

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ATIK EKMEKLERDEN BİYOETANOL ÜRETİM SÜRECİNDE HALOJEN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Tülay YILMAZ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2019

Doç. Dr. Deniz UÇAR danışmanlığında, Tülay YILMAZ'ın hazırladığı “Atık Ekmeklerden Biyoetanol Üretim Sürecinde Halojen Etkisinin Araştırılması” konulu bu çalışma 21.06.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Doç. Dr. Deniz UÇAR



Üye : Prof. Dr. Emine UBAY ÇOKGÖR



Üye : Doç. Dr. Özlem DEMİR



Bu Tezin Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Doç. Dr. İsmail HİLALİ
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Hübak Prj. No: 18069

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	V
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Etanolün tarihçesi.....	3
1.2.Biyoetanol.....	3
1.2.1.Biyoetanolün kullanım alanları.....	4
1.2.2.Biyoetanolün Türkiye’deki durumu.....	5
1.2.3.Biyoetanolün Dünya’daki durumu.....	6
1.3.Biyoetanol Üretimi.....	7
1.3.1.Ön işlemler.....	8
1.3.2.Etanol fermantasyonu.....	14
1.3.3.Distilasyon (Damıtma).....	14
1.4.Biyoetanol Üretimi için Kullanılan Prosesler ve Reaktör Tipleri.....	16
1.5.Biyoetanol Üretimi İçin Kullanılan Hammaddeler.....	18
1.5.1.Birinci nesil hammaddeler.....	19
1.5.2.İkinci nesil hammaddeler.....	20
1.5.3.Üçüncü nesil hammaddeler.....	21
1.6.Kullanılan Mikroorganizmalar.....	23
1.6.1.Mayalar.....	23
1.6.2.Bakteriler.....	24
1.7.Sürece Etki Eden Faktörler.....	25
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	30
2.1.Kullanılan Hammadde ve Uygulanan Ön İşleme Bağlı Yapılan Çalışmalar.....	30
2.2.Kullanılan Mikroorganizmaya Bağlı Yapılan Çalışmalar.....	33
2.3.Kullanılan Prosese Bağlı Yapılan Çalışmalar.....	34
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	36
3.1. Materyal.....	36
3.1.1.Hidroliz testleri için kurulan 1 litrelik reaktörler.....	36
3.1.2.Halojen etkisinin belirlenebilmesi için kurulan çoklu reaktör sistemi.....	39
3.1.3.Pilot ölçekli biyoetanol üretim düzeneği.....	40
3.2.Yöntem.....	44
3.2.1.Hidroliz testleri için kurulan 1 litrelik reaktörler.....	44
3.2.2.Halojen etkisinin belirlenebilmesi için kurulan çoklu reaktör sistemi.....	45
3.2.3.400 L’lik pilot ölçekli biyoetanol üretim düzeneği.....	46
3.4.Analitik Yöntemler.....	47
3.4.1.Toplam karbonhidrat tayini.....	47
3.4.2.Etanol, glikoz ve sakkaroz tayinleri.....	48
4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	49
4.1.Hidroliz Testleri.....	49
4.2.Halojen Testleri.....	51
4.2.1.Kontrol grupları.....	51
4.2.2.Halojen testlerinin sonuçları.....	57
4.3.Pilot ölçekli biyoetanol düzeneğinin optimizasyonu.....	62
5.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	65
KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	74

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ATIK EKMEKLERDEN BİYOETANOL ÜRETİM SÜRECİNDE HALOJEN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Tülay YILMAZ

**Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç.Dr. Deniz UÇAR
Yıl:2019, Sayfa:74**

Yenilenebilir bir enerji kaynağı olan biyoetanol, karbonhidrat değeri yüksek hammaddelerden (şeker kamışı, mısır, algler, şeker pancarı) mikroorganizmaların yardımıyla fermantasyon yoluyla elde edilen çevre dostu sıvı bir yakıttır. Biyoetanol, dünya çapında birçok alanda kullanılmakta olup özellikle ulaşım için en yaygın kullanılan biyo-yakıttır. Bu tez çalışması kapsamında üç farklı grupta kesikli reaktörler kurulmuştur. Ham madde kaynağı olarak israf oranı ülkemiz için yılda 21 milyar tona ulaşan ekmek atıkları kullanılmıştır. İlk gruptaki reaktörlerde atık ekmek hidrolizli ve hidrolizsiz bir şekilde 1 litrelik reaktörlerde fermantasyona tabi tutulmuştur. Hidroliz aşamasında enzimatik süreç için arpa maltı özütü kullanılmıştır. Malt ile hidrolize uğramış reaktörde 20 gram ekmek atığı için başlangıç karbonhidrat konsantrasyonunda yaklaşık % 97 azalma görülmüş olup, 0,83 L gaz çıkışı elde edilmiştir. Hidroliz uygulanmayan çalışmada ise sadece 0,03 L gaz çıkışı ölçülmüş olup karbonhidrat azalışında kayda değer bir etki görülmemiştir. İkinci gruptaki reaktörlerde ise farklı halojen tuzlarının hidroliz ve fermantasyon sürecine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla ilk olarak sabit malt ve ekmek içeren reaktörlere farklı konsantrasyonlarda halojen (F, Cl, Br, I) eklenmiş ve 3 saat boyunca hidroliz edilmiştir. Hidroliz sürecinden sonra elde edilen hidrolizatlardan setler halinde fermentör reaktörleri kurulmuştur. 10000 mg/L KI ile en yüksek hidroliz verimi elde edilmiştir. Çalışmanın bir diğer aşamasında ise pilot ölçekli 400 L fermentör kapasitesine sahip biyoetanol düzeneği ve 400 L kapasiteli damıtma düzeneği kurulmuş ve damıtma düzeneğinin optimizasyonu sağlanmıştır. Damıtma sisteminde 30 °C sıcaklığa sahip soğutma suyu ve 2.41 KWh enerji girdisi ile %96 saflıkta etanol elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Biyoetanol, dimmer sistem, damıtma, halojen, amilaz aktivitesi

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF HALOGEN IN THE PRODUCTION PROCESS OF BIOETHANOL FROM WASTE BREADS

Tülay YILMAZ

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Environmental Engineering
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Deniz UÇAR
Year: 2019, Page:74**

Bioethanol, a renewable energy source, is an environmentally friendly liquid fuel obtained by fermentation with the help of microorganisms from raw materials with high carbohydrate value (sugar cane, corn, algae, sugar beet). Bioethanol is used in many areas worldwide and is the most commonly used biofuels for transportation. Within the scope of this thesis, three different group batch reactors were established. As a source of raw materials, waste wastes have been used in our country for 21 billion tons per year. In the first group of reactors, waste bread was used in fermentation in hydrolyzed and non-hydrolyzed forms. Barley malt extract was used for the enzymatic process. 20 g waste bread was added to reactors and 97% reduction in initial carbohydrate concentration was observed in malt hydrolyzed reactor and 0.83 L of gas was obtained. In the non-hydrolyzed study, only 0.03 L gas output was measured and there was no significant effect on carbohydrate decrease. In the second group, the effect of different halogen salts on hydrolysis and fermentation process was investigated. For this purpose, different concentrations of halogen (F, Cl, Br, I) were first added to reactors containing fixed malt and bread and hydrolyzed for 3 hours. After hydrolysis, fermentor reactors were formed from the hydrolysates obtained. The highest hydrolysis efficiency was obtained with 10000 mg/L KI. In another phase of the study, 400 L fermentor and 400 L distillation unit was established and distillation unit was optimized for ethanol purification. With 30°C cooling water and 2.41 KWh energy input, 96% ethanol was obtained.

