalar sağlanmış olur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Araştırma sürecinde gerçekleştirilen literatür taramaları, pirinç kabuğunun çeşitli alanlarda kullanıldığını ve bu alanlarda yüksek verim sağlandığını ortaya koymuştur. Aşağıda, pirinç kabuğunun kullanım alanlarını gösteren bir çizelge ve bu alanlara ait bilgiler sunulmuştur.

- Asadullah Zaki ve Özlem Çelik Sola 2020 yılında yapmış oldukları çalışmada %8 oranda pirinç kabuğu külü katkılı harçlarda maksimum seviyede basınç dayanımı olduğunu gözlemlemiştir.
- Evre Sadıç 2008 yılında yapmış olduğu çalışmada pirinç kabuğu külünden magnezyum, kalsiyum, baryum, çinko ve alüminyum gibi silikatlar üretilbildiğini, bu silikatların adsorban olarak kullanılabileceğini kanıtlamıştır.
- Lütfullah Gündüz ile Şevket Onur Kalkan 2019 yılında yapmış oldukları çalışmada pirinç kabuğu külünün çimento yerine harçlarda kullanıldığında dayanımının daha fazla olduğunu ve inşaat maliyetlerini düşürebileceğini göstermişleridir.

Çizelge 1: Pirinç kabuğunun kullanım alanlarını gösterir bazı çalışmalar

	Literatür Taraması		
Kullanım Alanı	Eser Adı	Yazar Adı	Yılı
Yakıt olarak	Pirinç Kabuğu Külü Katkılı Harçların Dayanım Ve Dayanıklılık Özelliklerin Araştırılması	Asadullah Zaki, Özlem Çelik Sola	2020
Kimya endüstrisinde	Pirinç Kabuğu Külünden Çeşitli Silikaların Üretimi	Evre Sadıç	2008
İnşaat endüstrisinde	Pirinç Kabuğu Külünün Çimentolu Hafif Kompozit Harçlarda Dayanım Arttırıcı Katkı Olarak Kullanılması Üzerine Teknik Bir İnceleme	Lütfullah Gündüz, Şevket Onur Kalkan	2019

2.1.Yakıt Olarak Pirinç Kabuğunun Kullanımı

Dünyada ve ülkemizde pirinç kabuğu, katma değerli bir ürün olarak işlenmeden önce, kolayca tutuşabilmesi ve yüksek yanma seviyesine kısa sürede ulaşabilmesi nedeniyle tutuşturucu ve yakıt olarak kullanılmıştır.

Pirinç kabuğu, sobalarda günlük kullanım amacıyla tercih edilmesinin yanı sıra, yüksek yanma kapasitesi nedeniyle tuğla fabrikalarında ve elektrik üretiminde de yakıt olarak değerlendirilmiştir (Asadullah ve Çelik, 2020).

2.2. Kimya Endüstrisinde Pirinç Kabuğunun Kullanımı

Literatür taramaları, pirinç kabuğundan çeşitli silikatların üretildiğini göstermiştir. Bu silikatlar, pirinç kabuğunun kullanım alanlarını genişletmiştir. Pirinç kabuğundan üretilen silikatlar arasında kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), baryum (Ba), alüminyum (Al) ve çinko (Zn) silikatları bulunmaktadır. Bu silikatlar, kimya endüstrisinde farklı kullanım imkanları sağlamaktadır.

Pirinç kabuğu, içinde bulunan kalsiyum oksit (CaO) ve silis (SiO₂) bileşenleri sayesinde, çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılabilen kalsiyum silikatın (CaSiO₃) ana maddelerini içerir. Kalsiyum silikat, yüksek sıcaklıklara dayanıklı özellikleri ile bilinir ve bu nedenle endüstriyel ekipmanlarda yangın dayanımı sağlayan kaplamalar olarak, yalıtım malzemeleri olarak ve tarım sektöründe toprak iyileştirici olarak kullanılabilir.

Pirinç kabuğundan üretilen kalsiyum silikat, atık malzemelerin yeniden kullanımını sayesinde hem çevresel etkiyi azaltır hem de ekonomik fayda sağlar. Bu üretim genellikle termal işlem ve kimyasal reaksiyonlar yoluyla gerçekleştirilir. Ögütülerek ince toz haline getirilen pirinç kabuğu, belirli sıcaklık ve basınç koşullarında kalsiyum oksit ve silika ile reaksiyona sokulur. Sonuç olarak, kalsiyum silikatın istenen özelliklere sahip bir formu elde edilir.

Pirinç kabuğundan üretilen kalsiyum silikatın kullanım alanları oldukça geniştir:

- **İnşaat Sektörü:** Yalıtım malzemesi olarak kullanılarak binaların enerji verimliliğini artırır.
- **Yangın Dayanıklı Kaplamalar:** Yangına dayanıklı kaplamaların üretiminde kullanılabilir.

- **Endüstriyel Ekipmanlar:** Yüksek sıcaklıklara dayanıklı kaplama olarak, malzemenin ömrünü uzatabilir.
- **Tarım Sektörü:** Toprak pH'ını düzenleyerek bitki büyümesini destekler ve toprak verimliliğini artırır.

Magnezyum silikat, magnezyum, silikon ve oksijen elementlerinden oluşan bir mineral bileşiktir. Bu bileşik doğada yaygın olarak bulunur ve birçok farklı mineral formunda mevcut olup, en bilinen formu talk mineralidir. Magnezyum silikat, deterjan ve parfüm sanayilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel uygulamalarda oldukça çok yönlü bir malzeme olarak öne çıkar ve bu özellikleri sayesinde çeşitli alanlarda tercih edilmektedir (Carretero, 2002).

Magnezyum silikatlar genellikle beyaz veya soluk renkte olup, kimyasal olarak inert ve termal olarak kararlıdır. Bu bileşikler yüksek sıcaklıklara dayanıklı olup, elektriksel olarak yalıtıktır. Ayrıca, kimyasal olarak nötr olmaları nedeniyle asitlere ve bazlara karşı direnç gösterirler (Ghimire vd., 2009).

2.3. Kozmetik Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:

Magnezyum silikatlar, kozmetik endüstrisinde emülsifiye edici, dolgu maddesi ve opaklaştırıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikle talk pudralar ve cilt bakım ürünlerinde sıkça bulunurlar. Bu bileşiklerin kozmetik ürünlerdeki kullanımı, ürünlerin formülasyonlarını stabil hale getirmeye ve ürünlerin estetik özelliklerini geliştirmeye yardımcı olur.

2.4. İlaç Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:

Farmasötik preparatlarda magnezyum silikatlar, tabletlerin yapılarına katkıda bulunarak aktif bileşenlerin homojen dağılımını sağlar. Ayrıca, mide asidini nötralize etmek amacıyla antiasit ilaçlarda da kullanılmaktadırlar. Bu bileşiklerin kullanımı, ilaçların etkinliğini ve formülasyonlarının stabilitesini artırır.

2.5. Gıda Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:

Gıda endüstrisinde magnezyum silikatlar, anti-kabarcık maddeleri, dolgu maddeleri ve akış iyileştiriciler olarak kullanılmaktadır. Bu bileşikler, özellikle çikolata, unlu mamuller ve çeşitli paketlenmiş gıda ürünlerinde bulunur. Magnezyum silikatların kullanımı, ürünlerin fiziksel özelliklerini iyileştirir ve üretim süreçlerinde verimliliği artırır.

2.6. İnşaat Endüstrisinde Magnezyum Silikat Kullanımı:

Magnezyum silikatlar, inşaat endüstrisinde izolasyon panelleri, yangına dayanıklı kaplamalar, çimento katkıları ve hafif dolgu malzemeleri gibi çeşitli yapı malzemelerinde kullanılmaktadır. Termal izolasyon ve yangın dayanımı gibi özellikleri nedeniyle, bu bileşikler inşaat sektöründe yaygın olarak tercih edilmektedir.

Magnezyum silikatlar, endüstriyel uygulamalarda önemli bir rol oynar. Özellikle metal işleme endüstrisinde döküm kalıplama ajanı olarak kullanılırlar. Ayrıca, kağıt endüstrisinde dolgu maddesi ve boya endüstrisinde matlaştırıcı ve opaklaştırıcı olarak görev alırlar. Bu özellikleri sayesinde, magnezyum silikatlar çeşitli endüstriyel süreçlerin verimliliğini artırır ve ürünlerin performansını iyileştirir.

Magnezyum silikatlar, geniş bir kullanım yelpazesine sahip çok yönlü ve değerli malzemelerdir. Kozmetik, ilaç, gıda ve inşaat endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmasının yanı sıra, endüstriyel uygulamalarda da çeşitli avantajlar sunarlar. Bu özellikleri sayesinde magnezyum silikatlar, birçok endüstriyel süreçte önemli bir rol oynar ve çeşitli ürünlerin üretiminde vazgeçilmez bir malzeme haline gelmiştir. Bu bağlamda, pirinç kabuğunun magnezyum silikata dönüştürülebilmesi, onu sadece bir atık olmaktan çıkararak değerli bir yan ürün haline getirir.

Baryum silikat, baryum ve silikon elementlerinden oluşan bir bileşiktir ve çeşitli endüstriyel uygulamalarda yaygın olarak kullanılan bir malzemedir. Baryum silikat genellikle beyaz veya hafif sarı renkte, kristal yapılı bir malzeme olarak bulunur. Kimyasal olarak inert ve termal olarak kararlıdır, yüksek sıcaklıklara dayanıklı olup elektriksel olarak yalıtkandır. Ayrıca, baryum silikatlar çoğunlukla orta derecede çözünürler.

Endüstriyel uygulamalarda, baryum silikat seramik ve cam sanayii gibi geleneksel alanlarda kullanıldığı gibi, gelişen teknoloji ile güneş pili üretiminde de kullanılmaktadır. Bu kullanım alanları, baryum silikatın çeşitli endüstriyel süreçlerdeki önemini ve çok yönlülüğünü göstermektedir.

Baryum silikat, genellikle kimyasal reaksiyonlar yoluyla sentezlenir. Çeşitli sentez yöntemleri mevcut olmakla birlikte, en yaygın yöntem, baryum bileşiklerinin ve silika kaynaklarının uygun koşullarda tepkimeye girmesiyle baryum silikatın elde edilmesidir. Bu reaksiyonlar genellikle yüksek sıcaklık ve basınç altında gerçekleştirilir,

bu sayede baryum silikatın istenen özelliklere sahip kristal yapılı bir malzeme olarak oluşması sağlanır.

Baryum silikatlar, cam üretiminde opaklaştırıcı ajanlar olarak kullanılmaktadır. Bu malzemeler, camın optik özelliklerini kontrol etmek ve istenmeyen bölümleri maskelemek amacıyla uygulanır. Baryum silikatın bu özellikleri, cam ürünlerinin estetik ve fonksiyonel performansını iyileştirmeye yardımcı olur.

2.7.Seramik Endüstrisinde Baryum Silikat Kullanımı:

Baryum silikatlar, seramik malzemelerin üretiminde opaklaştırıcı maddeler olarak kullanılmaktadır. Bu kullanım, seramiklerin görünümünü ve estetik özelliklerini geliştirmeye yardımcı olur. Baryum silikatın opaklaştırıcı özellikleri, seramik ürünlerin yüzey kalitesini ve görsel etkisini artırır.

2.8. Yangına Dayanıklı Malzemelerde Baryum Silikat Kullanımı:

Baryum silikatlar, yangına dayanıklı kaplamaların ve malzemelerin üretiminde kullanılmaktadır. Bu malzemeler, yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır ve yangın söndürme sistemlerinde yaygın olarak tercih edilir. Baryum silikatın bu özellikleri, yangın güvenliği açısından önemli avantajlar sağlar ve malzemelerin performansını artırır.

2.9.Kimyasal Endüstride Baryum Silikat Kullanımı:

Baryum silikatlar, kimyasal sentez reaksiyonlarında katalizör olarak veya çeşitli kimyasal proseslerde katalitik ajanlar olarak kullanılmaktadır. Bu kullanım, baryum silikatların reaksiyon hızını artırma ve belirli kimyasal dönüşümleri yönlendirme yeteneklerini öne çıkarır, bu sayede endüstriyel kimyasal süreçlerin etkinliğini artırır.

2.10.Baryum Silikatların Endüstriyel Önemi ve Pirinç Kabuğunun Geri Dönüşümü

Baryum silikatlar, geniş bir endüstriyel uygulama yelpazesine sahip değerli malzemelerdir. Cam ve seramik endüstrisinden yangına dayanıklı malzemelere kadar çeşitli alanlarda kullanılmaktadırlar. Kimyasal olarak kararlı ve yüksek sıcaklıklara dayanıklı olmaları, baryum silikatları birçok endüstriyel süreçte önemli bir malzeme haline getirir. Bu özellikleri sayesinde, pirinç kabuğundan üretilebilecek baryum silikatlar, pirinç kabuğunu sadece bir atık olmaktan çıkarıp değerli bir geri dönüşüm ürünü haline getirir.

Çinko silikatlar, pasa dayanıklılıkları sayesinde darbe ve yıpranmaya karşı mukavemet sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca, gıda sanayinde topak önleyici ajan olarak E557 numarasıyla gıda etiketlerinde yer alabilirler. Çinko silikat, çinko ve silikon elementlerinden oluşan bir bileşiktir ve çeşitli endüstriyel uygulamalarda önemli bir malzeme olarak kullanılmaktadır.

Çinko silikat, genellikle beyaz veya soluk sarı renkte olan, kristal yapıya sahip bir malzemedir. Kimyasal olarak inert ve termal olarak kararlıdır. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır ve elektriksel olarak yalıtkandır. Ayrıca, çinko silikatlar genellikle orta derecede çözünürler.

Çinko silikatlar sıklıkla kimyasal reaksiyonlar yoluyla sentezlenir. Bu süreç, çinko bileşiklerinin ve silika kaynaklarının uygun koşullarda tepkimeye girmesiyle gerçekleşir. Sentez işlemi genellikle belirli sıcaklık ve basınç koşullarında gerçekleştirilir.

Çinko silikatlar, çeşitli endüstriyel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle cam ve seramik endüstrilerinde opaklaştırıcı ajanlar olarak, yangına dayanıklı kaplamaların üretiminde ve kimyasal endüstride katalizörler olarak kullanılırlar.

Alüminyum silikatlar, kablo imalatında, yapıştırıcılarda, mürekkep üretiminde ve diğer endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadır. Ayrıca, boya ve plastik sanayinde önemli bir bileşen olarak karşımıza çıkar. Bu kullanımlar, alüminyum silikatların pirinç kabuğunun geri dönüşümüne katkıda bulunarak kullanım alanlarını genişletir. Pirinç kabuğunda bulunan alüminyum silikat, endüstriyel kullanımlar için önemli bir malzeme olarak değerlendirilmektedir.

Alüminyum silikatlar, alüminyum, silikon ve oksijen elementlerinin birleşiminden oluşan mineral bileşiklerdir. Bu tür bileşikler genellikle seramik endüstrisinde, refrakter (dayanıklı) malzemelerin üretiminde ve yalıtım malzemelerinde kullanılır. Pirinç kabuğundan alüminyum silikat üretimi, atık malzemelerin geri dönüşümüne ve çevresel sürdürülebilirliğe katkı sağlayabilir.

Tüm bu bilgiler ışığında, pirinç kabuğundan üretilen silikatların, özellikle boya ve vernik üretimi alanında önemli bir yere sahip olduğu söylenebilir (Evre, 2008).

2.11.İnşaat endüstrisinde pirinç kabuğunun kullanılması:

Nüfus artışı, günümüzde en büyük problemlerden biridir ve bu durum çeşitli sorunlara yol açmaktadır (Kılıcoğlu vd., 2020). Bu sorunların başında kentleşme gelmektedir. Nüfus artış hızına paralel olarak inşa edilen binalar, dayanıklılık açısından birtakım verimsizlikler ortaya çıkarabilmektedir. Binaların yapı malzemesi genellikle betondur ve betonun ana maddesi çimentodur. Çimento, beton üretiminde birçok ikame madde ile kullanılabilir (Chi vd., 2019; Cho vd., 2019; Li vd., 2020). Beton üretiminde çimento ikame ürünlerinin kullanımı hem beton maliyetlerini azaltma hem de çeşitli atık malzemelerin değerlendirilmesi ve geri dönüştürülmesi açısından fırsatlar sunmaktadır (Bayraktar vd., 2019).

Pirinç kabuğu, önceleri tarımsal atık olarak değerlendirilen bir madde olmasına rağmen, son yıllarda kıymeti anlaşılmış bir yan ürün olarak ele alınmaktadır. Çimento üretiminde ikame madde olarak pirinç kabuğu kullanımı, yapılan çalışmalarla desteklenmektedir. Özellikle pirinç kabuğunun kül formunda değerlendirilmesi, beton üretiminde daha verimli sonuçlar verdiği kanıtlanmıştır. Çimento ile %8 oranında karıştırılan pirinç kabuğu külü ile üretilen betonun, saf çimento ile üretilen veya farklı oranlarda pirinç kabuğu külü içeren betonlardan daha maliyet etkin ve sağlam olduğu belirtilmiştir (Zakı vd., 2020).

Yapılan literatür taramaları özetle, pirinç kabuğunun çevresel kirliliğe neden olan bir tarımsal atık değil, içeriğindeki mineral maddeler sayesinde pek çok farklı alanda katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülebilen verimli bir tarımsal yan ürün olarak değerlendirilmesinin uygun olduğunu göstermektedir. Pirinç kabuğu, biyobozunur bir yan ürün olarak ele alındığında hem çevresel kirliliğin azaltılmasında hem de ekonomik kazanç sağlanmasında önemli faydalar sunabilen bir üründür.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

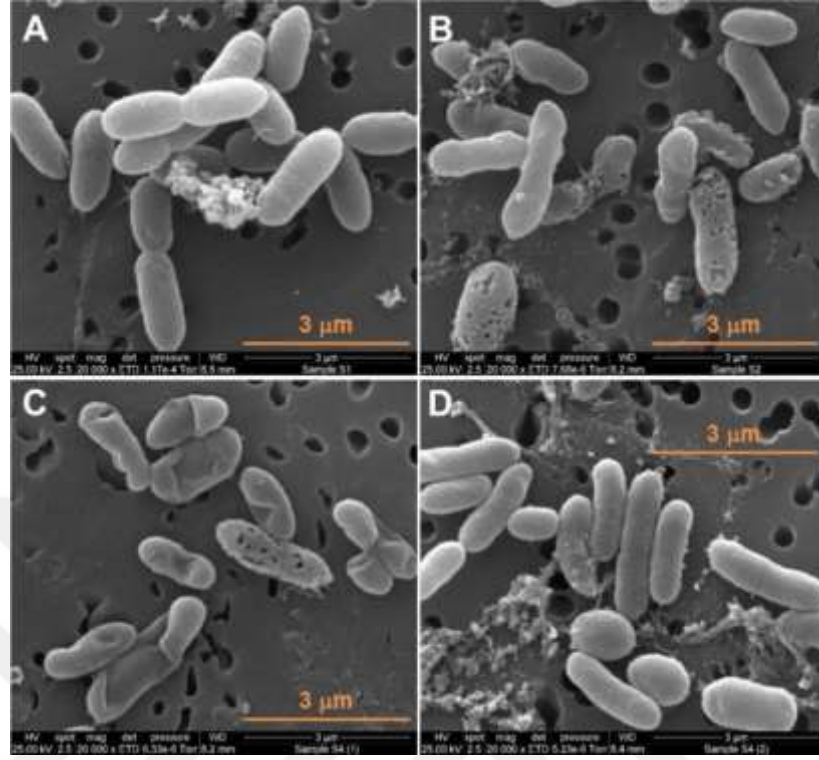
3.1.1. Mikroorganizma

Çizelge 2: Etanol fermentasyonunda en verimli mikroorganizmaların karşılaştırılması

ORTAM	MİKROORGANİZMA			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Zymomonas mobilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Pichia stipitis</i>
D-Glikoz Fermentasyonu	P	P	P	P
D-Galaktiz ve D-Mannoz Kullanımı	P	N	P	P
Pentoz Kullanımı (D-Ksiloz, L-Arabinoz)	P	N	N	P
Hemiselüloz Kullanımı	N	N	N	Z
Anaerobik Fermentasyon	P	P	P	Z
Karma Ürün Oluşumu	P	Z	Z	Z
Glikozdan Yüksek Etanol Verimi	N	P	P	Z
Etanol Toleransı	Z	Z	P	Z
Lignoselüloz Türevi İnhibitörlere Karşı Tolerans	Z	Z	P	Z
Asidik pH Uyumu	N	N	P	Z

P:Pozitif, N:Negatif, Z:Zayıf

Bu çalışmada, çizelge 2'den de anlaşılacağı üzere etil alkol fermentasyonunda verimli sonuçlar ortaya çıkaran mikroorganizmalardan olan ve Üniversitemiz envanterinde bulunan bir mikroorganizma olan *Zymomonas mobilis* tercih edilmiştir. Bu mikroorganizma, Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ALUM) envanterinden temin edilmiştir. Özellikle bu tez çalışması için *Zymomonas mobilis* subspecies *mobilis* NRRL B-14023 suşu kullanılmıştır.