KEY WORDS: Bioethanol, dimmer system, distillation, halogen, amylase activity

TEŞEKKÜR

Öncelikle lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen, birçok farklı konuda ve projede bana çalışma şansı veren ve aynı zamanda tez çalışmamda yol göstermekle yetinmeyip, büyük bir özveri ve fedakarlıkla birlikte benimle çalışan danışmanım Doç. Dr. Deniz UÇAR'a çok teşekkür ederim.

Tez konusunun seçiminde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Sinan UYANIK'a, kendi doktora tezi için tasarladığı gazölçerden bizim için de tasarlayan Arş. Gör. Ozan BEKMEZCİ'ye, doktora tezi için hazırlanan çoklu reaktör sistemini bizimle paylaşan Çevre Yüksek Mühendisi Dilan Toprak'a ve maddi ve manevi destekleri için GAPYENEV Biyokütle Laboratuvarı çalışma ekibine teşekkürü borç bilirim.

Damıtma kolonunun ve Dimmer sisteminin yapımında ve kurulumunda yardımlarını esirgemeyen, kilometrelerce yol gelip bizimle birlikte pilot ölçekli düzeneğin kurulumunda yanımda olan KDE Damıtma ve Distilasyon Cihazları Sanayi Ticaret Limited Şirketi Genel Müdürü Osman ECE'ye ve Gökhan BAYKAN'a teşekkür ederim.

HPLC ölçümlerinde bilgi ve deneyimlerini bizimle paylaşan ve yardımcı olan Arş. Gör. Bülent BAŞYİĞİT'e teşekkür ederim.

Son olarak beni bu seviyelere getiren, maddi manevi desteklerini esirgemeyen annem Fidan YILMAZ'a, babam Gürkan YILMAZ'a ve kardeşlerime çok teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Biyokütlenin biyoyakıtlara dönüşüm yöntemleri	2
Şekil 1.2. Etanolün moleküler yapısı (açık formülü).....	4
Şekil 1.3. Nişastanın enzimatik hidrolizinin şematik gösterimi	13
Şekil 1.4. Şeker içeren hammaddeden biyoetanol üretiminin akım şeması.....	19
Şekil 1.5. Mısır bitkisinden biyoetanol üretimi akış diyagramı.....	20
Şekil 1.6. Lignoselülozik hammaddeden etanol eldesi.....	21
Şekil 3.1. 1 litrelik kesikli fermentör ve gaz ölçere ait şematik ve fotoğrafik görüntü.....	36
Şekil 3.2. Gaz ölçere ait şematik gösterim	36
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan 50 reaktörden oluşan düzeneğe ait fotoğrafik gösterim	38
Şekil 3.4. 400 Litrelik hidroliz ünitesi.....	39
Şekil 3.5. Fermentöre ait şematik ve fotoğrafik gösterim	40
Şekil 3.6. Damıtma tankına ait şematik ve fotoğrafik gösterim	41
Şekil 3.7. Bakır damıtma kulesinin iç ve dış yapısı görünümü	42
Şekil 3.8. Toplam karbonhidrat tayini için kalibrasyon eğrisi.....	47
Şekil 4.1. Hidrolizli ekmek artığı fermantasyonu çalışması gaz hacimleri	49
Şekil 4.2. Hidrolizsiz ekmek artığı fermantasyonunda oluşan gaz hacmi	50
Şekil 4.3. Nişasta, dekstrin ve glikoz moleküllerinin yapısı	51
Şekil 4.4. Saccharomycopsis fibuligera CBS 6266	53
Şekil 4.5. 3 saatlik hidroliz sürecinde glikoz ve sakkaroz şekerlerinin zamana bağlı değişimi	54
Şekil 4.6. Alfa ve beta enzimleri varlığında sıcaklığa bağlı olarak enzim aktiviteleri	55
Şekil 4.7. Dimmer sistemi ara yüzü	62
Şekil 4.8. Reaktöre verilen toplam güce bağlı olarak alkol saflığı	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Etanolün Kimyasal Özellikleri	3
Çizelge 1.2. 2013-2017 yılları arasında Türkiye’de üretilen etil alkol miktarları (L)	5
Çizelge 1.3. Dünyadaki Akaryakıt için Etanol Üretim ve Tüketim Miktarları (milyar litre)	7
Çizelge 1.4. Biyoetanol üretiminde kullanılan çeşitli ham maddeler için fermentasyon koşulları.....	18
Çizelge 1.5. Bazı biyoetanol kaynaklarının etanol verimleri	18
Çizelge 1.6. Birinci, ikinci ve üçüncü nesil biyoetanolün karşılaştırılması.....	22
Çizelge 1.7. Temel fermentasyon ürünü olarak etanol üreten maya türleri.....	24
Çizelge 1.8. Biyoetanol verimini etkileyen faktörler ve oranları	26
Çizelge 1.9. 100 gramlık porsiyon ekmek için besin değerleri	27
Çizelge 1.10. Tahıl tiplerine göre diastatik güç.....	29
Çizelge 3.1. 66 mm damıtma kolon sisteminin ebatları	43
Çizelge 3.2. Halojen etkisi testi için reaktörlere ait işletim koşulları	44
Çizelge 4.1. Çalışmaya ait AKM, karbonhidrat ve pH değerleri.....	48
Çizelge 4.2. Ekmek artığından fermentasyon testine ait AKM, karbonhidrat ve pH değerleri	49
Çizelge 4.3. Mayalı ekmek’te bulunabilen şeker yüzdeleri.....	52
Çizelge 4.4. Hidrolizli ve hidrolizsiz süreç için ölçülen glikoz ve sakkaroz miktarları	56
Çizelge 4.5. Teorik ve ölçülen gaz değerleri.....	56
Çizelge 4.6. Halojenler ve amilaza etkileri üzerine yapılan çalışmalarda test edilen değerleri.....	57
Çizelge 4.7. NaCl nin farklı konsantrasyonları için bulunan değerler.....	58
Çizelge 4.8. NaF’ın farklı konsantrasyonları için bulunan değerler.....	59
Çizelge 4.9. KBr’un farklı konsantrasyonları için bulunan değerler	59
Çizelge 4.10. KI’nın farklı konsantrasyonları için bulunan değerler	61
Çizelge 4.11. Alkol saflaştırma sürecinde sistem optimizasyon çalışması detayları.....	63

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AKM	Askıda Katı Madde
ATP	Adenozin Trifosfat
CBP	Konsolide Biyoişlem
CRW	Kahve Atığı
E10	%10 Etanol + %90 Benzin
E85	%10 Etanol + %15 Benzin
kWh	Kilowatt saat
ML	Milyon Litre
SHF	Sıralı sakkarifikasyon ve fermantasyon
SSF	Eş zamanlı sakkarifikasyon ve fermantasyon
UAKM	Uçucu Askıda Katı Madde

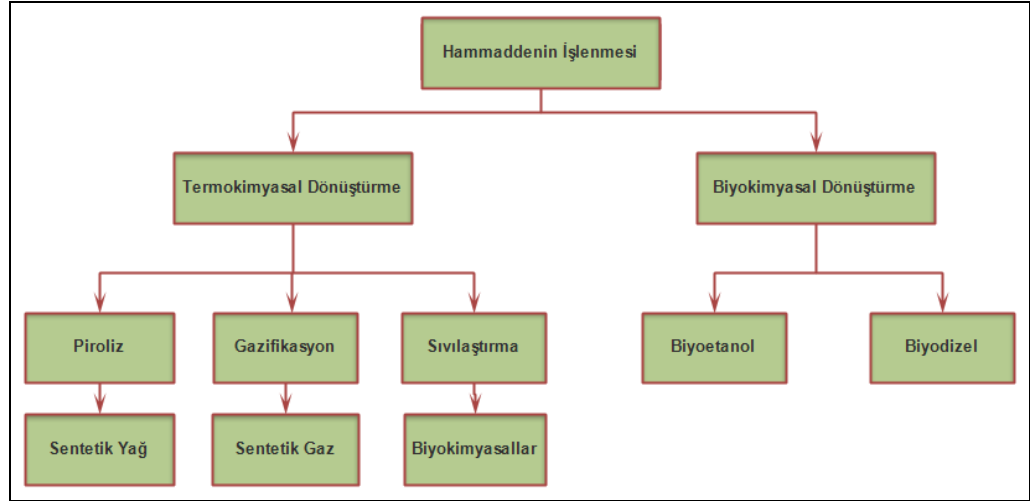
1. GİRİŞ

Biyokütle, bir türe veya çeşitli türlerden oluşan bir topluma ait yaşayan organizmaların belirli bir zamanda sahip olduğu toplam kütle olarak tanımlanabilir. Bu aynı zamanda organik karbon olarak da kabul edilmektedir(URL1, 2018).

Biyokütle depolanabilir, taşınabilir, kullanılabilir, uygun maliyetli olması ve mevcut veya yeni dönüşüm teknolojilerini uyum sağlamalarından dolayı yirmi birinci yüzyılın en önemli enerji kaynaklarının hammaddesi olma potansiyeline sahiptir(Bassam ve ark., 2013).

Biyokütle, bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik dönüşüm süreçleri yardımıyla katı, sıvı ve gaz halindeki yakıtlara dönüştürülebilir ve oluşan yakıtlar biyoyakıt olarak adlandırılır. Biyokütlenin yakıt potansiyelini ise genel olarak şu çeşitleri oluşturur; odun, kısa rotasyonlu odunsu mahsüller, tarımsal atıklar, kısa rotasyonlu otsu türler, odun atıkları, küspe, endüstriyel artıklar, atık kağıt, belediye katı atıkları, talaş, biyo-katılar, çimen, gıda üretim işlemlerinden kaynaklanan atıklar, su bitkileri ve yosun, hayvan atıkları(Demirbas, 2004).

Biyo-yakıtlar arasında biyoetanol, biyometanol, bitkisel yağlar, biyodizel, biyogaz, biyo-sentetik gaz (biyo-syngas), biyo-yağ, biyo-char, Fischer-Tropsch sıvıları ve biyohidrojen bulunur(Demirbas, 2008). Bu üretilen yakıtlardan sıvı formda bulunanlardan en yaygın ve başarılı olanları ise biyoetanol ve biyodizeldir. Bu yakıtların benzin, dizel ve benzeri alışılmış sıvı yakıtların yerini alması hedeflenmektedir(John ve ark., 2011). Biyokütleden biyoyakıta dönüşüm yolları Şekil 1.1’de görülmektedir(Katyal, 2007).



Şekil 1.1. Biyokütlenin biyoyakıtlara dönüştürme yöntemleri

1.1. Etanol

Etanol (C_2H_5OH), karbonhidrat değeri yüksek maddelerden ve bitkilerden fermantasyon yoluyla elde edilen zehirleyici, enerji verimliliği yüksek, sıvı bir madde olup kimyasal özellikleri çizelgede sunulmuştur(Dorrian, 2015). Etanol biyokimyasal ve termokimyasal olarak üretilmektedir. Biyokimyasal üretim süreci; ön işlem, hidroliz ve fermantasyon olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Bu üretim süreci ayrıca ham madde toplama-taşıma, geri kazanma ve taşıma, biyokütlenin öğütülmesi, polimerlerin parçalanması, katı lignin bileşeninin ayrılması ve son ürün geri kazanımının gibi alt aşamaları da içermektedir(Vohra ve ark., 2014).

Termokimyasal olarak etanol üretiminde ise iki yöntem kullanılmaktadır. İlk yöntem hibrit bir termokimyasal ve biyolojik sistemdir. Biyokütle malzemeleri ilk önce termokimyasal olarak gazlaştırılır ve sentez gazı (hidrojen ve karbon oksitler karışımı) özel olarak tasarlanmış fermentör içinden geçirilir. Sentez gazını dönüştürebilen bir mikroorganizma, belirli işlem koşulları altında fermentöre verilir ve etanol elde edilir. İkinci termokimyasal etanol üretim prosesinde herhangi bir mikroorganizma kullanılmaz. Bu süreçte, biyokütle materyalleri ilk önce termokimyasal olarak gazlaştırılır ve sentez gazı katalizör içeren bir reaktörden geçirilir ve bu da gazın etanole dönüştürülmesine neden olur(Badger, 2002).