Şekil 2: *Zymomonas mobilis* (Palamae vd., 2020)

Bu çalışmanın tamamı, Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan teknik cihaz ve aletlerin büyük bir kısmı, bu laboratuvarlarda mevcut olan ve kullanılan cihaz ve aletlerdir.

Çalışmada, mikroorganizma için iki farklı besiyeri kullanılmıştır: üretim besiyeri ve kültür besiyeri. Üretim besiyeri, *Zymomonas mobilis*'in üreyip çoğalması için hazırlanmış olup, kültür besiyeri ise mikroorganizmanın uygun koşullar altında kültürünü koruyarak özelliklerini kaybetmeden saklanmasını sağlamak amacıyla hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerlerinde, çalışmanın amacına uygun olacak şekilde çeşitli oranlarda farklı besinler kullanılmıştır. Kullanılan besinler ve oranlar hakkında detaylı bilgi ilerleyen sayfalarda verilecektir.

Çalışmada kullanılan *Zymomonas mobilis*, anaerobik, fakültatif gram negatif ve spor oluşturmeyen bir etanolojik bakteridir. Çubuk şeklindeki bu bakteri, etil alkol üretimi için pirüvat dekarboksilaz ve alkol dehidrogenaz gibi anahtar enzimler eşliğinde Entner-Doudoroff (ED) yolunu kullanarak şekeri metabolize eder. (Xia vd., 2019)

Zymomonas mobilis subspecies *mobilis* NRRL B-14023 suşu, kültür besiyeri ortamında +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Yeni ekimi yapılan mikroorganizmanın, 28 °C sıcaklıkta 1 gün boyunca gelişmesi beklenmiştir. (Şılbır, 2013)

3.1.2.Substrat

Bu çalışmada, şeker içeriği yüksek olan ve geri dönüştürülebilirliği mümkün olabilecek tarımsal bir yan ürün kullanımı tercih edilmiştir.

Özellikle, ülkemizde kolaylıkla temin edilebilmesi, atık olarak değerlendirildiğinin bilinmesi ve yüksek şeker oranı nedeniyle pirinç kabuğu seçilmiştir. Pirinç kabuğu, atık olarak kullanıldığında çevreye kirlilik oluşturabilecek bir tarımsal yan ürün olarak, çalışmanın amacına uygun bir malzeme olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan pirinç kabuğu 1982 yılında TAGEM tarafından İtalyan kökenli Rocco ile kökeni bilinmeyen Avrupa pirinçlerinin melezlenmesi sonucu elde edilen ve 1997 yılında tescil edilen Osmancık-97 çeltik çeşidinden elde edilen pirinç kabuğudur.

Osmancık-97'nin çeltik verimi FAO verilerine göre 905 kg/da ile 2011 yılında Türkiye'de ilk sırada yer almıştır. (Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı, 2022)

Kullandığımız Osmancık pirinç kabuğu Çorum ili Osmancık ilçesinde bulunan ve çeltik üretim fabrikası olarak faaliyet gösteren Kanitemiz Pirinç Fabrikasından ücretsiz olarak temin edilmiştir. 2022 yılının yeni mahsülü olan Osmancık pirincinden ayrılan kabuklar depolama yapılmaksızın kullanılmıştır.

Yukarıda bahsedildiği üzere, ana besin kaynağı olarak pirinç kabuğunun kullanıldığı üretim besiyeri ve kültür besiyerleri hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerlerinin içeriğine ait oransal ortam kompozisyonları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3:Kültür ortamı kompozisyonu(pH=5)

BİLEŞEN	MİKTAR(g/l)
Sükroz	5
Maya Ekstraktı	0,7
KH ₂ PO ₄	0,25
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,16
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1

Çizelge 4:Üretim ortamı kompozisyonu(pH=5)

BİLEŞEN	MİKTAR(g/l)
Pirinç Kabuğu	10
Maya Ekstraktı	0,1
Pepton	0,05
KH ₂ PO ₄	0,02
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,01
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05

Örneklerde pH okumaları, METTLER TOLEDO S220-K Seven Compact marka pH metre ile gerçekleştirilmiştir. Cihazın kalibrasyonu, düzenli aralıklarla standart pH tampon çözeltileri kullanılarak yapılmıştır.

Yukarıda verilen oranlarda bileşenler, *Zymomonas mobilis* için iki farklı besiyerinde kullanılmış ve optimum verim elde edilmiştir. Bu besiyerlerinin hazırlanması ve aşılama ile ilişkin detaylı bilgiler, çalışmanın yöntem kısmında, substratların hazırlanması bölümünde kapsamlı bir şekilde açıklanacaktır.

3.1.3. Substratların Hazırlanması

Z. mobilis'in aktif hücrelerinin üretilmesi amacıyla kullanılan kültür ortamı, Çizelge 2'de belirtilen bileşen oranlarına göre hazırlanmıştır. Bu bileşenlerin oranları, kültür ortamının etkinliğini ve verimliliğini önemli ölçüde artırmıştır. Hazırlanan

substratlar, *Z. mobilis* hücrelerinin büyüme ve çoğalma süreçlerini optimize etmek amacıyla dikkatlice seçilmiştir.

Bu doğrultuda, analitik saflıkta 5 g/l sükröz, 0,7 g/l maya ekstraktı, 0,25 g/l KH_2PO_4 , 0,16 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve 0,1 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kullanılmıştır.

Bu bileşenlere *Z. mobilis* ekimi yapılmış ve pH 5 olan ortamda, 28°C sıcaklıkta bir inkübatörde 54 saat süreyle inkübasyon gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon sürecinin ardından, *Z. mobilis*'in üreme ortamı için uygun koşullar sağlandıktan sonra, kültür ortamından alınan hücreler üreme ortamına aşılanmıştır. Üreme ortamında, Çizelge 3'te verilen değerlerde ve analitik saflıkta besinler kullanılmıştır. Hazırlanan besiyeri, 0,1 g maya ekstraktı, 0,05 g pepton, 0,01 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,02 g KH_2PO_4 ve 0,05 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ içermektedir.

pH 5 olacak şekilde ayarlanan bu besiyerine, dört tekrar olacak şekilde aşılama yapılmış ve sonuçlar dikkatle gözlemlenmiştir.

3.2.Yöntem

PİRİNÇ KABUĞUNUN TEMİZLENMESİ ve ÖĞÜTÜLMESİ

(Osmancık pirinç kabuğu kirinden ve tozundan arındırılmak için yıkanır, kurutulur ve ardından yüzey etki alanını artırmak amacıyla öğütülür.)



SEYRELTİK ASİT İLE HİDROLİZ

(Osmancık pirinç kabuğu öğütüldükten sonra seyreltik asit ile hidrolize edilir.)



FERMENTASYON

(Osmancık pirinç kabuğu hidrolizatı fermentasyona hazır olduğu için pH 5, sıcaklık 28 °C ve 32 °C, çeşitli saat aralıklarında *Z. mobilis* ile fermentasyona maruz bırakılarak etanol eldesi beklenir.)

3.2.1. Pirinç kabuğundan etanol üretim aşamaları

- Pirinç kabuğunun yıkanması ve öğütülmesi
- Pirinç Kabuğunun Kimyasal Analizi
- Seyreltik Asit Hidrolizi
- Fermentasyon

3.2.1.1. Pirinç kabuğunun yıkanması ve öğütülmesi:

Pirinç, buğdaygiller (Poaceae) familyasından otsu bir bitki çeşididir. Osmancık pirinci, Türkiye'nin Çorum iline bağlı Osmancık ilçesinde yetişen ve adını bu bölgeden alan bir pirinç türüdür. Osmancık-97 tohumundan elde edilen bu pirinç, ülkemizdeki pirinç üretiminin büyük bir kısmını temsil etmektedir. Uzun taneli bir pirinç türü olan Osmancık pirinci, TR-427 ıslah koduna sahiptir. Osmancık-97 tohumu, 06.08.1997 tarihli Resmî Gazete ile tescillenmiştir (RG, 06.08.1997, Sayı 23072).

Osmancık pirinci kabuğu, yüzey alanını genişletmek ve etki alanını artırmak amacıyla öğütme işlemine tabi tutulmuştur. Öğütmenin amacı, uygulanacak hidrolizattan maksimum verimi elde etmektir. Ancak öğütme işlemine başlamadan önce pirinç kabuğunun tozdan ve kirden arındırılması gerekmektedir. Bu nedenle çalışmada kullanılan Osmancık pirinç kabuğu, yıkama suyu kendi rengine dönene kadar yaklaşık 5-7 sefer yıkanmıştır. Yıkanan pirinç kabukları, ardından vakumlu etüvde 80°C sıcaklıkta, 24 saat süreyle bekletilerek kurutulmuştur. Kurutulan kabuklar, Iğdır Üniversitesi laboratuvarında bulunan IKA MF10 basic marka model öğütücü ile öğütülmüştür.



Şekil 3:Öğütülmemiş Osmancık pirinç kabuğu



Şekil 4:Öğütülmüş Osmancık pirinç kabuğu



Şekil 5:Öğütme cihazı

IKA MF10 Basic marka öğütücü, 3000-6500 rpm hız aralığında çalışabilen, 230 V voltajlı, 50/60 Hz frekansında ve 1000 Watt güç girdisine sahip bir cihazdır. Bu cihaz, Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde kullanılmıştır.



Şekil 6:Çalışmada kullanılan vakumlu etüv

Kurutma işlemleri için, Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde kullanılan Binder marka, Almanya menşeli vakumlu etüv tercih edilmiştir. Bu etüv, 1.20 kW güç, 230 V voltaj, 5,3 A akım ve 50-60 Hz frekansta çalışmakta olup, 200°C sıcaklığa ulaşabilme kapasitesine sahiptir.

3.2.1.2. Pirinç kabuğunun kimyasal analizi:

Osmancık pirinç kabuğunun kimyasal analizi, pirinç kabuğunun içerdiği selüloz miktarını belirlemeyi ve böylece pirinç kabuğunun etanol üretimine uygunluğunu değerlendirmeyi amaçlamıştır. Selüloz miktarı düşük olan bir materyalden etanol elde edilmesi, verimin de düşük olacağı anlamına gelmektedir ve bu durumda Osmancık pirinç kabuğunun etanol üretimi için uygun olmadığı sonucuna varılabilir. Ancak yapılan analizler, Osmancık pirinç kabuğunun uygun oranlarda selüloz içerdiğini göstermiştir. Bu nedenle, çalışma Osmancık pirinç kabuğu kullanılarak devam edilmiştir.

Analizin temel amaçlarından biri, Osmancık pirinç kabuğunun lignoselülozik içeriğini tayin etmek ve bu lignoselülozik yapıyı işleme tabi tutarak parçalamaktır.

Lignoselülozik maddelerin kimyasal bileşimlerinde genellikle ana unsurlar olarak lignin, hemiselüloz ve selüloz bulunur.

Kızılduman'ın (2020) yapmış olduğu literatür taraması sonucunda, dünya genelinden bilim insanlarının farklı pirinç kabukları üzerinde gerçekleştirdiği analizlere ilişkin veriler Çizelge 4'te özetlenmiştir.

Çizelge 5:Daha önce yapılan çalışmalar neticesinde pirinç kabuğunun kimyasal bileşim analiz değerleri (Kızılduman, 2020)

ÖRNEK	Selüloz	Hemiselüloz	Lignin	Ekstarkt Madde	Kül
Blasi, 1999	24	24	14	8	15
Bakırcıoğlu, 2004	38	18	22		
Liou, 2004	36	22	27	6	11
Srivastava, 2006	32	21	21		
Guo ve Rockstraw, 2007	28-36		9-20		
Liou ve Wu, 2009	35	22	27		11
Ahmaruzzaman ve Gupta, 2011	29-34	20-29	19-31	2	15-17
Toniazzo, 2013	35	21	20		19
Danish, 2015	38	11	40		15
Naqvi, 2015	42	21	26		12
Marrugo,2016	40	25	36		22
Prakash ve Sheeba, 2016	35	27	20		18

Literatürde yapılan çalışmalar, kullanılan pirinç kabuğu türüne bağlı olarak kimyasal içerikte farklılıklar olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, Osmancık pirinç kabuğunun kimyasal içeriğinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Li vd., 2004 yılında gerçekleştirdiği kimyasal bileşim analizi sonuçları referans alınarak, Osmancık pirinç kabuğunun kimyasal analizi yapılmış ve kül miktarı, ekstrakt madde miktarı, hemiselüloz miktarı, lignin ve selüloz içerikleri tayin edilmiştir. Ayrıca, Li vd., çalışmalarındaki analizlere ek olarak, Osmancık pirinç kabuğunun nem miktarı

da belirlenmiştir. Nem oranının azaltılması, kimyasal içerik hakkında daha doğru bilgi elde edilmesini sağlamaktadır.

a) Nem miktarı tayini:

Tozundan ve kirinden arındırmak için yıkanan Osmancık pirinç kabuğu süzülerek bir tepsiye alındı ve 80°C sıcaklıkta 12 saat süreyle etüvde kurutuldu. Ardından darasız ağırlığı yaklaşık 3 gr olan Osmancık pirinç kabuğu infrared nem ölçere alınarak 115°C sıcaklıkta ve birkaç dakika bekletilerek nem ölçümü yapıldı ve bu standartlarda Osmancık pirinç kabuğunun nem oranı %0,34 olarak okundu.



Şekil 7:Çalışmada kullanılan infrared nem tayin cihazı (Mettler Toledo MJ33, Greifensee, Switzerland)

b) Kül miktarı tayini:

İşlemede kullanılacak porselen krozeler pirinç kabuğunu yakma sıcaklığında kül fırını içerisinde kurutulmuş, desikatörde soğutularak sabit tartıma getirilmiş ardından tartılmıştır. **(a1)** Krozeye 3 gr ağırlığında Osmancık pirinç kabuğu eklenerek net ağırlık tartılmıştır. **(a2)** İçinde pirinç kabuğu olan kroze üstü açık olarak kül fırınına

yerleştirilmiş, kül fırının sıcaklığı kademeli olarak 575 °C sıcaklığa çıkarılarak pirinç kabuğu alev almadan tüm karbon giderilerek beyaz kül oluşana değin yakma işlemi uygulanmıştır. Yakma işlemi sonucunda rezidü desikatör içine alınarak soğuması sağlanmış ve sabit tartıma gelmesi sağlanarak tartılmıştır. **(a3)** Yapılan işlemler neticesinde Osmancık pirinç kabuğundaki kül miktarını hesaplamak için şu denklem kullanılmıştır.

$$\%kül = \frac{a3 - a1}{a2 - a1} * 100$$

Osmancık pirinç kabuğundaki kül miktarı hesaplanırken aynı anda 3 farklı örnek kullanılarak mukayeseli hesaplama yapılmıştır. Buna göre 1. Örnekte öğütülmemiş Osmancık pirinç kabuğu, 2. Örnekte öğütülmüş Osmancık pirinç kabuğu 3. Örnekte yine öğütülmüş Osmancık pirinç kabuğu kullanılmış fakat bu defa içine 2 ml etanol eklenerek yakma işlemi uygulanmıştır.

Yukarıda bahsi geçen işlemlere istinaden 1 numaralı kroze kül fırınına atılmış ve yakma sıcaklığına eriştikten sonra desikatörde soğutularak sabit tartıma getirilerek tartılmış ve a1 ağırlığı 53,8533 gr olarak okunmuştur. Bu numuneye 3 gr öğütülmemiş Osmancık pirinç kabuğu eklenip sabit tartıma getirilip tartılınca a2 ağırlığı 56,8517 gr olarak okunmuştur. 3 saatlik yakma süresi sonunda kül fırınında alınan rezidü desikatörde soğutularak sabit tartıma getirilmiş ve a3 ağırlığı 54,5757 gr olarak okunmuştur. Bu veriler eşliğinde yukarıda verilen denklem uygulandığında;

$$\%kül = \frac{54,5757-53,8543}{56,8517-53,8543} * 100 = \%24,0675 \text{ olarak hesaplanmıştır.}$$



Şekil 8:Yakma işlemi uygulanmış öğütülmemiş Osmancık pirinç kabuğu

Aynı işlemler 2 numaralı kroze için uygulandığında 2 numaralı örnekte a1, a2, a3 ağırlıkları aşağıdaki gibi okunmuştur:

a1:63,6310 gr

a2: 66,6311 gr

a3: 64,3569 gr

Bu değerler denklemdeki yerlerine yerleştirildiğinde;

$$\%k\ddot{u}l = \frac{64,3569-63,6310}{66,6311-63,6310} * 100 = \%24, 1886 \text{ olarak hesaplanmıştır.}$$

3 numaralı porselen krozeeye yakmayı kolaylaştırması için 2 ml etanol ilave edilmiş ve işlemler tekrarlandığında, şu sonuçlar elde edilmiştir.

a1:46,4479 gr

a2: 49,4458 gr

a3: 47,1799 gr

Bu veriler denklemde yerlerine yerleştirildiğinde;

$$\%k\ddot{u}l = \frac{47,1799-46,4479}{49,4458-46,4479} * 100 = \%24,4170 \text{ olarak hesaplanmıştır.}$$

Her üç örnekten elde edilen sonuçlar kıyaslandığında;

rnek 1= %24,0675

rnek 2=%24,1886

rnek 3=%24,4170

Elde edilen sonuçların birbirleriyle neredeyse aynı olduğu görülmektedir.



şekil 9:gtlerek yakma işlemi uygulanmış Osmancık pirinç kabuğu [2 numaralı kroze üstte, 3 numaralı kroze altta]

*1 numaralı porselen krozede üç saatlik yakma işlemi sonrası beyaz kül oluşumu gözlemlenirken, 2 ve 3 numaralı krozelerde iki saatlik yakma işlemi sonunda beyaz kül oluşumu gözlemlenmiştir.