Çizelge 1.1. Etanolün Kimyasal Özellikleri

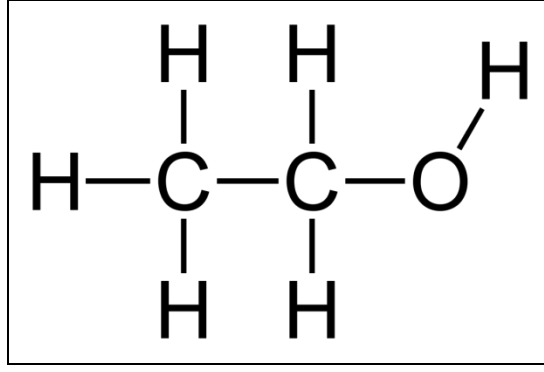
Formülü	C ₂ H ₅ OH
Molekül Ağırlığı	46.07 g/mol
Kaynama Noktası	78,4°C
Erime noktası	-114,5°C
Özgül Ağırlığı (20°C)	0.789 g/cm ³
pH Aralığı	5-5.5

1.1.1. Etanolün tarihçesi

Etanolün günlük hayatta kullanılması çok eski zamanlara dayanmaktadır. Örneğin, Henry Ford 1908’de piyasaya sürdüğü araçta etanol kullanılması ile kırsal kesimin kalkınması amaçlamıştır. Özellikle Avrupa’da (örneğin, Almanya, Fransa ve İtalya), 20. yüzyılın başlarından bu yana etanol büyük ölçüde kullanılmıştır. Örneğin; Almanya’da yalnızca 95.000’den fazla soba ve 1902’de 37.000 ispiroto lambası yapılmış, Paris’te alkol yakıtlar konulu sergi açılmıştır(Rosillo-calle ve Walter, 2006; Solomon ve ark., 2007). Brezilya, 1975’te, 1973 OPEC Arap petrol ambargosuna karşı şeker kamışına dayalı ‘Proalcool Programı’ geliştirmiştir ve 1970’lerde etanol yakıt piyasası canlanmıştır(Solomon ve ark., 2007). Günümüzde ise etanol pazarının dünyadaki liderleri ABD ve Breziya’dır(Chandel ve ark., 2007).

1.2. Biyoetanol

Biyoetanol; temelinde organik maddelerde bulunan karbonhidrat kaynağının mikroorganizmalar tarafından biyokimyasal olarak oksijensiz ortamda fermantasyon yolu ile dönüşüme uğratılması sonucunda elde edilen sıvı bir biyoyakıttır(İmrağ, 2006).



Şekil 1.2. Etanolün moleküler yapısı (açık formülü)

1.2.1.Biyoetanolün kullanım alanları

Biyoetanol, dünya çapında birçok alanda kullanılmakta olup özellikle ulaşım için en yaygın kullanılan biyo-yakıttır. Biyokütleden biyoetanol üretimi, ham petrol tüketimini ve çevre kirliliğini azaltmanın bir yoludur. Özellikle otomobiller için biyoetanol harmanlanmış benzinli yakıt kullanılması, petrol kullanımını ve sera gazı emisyonlarını önemli ölçüde azaltabilmektedir(Balat ve Balat, 2009). Etanol araçlarda %15 ile %85 arasında değişen oranlarda kullanılabilir ve bu yakıtlar sırasıyla E15 ve E85 denir. Örneğin; geleneksel bir benzinli orta boy binek otomobil ile gidilen 100 km yol için ortalama 11 L benzin gerektirmektedir. E85 yakıtı içinse, 100 km sürüş için 2.2 L benzin ve 12 L biyoetanol tüketir. Bu nedenle, 1 litre biyoetanol, 0.73 litrelik benzinin yerini alabilir(Kim ve Dale, 2004). Biyoetanol kullanıldığı diğer alanlar maddeler halinde aşağıda listelenmiştir (URL2, 2018).

Kojenerasyon Ünitelerinde

- Fosil yakıtlı tesislerdeki NOx emisyonlarının azaltılması
- CO₂ ticareti için
- Buhar enjeksiyonlu gaz türbinlerinde
- Kombine çevrimli güç santrallerinde
- Dizel güç jeneratörlerinde
- Küçük kojenerasyon (veya soğutma) Stirling sistemleri
- Suyun tuzluluğunun giderilmesinde

Küçük Ev Aletlerinde

- Fırınlarda
- Aydınlatmada
- Isıtma ve soğutma aygıtlarında
- Besinlerin saklanması (soğutma)

Kimyasal Ürün Sektörü

- Etilen üretiminde
- Hidrojen üretimi
- Glikol eterler
- Etil akrilat
- Asetik asit
- Etil asetat
- Aset aldehit
- Etil eter
- Etil+klörür

1.2.2.Biyoetanolün Türkiye’deki durumu

2017 yılı itibarı ile ülkemizde 12 adet kayıtlı etil alkol üreten ve 38 tane etil alkol ithalatı yapan firma bulunmaktadır. Ülkemizde 2017 yılında 12 firmaya ait 15 tesiste toplam 109 083386 litre etil alkol üretimi gerçekleştirmiştir. 2017 yılında toplam yıllık üretim kapasitesi 257.371.500 litredir ve aşağıdaki Çizelge 1.2’de yıllara göre üretim miktarları görülmektedir(*Tütün ve Alkol Piyasası Düzenleme Kurumu Faaliyet Raporu*, 2017).

Çizelge 1.2. 2013-2017 yılları arasında Türkiye’de üretilen etil alkol miktarları (L)

	2013	2014	2015	2016	2017
Ambalajlı	284 195	760 540	662 838	790 953	2 829 536
Dökme	72 854 792	93 843 943	102 019 195	104 615 687	108 236 438
Toplam	73 138 987	94 604 483	102 682 033	105 406 640	111 065 974

Enerji Piyasası Düzenleme Kurumunun (EPDK), Benzin Türlerine Etanol Harmanlanması Hakkında Tebliğinde belirtildiği üzere temin edilen ve ithal edilen benzin türlerinin toplamına 1/1/2013 tarihinden itibaren en az %2 (V/V), 1/1/2014 tarihinden itibaren en az %3 (V/V) yerli ürünlerden üretilmiş etanolün harmanlanması yürürlüğe girmiş ve 16/06/2017 tarihli güncelleme ile devam etmektedir.

1.2.3.Biyoetanolün dünyadaki durumu

Biyoetanol üretimi için Brezilya'da şeker kamışı; Amerika Birleşik Devletleri'nde mısır; Avrupa Birliği'nde şeker pancarı temel biyoetanol üretim kaynaklarıdır (Chiaramonti, 2007). Biyoetanol üretimini ve tüketiminin büyük kısmı Brezilya ve ABD'de gerçekleşmektedir. Bu üretimin yaklaşık % 67'si otomobillerde yakıt olarak, geri kalanı ise çeşitli diğer endüstri dallarında kullanılmaktadır (Hamelinck ve Hooijdonk, 2005).

Brezilya dünyanın en büyük şeker kamışından biyoetanol üretici ve üretilen biyoetanolün motor yakıtı olarak kullanılmasında dünya lideridir. Brezilya'nın 2016 yılındaki üretilen biyoetanol miktarı 26 milyar litre seviyesini aşmıştır. 1975 yılında Ulusal Alkol Programı (PROALCOOL) olarak bilinen ve yerli biyoetanol üretimini teşvik etmek için özel bir program kuruldu ve programın ilk aşaması, petrol tedarikçilerinin % 10 susuz etanolü petrol ile karıştırmasını gerektirdi ve 1979'dan itibaren benzine alternatif olarak sulu etanol üretimi desteklendi. 1990'lı yılların başlarında programda yapılan değişikliklerle birlikte benzine susuz etanol ilavesinin % 20-25 oranında artmasına karar verilirken Mart 2015'den itibaren bu oran % 27'ye yükselmiştir (Dallmann ve Façanha, 2017; Mączyńska ve ark., 2019).

ABD'de ise Yenilenebilir Yakıt Standardı (The Renewable Fuel Standard) 2005 yılında onaylandı ve bu standart ABD'de biyoyakıt sektöründe dinamik bir gelişme dönemi başlattı. ABD'de 28 eyalette toplamda 211 etanol biyorefinerleri bulunmaktadır. Genel olarak yakıtlarda E10 ve E85 kullanmakta olup, piyasaları onlara etanolün % 51 ila % 83'ünü oluşturan benzin ve etanol karışımında esnek

yakıtlar sunmaktadır. 2017 yılında, Amerikan otomobil filosunda esnek yakıt kullanabilen araçların tedarik edilme sayısı 24 milyona ulaşmıştır, bu da Amerikan yollarında seyahat eden on arabadan birinin bu teknolojiyle donatıldığı anlamına gelmektedir(Kupczyk ve ark., 2019).

AB’de biyoetanol üretimi yaklaşık 4,5 milyar litre olup, Fransa bu üretimin %24’ü ile ilk sırada yer alırken %0,017 ile İrlanda en az üretim yapan AB ülkesidir(Akalın ve ark., 2015).

Avustralya'daki ticari biyoetanol üretimi ise 2004'te 50 milyon litreden (ML) 2012'de 356 ML'ye yükseldi ve ardından 2017'de 250 ML'ye düştü. Bu, Avustralya'daki toplam ulaştırma yakıt tüketiminin% 0.33'üne eşittir(Akbar, 2019).

Dünyadaki akaryakıt için üretilen ve tüketilen etanol miktarları Çizelge 1.3’desunulmuştur(International Sugar Organization,2016)(Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Dünyadaki Akaryakıt için Etanol Üretim ve Tüketim Miktarları (milyar litre)

	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Üretim	82,8	82,1	86,4	92,7	100,3	98,6
ABD	52,8	50,4	50,4	54,3	56,1	58,0
Brezilya	19,01	20,0	23,4	24,5	29,7	26,5
Diğerleri	10,9	11,7	12,6	13,9	14,5	14,1
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Tüketim	80,7	81,2	86,3	91,1	98,5	97,8
ABD	48,4	49,1	49,9	51,0	52,8	54,5
Brezilya	19,3	17,8	21,5	24,1	28,8	26,2
Diğerleri	13,0	14,3	14,9	16,0	16,9	17,1

1.3.Biyoetanol Üretimi

Biyoetanol üretimi karmaşık bir prosestir. Enerji değeri yüksek hammaddelerin (şeker kamışı, mısır koçanı vb.) veya lignoselülozik biyokütle gibi biyolojik kaynakların mikroorganizmalar tarafından etanole dönüştürülmesi presibine dayanır. Etanol üretimi hammaddelerin (1) sakkarifikasyonu yada ön işleme tabii tutulması , (2) fermentasyonu ve (3) fermentasyon sonucunda elde edilen çıkış suyundaki etanol

saflığını arttırmak için distilasyon gibi bir dizi işleme tabi tutulması gerekir(Sun ve Cheng, 2005; A.Cardona ve 2007; Ebrahimi ve ark., 2008).

Nişasta bazlı üretimde ise fermantasyon işleminden bir adım önce hidroliz yapılmalıdır. Selülozik biyokütleden biyoetanol üretimindeki ise fermantasyon öncesi selülozik yapıyı yıkmak, şeker içeriğini serbest bırakmak için ön işleme ihtiyaç vardır(Lipnizki, 2010). Şeker bazlı hammaddeden yapılan biyoetanol üretimi daha basit olup, fermantasyonu başlatmak için yalnızca ekstrakte edilen şekere maya ilavesi yeterlidir.

1.3.1.Ön işlemler

Uzun zincirli karbonhidrat yapılarının, monomerik şekerlere hidrolizinin hızlandırmak ve hidroliz verimini arttırmak için hammaddenin makroskopik ve mikroskopik boyutunu, kimyasal bileşimi değiştirecek ön işlemlere tabi tutulması gerekir(Sun ve Cheng, 2002).

İdeal ön işlem, (1) biyokütle partiküllerinin boyutunu küçültme ihtiyacından kaçınmayı, (2) pentoz (hemiselüloz) fraksiyonlarını koruyabilmeyi, (3) fermantatif mikroorganizmaların büyümesini engelleyen bileşiklerinin oluşumunu sınırlayabilmeyi, (4) enerji taleplerini ve maliyetleri azaltmayı içermelidir(Del Campo ve ark., 2006).

Son yıllarda çok sayıda farklı ön-muamele teknolojisi öne sürülmüştür. Ön işlem sürecinde uygulanan prosesler genellikle biyolojik, fiziksel, kimyasal ve fiziko-kimyasal ön-işlemler olarak sınıflandırılabilirler. Bazı çalışmalarda bu yöntemlerin kombinasyonu da incelenmiştir(Alvira ve ark., 2010). Kuru hammaddenin parçalanmasından sonra, hidroliz, yüksek basınçlı sıcak su, seyreltik asit, soğuk konsantre asit, asit katalizörlü buhar hidrolizi, buhar patlaması, amonyak lifi patlaması, alkali ön işlemler ve iyonik olmayan yüzey aktif cisimlerinin kullanımı gibi birkaç farklı işlem mümkündür(Wheals ve ark., 1999).

1.3.1.1.Biyolojik ön işlem

Biyolojik ön işlemlerde, hammaddedeki lignin ve hemiselülozu parçalamak için kahverengi, beyaz ve yumuşak çürüklükler mantarlar gibi mikroorganizmalar kullanılır. Kahverengi çürükler çoğunlukla selüloza saldırırken, beyaz ve yumuşak çürüklükler hem selüloza hem de lignine saldırır(Sun ve Cheng, 2002).

1.3.1.2.Fiziksel ön işlemler

Mekanik Öğütme; biyokütlenin yüzey alanını arttırmak için yapısını küçültülmektedir ve bu sayede sonraki aşamaların verimi artmaktadır. Kuru öğütme, ıslak öğütme, titreşimli bilyeli öğütücü ve sıkıştırma metotlarını gibi çeşitleri vardır(Fersiz, 2018).

Ekstrüzyonda; malzemeler ısıtma, karıştırma ve kesmeye tabi tutulur. Bu süreç de hammaddede fiziksel ve kimyasal modifikasyonlara neden olur. Kullanılan sıcaklığın ve diğer faktörlerin, liflerin defibrilasyonuna, fibrilasyonuna ve kışalmasına neden olarak lignoselüloz yapısını bozduğuna ve sonunda karbonhidratların enzimatik saldırıya erişimini arttırdığına inanılmaktadır(Alvira ve ark., 2010).