Şekil 10:Yakma işlemi için kullanılan kül fırını (Carbolite marka ELF 11/14B model Birleşik Krallık menşeli)

Yakma işlemleri için kül fırını olarak Iğdır Üniversitesi ALUM laboratuvarlarında kullanılmakta olan Carbolite marka, Birleşik Krallık menşeli, 2000 watt, 220 volt, 1 faz, 50-60 Hertz özelliklerinde cihaz kullanılmıştır.

c) Ekstrakt madde miktarı tayini:

Osmancık pirinç kabuğundaki ekstrakt madde miktarını belirlemek bir önceki işlemlerin devamı sağlanmış olup yine Li vd.adaşlarının 2004 yılında yapmış oldukları çalışmanın basamakları takip edilmiştir.

a0: başlangıçta yıkanıp kurutulan pirinç kabuğu ağırlığı (gr)

a4: benzen/etanol eklenmiş, süzölmüş, kurutulmuş pirinç kabuğu ağırlığı (gr)

$$\%ekstrakt = a0 - \frac{a4}{a0} * 100$$

Buna göre işlemlerin başlangıcında yıkanan, süzölüp kurutulan Osmancık pirinç kabuğu tartılmış (a0), 2:1 hacimde benzen/etanol karışımı eklenerek sabit sıcaklıkta 3 saat süreyle karıştırılmış ve süre sonunda süzölmüştür. Ele geçen rezidü 105°C-110°C sıcaklık aralığında sabit tartıma gelene kadar etüvde kurutulmuştur. Etüvden çıkarılan rezidü desikatörde soğutulmuş ve sabit tartıma getirilip tartılmıştır(a4).

800 ml beher içine (a0) 24 gr ağırlığında Osmancık pirinç kabuğu, 1/10 (w/v) oran olacak şekilde ve 2/1 (v/v) oranda benzen/etil alkol karışımı eklenmiş (160 ml benzen/80 ml etil alkol), manyetik karıştırıcı kullanılarak 250 rpm ve 30°C sabit sıcaklıkta 3 saat süreyle karıştırılmıştır. Karışım işlemi bitirilen rezidü sabit tartıma getirilmiş ve kaba filtre kağıdı yardımı ile süzölmüştür. Süzölen rezidü 80°C sıcaklıkta 15 saat süreyle kuruması için etüvde bekletilmiştir. Kurutulan rezidü desikatörde soğutulduktan sonra sabit tartıma getirilerek tartılmış ve darasız ağırlığı 22,286 gr (a4) olarak okunmuştur.

Li vd.,denklemine göre verilen değerler yerleştirildiğinde;

$$\%ekstrakt = 24 - \frac{22,2846}{24} * 100 = \%7,1475 \text{ olarak hesaplanmıştır.}$$

*Süzme işlemleri için Borox marka 125 mm kaba filtre kağıdı kullanılmıştır. Süzmeden önce kaba filtre kağıdının darası alınmış ve üç örnek olacak şekilde hesaplama yapılmıştır.

d) Hemiselüloz miktarı tayini:

Li vd., 2004 yılında yapmış oldukları çalışmada kullandıkları metodun üçüncü basamağı olan işlemler burada kullanılmıştır. Bahsi geçen çalışmaya göre şu denklem oluşturulmuştur:

$$\%hemiselüloz = a4 - \frac{a5}{a0} * 100$$

Buna göre ekstrakt madde miktarı belirlenirken desikatörde soğutularak tartılan 22,2846 gr (a4) rezidü bir balon jöjeye alınmış, üzerine 20 g/l'lik 150 ml NaOH çözeltisi eklenmiştir. Çözelti eklendikten sonra 3,5 saat süreyle kaynatılması sağlanmıştır. Süre sonunda elde edilen rezidü Na⁺ iyonlarını gidermek amacıyla defalarca distile su ile yıkanmıştır. Yıkanan rezidü süzölmüş ve kurutulmak üzere 80°C sıcaklıkta 15 saat boyunca etüvde bekletilmiştir. Vakumlu etüvde kurutulmuş rezidü soğuması için desikatöre alınmış ve sabit tartıma getirilerek tartılmıştır. Sabit tartıma getirilen rezidünün ağırlığı 18,1453 gr (a5) olarak okunmuştur.

Bulanan sonuçlar yukarıda verilen denklemde yerine yazıldığında;

$$\%hemiselüloz = 22,2846 - \frac{18,1453}{24} * 100 = \%17,2470 \text{ olarak hesaplanmıştır.}$$

e) Lignin miktarı tayini:

Lignoselülozik maddelerden selülozu ayırmak için içeriğindeki lignin oranını bilmek önemlidir. Çünkü lignin parçalanması güç bir polimerdir. Ancak selüloza ulaşmak için ligninin parçalanması gerekmektedir. Lignini parçalayabilmek için hangi işlemin uygulanacağı ya da hangi kimyasalın/kimyasalların kullanılacağını tayin edebilmek için lignin miktarını bilmek önemlidir.

Lignin miktarı tayininde Li vdadaşlarının kullandığı denklem olan;

$$\%lignin = a7 * \frac{1-\%ekstrakt}{a6} * 100 \text{ denklemi kullanılacaktır.}$$

Ekstrakt madde tespiti sonucu elde edilen rezidüden 1 gr alınarak etüvde kurutulmuş, sabit tartıma getirilerek tartılmış ve 0,9818 gr(a6) değeri okunmuştur. Daha sonra üzerine 30 ml H₂SO₄ (%72'lik H₂SO₄ kullanılmıştır) yavaşça eklenerek 8-15°C sıcaklıkta 24 saat süreyle beklemesi sağlanmıştır. Bir gün sonra rezidü 300 ml distile su ilave edilerek 1 saat boyunca 225°C sıcaklıkta kaynatılmış, ardından süzümüştür.

Rezidü süzöldükten sonra defaatle saf su ile yıkanmış ve sabit tartıma gelene değin vakumlu etüvde 80°C sıcaklıkta kurutma işlemleri uygulanmıştır. Etüvden alınan rezidü desikatöre alınarak soğuması sağlanmış, tartılmış ve darasız ağırlığı 0,2927 gr (a7) olarak okunmuştur.

Bulunan değerler yukarıda daha önce verilen eşitlikteki yerine yazılarak hesaplama yapıldığında;

$$\%lignin = 0,2927 * \frac{1-0,07147}{0,9818} * 100 = \% \mathbf{27,6808}$$
 olarak hesaplanmıştır.

f) Selüloz miktarı tayini:

Li vd., 2004 yılında yapmış oldukları çalışmada kullandıkları metodun sonuncu basamağı olan işlemler burada kullanılmıştır.

Buna göre kül, ekstrakt madde, hemiselüloz ve lignin içeriği tespit edilen Osmancık pirinci kabuğunun selüloz miktarını tespit etmek için şu denklem kullanılır;

$$\%selüloz = 100 - (\%kül + \%ekstrakt\ madde + \%hemiselüloz + \%lignin)$$

Tespiti yapılan madde miktarları eşitlikte yerine yazılarak hesaplama yapıldığında;

$$\%selüloz = 100 - (24,1886 + 7,1475 + 17,2470 + 27,6808)$$

Bu eşitliğe göre **%selüloz = % 23,7361** olarak hesaplanmıştır.

Pirinç kabuğunun kimyasal içeriği yetiştirildiği coğrafyanın yapısına, kullanılan gübreye, yetiştirildiği coğrafyanın iklimine ve hasat zamanına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan bazı pirinç kabuklarının selüloz içeriği ile bu çalışmada kullanılan Osmancık pirinç kabuğunun selüloz içeriği mukayeseli olarak çizelge 5 ile sunulmuştur.

Çizelge 6:Bu çalışma ile tespit edilen selüloz miktarı ve literatürde tespit edilen selüloz miktarı karşılaştırması

KAYNAK	Selüloz Miktarı
Chen vd. , 2011	%36,79
Sarıkaya, A. ,2017	Yaklaşık %50
Sadiç, E. , 2008	Yaklaşık %40-45
Osmancık pirinci kabuğu	%23,73

3.2.1.3.Seyreltik Asit Hidrolizi:

Bu çalışmada literatür taramalarında taranan çalışmalarından hareketle H_2SO_4 seyreltik olarak kullanılmıştır. H_2SO_4 güçlü bir mineral asididir. Suda her konsantrasyonda çözünebilen renksiz ve yoğunluğu yüksek, güçlü bir asittir. İletkendir ve suda çözüldüğü zaman ısı açığa çıkarır. Piyasada H_2SO_4 genellikle ya %78'lik ya da %98'lik olarak bulunmaktadır.

İğdir Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ALUM) envanterinde %72 saflıkta bulunan H_2SO_4 seyreltilerek ilk önce %15 daha sonra ise %1, %2, %3 ve %4 oranlarda kullanılarak çalışmamızda çeşitlilik sağlanmış ve mukayese etme olanağı oluşturularak optimum sonuç elde edilmek istenmiştir.

Daha evvel kiri ve tozu giderilmek üzere defalarca yıkanan, kurutularak sabit tartıma getirilen ve nihayetinde öğütülerek yüzey etki alanını artırmak için minimize edilen Osmancık pirinç kabuğu ilk oran olan %15 H_2SO_4 asidi ile muameleye tabi tutulmuş ve sırasıyla şu işlemler yapılmıştır.

Öğütme işlemi uygulanmış Osmancık pirinç kabuğundan 10 gr alındı, üzerine %15'lik H_2SO_4 100 ml olacak şekilde takviye edildi. Bu hidrolizat 1 saat süreyle otoklavda 121°C sıcaklıkta beklendi ve çıkarıldıktan sonra kaba filtre marifetiyle süzme işlemi yapılmıştır. İşlemler neticelendiğinde %15'lik H_2SO_4 çözeltisinin Osmancık pirinç kabuğunu yaktığı gözlemlenerek asit konsantrasyonunun düşürülmesi gerektiği sonucuna varıldı.



Şekil 11: %15 H_2SO_4 çözeltisi ile 1 saat süreyle $121^\circ C$ sıcaklıkta otoklavlanan ve başka işleme tabi tutulamayacak kadar yanan Osmancık pirinç kabuğu

Asit konsantrasyonu %1, %2, %3 ve %4 olacak şekilde dört farklı H_2SO_4 asidi çözeltisi hazırlanarak bu çalışmanın referans değerlerini oluşturmuştur.

Hazırlanan H_2SO_4 asidi çözeltilerine (100 ml) 1/10 (w/v) oran olacak şekilde 10'ar gram Osmancık pirinç kabuğu eklenmiş ve 121°C sıcaklıkta 1 saat süreyle otoklavda beklemesi sağlanmıştır.

Otoklavdan çıkarılan farklı konsantrasyon oranlarındaki rezidüer soğumaya bırakılmış, ardından süzme işlemi uygulanarak pH 5 olacak şekilde ayarlama yapılmıştır.¹

Bu işlemler akabinde elde edilen rezidünün içerdiği glukoz miktarı çalışmamız için son derece önem arz etmektedir. Bu miktara göre hangi yoğunlukta seyreltik H_2SO_4 asidi çözeltisi ne kadar glukoz verimi sağlıyor bununda bilinmesi gerekir.

İşlemlerde kullanacağımız *Z. mobilis* glukoz ile Entner-Doudoroff metabolizma yolunu kullanarak glikoliz işlemini gerçekleştirecek ve etil alkol elde edilecek.

Entner-Doudoroff yolu, Embden-Meyerhof glikolitik yoluna alternatif bir yoldur. (Geçkil, 2012) Her iki glikolitik yolda da 6-karbon içeren şekerler fosforilasyonla hazırlanır ve ardından aldolaz enzimleri eşliğinde iki tane 3-karbonlu ara ürüne bölünür.

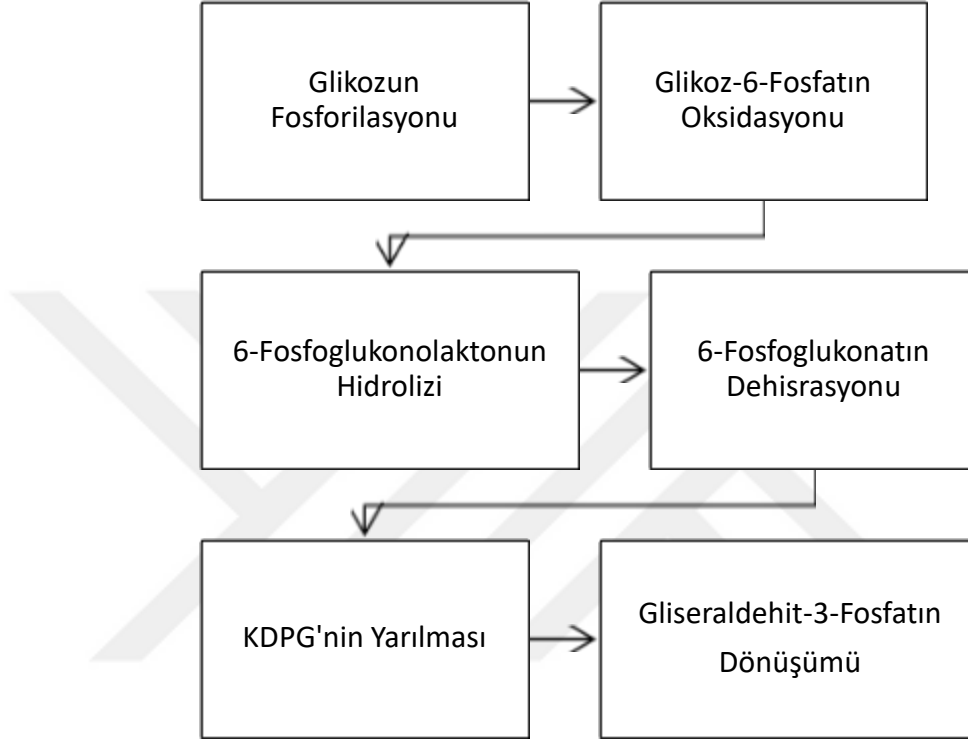
Bu iki metabolik yol arasında ikisini birbirinden ayıran bir fark vardır; bu fark aldol bölünmesi sırasında substrat işlevi gören 6 karbonlu metabolik ara maddelerin doğasında yatmaktadır.

Embden-Meyerhof-Parnas yolu, gliseraldehit-3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfatın her birinden birer molekül elde etmek üzere fruktoz-1,6-bisfosfatın fruktoz bisfosfat aldolaz tarafından bölünmesini içerir. Entner-Doudoroff yolu ise, gliseraldehit-3-fosfat ve piruvat oluşturmak üzere 2-keto-3-deoksi-6-fosfoğlukonatın (KDPG) KDPG aldolaz tarafından bölünmesini içerir. Trioz fosfat ara ürünlerinin daha fazla metabolizmasını içeren reaksiyonlar her iki yol tarafından da paylaşılır ve substrat seviyesinde fosforilasyon yoluyla enerji sağlanır. Enerji verimi açısından eşit öneme

¹ Rina Check isimli kan şekeri ölçüm cihazının pH referans aralığını sağlamak adına pH 5 olarak ayarlanmıştır.

sahip olan şey, her iki glikolitik yolun biyosentez için gerekli metabolik öncülleri sağlama yeteneğidir. (Conway, 1992)

Daha sade bir anlatımla Entner-Doudoroff Yolunun temel adımları:



1. Glikozun Fosforilasyonu:

- Glikoz, glikoz-6-fosfat (G6P) oluşturmak üzere fosforile edilir. Bu reaksiyon genellikle ATP'nin ADP'ye dönüştürülmesiyle gerçekleşir. (Turan, 2011)

2. Glikoz-6-Fosfatın Oksidasyonu:

- G6P, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi tarafından 6-fosfoglukonolakton'a oksitlenir ve bu reaksiyon sırasında NADP⁺, NADPH'ye indirgenir. (Çiftçi vd., 2004)

3. 6-Fosfoglukonolaktonun Hidrolizi:

- 6-Fosfoglukonolakton, laktonaz enzimi tarafından 6-fosfoglukonata hidroliz edilir.

4. 6-Fosfoglukonatın Dehidrasyonu:

- 6-Fosfoglukonat, 6-fosfoglukonat dehidratase enzimi tarafından dehidrate edilir ve 2-keto-3-deoksi-6-fosfoglukonat (KDPG) oluşturur.

5. KDPG'nin Yarılması:

- KDPG, KDPG aldolaz enzimi tarafından pirüvat ve gliseraldehit-3-fosfata (G3P) ayrılır.

6. Gliseraldehit-3-Fosfatın Dönüşümü:

- G3P, glikoliz yolundaki adımlar takip edilerek pirüvata dönüştürülür.

Entner-Doudoroff Yolunun Özellikleri

- Enerji Üretimi:
 - Entner-Doudoroff yolu, glikoliz yoluna kıyasla daha az ATP üretir. Bu yolda bir molekül glikozdan yalnızca bir molekül ATP üretilir, oysa glikoliz yolunda iki molekül ATP üretilir.
- NADPH Üretimi:
 - Bu yol, NADPH üretiminde önemli bir rol oynar. NADPH, biyosentez reaksiyonlarında ve oksidatif stresle mücadelede kullanılır.
- Farklı Mikroorganizmalar:
 - Entner-Doudoroff yolu, özellikle Pseudomonas, Azotobacter, Zymomonas ve bazı arkeal türler gibi mikroorganizmalar tarafından kullanılır. E. coli gibi bazı bakteriler, hem glikoliz hem de Entner-Doudoroff yolunu kullanabilirler.
- Metabolik Esneklik:
 - Bu yol, bazı mikroorganizmaların değişen çevresel koşullara uyum sağlamasına yardımcı olur. Özellikle, pentoz fosfat yoluyla NADPH üretiminin yeterli olmadığı durumlarda NADPH üretimini artırır.



Şekil 12:Çalışmada kullanılan otoklav

3.3. Cevap Yüzey Yöntemi

Cevap Yüzey Yöntemi, Yanıt Yüzey Yöntemi ya da Response Surface Methodology 1951 yılında ilk kez kimya endüstrisinde “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” isimli çalışma ile Box ve Wilson tarafından kullanılmış, tanımlanmış ve geliştirilmiştir. Myers ve Montgomery cevap yüzey yönteminin tanımını, *“proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli istatistiksel ve matematiksel tekniklerin birlikte kullanıldığı bir yöntem”* şeklinde yapmışlardır. (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010)

Yapılan tanımdan ve yıllar içinde yapılan çalışmalardan hareketle bir takım istatistiksel ve matematiksel tekniklerin peş peşe uygulanması ve yapılan her bir işlem sonucu elde edilen dataların bir sonraki işlem basamağında kullanılması Cevap Yüzey Yöntem uygulamalarının doğasını oluşturmaktadır denilebilir.

İlk olarak literatür taramalarından elde edilen bilgiler eşliğinde sistemi aktif edebilecek parametreler (cevaplar) ve bu parametreler üzerinde etkisi olabileceği değerlendirilen aktörlerin belirlenmesi gerekir.