1.3.1.3.Kimyasal Ön İşlemler

Asidik Ön İşlemler, lignoselülozik besleme stoklarının kullanımı için çeşitli ön işlem yöntemleri arasında en olgun teknolojilerden biridir. Asit katalizörlerin düşük maliyeti ve etkinliği nedeniyle, lignoselülozik biyokütlenin asidik ön işlemlerinde konsantre mineral asit, seyreltik mineral asit ve dikarboksilik asit gibi çeşitli asit türleri kullanılmıştır(Jung ve Kim, 2015).

Asit hidrolizi, ağaç yongaları, pirinç samanı, şeker pancarı küspesi ve buğday samanı gibi lignoselülozik malzemelerin işlenmesi için olası bir işlem olarak araştırılmıştır. Genel olarak asit hidrolizi, biyokütlenin hemiselülozik bileşeninin

çözündürülmesinde etkilidir ve asit katalizör görevi görür. Uygun pH, sıcaklık ve reaksiyon süresi kombinasyonlarında, hammaddeden yüksek oranda şeker (özellikle hemiselülozdan ksiloz) elde edilmesinde etkili olur(Pessoa ve ark., 1997).

Asit hidrolizde yaygın olarak hidroklorik asit, sülfürik asit, trifloroasetik asit, formik asit ve nitrik asit tercih edilir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, asit hidrolizi daha yüksek şeker verimi ve üretkenlikle sonuçlanır(Hongzhang, 2015). Asit hidrolizinde, yüksek sıcaklıkta ve basınçta seyreltik asit, düşük sıcaklıkta ve basınçta ise konsantre asit kullanılabilir, ancak bu prosesler fermentasyonu engelleyen toksik bir yan ürün üretir(Prabir, 2013). Asit hidrolizinin avantajlarından bir diğeri de asidin ön işlem olmadan lignine nüfuz edebilmesidir. Asit hidroliz oranı enzim hidrolizinden daha hızlıdır ve asit hidroliz işlemi genellikle ılımlı bir sıcaklık (100-150 °C aralığında) kullanarak % 1-10 konsantrasyonlarda sülfürik asit ve hidroklorik asit ile yapılır(Ahmad ve ark., 2009).

Kireç ile Ön İşleminde (Sodium Hydroxide/ Lime pretreatment); kireç, bikarbonatların karbonatlara dönüşmesi ve kalsiyumun kalsiyum karbonat olarak çökmesi için pH'ı 9.5 civarlarına yükselten alkali bir maddedir(M, 2006). Kireç ön işlemi, biyokütlenin kalsiyum hidroksit ve su ile 25-200°C arasındaki sıcaklıklarda karıştırılmasıdır ve bu işlemin süresi saatler ile haftalar arasındadır. Oksidatif olmayan koşullar altında, kireç ön işlemi ligninin yaklaşık üçte birini uzaklaştırır(Sierra ve ark., 2009).

Organosolv (Organosolv Pretreatment) prosesi, tipik olarak asidik bir katalizörle birlikte aromatik alkoller (fenoller) veya alifatik alkoller (etilen glikol, metanol, etanol, bütanol, gliserol) gibi organik çözücüler kullanılarak lignoselülozik biyokütleden ligninin çıkarılmasını içerir. Tipik etanol- bazlı organosolv ön muamele parametreleri şu aralıklara sahiptir;

- 1) Sıcaklıklar (çimler için 90-120°C ve sert /yumuşak odunlar için 155-220°C),
- 2) Reaksiyon süreleri (25–100 dk),
- 3) Asit katalizör yüklemesi (% 0.5-22) ve

4) Etanol konsantrasyonları (% 25–75v/v)(Chundawat ve ark., 2010).

Ozonolysis; bir lignoselülozik biyokütle ön işlemi olarak 80'li yıllara dayanmaktadır. Ozon, tercihen karbonhidratlardan daha fazla lignin ile reaksiyona girerek, biyokütlenin imha edilmesini ve delignifikasyonunu (lignin uzaklaştırma) teşvik eder ve böylece şeker enzimatik hidrolizle salınır. Ön işleminden geçirilmiş biyokütle ve ozon tüketimi bileşimi birkaç proses parametresine bağlıdır: reaktör tasarımı, nem içeriği, partikül büyüklüğü, pH, reaksiyon süresi, ozon / hava akımı ve ozon konsantrasyonu(Travaini ve ark., 2016).

1.3.1.4.Fiziko-kimyasal ön işlemler

Buhar Patlaması Ön işlemi (Stream Explosion Pretreatment-SEP), biyokütle bileşenlerini parçalamak, kimyasal ve biyolojik reaktivitesini artırmak için uygulanan en yaygın ön işlemlerden biridir. Bu yöntemde, biyokütle, 160-260 °C'lik bir sıcaklıkta yüksek basınçlı doymuş buharla muamele edilir ve daha sonra, basınç hızlı bir şekilde düşürülür ve bu hammaddeyi patlayıcı bir dekompresyona maruz bırakır. Şeker verimini artırmak için ucuz olduğundan H₂SO₄ gibi bir asit katalizör sisteme eklenir(Xu ve Huang, 2014).

Sıvı Sıcak Su Ön İşlemi (Liquid hot water pretreatment-LHW); otohidroliz olarak da bilinen bu ön işlem çevre dostu olması, yüksek verimliliği ve düşük maliyeti nedeniyle en umut verici ön işlem stratejilerinden biri olarak kabul edilir. LHW'yi yalnızca su içeren bir ortamda yüksek sıcaklıklarda (160-240°C) ve basınçta işleyen hidrotermal bir işlemdir. Bu şartlar altında, hidronyum iyonları suyun iyonizasyonu ile üretilir ve hemiselülozlardan asetik asit salınımına yol açar. Hemiselülozun hidrolizini otomatik olarak katalize eder ve inhibe edici yan ürünlerin birikiminden kaçınırken selüloza erişimin artmasıyla sonuçlanır(Michelin ve Teixeira, 2016).

Amonyak lifi patlaması (AFEX), kapalı bir paslanmaz çelik reaktörde orta derecede bir sıcaklıkta (80-150 °C) ve basınçta (200–400 psi) sıvı amonyak ile

biyokütleyle muamele edilir ve basınç düşürülür. Basıncıdaki bu hızlı düşüş, biyokütle yapısının fiziksel olarak bozulmasına neden olur; bu nedenle, selüloz ve hemiselüloz liflerinin açığa çıkmaktadır(Sundaram ve ark., 2015).

AFEX ile muamele edilmiş numuneler sakkarifikasyon ve fermantasyon işleminde tamamen çözülür, böylece maya ve enzimlerin biyokütle ile etkileşimi artar. Böylece daha yüksek etanol verimi elde edilir(Alizadeh ve ark., 2005).