Etkili olabilecek değişkenlerin belirleme işlemleri de yapıldıktan sonra yöntemin diğer aşamasına geçilir. Geçilen bu ikinci aşamada yapılan işlemlerin amacı, deneme bölgesi içindeki değişkenlerin tespit edilen seviyelerinin sistem yanıtında oluşturdukları değerin, optimuma yakın sonuçlar verip vermediğini belirlemektir. Optimum seviyeye yaklaştıkça yanıt yüzeyde oluşturulan eğri daha belirgin hale alacaktır. Cevap Yüzey Yönteminin bu aşaması birinci derece modellerin kullanılmasıyla bu eğriliğin test edilmesini oluşturur. Burada kullanılan birinci derece modeller sistem yanıtını belirlemede yeterli olabilirse, seçilen deneme bölgesinin sistemin optimum performansından uzakta olduğu ve yeni deneme bölgesi seçilerek yeni değişken ayarlamaları yapılır. Bu işlemler yanıt yüzeyde oluşturulan eğriliğin önemli olduğu bölgeleri bulana kadar devam edebilir. Bu işleme region seeking yani bölge tarama adı verilir. Üçüncü aşama ise optimuma yaklaştığında başlar. Burada, araştırmacı tarafından reel cevap fonksiyonu hassas bir şekilde tahminlenmeye çalışılır. Ulaşılan gerçek cevap fonksiyonu ile optimum nokta etrafında önemli bir eğrilik görülebilmektedir. Görülen eğriliğin tahmin edilebilmesi için ikinci dereceden polinomial örnekler kullanılır. Eğriliğin tahminlenebilmesi için bir önceki aşamada uygulanan deneysel tasarıma ilave deneysel noktaların eklenmesi gerekmektedir (Central Composite Rotatable Design). Uygun bir model elde edildikten sonra, bu model optimum noktanın araştırılmasında kullanılır.

Cevap Yüzey Yönteminde araştırmacının yaptığı araştırma hakkında sahip olduğu bilgi önemlidir. Araştırmacı çalışma hakkında yeterli detaylı bilgi sahibiyse bahsedilen aşamalardan bir veya birkaç tanesini kullanmayabilir. Böylelikle maliyet ve zamandan ciddi kazanımlar sağlanabilir.

Detaylıca yapılan anlatımlar ışığında Cevap Yüzey Yönteminin proses değişken faktörlerinin deneysel uzayını araştırmak için ampirik stratejileri, sistemin cevabını ve etkili olan bağımsız faktörler arası ilişkinin belirlenmesi için kullanılan deneysel modelleme tekniklerini ve proses değişken faktörlerinin, çalışmanın yanıtında hedeflenen efekti gösterdiği seviyelerinin bulunması için kullandığımız optimizasyon tekniklerini içerdiğini söyleyebiliriz.

Cevap Yüzey Yöntemi karmaşık sistemlerin analiz ve optimizasyonunda önemli bir araçtır. Araştırmacıların daha etkili ve verimli süreçler geliştirmeleri için imkan

sunmaktadır. Bu yöntem aynı zamanda daha az denem yapılmasını sağlayarak zaman ve maliyet açısından ciddi tasarruf sağlanmasına katkı sunmaktadır.

Bu verilere dayanarak Cevap Yüzey Yönteminin başlıca kısımlarını şu şekilde sırlamak mümkündür: (Eren,2004)

- Denemelerin dizayn edilmesi,
- Model geliştirilmesi (Regresyon analizi),
- Varyans analizi (ANOVA) ve
- OPTİMİZASYON

Cevap Yüzey Yöntemi sayesinde çalışmadaki bağımsız değişken faktörlerin birlikte veya ayrı ayrı etkilerini gözlemek mümkündür. Gıda endüstrisinde bu yöntemin olumlu etkileri çok defalarca yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.

3.3.1. İkinci derece modellerde kullanılan tasarımlar

Myers ve Montgomery 1995 yılında yaptıkları çalışmada ikinci derece bir polinomun $[1+2n+n(n-1)2]$ adet parametre içerdiğini, deneysel tasarımın en az polinomun içerdiği parametre sayısı adedince nokta kullanılarak oluşturulması gerektiği ve her bağımsız değişkenin en az üç seviyede temsil edilmesi gerektiğini savunmuşlar ayrıca merkez tümleşik tasarım ve yüzey merkezli tasarım olmak üzere iki deneysel tasarım kullanmışlardır.

3.3.2.Cevap Yüzey Yönteminin Kullanıldığı Çalışmalar

Cevap Yüzey Yönteminin fermentasyon aşamalarında kullanıldığı çalışmalar oldukça fazladır. Yapılan literatür taramasında bir kısım çalışmalarda ortam kompozisyonunu oluşturan besiyeri bileşenlerinin optimizasyonu, diğer bir kısım çalışmalarda ise fermentasyonu etkileyen parametreler arasındaki ilişki incelenerek optimizasyon sağlanmıştır.

- İki Basamaklı Tepkime ile Sıvı Özütleme Yöntem Kullanarak Fındık Tohum Kabuklarından Furfural Üretimi İçin En Uygun Koşulların İstatistik Yöntem İle Belirlenmesi (Mutlu,2010)

- Cevap Yüzey Metodu Kullanılarak Keçiboynuzu Ekstraktında Bulunan D-Pinitolün Nanofiltrasyon Uygulamasıyla Zenginleştirilmesinin Optimize Edilmesi (Hacıoğlu vd., 2020)
- Using Response Surface Methodology (RSM) to optimize 2G bioethanol production: A review (Pereira vd., 2021)
- Cost-effective approach to ethanol production and optimization by response surface methodology (Uncu ve Çekmecelioğlu, 2011)
- Optimization of bioethanol production from sugar beet processing by-product molasses using response surface methodology (Altınışik vd., 2024)
- Optimisation of process conditions for ethanol production from enzymatically saccharified empty fruit bunch using response surface methodology (RSM) (Loh vd., 2018)

Bu tez çalışmasında etil alkol üretiminde fermentasyon üzerinde önemli proses parametreleri olan süre, sıcaklık ve asit konsantrasyonunun etkisini incelemek ve bu değişkenlerin optimizasyonunu sağlamak için Cevap Yüzey Yönteminden faydalanılmıştır.

3.4. Şeker Miktarı Tayini:

Şeker miktarının tespiti için bir bilimsel bir de geleneksel olmak üzere iki farklı yöntem kullanıldı.

İlk olarak geleneksel yöntemde kandaki şeker miktarını ölçen bir cihaza sahip olan herkesin yapabileceği yöntem denendi.

Şeker ölçüm cihazları kandaki glikoz seviyesini elektro kimyasal tespit tekniği ile ölçmek için geliştirilmiş cihazlardır. Bu ölçümleri yapabilmek için glikoz oksidaz tekniği ile uyumlu tek kullanımlık kuru ayraç sribi kullanılmaktadır. Her bir strip glikoz oksidaz enzimi ihtiva edecek şekilde üretilmiştir. Stribin ucundaki kan toplama haznesine kan örneği dokundurular ve glükonik asit üretmek için glukozun oksidasyonunu katalize edecek glukoz oksidazın bulunduğu yere otomatik olarak emilir. Reaksiyon sırasında iletken madde elektronları elektroda iletir ve akım oluşturur. Akımın miktarı kandaki glikoz miktarı ile paraleldir. Glikoz yoğunluğu bu cihazlar

sayesinde kısa süre içinde ve yüksek olasılıkla doğru sonuçlar okunabilecek şekilde tespit edilebilir.

Şeker ölçüm cihazlarının çalışma prensibi gereğince seyreltik asit hidrolizi neticesinde elde ettiğimiz rezidünün şeker miktarını tespit etmek amacıyla öncelikle bir referans değer aralığı sağlandı.

Doğru sonuçlar okuyabilmek adına referans aralığı oluşturmak için aşağıdaki gibi farklı yoğunluklarda altı glukoz çözeltisi hazırlanmıştır.

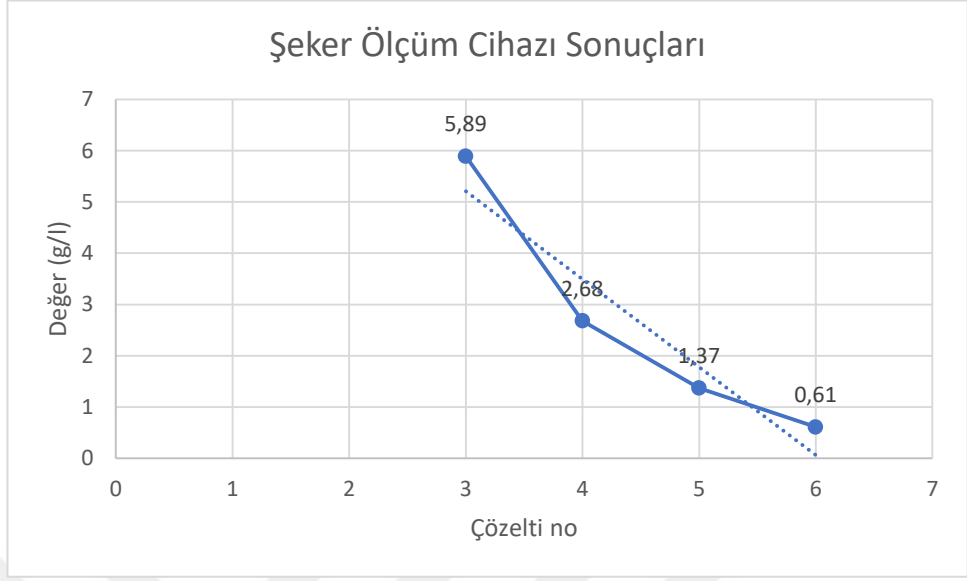
Çizelge 7:Şeker ölçümüne referans olarak hazırlanan çözeltilerin içerikleri

Çözelti Numarası	Glukoz Oranı (ml)	Saf Su Oranı (ml)
1 (Kör)	0	10 ml saf su
2	7,5 ml	2,5 ml
3	5 ml	5 ml
4	2,5 ml	7,5 ml
5	1 ml	9 ml
6	0,5 ml	9,5 ml

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan altı farklı glukoz çözeltisi şeker ölçüm cihazının stribinin ucana üç kez damlatılmış ve aşağıda yer alan sonuçlar okunarak bu ölçüm yönteminin doğru sonuçlar verdiği kanısı oluşmuştur.

Çizelge 8:Rina Check isimli şeker ölçüm cihazıyla okunan referans değerler

Çözelti No.	1.Okuma (g/l)	2.Okuma (g/l)	3.Okuma (g/l)	ORTALAMA (g/l)
1(Kör/Saf su)	Düşük Seviye	Düşük Seviye	Düşük Seviye	Düşük Seviye
2	Yüksek Seviye	Yüksek Seviye	Yüksek Seviye	Yüksek Seviye
3	5,91	5,87	5,90	5,89.33
4	2,82	2,55	2,67	2,68
5	1,32	1,43	1,38	1,37.66
6	0,59	0,70	0,54	0,61



Grafik 1: Rhina check ile yapılan ölçüm sonucu okunan şeker değerleri (1 numaralı çözeltilerde şeker oranı çok düşük, 2 numaralı çözeltilerde çok yüksek olduğu için cihaz tarafından okuma yapılamamıştır.)



Şekil 13: Şeker ölçmek için kullanılan şeker ölçme aleti

Şeker ölçüm cihazıyla yapılan şeker miktarı tayininden sonra bu çalışma için kullanılacak olan ikinci ve bilimsel yöntem DNS ile şeker tayini yöntemi olacaktır.

DNS (dinitrosalisilik asit) ile şeker miktarı tayininde ilk olarak DNS çözeltisi hazırlanmalıdır. Çalışmamızda faydalanacağımız DNS çözeltisine 3,53 gr 3,5 dinitrosalisilik asit, 472 ml saf su, 6,6 gr NaOH bir erlene eklenerek NaOH ve 3,5 dinitrosalisilik asit saf su içinde çözününceye değin karıştırılır. Ardından bu karışımın içine 102 gr sodyum-potasyum Tartarat, 2,53 ml fenol, 2,76 gr Na₂SO₃ eklemek kaydıyla vortekslenerek birbirleri içinde çözünmeleri sağlandı.

Birbiri içinde çözünen bu karışım nihayetinde koyu kırmızı bir renk alması sağlandı. Bu çözeltiliye renk stabilizasyonunu sağlayan madde sodyum-potasyum tartarattır.

Hazırlanan çözeltili ışığa hassas olduğu için çözeltinin bulunduğu erlenin çevresi alüminyum folyo ile kapatılarak muhafaza işlemi uygulanmıştır.

Analiz işlemine geçildiğinde daha önce hazırlanan çizelge 6 ile içerikleri belirtilen 6 farklı yoğunluktaki glukoz çözeltilerinden 1'er ml örnek alınarak üzerine 3 ml DNS çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra DNS ile monosakkaritin yani glukozun tepkimeye girmesini katalizlemek amacıyla hazırlanan karışım 100°C (kaynayan) su içinde 5 dakika süreyle bekletilmiştir. Bekleyiş sonunda glukoz ile hazırlanan çözeltinin tepkimeye girmesi neticesinde koyu renkli kompleks oluşumu gözlemlenmiştir.

Oda sıcaklığında soğutulan çözeltiler daha sonra 4 ml hacmindeki cam küvetlere alınarak 10 kat seyreltme işlemi uygulanmış ve ardından spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okuma yapılarak absorpsiyon değerleri kaydedilmiştir. (Ghose, 1984)

Absorpsiyon değerleri işlemler sırasıyla uygulandıktan sonra çizelgedeki gibi okunarak kayıt altına alınmıştır.

Çizelge 9:Standart için hazırlanan çözeltilerin DNS çözeltisi ile spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunan değerleri

Konsantrasyon	Okunan Değer (Abs)
(Kör)	0
%5 glukoz çözeltisi	0,1611
% 10 glukoz çözeltisi	0,3143
%25 glukoz çözeltisi	0,6738
%50 glukoz çözeltisi	1,0106
%75 glukoz çözeltisi	1,4814

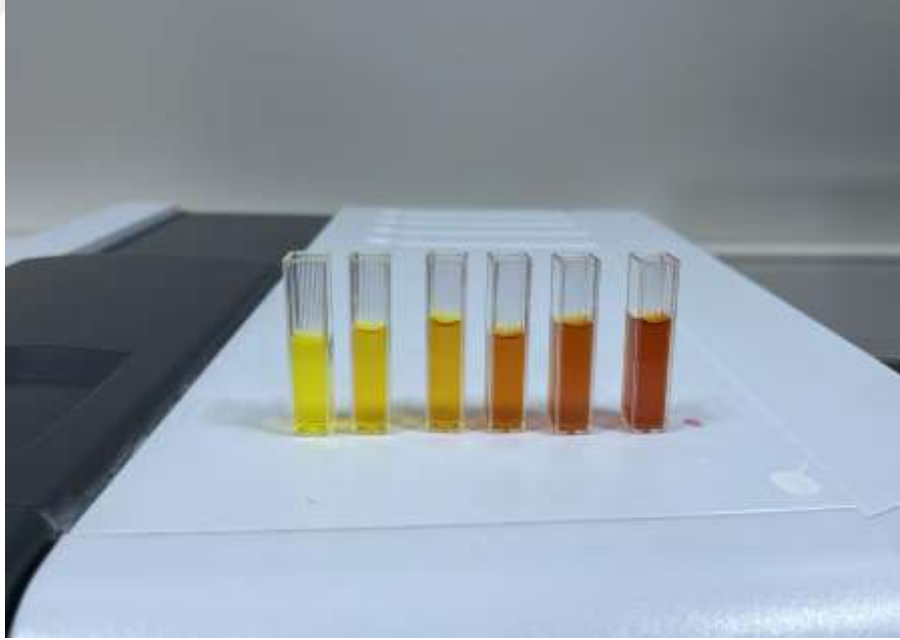


Grafik 2:Spektrofotometre ile okunan değerler

Şeker miktarını belirlemek için kullanılan her iki yöntemde birbirlerini sağlayacak şekilde doğru sonuçlar vererek referans aralığı oluşturmamıza olanak sağlamıştır.



Şekil 14:Çalışmalarda kullanılan spektrofotometre (Agilent Technologies marka Cary 60 UV-Vis model ABD menşeli)



Şekil 15:Spektrofotometrede okuma yapmak üzere hazırlanan örnekler

Çalışmada Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ALUM) envanterinde bulunan Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis marka model spektrofotometre kullanılmıştır.

Yukarıda literatür özeti kısmında yer verilmeyen şimdi burada daha detaylıca değinilecek çalışmalarda literatürde mevcuttur. Bu çalışmaya ışık tutabilecek bazı örnek çalışmalar aşağıda derlenmiş olup, bu çalışmalar eşliğinde yapılan çalışmanın farklılığı göze çarpacaktır.

Farklı çalışmaların bulunduğu çizelge 10 içinden daha önce bu hususta yapılan çalışmalar incelenerek çalışmaların içerikleri hakkında kıyaslama yapmak mümkün olacaktır.

- Joshua Osuigwe Madu ile Bolade Oyeyinka Agboola 2017 yılında yaptıkları çalışmada *Trichoderma reesei* selüloz ve *Saccharomyces cerevisiae* kullanarak yapılan eş zamanlı sakkarifikasyon ve fermentasyon (SSF) ve ayrı hidroliz ve fermentasyon (SHF) işlemlerinde ham ve H₂O, HCl, NaOH ve FeCl₃ ile ön işlem görmüş pirinç kabuğu hammaddelerinin biyoetanol üretimi üzerine etkilerini incelemişler, FeCl₃ ve NaOH ön işlemi uygulanan hidrolizatlardan diğer hidrolizatlara göre daha yüksek etanol verimini elde etmişlerdir.
- Jia Wu vd., 2018 yılında yaptıkları çalışmada pirin kabuğu ve pirinç samanını substrat olarak kullanmış ve her ikisine de çok çeşitli seviyelerde yüksek basınçlı mikrodalga işlemiyle hidrotermal ön işleme tabi tutmuşlardır. Bu işlem sonucunda mikrodalga işleminin pirinç kabuğunda pirinç samanına kıyasla daha fazla inhibitör ortaya çıkardığını ve bu nedenle pirinç samanından pirinç kabuğuna kıyasla iki kat daha fazla etanol üretildiğini açıklamışlardır.
- Snehal Ingale vd., 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada *A. fumigatus* ve *A. ellipticus* gibi iki mantarı ve substrat olarak muz kabuğunu kullanmışlar, yapılan fermentasyon sonucunda da %84 oranında etil alkol verimi elde etmişlerdir.
- Jagdish Gabhane vd., 2014 yılında yaptıkları çalışma neticesinde muzun sap, öz ve yaprak gibi farklı morfolojik yapılarına uyguladıkları farklı ön işlemler neticesinde ultrasonifikasyonla birlikte alkali ön işlem uygulanan muz atıklarında etil alkol veriminin daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır.
- Sonali Patle ve Banwari Lal 2007 yılında yaptıkları çalışmada asit, alkali ve enzimatik hidroliz uygulanan tarımsal atıkların indirgeyici şeker durumlarını kıyaslayarak enzimatik hidroliz sonucu yüksek indirgeyici şekere ulaşıldığı ve

Zymomonas mobilis ve *Candida tropicalis*'in karışık bir kültürünü kullanarak yapılan fermentasyonda yine enzimatik hidrolize tabi tutulan hidrolizatın yüksek etil alkol eldesi sunduğunu göstermişlerdir.

- Taner Şar ve Meltem Yeşilçimen Akbaş 2016 yılında yaptıkları çalışmada şeker pancarı melasını ve patates- mısır işleme atıklarını farklı hidrolizasyon işlemleri ile hidrolize etmiş ve farklı hidrolizasyon koşullarından etanol üreticisi mikroorganizmalar için uygun olanı bulmaya çalışmışlardır.
- Sevgi Fersiz 2018 yılında yaptığı çalışmada lignoselülozik içerikli biyokütlelerden etil alkol verimi için farklı birçok (fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal...) ön hazırlık işlemlerinin olduğu ve bu ön işlemlerin büyük biyokütlelerde uygulanabilirliğinin denenerek daha düşük maliyetli, daha kısa zamanda optimum verim alınabilecek yöntemin bulunabileceğini öngörmüştür.
- Thi Tuong An Tran vd., 2019 yılında yaptıkları çalışmada lignoselülozik biyokütleden etanol ya da biyoetanol üretim aşamalarında ön işlem basamağının lignoselülozu parçalamadaki etkinliğinden bahsetmişlerdir.
- Cihan Bostancı vd., 2019 yılında yapmış oldukları çalışmada yer fıstığı kabuğuna ilk kez Accellerase 1500 enzim uygulaması kullanmış ve *S. cerevisiae* ile fermentasyonun oda sıcaklığında gerçekleşmesini sağlamış, azot kaynağı olarak soya unu kullanmışlardır.
- Zeynep Güneş vd.,2020 yılında yaptıkları çalışmada şeker pancarı ve yan ürünlerini kullanarak elde edilen biyoetanolün fosil yakıtlar yerine kullanılabilir yenilenebilir enerji kaynağı olduğunu ifade etmişlerdir.
- Selcan Siyakuş 2013 yılında havuç posası kullanarak yaptığı çalışmada asit hidroliz uyguladığı hidrolizatın *S. cerevisiae* eşliğinde gerçekleşen fermentasyon sonucu etanol verimini araştırmıştır.
- Filiz Özçelik vd., 1994 yılında peynir altı suyu kullanarak yaptıkları çalışmada peynir altı suyunun laktoz konsantrasyonunun etanol üretimine etkisini araştırmışlardır.

- Shiva Shams Molavi ve Filiz Özçelik 1993 yılında yaptıkları çalışmada peynir altı suyundan etanol üretiminde pH ve sıcaklığın fermentasyon üzerine etkilerini araştırmışlardır.
- Nida Arasan ve Saffettin Ferda Mutlu 2020 yılında peynir altı suyu ve *K. marxianus* kullanarak gerçekleştirdikleri etanol üretiminde başlangıç laktoz seviyesi, sıcaklık ve ortam pH'sının fermentasyon üzerine etkilerini incelemiştir.

Çizelge 10:Çeşitli biyobozunurlardan etanol üretilen çalışmalar

LİTERATÜR TARAMASI		
ESER ADI	YAZAR ADI	YILI
Bioethanol production from rice husk using diferent pretreatments and fermentation conditions	Joshua Osuigwe Madu, Bolade Oyeyinka Agboola	2017
Optimising Conditions For Bioethanol Production From Rice Husk And Rice Straw: Effects Of Pre-Treatment On Liquor Composition And Fermentation İnhibitors	<u>Jia Wu,</u> <u>Adam Elliston,</u> <u>Gwenaelle Le Gall,</u> <u>Ian J. Colquhoun,</u> <u>Samuel R. A. Collins,</u> <u>Ian P. Wood,</u> <u>Jo Dicks, Ian N. Roberts & Keith W. Waldron</u>	2018
Improvement of bioethanol production from rice husks	Arismendy Pabón, A. M., Felissia, F. E., Mendieta, C. M., Chamorro, E. R., & Area, M. C	2020
Production of bioethanol using agricultural waste: Banana pseudo stem	Snehal Ingale Sanket J. Joshi Akshaya Gupte	2014
Pretreatment of banana agricultural waste for bio-ethanol production: Individual and interactive effects of acid and alkali pretreatments with autoclaving, microwave heating and ultrasonication	Jagdish Gabhane, S.P.M. Prince William, Abhijit Gadhe, Ritika Rath, Atul Narayan Vaidya, Satish Wate	2014
Ethanol production from hydrolysed agricultural wastesusing mixed culture of <i>Zymomonas mobilis</i> and <i>Candida tropicalis</i>	Sonali Patle Banwari Lal	2007

Çizelge 10 Devamı

Biyoeanol Üretimi İçin Gıda İşleme Atıklarının Asit Hidrolizi	Taner Şar Meltem Yeşilçimen Akbaş	2016
Biyokütleden Biyoetanol Üretimi için Uygulanan Ön Hazırlık İşlemleri	Sevgi Fersiz	2018
Bioethanol Production From Lignocellulosic Biomass	Thi Tuong An Tran, Thi Kim Phung Le, Thanh Phong Mai, Dinh Quan Nguyen	2019
Yer Fıstığı Kabuğundan Biyoetanol Üretimi	Cihan Bostancı Sevgi Ertuğrul Karatay Gönül Dönmez	2019
Şeker pancarı ve yan ürünlerinden biyoyakıt (etanol) üretimi ve biyoetanolün endüstriyel kullanımının değerlendirilmesi	Zeynep Güneş Hatice Ebrar Kırtıl Yasemin Şefika Küçükata Biset Toprak	2020
<u>Havuç posasından etanol üretimi</u>	Selcan Siyakuş	2013
Peynir Altı Suyundan Etil Alkol Üretiminde Laktoz Konsantrasyonunun Fermentasyon Üzerine Etkisi	Filiz Özçelik Shiva Shams Molavi Melike Balk	1994
Peynir Altı Suyundaki Etil Alkol Üretiminde pH ve Sıcaklığın Fermentasyon Üzerine Etkisi	Shiva Shams Molavi Filiz Özçelik	1993
Peynir Altı Suyundan Fermentasyon Yolu ile Etanol Üretimi	Nida Arasan Saffettin Ferda Mutlu	2020

- I. **Eser Adı:** Bioethanol production from rice husk using different pretreatments and fermentation conditions
Yazar Adı: Joshua Osuigwe Madu, Bolade Oyeyinka Agboola
Yılı: 2017

- II. **Eser Adı:** Optimising conditions for bioethanol production from rice husk and rice straw: effects of pre-treatment on liquor composition and fermentation inhibitors
Yazar Adı: Jia Wu, Adam Elliston, Gwenaelle Le Gall, Ian J. Colquhoun, Samuel R. A. Collins, Ian P. Wood, Jo Dicks, Ian N. Roberts, Keith W. Waldron
Yılı: 2018
- III. **Eser Adı:** Improvement of bioethanol production from rice husks
Yazar Adı: Arismendy Pabón, A. M., Felissia, F. E., Mendieta, C. M., Chamorro, E. R., Area, M.
Yılı: 2020
- IV. **Eser Adı:** Production of bioethanol using agricultural waste: Banana pseudo stem
Yazar Adı: Snehal Ingale, Sanket J. Joshi, Akshaya Gupte
Yılı: 2014
- V. **Eser Adı:** Pretreatment of banana agricultural waste for bio-ethanol production: Individual and interactive effects of acid and alkali pretreatments with autoclaving, microwave heating and ultrasonication
Yazar Adı: Jagdish Gabhane, S.P.M. Prince William, Abhijit Gadhe, Ritika Rath, Atul Narayan Vaidya, Satish Wate
Yılı: 2014
- VI. **Eser Adı:** Ethanol production from hydrolysed agricultural wastes using mixed culture of *Zymomonas mobilis* and *Candida tropicalis*
Yazar Adı: Sonali Patle, Banwari Lal
Yılı: 2007
- VII. **Eser Adı:** Biyoetanol Üretimi İçin Gıda İşleme Atıklarının Asit Hidrolizi
Yazar Adı: Taner Şar, Meltem Yeşilçimen Akbaş
Yılı: 2016
- VIII. **Eser Adı:** Biyokütleden Biyoetanol Üretimi için Uygulanan Ön Hazırlık İşlemleri
Yazar Adı: Sevgi Fersiz
Yılı: 2018
- IX. **Eser Adı:** Bioethanol Production From Lignocellulosic Biomass
Yazar Adı: Thi Tuong An Tran vd.
Yılı: 2019
- X. **Eser Adı:** Yer Fıstığı Kabuğundan Biyoetanol Üretimi
Yazar Adı: Cihan Bostancı, Sevgi Ertuğrul Karatay, Gönül Dönmez
Yılı: 2019

- XI. **Eser Adı:** Şeker pancarı ve yan ürünlerinden biyoyakıt (etanol) üretimi ve biyoetanolün endüstriyel kullanımının değerlendirilmesi **Yazar Adı:** Zeynep Güneş, Hatice Ebrar Kırtıl, Yasemin Şefika Küçükata, Biset Toprak **Yılı:** 2020
- XII. **Eser Adı:** Havuç posasından etanol üretimi **Yazar Adı:** Selcan Siyakuş **Yılı:** 2012
- XIII. **Eser Adı:** Peynir Altı Suyundan Etil Alkol Üretiminde Laktoz Konsantrasyonunun Fermentasyon Üzerine Etkisi **Yazar Adı:** Filiz Özçelik, Shiva Shams Molavi, Melike Balk **Yılı:** 1994
- XIV. **Eser Adı:** Peynir Altı Suyundaki Etil Alkol Üretiminde pH ve Sıcaklığın Fermentasyon Üzerine Etkisi **Yazar Adı:** Shiva Shams Molavi, Filiz Özçelik **Yılı:** 1993
- XV. **Eser Adı:** Peynir Altı Suyundan Fermentasyon Yolu ile Etanol Üretimi **Yazar Adı:** Nida Arasan, Saffettin Ferda Mutlu **Yılı:** 2020

Çizelge 9’da bulunan çalışmalar literatüre bakıldığı zaman çoğaltılabilir ve bu tarz çalışmalar geçmiş zamandan günümüze dek uzanmaktadır.

Çizelge 9’da derlenen çalışmalarda sübstrat olarak şeker pancarı melası, peynir altı suyu, patates, mısır, mısır silajı, pirinç kabuğu, muz kabuğu, yer fıstığı kabuğu, üzüm kabuğu ve havuç posası gibi ürünler kullanılmış ve bu ürünlerden etanol üretiminde başarı yakalandığı görülmüştür.

Bu çalışmalarda mikroorganizma olarak ise *Escherichia coli* (Şar, Akbaş, 2016) *Zymomonas mobilis* (Özçelik, 1986), *L. plantarum* (Soleimani vd., 2017), *Schizosaccharomyces pombe* (Güneş vd., 2020) *Saccharomyces cerevisiae* (Razmovski, Vućurović, 2012) ve *Candida tropicalis* (Jamai vd., 2007) gibi mikroorganizmalar kullanılarak fermentasyon yolu ile etil alkol üretiminde faydalanılmıştır.

İncelenen bu çalışmalarda ön işlemler uygulanmıştır. Bu ön işlemlerden biri asit ile ön işlemdir. Asit ile ön işlemlerde sülfirik asit (Yahyaoğlu, 2006), nitrik asit (Taymaz, Uslu, 2019), fosforik asit ve hidroklorik asit (Çalışkan, 2014) yaygın olarak kullanılan asitlerdir.

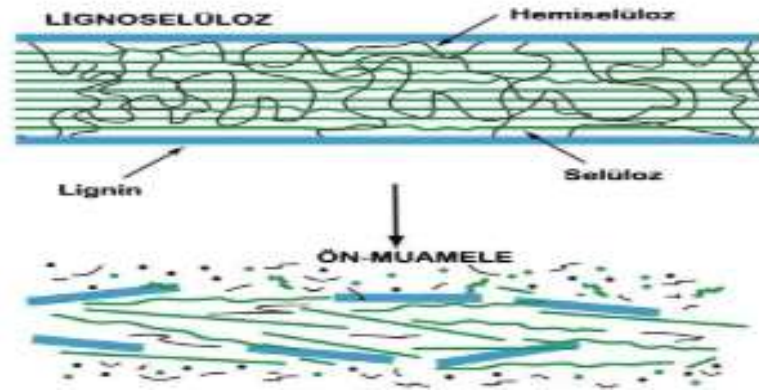
4. BULGULAR

Taranan literatür çalışmalarında ve daha fazlasında görülmektedir ki lignoselülozik içerikli tarımsal biyoboşur maddelerin içeriğinde bulunan lignoselüloz parçalanmak üzere çeşitli ön işlemlere tabi tutulmuşlardır.

Bu ön işlemlerin amacı bütünüyle lignoselülozu parçalamak ve selüloza ulaşarak fermentasyonu mümkün kılmaktır.

Literatürde de görülmektedir ki lignoselülozu parçalamak için çok farklı ön işlemler mevcuttur.

Ön işlemler fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal olmak üzere farklı şekil ve çeşitlerde uygulanabilmektedir. Öğütme ve mekanik ezme gibi fiziksel ön işlemlerin lignoselülozik yapı üzerinde parçalayıcı etkisi bulunmamaktadır.



Şekil 16:Ön işlemden önce ve sonra lignoselüloz (Adıgüzel, 2013)

- Fiziksel Ön işlemler:
 - Öğütme
 - Mekanik ezme
 - Piroliz
- Kimyasal Ön işlemler:
 - Alkali ön işlem
 - Asidik ön işlem
 - Ozonolizis

- Fiziko-kimyasal önişlemler:
 - Buhar ile patlatma
 - AFEX(Amonyak lif patlaması)

Burada önişlem örneklerini artırmak mümkündür. Ancak önişlemlere değinen literatür çalışmalarında daha detaylı bilgiler mevcuttur.

Bu çalışmada önişlem olarak yalnızca fiziksel önişlem olan öğütme işlemini kullanılmıştır. Osmancık pirinç kabuğu yıkanıp kirinden ve tozundan arındırılarak kurutulmuş ve öğütme işlemine tabi tutulmuştur ki yüzey etki alanını genişletmek amaçlanmış ve sonraki işlem basamaklarının etkin olması için zemin hazırlanmıştır. (Yıldız, Yanlızoğlu, 2020)

Öğütmeden sonra çalışmanın geçen sayfalarında belirtildiği üzere içerik araştırması yapılmış ve Osmancık pirinç kabuğunun lignoselüloz, selüloz, hemiselüloz gibi çalışmanın esasını oluşturan maddelerin yanı sıra diğer içerik maddeleri de belirtilmiştir.

Ardından seyreltik asit ile hidroliz yöntemine geçilmiş ve burada diğer çalışmalardan farklı olarak iki basamaklı olacak şekilde asit ile önişlem ardından asit ile hidroliz kullanılmamış yalnızca ve doğrudan seyreltik asit ile hidroliz uygulanarak lignoselülozik yapı kırılmış, selüloz parçalanmış ve fermente edilebilecek şeker ortaya çıkarılmıştır.

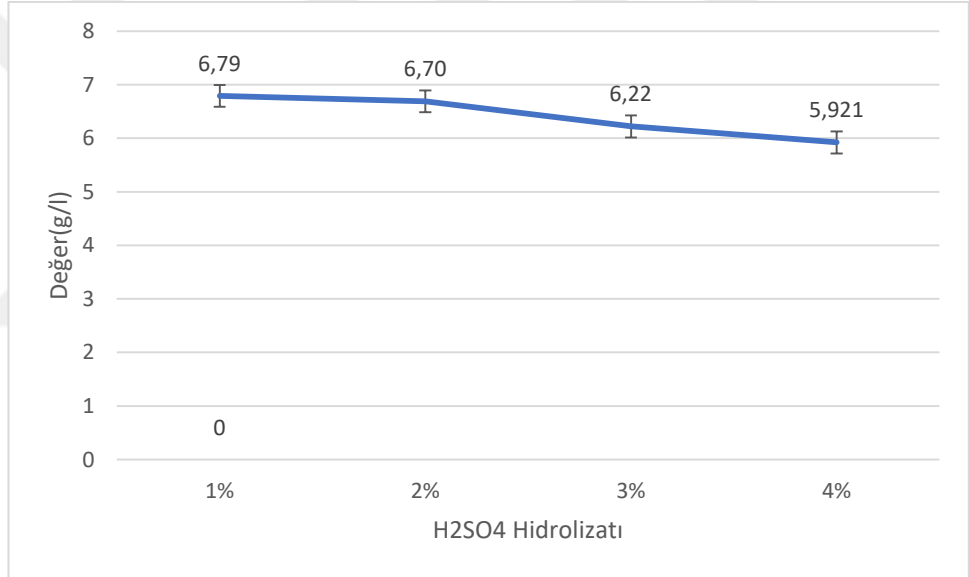
Fermentasyona tabi tutulabilecek şeker miktarını ölçmek için şeker ölçüm cihazıyla ölçüm ve DNS ile şeker miktarı tayini olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmış ve bu yöntemlerle birbirlerinin sağlaması yapılmıştır.

%1 seyreltik H_2SO_4 ile hidroliz işlemi uygulanırken 3.2.2.3 Seyreltik asit hidrolizi başlığı altında verilen basamaklara tabi olunmuştur.

Belirtilen işlemler uygulandıktan sonra hem şeker ölçüm cihazı sonuçları çizelge 10'da DNS ile yapılan şeker tayin sonuçları çizelge 11'de sunulmuş ve %1 seyreltik H_2SO_4 ile hidrolizin optimum fermente edilebilir şekere ulaştırdığı görülmüştür.