Sulu amanyok ile ıslatma (Soaking in aqueous ammonia pretreatment-SAA, düşük sıcaklıkta (30-75 °C) sulu amonyakın ısıtılmasıyla enzimin selüloz substratına erişilebilirliğini engelleyen fiziksel ve kimyasal bariyer olan ligninin çıkarılması prensibine dayanır. Hemiselüloz fraksiyonunun tutulması ve ön işlemde sonra ligninin çıkarılmasından dolayı değerli bir ön işlem metodolojisi olarak kabul edilmektedir(Xu ve Huang, 2014)

1.3.1.5.Enzimatik ön işlem

Hidroliz, maddelerin suyla kimyasal olarak parçalanmasıdır ve bileşiğin kimyasına, çözünürlüğüne, pH'sına ve oksidasyon-redükdiyon potansiyeline bağlıdır(A, 2007). Biyoetanol üretimi için ilk geleneksel işlem, mayalanabilir şekerler elde etmek için gerekli olan bir hidroliz aşamasıdır. Bu nedenle, asit hidrolizi ve/veya bir enzimatik hidroliz yapılması ihtiyaç duyulmaktadır(Jeddou ve ark., 2014).

Enzimatik hidroliz, önceden işlenmiş lignoselülozik biyokütleyi mayalanabilir şekerler halinde hidrolize etmek için selülozların ilave edildiği işlemdir. İşlem birkaç önemli aşamayı içerir(Fan, 2014);

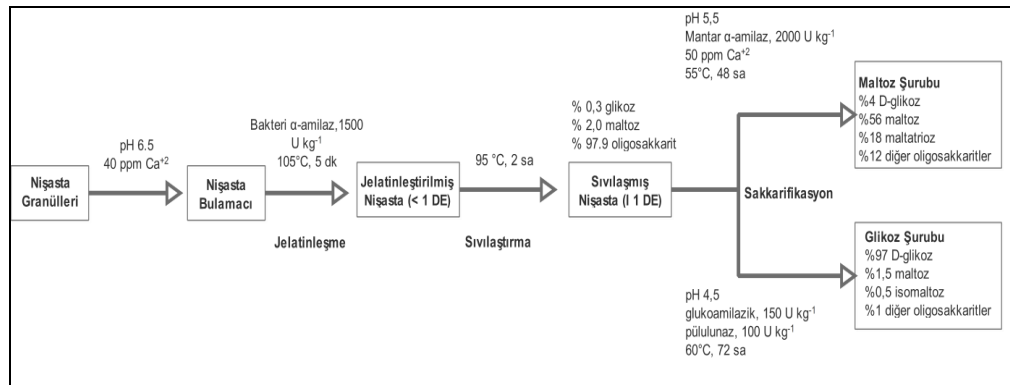
- 1- Enzimlerin sulu fazdan selüloz yüzeyine aktarılması,
- 2- Enzimlerin adsorpsiyonu ve enzim-substrat komplekslerinin oluşumu,
- 3- Selülozun hidrolizi,

4- Hidroliz ürünlerinin selülozik parçacıkların yüzeyinden yoğun sulu faza aktarılması ve

5- Selodekstrinlerin ve sellobiyozun sulu fazdaki glikoza hidrolizi.

Selüloza hidrolize olmak için etki eden 3 sınıf ezim vardır; (1) endo-b-1,4-glukanazlar (EG, EC 3.1.2.4) (2) selülohidrolaz (CBH, EC 3.2.1.91) (3) b-glukozidazlar (BG, EC 3.2.1.21). Hemiselülazlar ve lignazlar, ana enzimler için selüloza erişimi sağlayarak hidrolizde bir rol oynayabilirler(Edlund ve ark., 2009).

Niştalı hammadde de ise enzimatik hidroliz iki aşamadır. İlk aşama sıvılaşmadır ve maltodekstrinler ve maltoz üreten niştanın a- (1-4) kimyasal bağıni hidrolize eden amilazlar tarafından yüksek sıcaklıklarda (80-110 °C) gerçekleştirilir. İkinci adım, kısmen hidrolize edilmiş niştanın, daha sonra *Saccharomyces* mayalar tarafından etanole fermente edilen nispeten temiz bir glikoz akışı üreten glucoamilaz tarafından sakrifiye edilmesidir(Jeddou ve ark., 2014)(Şekil 1.3). Amilazlar (amilaz, β-amilaz ve glucoamilaz), niştalı malzemelerin hidrolizi için kullanılır. Amilazlar bitkilerden, hayvanlardan ve mikroorganizmalardan elde edilmekle birlikte, mikrobiyal amilazlar yaygın olarak kullanılmaktadır. a-Amilaz lineer amilaz zincirindeki 1,4-a-D-glukosidik bağlarını rastgele, hidrolize eder. Bununla birlikte, amyloglucosidase, amilopektinin dallanma noktalarındaki 1,6-a-linklerini ve 1,4-a-linklerini ayırır(Singh Duhan ve ark., 2013).



Şekil 1.3. Niştanın enzimatik hidrolizinin şematik gösterimi

Enzimler, spesifik bir biyokimyasal reaksiyon hızını arttıran ve durumdan etkilenmeyen proteinlerdir. Enzimlerin aktivite gösterebilmesi için belirli bir pH ve sıcaklık aralığına ihtiyaç duyarlar ve dolayısıyla kullanımlarında yetersiz enzim aktivitesi ve sınırlanma görülebilmektedir(Yadav, 2017). Enzimin ilk maliyeti, daha fazla emek istemesi ve özel laboratuvar ya da ortam gerektirmesi ise enzimatik ön işlemin kullanımını sınırlayan diğer faktörlerdir. Asit ile ön işlemin ise daha basit, düşük maliyetli olması, reaksiyon hızının enzim ile işleme nazaran daha düşük olması gibi birçok avantaja sahiptir fakat yan ürünlerin maya büyümesi üzerindeki inhibe edici özelliği asidik ön işlemin en iyi bilinen dezavantajıdır(Tasić ve ark., 2009).

1.3.2.Etanol fermantasyonu

Alkolik fermantasyon olarak da adlandırılan etanol fermantasyonu, glikoz, fruktoz ve süktroz gibi şekerleri hücrel enerjiye dönüştüren ve yan ürünler olarak etanol ve karbondioksit üreten biyolojik bir süreçtir. Mayalar bu dönüşümü oksijensiz ortamda yerine getirirler, çünkü etanol fermantasyonu bir anaerobik süreç olarak bilinmektedir(Van Waarde ve ark., 1993).

Teorik olarak ağırlık bakımından glikozun %51'i etanole dönüşür. Bu $2 \times \text{etanolin moleköl ağırlığı} / \text{glikozun moleköl ağırlığı} \times 100$ eşitliğinden gelmektedir. Pratikte ise mikroorganizmalar metabolik faaliyetleri (büyüme, bakım-onarım vb.) için etanol dışındaki ortamda var olan substratı kullanırlar. Pratikte %46'lık bir fermantasyon veriminde %40 ila 48 oranında glikoz etanole dönüşür. Örneğin 1000 kg fermente olabilir şeker yaklaşık olarak 583 litre saf etanol üretir(Naik ve ark., 2010).