Çizelge 11:Hazırlanan hidrolizatların Rina check isimli şeker ölçüm cihazıyla okunan değerleri

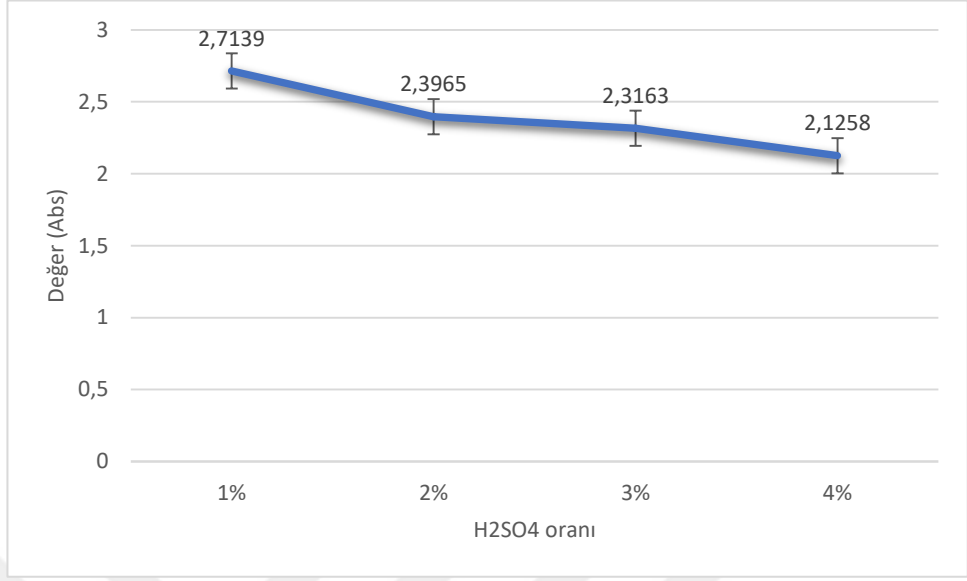
Seyreltik H_2SO_4 oranı	1. Okuma (g/l)	2. Okuma (g/l)	3. Okuma (g/l)	Ortalama (g/l)
%1	6,78	6,69	6,90	6,79
%2	6,94	6,08	7,06	6,70
%3	6,88	5,90	5,88	6,22
%4	6,46	5,64	5,63	5,91



Grafik 3:Rina check isimli şeker ölçüm cihazıyla okunan hidrolizatların şeker içerikleri

Çizelge 12:Spektrofotometrede dört farklı konsantrasyondaki hidrolizatta dört farklı okuma sonrası tespit edilen ortalama değerler (Okumalar 540 nm dalga boyunda yapılmıştır)

Seyreltik H_2SO_4 oranı	Okunan ortalama değerler (Abs)	Şeker konsantrasyonu (%)
%1	2,7139	13,69
%2	2,3965	12,04
%3	2,3163	11,63
%4	2,1258	10,64



Grafik 4:Farklı yoğunluktaki asit hidrolizatlarının spektrofotometre ile 540 nm dalga boyunda okunan şeker değerleri (Abs cinsinden)

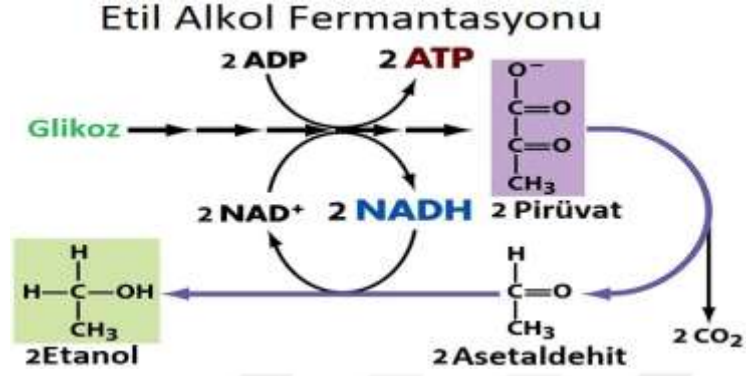
Spektrofotometrede okuma daha önce bahsedildiği gibi 10 kat seyreltme yapıldıktan sonra 540 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Grafik ve çizelge incelendiğinde hem absorbans hem de konsantrasyon bakımından en zengin invert şeker içeriğine %1 H₂SO₄ asit hidrolizatının sahip olduğu anlaşılmıştır.

İçerdikleri işlenebilir monosakkarit oranları belirlenen H₂SO₄ asit hidrolizatları farklı sürelerde *Z. mobilis* ile fermentasyona tabi tutularak glikoliz işlemi sonucunda elde edilebilecek etil alkol oranı saptama işlemine geçilerek bu işlemlerin ve hammaddenin uygunluğu test edilmiştir.

Buna göre %1 konsantrasyon yoğunlukta H₂SO₄ ile hidrolize edilen Osmancık pirinç kabuğu daha önce hazırlanan *Z. mobilis* besiyerine eklenerek farklı sürelerde fermentasyon yapması sağlanarak glikoliz sonucu etil alkol verimi gözlenmiş ve belirlenen süreler sonunda elde edilen etanol miktarları kayıt altına alınmak suretiyle optimum değer elde edilmeye çalışılmıştır.

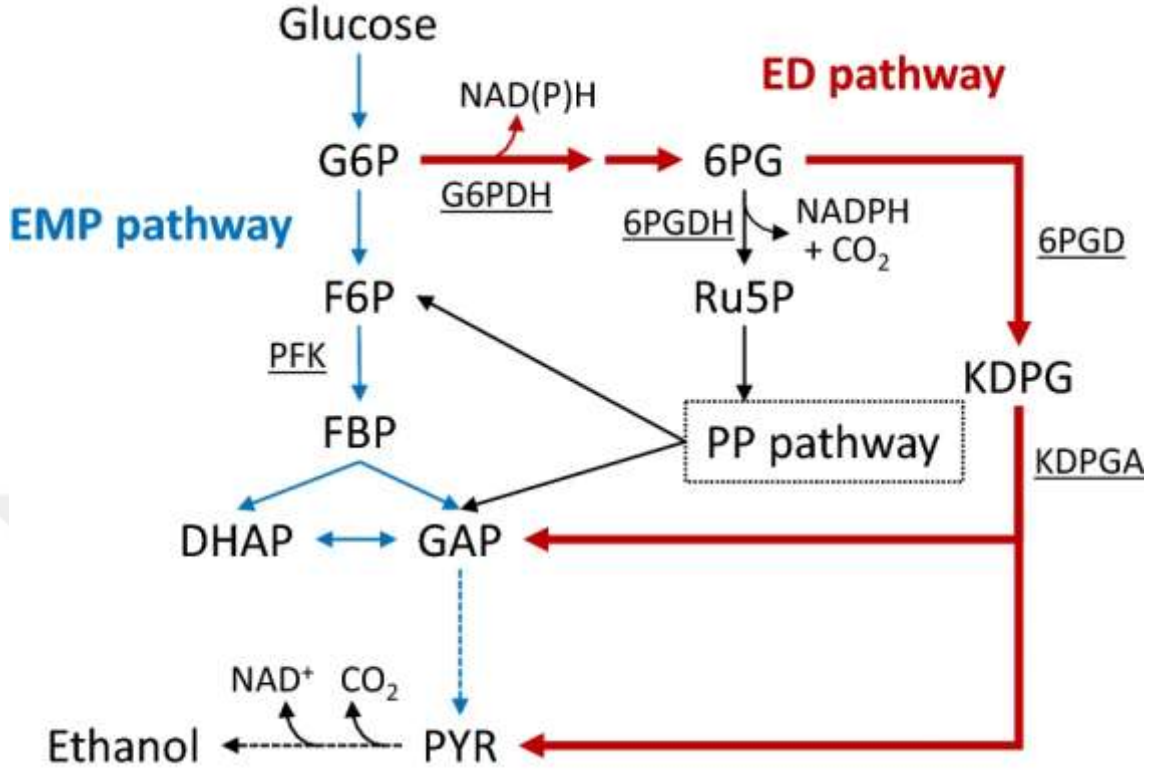
4.1. Fermentasyon



Şekil 17: Glikoliz işlem basamakları (<https://osmanesen.com.tr> Erişim tarihi 05.04.2024)

Osmancık pirinç kabuğu içinde bulunan ve hidroliz yoluyla işlenebilir hale getirilen şeker fermentasyon işlemi ile fermente edilerek nihai ürün olan etil alkolü elde edebilmek için iki yol izlenebilir;

- 1- Embden-Meyerhof yolu
- 2- Entner-Doudoroff yolu



Şekil 18:EMP ve ED yolunu gösteren metabolik harita (Jojima vd., 2021)

Osmancık pirinç kabuğu öğütülmüş halde 10'ar gram tartılarak 250 ml'lik erlenlere koyulmuş ve üzerine 100'er ml %1'lik ve %4'lük H₂SO₄ seyreltik asit çözeltisi eklenerek 1 saat süreyle 121°C sıcaklıkta otoklavlama işlemi uygulanmıştır. Çözeltiler ikişer adet olacak şekilde beş tekrar halinde hazırlanmıştır.

Otoklavlama işleminin ardından çıkan hidrolizatlar süzdürülmüş, pH 5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra sterilizasyon uygulaması için tekrar 121 °C sıcaklıkta 15 dakika süreyle otoklavlanmıştır.

Otoklavlanarak sterilize edilen hidrolizatlara kültür ortamında geliştirilen *Z. mobilis*, fermentasyon başlamadan önce aseptik ortamda 1/10 (w/v) oranında hazırlanan üreme ortamına inoküle edilmiştir. Aşılama ardından ekim öncesinde daha önce hazırlanan besiyeri (mineral) 10 ml olacak şekilde takviye edilmiştir. Önceden hazırlanan besiyerinin içeriğinde maya eksraktı, pepton, KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄ ve MgSO₄.7H₂O bulunmaktadır.

Ekim ve aşılama işlemleri tamamlanan üreme ortamlarının bulunduğu erlenlerin ağzları pamukla tıkanmış ve alüminyum folyo ile kaplanarak hava akışının içeri girmesi engellenmiştir.

Erlenlerin ağzının kapatılmasında amaç hem kültür ortamının steril kalmasını sağlamak ve hem de oksijensiz solunum yoluyla etanol üretimi gerçekleştirecek olan *Z. mobilis*'in bulunduğu üreme ortamına oksijen girmesini engellemektir.

Etanol üretiminin, içerisinde 100 ml üretim ortamı bulunan 250 ml'lik erlenlerde çalkalamasız inkübatörde 28°C ve 32°C sıcaklıklarda farklı saatlerde gerçekleşmesi gözlemlenmiştir.



Şekil 19:İnkübatöre yerleştirilen üreme ortamları

İnkübatöre bırakılan üreme ortamları 12 saat, 24 saat, 36saat, 48 saat ve 60 saat sonunda incelenecek şekilde planlama yapılmıştır.

Tespit edilen süreler sonunda alınan örneklerdeki fermentasyon denemeleri iki paralel halinde gerçekleştirilmiştir.

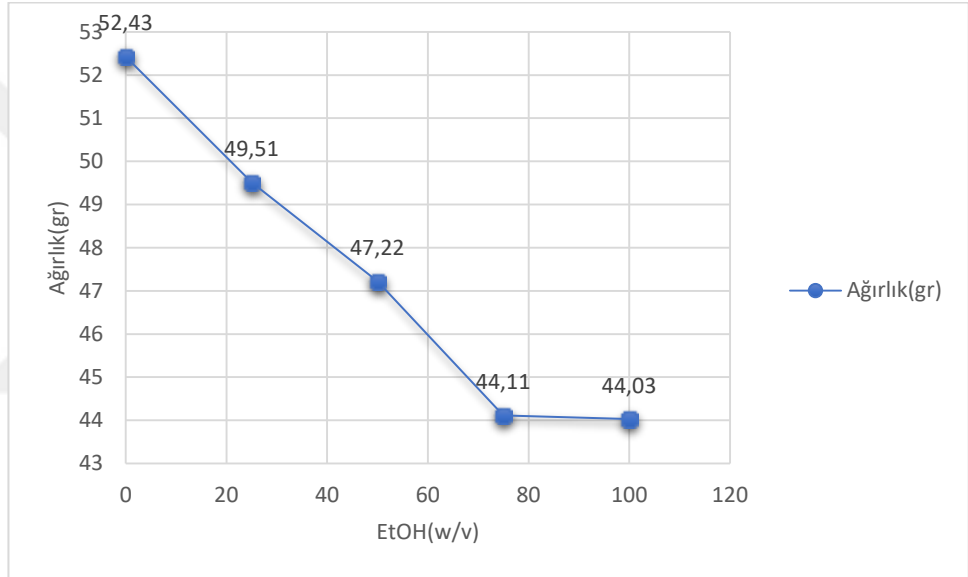
Fermentasyon sonucunda açığa çıkacak olan etil alkolün miktarının hesaplanabilmesi için yoğunluk farkından kaynaklı ağırlık ölçümleri yapılmıştır. (w/v)

Bunun için fermentasyon sonucu üretilecek olan etil alkolün oranını belirlemede kullanılmak üzere aşağıdaki standart oluşturulmuştur.

Standart oluşturmak için eklenen oranlar ve okunan değerler Çizelge 12'de gösterilmiştir.

Çizelge 13:Standart oluşturmak için yapılan çözeltilerin ağırlıkları

H ₂ SO ₄ Oranı	EtOH Oranı	Okunan Ağırlık(gr)
%100	%0	52,43
%75	%25	49,51
%50	%50	47,22
%25	%75	44,11
%0	%100	44,03



Grafik 5:Ağırlık-hacim farkından faydalanılarak deney sonrası etanol miktarını hesaplamak için hazırlanan H₂SO₄ ve EtOH standart çözeltilerinin grafığı

Bu çözeltiler ile oluşturulan standartlardan hareketle fermentasyon işlemi için hazırlanan üreme ortamları %1'lik ve %4'lük H₂SO₄ seyreltik asit çözeltisi eklenerek sırasıyla belirlenen saatlerde sağlamalı olarak ikişer örnek alınarak tartımları yapılmıştır.

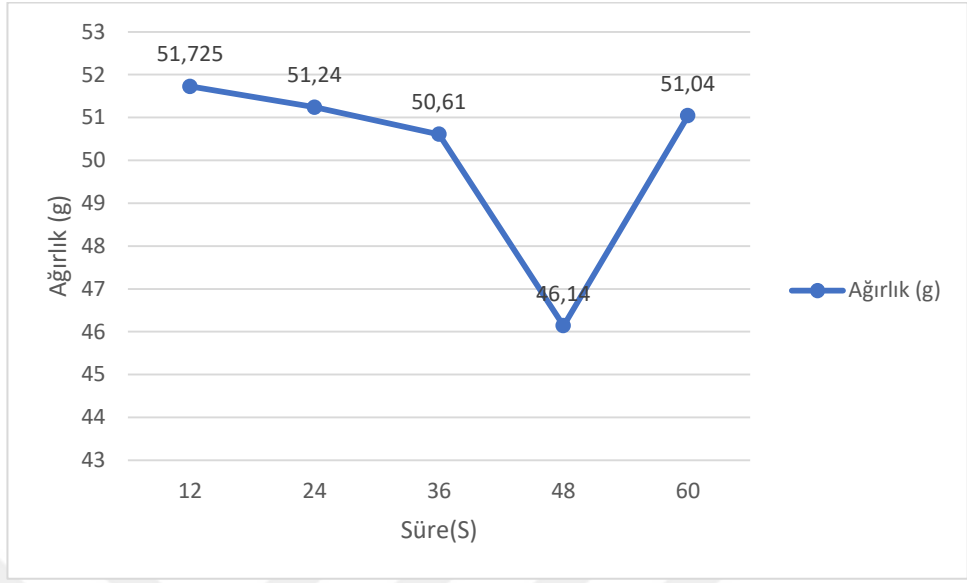
- 12. saatin sonunda ilk iki örnek alınarak ağırlık-hacim farkından hareketle tartılmış ve %1'lik örnek 51,72 gr, %4'lük örnek 52,27 gr olarak tartımı okunmuştur.
- 24. saatin sonunda iki örnek alınarak tartılmış, %1'lik örnek 51,12 gr ve %4'lük örnek 52 gr okunmuştur.

- 36. saatin sonunda alınan iki örnekten %1'lik örnek 50,48 gr, %4'lük örnek ise 50,97 gr olarak okunmuştur.
- 48. saatin ardından alınan örneklerden %1'lik örnek 46,12 gr, %4'lük örnek 47,13 gr tartılmıştır.
- 60. saatin ürünleri yine iki örnek alınmış ve örneklerden %1'lik örnek 51,19 gr, %4'lük örnek 50,79 gr olarak tartılmıştır.

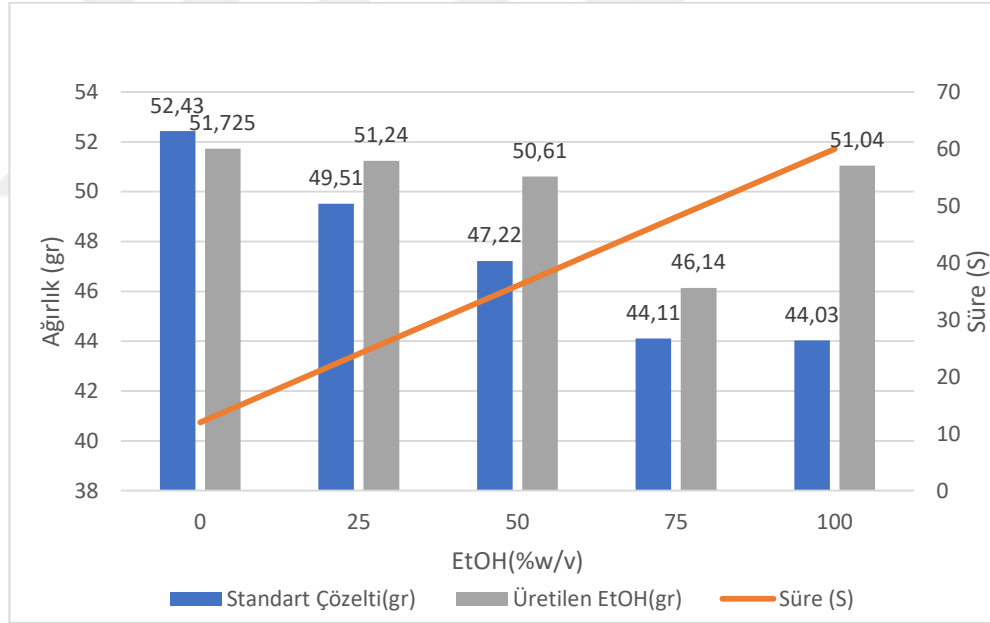
Çizelge 14: Üreme ortamından farklı saatlerde alınan örneklerin etil alkol verimliliği

Süre (Saat)	Alınan Örnekler	EtOH (gr)
12	%1'lik Örnek	51,725
	%4'lük Örnek	52,27
24	%1'lik Örnek	51,24
	%4'lük Örnek	52,09
36	%1'lik Örnek	50,61
	%4'lük Örnek	50,97
48	%1'lik Örnek	46,14
	%4'lük Örnek	47,13
60	%1'lik Örnek	51,04
	%4'lük Örnek	50,79

Örneklerden alınan sonuçlardan anlaşılacağı üzere uygun koşullar sağlanarak etil alkol üretimi yapıldığında (bu deneyde kullanılan *Z. mobilis* ve Osmancık pirinç kabuğu substratı ile) 48 saate kadar arttığı, 48 saatten sonra ise azalma eğilimine girdiği görülmüştür.



Grafik 6: 28 °C Üreme ortamlarından elde edilen EtOH oranı



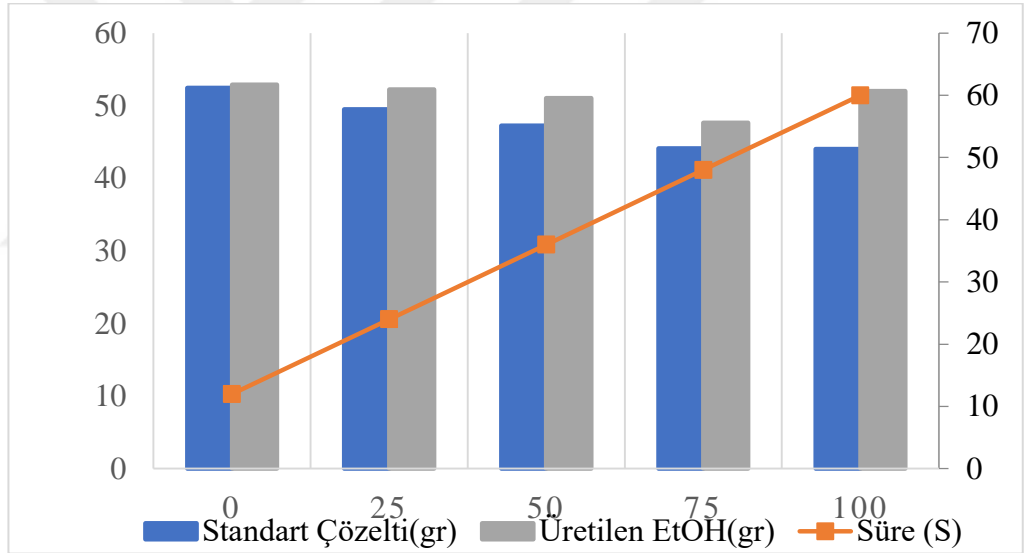
Grafik 7: 5 ve 6 numaralı grafiklerin karşılaştırılması

Grafik 7' de bulunan 5 ve 6 numaralı grafiklerin karşılaştırılması ele alındığında substratı Osmancık pirinç kabuğu olan fermente rezidülerde 48 saat sonunda optimum verim sağlandığı, bu saatten sonra etil alkol üretiminin düşüş standına girdiği görülmektedir. Karşılaştırmadan hareketle 48 saat sonunda %58,68 oranında etil alkol elde edildiği gözlemlenmiştir.

Sıcaklık değiştirilerek aynı işlemler 32°C sıcaklıkta çalkalamasız inkübatörde tekrar üreme ortamında denendiğinde yoğunluk farkından faydalanılarak aşağıda bulunan değerler elde edilmiştir.

Çizelge 15:32°C sıcaklıkta farklı süreler sonunda çözeltilerde bulunan EtOH yoğunluğunun gram cinsinden değeri

Süre (Saat)	EtOH (gr)
12	52,871
24	52,23
36	51,03
48	47,642
60	52,019



Grafik 8:32°C sıcaklıkta üretilen EtOH grafiği

Tüm bu veriler eşliğinde etil alkol oranını hesap edebilmek için interpolasyon yöntemi² kullanıldı ve Çizelge 16 ile Çizelge 17 içeriğindeki sonuçlar bulundu.

² İnterpolasyon, genellikle bir veri kümesinin eksik noktalarını tahmin etmek veya bir fonksiyonun bilinmeyen değerlerini tahmin etmek için kullanılan matematiksel bir tekniktir. Bu işlem, verilen iki nokta arasındaki değeri tahmin etmek amacıyla mevcut verilerden yararlanır. İnterpolasyon, mühendislik, istatistik, bilgisayar grafikleri gibi birçok alanda kullanılır ve özellikle veri analizi ve modelleme süreçlerinde kullanılan önemli bir araçtır.

En yaygın kullanılan interpolasyon yöntemleri şunlardır:

1. Doğrusal İnterpolasyon (Linear Interpolation)-(Bu çalışmada kullanılan yöntem.)
2. Polinom İnterpolasyonu (Polynomial Interpolation)
3. Spline İnterpolasyonu (Spline Interpolation)

Çizelge 16:28°C ve 32°C sıcaklıklarda farklı sürelerde elde edilen EtOH oranı

Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Ağırlık (gr)	EtOH Oranı (%)
28°C	12	51,725	13,79
	24	51,24	17,68
	36	50,61	22,75
	48	46,14	58,68
	60	51,04	19,29
32°C	12	52,871	0
	24	52,23	1,71
	36	51,03	11,96
	48	47,642	44,81
	60	52,019	3,52

Çalışmamız Osmancık pirinç kabuğunun içerdiği invert şekerlerin 28 °C sıcaklıkta, pH 5 ortamında, *Z. mobilis* ile fermentasyonunun 48 saat sonunda %58,68 oranında etil alkol eldesi verimiyle başarıyla sonuçlanmıştır.

4.2.Etil Alkol Üretim Optimizasyonu

Etanol üretiminde kayda değer proses değişkenleri olan sıcaklık, asit konsantrasyonu ve sürenin etkisini araştırmak ve bu değişkenler üzerinden optimum üretim seviyesini belirlemek amacıyla Cevap Yüzey Yönteminden fayda alınmıştır.

Bu çalışmaya özgün kullanılan Cevap Yüzey Yönteminde kullanılan ampirik dizayn noktaları ve elde edilen deney sonuçları aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çalışmanın deneysel sonuçlarının etanol veriminin % olarak hesaplanmasında lineer(doğrusal) interpolasyon yöntemi kullanılmıştır.

Lineer interpolasyon yöntemi iki veri noktası arasındaki bilinmeyen bir değeri tahmin etmek için kullanılan basit bir yöntemdir. Bu yöntemde, iki nokta arasında doğrusal bir ilişki olduğu kabul edilir.

Lineer interpolasyon yönteminde iki veri noktası (x_0, y_0) ve (x_1, y_1) verildiğinde, bu noktalar arasında kalan herhangi bir x değeri için y değerini bulmak amacıyla doğrusal bir fonksiyon kullanılır.

Çizelge 17:Ampirik tasarımlar ve cevaplar

Çalışma Sırası	Bağımsız Değişkenler			Etanol Verimi (%)
	Süre (s)	Sıcaklık (°C)	Asit Konsantrasyonu (%)	
4	48	28	1	58,68
14	48	28	4	50,72
19	48	32	4	45,85
9	48	32	1	44,81
3	36	28	1	22,75
5	60	28	1	19,29
2	24	28	1	17,68
15	60	28	4	14,04
1	12	28	1	13,79
13	36	28	4	12,50
20	60	32	4	12,24
18	36	32	4	12,07
8	36	32	1	11,96
17	24	32	4	8,99
10	60	32	1	3,52
12	24	28	4	2,91
16	12	32	4	2,48
7	24	32	1	1,72
11	12	28	4	1,37
6	12	32	1	-

4.2.1. Matematiksel model

Yapılan deneyler neticesinde elde edilen bulgu verileri üzerine çoklu regresyon analizi uygulanmış ve bulunan regresyon katsayıları kullanılarak yüzey merkezli tasarım için ikinci dereceden model denklem üretilerek aşağıda verilmiştir.

$$Y = -37.45 + 1.13X_1 + 5.99X_2 - 1.42X_3 - 0.012X_1^2 - 0.13X_2^2 - 0.27X_3^2$$

Burada:

- Y: Etanol Verimi (%)
- X₁: Süre (Saat)
- X₂: Sıcaklık (°C)
- X₃: Asit Konsantrasyonu (%)

4.2.2. ANOVA analiz sonuçları

Modelin anlamlılığını ve terimlerin etkilerini değerlendirmek için ANOVA analizi gerçekleştirilmiştir.

Oluşturulan bu modelin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığı varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Bu yöntemle her bir faktörün lineer, quadratik ve interaksyon etkilerinin cevaplar üzerindeki istatistiksel önemlilikleri %95 güvenlik seviyesinde bulunmuştur.

ANOVA analizi elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmaktadır.

Çizelge 18: ANOVA analizi sonuçları

Kaynak	(Sum of Squares)	(df)	Ortalama Kare (Mean Square)	F Değeri	p-Değeri	Anlamlılık Durumu
Model	279.24	9	31.03	17.43	< 0.0001	Anlamlı
Süre (A)	0.000	1	0.000	0.000	1.0000	
Sıcaklık (B)	151.29	1	151.29	84.97	< 0.0001	
AsitKons.(C)	85.10	1	85.10	47.80	< 0.0001	
AB	0.000	1	0.000	0.000	1.0000	
AC	0.000	1	0.000	0.000	1.0000	
BC	0.000	1	0.000	0.000	1.0000	
A ²	41.08	1	41.08	23.07	< 0.0001	
B ²	3.74	1	3.74	2.10	0.1777	
C ²	1.04	1	1.04	0.59	0.4615	
Residual	17.80	10	1.78			
Lack of Fit	13.69	5	2.74	3.32	0.1067	Anlamlı Değil
Pure Error	4.12	5	0.82			
Toplam	297.05	19				

SS: Sum of Squares, DF: Degrees of Freedom

Sürenin Etkisi

Süre, hem birinci dereceden hem de ikinci dereceden etkileriyle istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.0007$). Bu durum, etanol üretiminde sürenin en kritik parametrelerden biri olduğunu göstermektedir.

İkinci dereceden etkinin anlamlılığı, süre değişkeninin doğrusal olmayan bir şekilde etanol verimini etkilediğini ve optimum sürenin bulunmasının önemli olduğunu işaret eder. Yani, süre arttıkça verim bir noktaya kadar yükselmekte, ardından düşüş göstermektedir. Bu, aşırı uzun sürelerde yan ürün oluşumu veya ham maddenin tükenmesi gibi nedenlerle açıklanabilir.

Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklık faktörü, tek başına anlamlı bir etkiye sahip bulunmamıştır ($p=0.283$). Bu durum, deney aralığında sıcaklığın etanol verimi üzerindeki etkisinin nispeten düşük olduğunu göstermektedir.

Ancak, sıcaklık faktörü diğer değişkenlerle etkileşim içinde önemli olabilir. Örneğin, sürenin ve asit konsantrasyonunun farklı seviyelerinde sıcaklığın etkisi değişebilir. Bu nedenle, gelecekte sıcaklık-reaksiyon süresi etkileşimlerinin incelenmesi faydalı olacaktır.

Asit Konsantrasyonunun Etkisi

Asit konsantrasyonu faktörü de model üzerinde tek başına anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p=0.351$). Bu sonuç, deney aralığında kullanılan asit konsantrasyonlarının etanol üretiminde güçlü bir belirleyici olmadığını göstermektedir.

Yine de, asit konsantrasyonunun belirli koşullarda reaksiyon kinetiği üzerinde etkili olabileceği ve farklı süreçlerle kombinasyon halinde daha derinlemesine incelenmesi gerektiği söylenebilir.

Modelin Genel Başarısı

Süre'nin ikinci dereceden etkisi ve modelin genel anlamlılığı, etanol üretim optimizasyonu için modelin geçerli ve kullanılabilir olduğunu göstermektedir. Bu model, bağımsız değişkenlerin etanol verimi üzerindeki etkilerini anlamak için güvenilir bir araçtır.

Ancak, modelin tahmin doğruluğunu artırmak için daha fazla deney yapılması ve değişkenlerin daha geniş aralıklarla incelenmesi gerekebilir.

Optimum Koşullar

Model, deney verileri ışığında optimum koşulların tahmini için kullanılabilir. Bu sonuçlar, belirli bir sürede maksimum verimi elde edebilmek için sürenin dikkatlice optimize edilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Ancak, sıcaklık ve asit konsantrasyonu gibi faktörlerin daha yüksek veya düşük seviyelerde incelenmesi, mevcut bulguların daha kapsamlı bir şekilde doğrulanmasını sağlayabilir.

Lack of Fit Analizi:

Modelin "lack of fit" değeri anlamlı bulunmamıştır, bu da modelin deneysel verilerle uyumlu olduğunu gösterir. Model hataları rasgele dağılmıştır.

Sonuçlar, etanol üretim sürecinin başarılı bir şekilde optimize edilebileceğini ve özellikle sürenin kritik bir parametre olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, sıcaklık ve asit konsantrasyonu gibi faktörlerin etkilerinin daha ayrıntılı analiz edilmesi, sürecin daha verimli hale getirilmesine katkı sağlayabilir. Çalışma, etanol üretiminde maliyet ve verim açısından önemli bir temel oluşturmaktadır.

Bu model sistemin gerçek cevaba uygun bir yaklaşım olup olmadığına uyum eksikliğinden (lack of fit) kaynaklanan hatanın önemsiz olması ve regresyondan kaynaklanan varyasyonun %95 güvenlik seviyesinde önemli olması koşulu ile karar verilmiştir.

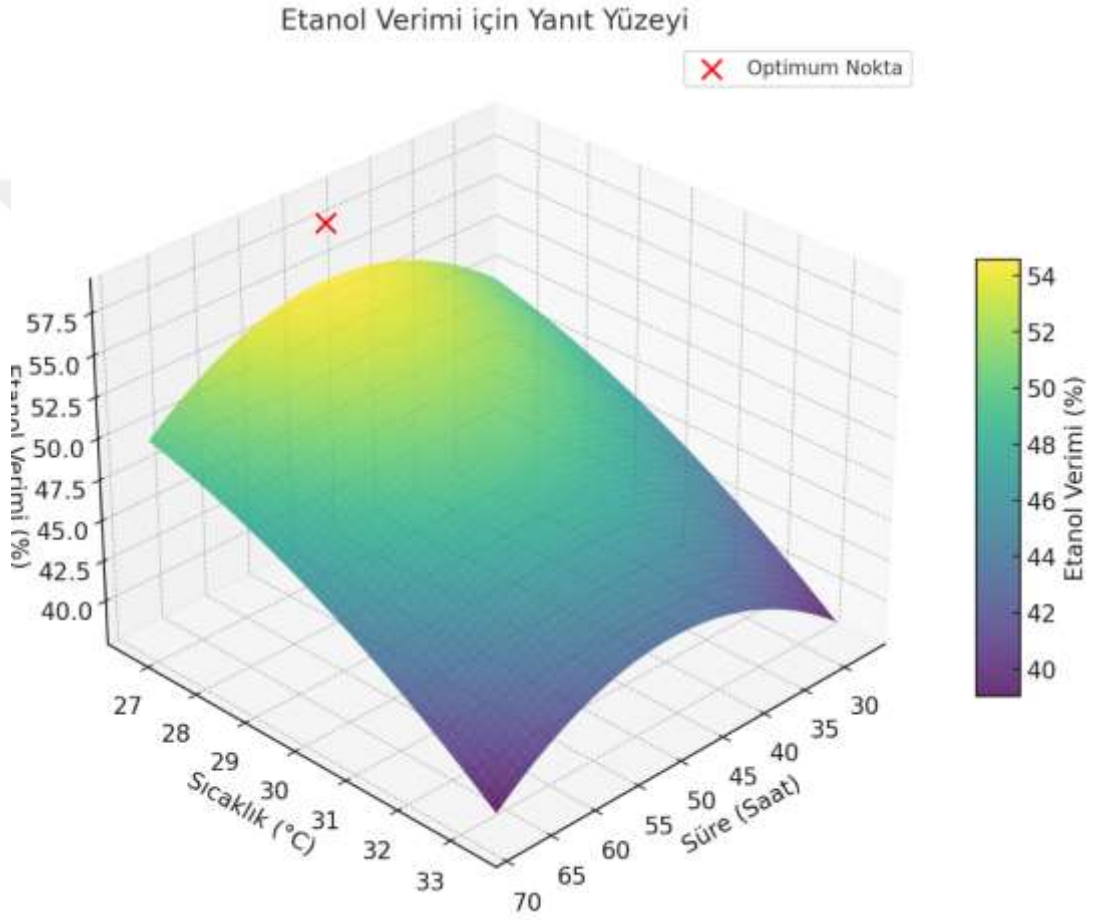
4.2.3.Optimizasyon ve Sonuçlar

Optimum nokta ve tahmini etanol verimi:

- **Süre:** 50,77 saat
- **Sıcaklık:** 28.14°C
- **Asit Konsantrasyonu:** %1
- **Tahmini Maksimum Etanol Verimi:** %55.27

Optimum noktanın 3D yanıt yüzeyi grafiği aşağıda gösterilmiştir. 3D yanıt yüzeyi grafiği, parametrelerin etanol verimi üzerindeki etkilerini görsel olarak açıklamaktadır. **Kırmızı ile işaretlenen optimum nokta**, en yüksek etanol verimi değerini temsil etmektedir.

Aşağıdaki grafiklerle bu analizler detaylandırılmaktadır:



Grafik 9 : Design Expert programı ile elde edilen grafik

Optimizasyondan elde ettiğimiz verilerle yaptığımız analiz sonuçları karşılaştırıldığında, programın bize verdiği değerlere çok yakın bir sonuç elde etmiş olduk. Böylelikle program bize %94 oranında doğru bir veri sağlamış oldu. Bu da yapmış olduğumuz çalışmanın ve optimizasyon çalışmasının güvenle kullanabileceğini göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Osmancık pirinç kabuğunda bulunan invert şeker miktarı, önceki bölümlerde sunulan literatür taramasında belirtilen işlenebilir şeker oranı ile kıyas edildiğinde nispeten düşük seviyede olduğu görülmektedir. Ancak 48 saatlik fermentasyon süresi sonunda %58,68 oranında etil alkol elde edilmesi Osmancık pirinç kabuğundaki işlenebilir şeker oranının düşük olmasına rağmen oldukça yüksek bir verim sağlandığını göstermektedir. Bu durum, Osmancık pirinç kabuğunun biyoteknolojik uygulamalarda potansiyel bir hammadde olarak değerlendirilmesinin mümkün olduğunu ortaya koymaktadır.

5.1. Ön İşlemsiz Asit Hidrolizi ve Verim Analizi

Literatür taramasına göre, çeşitli coğrafi bölgelerden elde edilen pirinç kabukları, şeker melası, peynir altı suyu ve diğer substratlar kullanılarak son ürün olan etanol veya biyoetanol üretimlerinde kimyasal, fiziksel veya fiziko-kimyasal ön işlemler uygulanmıştır. Bu ön işlemler sonrası hidroliz işlemi gerçekleştirilmiştir. Buna karşın, bu çalışmada ön işlem basamakları atlanarak doğrudan seyreltik H₂SO₄ hidrolizi işlemi gerçekleştirilmiş; lignoselülozik yapının parçalanması ve selülozun invert şeker dönüşümü bu yöntemle sağlanmıştır. Bu çalışma, ön işlem uygulanmadan doğrudan asit hidrolizi yoluyla etil alkol üretiminin mümkün olabileceğini kanıtlanmaktadır. Bu, proses basamaklarının basitleştirilmesi ve maliyetlerin düşürülmesi açısından önemli bir avantaj sunmaktadır.

5.2. Araştırma Önerileri ve İleri Çalışmalar

5.2.1. Enzimatik ve alkali hidroliz

Bu çalışmanın bulgularına dayanarak, ön işlem basamağının kaldırılmasıyla yapılacak olan hidroliz işleminin enzimatik veya alkali yöntemlerle değerlendirilmesi önerilmektedir. Enzimatik hidroliz veya alkali hidrolizden elde edilecek sonuçlar ile asit hidroliz sonucu karşılaştırılarak optimum verim için en uygun yöntemin belirlenmesi mümkündür. Enzimatik hidroliz, daha düşük sıcaklıklarda ve pH seviyelerinde çalışabildiği için enerji tasarrufu sağlayabilir ancak maliyet olarak hem asit hidrolizinden hem de alkali hidrolizden daha yüksek maliyete sebep olacağı bilinmelidir.

5.2.2. H₂SO₄ konsantrasyonu ve otoklavlama süresi

%15'lik H₂SO₄ çözeltisi ile yapılan hidrolizasyon işleminde, 121°C sıcaklıkta 1 saat süreyle otoklavlama yapılmış, ancak bu süreçte rezidü yanarak kullanılamaz hale gelmiştir. Bu nedenle, asit konsantrasyonu ve sıcaklık sabit tutularak otoklavlama süresinin kısaltılmasıyla hidrolizasyon veriminin %15 konsantrasyonda gözlemlenmesi gerekmektedir. Alternatif olarak, daha düşük konsantrasyonlarda H₂SO₄ kullanılarak ve hidroliz süresi optimize edilerek verim artırılabilir.

5.2.3. Fermentasyon süresi ve verim

Fermentasyon süresinin etil alkol verimine etkisi incelenmiş ve optimum verimin 48 saat sonunda elde edildiği, 60 saat sonra ise etil alkol veriminin düşüş trendine girdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, fermentasyon süresinin 48-60 saat aralığında daha detaylı incelenmesi, daha net bir optimum süre ve verim yüzdesi elde edilmesini sağlayabilir. Fermentasyon süresinin optimizasyonu, enerji ve kaynak tasarrufu sağlayabilir.

5.2.4. Substrat yoğunluğu ve etanol verimi

Fermente edilen hidrolizatlarda substrat yoğunluğunun izlenmesi ve bu yoğunluğa göre etanol verim oranının belirlenmesi, substrat yoğunluğunun verim üzerindeki etkisi hakkında bilgi verebilir. Yüksek yoğunluklu substratların kullanımı, proses verimliliğini artırabilir ve üretim maliyetlerini düşürebilir.

5.2.5. Alternatif azot kaynakları

Besiyerlerinde azot kaynağı olarak kullanılan maya ekstraktı yerine farklı azot kaynaklarının etil alkol verimine etkisi araştırılabilir. Örneğin, tarımsal atıklardan elde edilen azot kaynakları, sürdürülebilirlik ve maliyet açısından değerlendirilebilir.

5.2.6. Fermentasyon ortamları

Fermentasyon işleminin çalkalamasız inkübatör yerine biyoreaktörde gerçekleştirilmesi, inkübatör ve biyoreaktörde elde edilen etil alkol verimlerinin karşılaştırılması sonucunda fermentasyon işlemi için en uygun ortamın belirlenmesini sağlayabilir. Biyoreaktörler, daha iyi kontrol edilebilir ortamlar sunarak verim artışına katkıda bulunabilir. Ancak biyoreaktörler çok pahalı cihazlar olduğu için maliyeti son derece artıracaktır.

5.2.7.Mikroorganizma çeşitleri

Fermentasyon sürecinde *Zymomonas mobilis* subspecies *mobilis* NRRL B-14023 suşu dışında farklı suşlar ya da mikroorganizmalar kullanılması ve bu mikroorganizmaların üreme ortamlarına etkileri incelenebilir. Alternatif mikroorganizmalar, farklı substratlar üzerinde daha yüksek verim sağlayabilir.

5.2.8.Damıtma ve saflaştırma

Fermentasyon sonucu elde edilen etil alkolün damıtılması ve saflaştırılması işlemleri ile elde edilen etil alkolün saflık derecesi ve net verimi hesaplanabilir. Yüksek saflık derecesine sahip etil alkol, biyoyakıt olarak daha yüksek performans gösterebilir ve ticari değeri saflık oranıyla doğru orantılı olarak artar.

5.2.9.HPLC ile etil alkol veriminin hesaplanması

HPLC invert şekerlerin etil alkole dönüşümünü ve etil alkolün asetik aside parçalanması gibi süreçlerin tümü olmak üzere döngünün tamamının detaylı olarak izlenmesine imkân sağlayan bir kromatografi yöntemidir.

Bu yöntem bir analitik kimya tekniğidir. Karışımlardaki bileşenlerin tespitinde, ayrıştırılmasında ve nitel, nicel özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi olarak bilinir.

Fermentasyon sonucu elde ettiğimiz çözeltilerin içindeki etil alkol miktarının oranını HPLC cihazı ile tespit etmek oldukça kolaydır ve doğru sonuçlar almak için önerilir. Ancak cihaz başlı başına maliyet gerektirir ki analiz kısmında kullanılacak olan kimyasal sıvıları da hesap edersek bu yöntem maliyeti oldukça artıracaktır. Bundan dolayı çalışmamızda bilimsel ve daha düşük maliyetli yöntemler kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında, literatüre göre görece ortalama bir selüloz miktarına sahip olan Osmancık pirinç kabuğundan %58,68 gibi yüksek bir oranda son ürün elde edilmesi, bu çalışmanın optimum verimle neticelendiğini göstermektedir. Ayrıca, bu çalışmada kullanılan işlem basamaklarının;

- Osmancık pirinç kabuğunun öğütülmesi,
- Osmancık pirinç kabuğunun kimyasal analizi,
- Osmancık pirinç kabuğunun seyreltik asit ile hidrolizi,

- Fermentasyon olarak işlenmesi,

Çalışmanın maliyet ve zaman açısından avantajlar sunduğunu ve gelecekteki araştırmalara önemli bir referans oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Bu yöntem, biyoteknolojik uygulamalarda lignoselülozik biyokütlenin dönüştürülmesi için pratik ve etkili bir yaklaşım sunmaktadır. Karmaşık lignoselülozik biyokütleden biyoetanol üretme teknolojilerinin gelişimine katkı sunmaktadır.



KAYNAKLAR

- Adıgüzel, A. O. (2013). Lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretimi için kullanılan ön-muamele ve hidroliz yöntemleri. *Sakarya University Journal of Science*, 17(3), 381-397.
- Ahmaruzzaman, M. and Gupta, V. K. (2011). Rice husk and its ash as low-cost adsorbents in water and wastewater treatment. *Industrial&Engineering Chemistry Research*, 50(24), 13589-13613.
- Altınışik, S., Nigiz, F. U., Gürdal, S., Yılmaz, K., Tuncel, N. B., & Koyuncu, S. (2024). Optimization of bioethanol production from sugar beet processing by-product molasses using response surface methodology. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-14.
- Anonim, 2023 a <https://tr.wikipedia.org/wiki/Pirin%C3%A7>
- Anonim, 2023 b <https://sofrayakadar.com/2020/08/03/pirinc/>
- Arismendy Pabón, A. M., Felissia, F. E., Mendieta, C. M., Chamorro, E. R., & Area, M. C. (2020). **Improvement of bioethanol production from rice husks.**
- Asadullah, Z. A. K. I., & Özlem, S. O. L. A. (2020). Pirinç Kabuğu Külü Katkılı Harçların Dayanım ve Dayanıklılık Özelliklerin Araştırılması. *ALKÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 2(2), 54-61.
- Asadullah, Z. A. K. I., & Özlem, S. O. L. A. (2020). Pirinç Kabuğu Külü Katkılı Harçların Dayanım ve Dayanıklılık Özelliklerin Araştırılması. *ALKÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 2(2), 54-61.
- Ayvalı, N., & Mutlu, S. F., (2020). *Peynir Altı Suyundan Fermantasyon Yolu ile Etanol Üretimi* . Çukurova Uluslararası Yenilikçi Bilimsel Araştırmalar Kongresi (pp.220). Adana, Turkey.
- Bakırcıoğlu, D. (2004). *Pirinç kabuğu ve külü üzerinde bazı eser elementlerin adsorbsiyonunun ve desorbsiyonunun incelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, Türkiye.

- Balaydin, İ. (2005). Pirinç kabuğu ve külünün betonda kullanılabilirliğinin araştırılması.
- Bayraktar, O. Y. (2020). Pirinç kabuğu atıklarının köpük beton üretiminde kullanılması. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(12), 2716-2722.
- Bayraktar, O. Y. (2020). Pirinç kabuğu atıklarının köpük beton üretiminde kullanılması. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(12), 2716-2722.
- Bayraktar, O. Y., Sağlam-Citoglu, G., Belgin, C. M., Cetin, S., & Cetin, M. (2019). Investigation of effect of brick dust and silica fume on the properties of portland cement mortar. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(11), 7823-7832.
- Blasi, C. D., Signorelli, G., Russo, C. D. and Rea, G. (1999). Product distribution from pyrolysis of wood and agricultural residues. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 38(6), 2216-2224.
- Bostancı, C., Karatay, S. E., & Dönmez, G. (2019). *Yer Fıstığı Kabuğundan Biyoetanol Üretimi*. Gıda, 44(2), 291-300.
- ChiL, LuS, YaoY. 2019. Damping Additives Used in Cement Matrix Composites: A Review. *Composites Part B: Engineering*, 164:2636. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.11.057>
- ChoYK, JungSH, ChoiYC. 2019. Effects of Chemical Composition of Fly Ash on Compressive Strength of Fly Ash Cement Mortar. *Construction and Building Materials*, 204:255-264. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.01.208>
- Conway, T. (1992). The Entner-Doudoroff pathway: history, physiology and molecular biology. *FEMS microbiology reviews*, 9(1), 1-27.
- Çalışkan, R., Yağcı, S., & Kocabaş, D. S. (2014). Lignoselülozik biyokütlenin ekstrüzyon ile ön işleme ve enzimatik yolla ksilooligosakkarit üretimi. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(1), 156-171.

- Çiftçi, M., Adıgüzel, A., Erat, M., & Şahin, F. (2004). Bacillus sp.(BA-142) Bakterisinden Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Enziminin Kısmen Saflaştırılması Ve Bazı Kinetik Özelliklerinin Belirlenmesi/Partially Purification Of Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase From Bacillus sp.(BA-142) And Investigation Of Som. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(3-4).
- Danish, M., Naqvi, M., Farooq, U. and Naqvi, S. (2015). Characterization of South Asian agricultural residues for potential utilization in future “energy mix”. *Energy Procedia*, 75, 2974-2980,
- Eren, İ. (2004). Patateslerin osmotik dehidrasyonunun “response surface” metodu kullanılarak optimizasyonu. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye*.
- Fersiz, S. (2018). *Biyokütleden biyoetanol üretimi için uygulanan ön hazırlık işlemleri*.
- Gabhane, J., William, S. P., Gadhe, A., Rath, R., Vaidya, A. N., & Wate, S. (2014). Pretreatment of banana agricultural waste for bio-ethanol production: Individual and interactive effects of acid and alkali pretreatments with autoclaving, microwave heating and ultrasonication. *Waste management*, 34(2), 498-503.
- Geçkil, H., (2012). *Biyokimya II*. İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Malatya, 112-117.
- Ghose, T., 1984, Measurement of Cellulase Activities, *Commission on Biotechnology*, 2-3.
- Guo, Y. and Rockstraw, D., A. (2007). Activated carbons prepared from rice hull by onestep phosphoric acid activation. *Microporous and Mesoporous Materials*, 100(1-3), 12-19.
- Gündüz, L., & Kalkan, Ş. O. (2017) Pirinç Kabuğu Külünün Çimentolu Hafif Kompozit Harçlarda Dayanım Arttırıcı Katkı Olarak Kullanılması Üzerine Teknik Bir *İnceleme*.

- Güneş, Z., Kırtıl, H. E., Küçükata, Y. Ş., & Toprak, B. (2020). Şeker pancarı ve yan ürünlerinden biyoyakıt (etanol) üretimi ve biyoetanolün endüstriyel kullanımının değerlendirilmesi. *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(2), 16-24.
- Hacıoğlu, A., Assoumou, U. T. Z., Yıldız, M., Kulcan, A. A., Yavuz, İ., & Karhan, M. (2020). Cevap Yüzey Metodu Kullanılarak Keçiboynuzu Ekstraktında Bulunan D-Pinitolün Nanofiltrasyon Uygulamasıyla Zenginleştirilmesinin Optimize Edilmesi. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(9), 1846-1853.
- <https://osmanesen.com.tr/fermantasyon-nedir-detayli-anlatim-fermantasyon-kurma.html>
- Ingale, S., Joshi, S. J., & Gupte, A. (2014). Production of bioethanol using agricultural waste: banana pseudo stem. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45, 885-892.
- Jamai, L., Ettayebi, K., El Yamani, J., & Ettayebi, M. (2007). Production of ethanol from starch by free and immobilized *Candida tropicalis* in the presence of α -amylase. *Bioresource Technology*, 98(14), 2765-2770.
- Jojima, T., Igari, T., Noburyu, R., Watanabe, A., Suda, M., & Inui, M. (2021). Coexistence of the Entner–Doudoroff and Embden–Meyerhof–Parnas pathways enhances glucose consumption of ethanol-producing *Corynebacterium glutamicum*. *Biotechnology for Biofuels*, 14, 1-9.
- Kızılduman, B. K. (2020). *Pirinç kabuğundan hidrotermal karbonizasyon yöntemi ile karbon küre üretilmesi ve enerji ve ilaç salımı alanında kullanılabilirliğinin araştırılması*.
- KilicogluC,CetinM,AricakB,SevikH.2020.SiteSelectionbyusingtheMulti-CriteriaTechniqueACaseStudyofBafra,Turkey.EnvironmentalMonitoringandAssessment,192(9):1-12
- Koç, B., & Kaymak-Ertekin, F. (2010). Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları. *Gıda*, 35(1), 1-8.

- Li, S., Xu, S., Liu, S., Yang, C., & Lu, Q. (2004). Fast pyrolysis of biomass in free-fall reactor for hydrogen-rich gas. *Fuel Processing Technology*, 85(8-10), 1201-1211.
- LiLG, LinZH, ChenGM, KwanAKH. 2020. Reutilizing Clay Brick Dust as Paste Substitution to Produce Environment Friendly Durable Mortar. *Journal of Cleaner Production*, 274:122787. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122787>
- Liou, T. H. (2004). Preparation and characterization of nano-structured silica from rice husk, *Materials Science and Engineering A*, 364, 313-323.
- Liou, T. H. and Wu, S. J. (2009). Characteristics of microporous/mesoporous carbons prepared from rice husk under base- and acid-treated conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 171 (1-3), 693-703,
- Loh, S. K., Kassim, M. A., & Bukhari, N. A. (2018). Optimisation of process conditions for ethanol production from enzymatically saccharified empty fruit bunch using response surface methodology (RSM). *Journal of Oil Palm Research*, 30(10.21894).
- Madu, J. O., & Agboola, B. O. (2018). Bioethanol production from rice husk using different pretreatments and fermentation conditions. *3 Biotech*, 8(1), 15.
- Marrugo, G., Valdés, C. F. and Chejne, F. (2016). Characterization of Colombian agroindustrial biomass residues as energy resources. *Energy Fuels*, 30(10), 8386- 8398.
- Molavi, S. S., & Özçelik, F. (2015). Peynir Altı Suyundaki Etil Alkol Üretiminde pH ve Sıcaklığın Fermentasyon Üzerine Etkisi. *Gıda*, 18(3).
- Mutlu, S. F. (2010). İki Basamaklı Tepkime İle Sivi Özütleme Yöntemi Kullanarak Fındık Tohum Kabuklarından Furfural Üretimi İçin En Uygun Koşulların İstatistik Yöntem İle Belirlenmesi. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 25(1).
- Myers RH, Montgomery DC. 1995. Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments. *2nd ed. John Wiley and Sons*, New York, NY.

- Naqvi, S. R., Uemura, Y., Osman, N. and Yusup, S. (2015). Production and evaluation of physicochemical characteristics of paddy husk bio-char for its C sequestration applications. *BioEnergy Research*, 8(4), 1800-1809.
- Özçelik, F. (1986). *Zymomonas mobilis* Bakterisiyle Melastan Etilalkol Üretimi. *Gıda*, 11(6).
- Özçelik, F., Molavi, S. S., & Balk, M. (2015). *Peynir Altı Suyundan Etil Alkol Üretiminde Laktoz Konsantrasyonunun Fermentasyon Üzerine Etkisi*. *Gıda*, 19(1).
- Özgül, S. (1991). Pirinç kepeği yağının metanol ve etanol ile yerinde esterleştirilmesi.
- Palamae, S., Choorit, W., Chatsungnoen, T., & Chisti, Y. (2020). Simultaneous nitrogen fixation and ethanol production by *Zymomonas mobilis*. *Journal of biotechnology*, 314, 41-52.
- Patle, S., & Lal, B. (2007). Ethanol production from hydrolysed agricultural wastes using mixed culture of *Zymomonas mobilis* and *Candida tropicalis*. *Biotechnology letters*, 29, 1839-1843.
- Pereira, L. M. S., Milan, T. M., & Tapia-Blácido, D. R. (2021). Using Response Surface Methodology (RSM) to optimize 2G bioethanol production: A review. *Biomass and Bioenergy*, 151, 106166.
- Pirinc.gen.tr (21 Eylül 2024). *Pirinç Kabuğu Özellikleri ve Kullanım Alanları*. <https://www.pirinc.gen.tr/pirinc-kabugu.html>
- Prakash, P., and Sheeba, K.N. (2016). *Prediction of pyrolysis and gasification characteristics of different biomass from their physico-chemical properties*. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 38 (11), 1530-1536.
- Razmovski, R., & Vučurović, V. (2012). *Bioethanol production from sugar beet molasses and thick juice using Saccharomyces cerevisiae immobilized on maize stem ground tissue*. *Fuel*, 92(1), 1-8.

- Sadıç, E. (2008). *Pirinç kabuğu külünden çeşitli silikatların üretilmesi* (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Siyakuş, S. *Havuç posasından etanol üretimi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Soleimani, S. S., Adiguzel, A., & Nadaroglu, H. (2017). Production of bioethanol by facultative anaerobic bacteria. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(3), 402-406.
- Srivastava, V. C., Deo, M. I. and Mani, M. I. (2006). Characterization of mesoporous rice husk ash (RHA) and adsorption kinetics of metal ions from aqueous solution onto RHA. *Journal of Hazardous Materials*, 134(1-3), 257-267.
- Şar, T., & Akbaş, M. Y. (2016). Biyoetanol üretimi için gıda işleme atıklarının asit hidrolizi. *Akademik Gıda*, 14(1), 15-20.
- Şar, T., & Akbaş, M. Y. (2016). Biyoetanol üretimi için gıda işleme atıklarının asit hidrolizi. *Akademik Gıda*, 14(1), 15-20.
- Şılbır, M. S. Zymomonas mobilis ile Levan Üretimi ve Üretim Parametrelerinin Optimizasyonu.
- Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı (22 Eylül 2022). *Türkiye’de çeltik üretimi 1 milyon tona çıktı.*
<https://www.tarimorman.gov.tr/Haber/5440/Turkiyede-Celtik-Uretimi-1-Milyon-Tona-Cikti>
- Toniazzo, L., Fierro, V., Braghiroli, F., Amaral, G. and Celzard, A. (2013). Biosorption of model pollutants in liquid phase on raw and modified rice husks. *Journal of Physics Conference Series*, 416, 12026.
- Turan, T. (2011). *Glukoz ve azot sinyal iletim yollarının nth1 geni transkripsiyonuna etkilerinin moleküler analizi* (Master's thesis, Bursa Uludag University (Turkey)).
- Uncu, O. N., & Çekmecelioğlu, D. (2011). Cost-effective approach to ethanol production and optimization by response surface methodology. *WASTE MANAGEMENT*, 636–643. <https://hdl.handle.net/11511/42331>

- Wu, J., Elliston, A., Le Gall, G., Colquhoun, I. J., Collins, S. R., Wood, I. P., ... & Waldron, K. W. (2018). Optimising conditions for bioethanol production from rice husk and rice straw: effects of pre-treatment on liquor composition and fermentation inhibitors. *Biotechnology for biofuels*, 11, 1-13.
- Xia, J., Yang, Y., Liu, C. G., Yang, S., & Bai, F. W. (2019). Engineering *Zymomonas mobilis* for robust cellulosic ethanol production. *Trends in biotechnology*, 37(9), 960-972.
- Yahyaoğlu, Z., Ölmez, Z., Göktürk, A., & Temel, F. (2006). Soğuk Katlama Ve Sülfürik Asit Önışlemlerinin AlıÇ (Crataegus spp.) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkileri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 8(10), 74-79.
- Yıldırım, Ö. (2020). *Bioethanol production from lignocellulosic biomass*.
- Yıldız, D. (2020). Çeşitli Aktivasyon Yöntemlerinin Sepiyolitin Yüzey Özelliklerine Etkisi. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 28(2), 107-116.
- Tran, T. T. A., Le, T. K. P., Mai, T. P., & Nguyen, D. Q. (2019). Bioethanol production from lignocellulosic biomass. *Alcohol fuels-current technologies and future prospect*, 1-14.

EKLER

EK 1 Kalibrasyon Eğrisi Grafiği ve R² Denklemi