1.3.3.Distilasyon (Damıtma)

Fermantasyon işlemi sonucunda elde edilen biyoetanol, bir damıtma işlemi yoluyla sudan uzaklaştırılmalıdır. Mevcut uluslararası biyoetanol standartlarına göre, izin verilen maksimum su içeriği % 0,2 (EN 15376, Avrupa),% 0,4 (ABTN/

Resolução ANP No. 36/2005, Brezilya) veya% 1,0 (ASTM D 4806, USA)'dir. Üretilen etanolden suyun uzaklaştırılması için pervaporasyon, adsorpsiyon, basınçlı salınım damıtma, ekstraksiyon damıtma (ED), azeotropik damıtma (AD) ve bu seçenekleri birleştiren hibrit yöntemler vardır(Kiss ve Suszwalak, 2012).

Kısmi damıtma, suyun kaynama noktası (100°C) etanolün kaynama noktasından (78.3°C) daha yüksek olduğundan, karışım ısıtılarak etanolün sudan önce buhara dönüştürülmesi ve yoğunlaştırılması prensibine dayanır(Limayem ve Ricke, 2012). Ekstraksiyon damıtma (ED), ayrılacak bileşenlerin nispi uçuculuğunu arttırmak ve böylece ayırma faktörünü arttırmak için karışabilir, yüksek kaynama noktalı ya da nispeten uçucu olmayan bir bileşen (çözücü) ilavesiyle buhar-sıvı ayırma işlemidir(Huang ve ark., 2010).

Kaynayan bir sıvı karışım içindeki uçuculuklarındaki farklılıklara dayanarak karışımları ayırma yöntemi ise azeotrop damıtma olarak adlandırılır. Bir azeotrop (orijinal karışımla aynı oranda bileşen içeren buhar üreten iki veya daha fazla sıvının karışımı) normal damıtma ile ayrılamaz, bu nedenle karışıma ilave bir üçüncü bileşen (sürükleyici) eklenir ve azeotroptaki sıvıların birinin uçuculuğunun, diğerinden daha büyük ölçüde değişmesi ile ayrılmanın gerçekleşmesine izin vermesidir(Azeotropic distillation, 2019).

Pervaporasyon, vakum altında iki veya daha fazla bileşen içeren sıvının membrandan geçirilmesi prensibine dayanan bir işlemdir(McKeen, 2012). Pervaporasyon, organik çözücülerin (örneğin alkoller, asitler, esterler ve benzeri) dehidrasyonu, seyreltik organik bileşiklerin sulu karışımlardan çıkarılması ve organik-organik karışımı ayırma gibi alanlarda kullanılır(Nagy, 2012). Pervaporasyon, düşük sıcaklık, düşük basınç, ek kimyasallara gerek duymaması gibi avantajlarından dolayı biyoteknolojideki ayırma işlemleri için çekici hale gelmektedir(Scott, 1995).

Adsorpsiyon, biyoetanolü sulu çözeltilerden veya fermantasyon suyundan adsorban kullanımıyla uzaklaştırmak için anlık, seçici ve basit bir işlemdir. Adsorban

ve sulu etanol çözeltisi dolu bir sütunda temas halindedir. Sulu alkol çözeltisi veya fermantasyon suyu sütunun içine doldurulmuş adsorbandan geçerken, adsorban malzeme tercihen etanolü adsorbe eder(Qureshi, 2014).

Diğer bir yöntem ise güneş enerjisi ile damıtmadır. Varayos ve arkadaşları (2006) düz levhalı ve boşaltılan ısı borusu güneş kolektörlerine sahip sürekli güneş etanol damıtma sistemlerinin performanslarını ve ekonomik canlılığını incelemek üzere her ana bileşenin matematiksel modeli gerçekleştirerek sistem simülasyonu geliştirmişlerdir. Simülasyondan, %12 alkol konsantrasyonu ile başlayan, damıtım sisteminden % 80 alkol konsantrasyonunun üretim maliyeti olan 12.500 L/yıl verim alınacağına ulaşmışlardır(Vorayos ve ark., 2006).

1.4.Biyoetanol Üretimi için Kullanılan Prosesler ve Reaktör Tipleri

Etanol üretimi için yaygın olarak bilinen üç proses vardır. Bunlar kesikli (batch), yarı kesikli (semi-batch) ve sürekli (continuous) fermantasyon prosesi olarak adlandırılmaktadır. Kesikli fermantasyon prosesinde ilk olarak fermantöre maya eklenir ve daha sonra istenen etanol yüzdesine bağlı olarak kontrollü bir akış ile hammadde reaktöre doldurulur. Bu prosesde mayalar daha az risk altında olup, şok yüklemeler ile karşılaşmaz. Optimizasyonu ve işletimi daha kolaydır(Godoy ve ark., 2008). Yarı-kesikli fermantasyon prosesinde ise, ilk yapılan fermantasyon sonrası tank içeriği tamamen boşaltılmaz ve bir miktarı aşılama kültürü olarak tankta bırakılır ve hammadde ile doldurma işlemi devam eder. Sürekli fermantasyonda ise sürekli olarak fermentöre ilave edilen yeni substrat kadar fermenterden ürün alınır ve böylece mikroorganizma hep gelişme fazında tutulur(Cardona ve ark., 2007).

Reaktör tipleri ise, substratın çeşidine bağlı olarak hidroliz ve fermantasyon süreçlerinin ayrı ayrı gerçekleştiği reaktörler (SHF), sakkarifikasyon sırasında fermantasyonu sağlayabilen reaktörler (SSF), eş zamanlı sakkarifikasyon ve yardımcı fermantasyon ve tüm bu süreçlerin birleştirilmiş versiyonu (Consolidated BioProcessing-CBP) olarak sıralanabilir (Hamelinck ve Hooijdonk, 2005).

Enzimatik hidrolizin ve fermantasyonun ayrı aşamalarda gerçekleştiği proses SHF olarak adlandırılır. SHF’de her iki hidroliz reaktöründen ortak sıvı akışı ilk önce glikoz fermantasyon reaktörüne girer ve oluşan etanol damıtıldıktan sonra su tekrar dönüştürülmemiş ksiloz için fermante edilir ve damıtılır(M. Balat, 2008).

SSF (Eş zamanlı Sakkarifikasyon ve Fermantasyon), lignoselülozik malzemelerden biyoetanol üretimi için umut verici bir süreçtir ve genellikle seyreltik asit veya yüksek sıcaklıkta sıcak su ön işlemiyle birleştirildiğinde etkilidir. SSF’de selülozlar ve ksilanazlar, karbonhidrat polimerlerini mayalanabilir şekere dönüştürür. Bu işlem gelişmiş bir hidroliz oranına sahiptir, düşük enzim yüklemesi gerektirir ve daha yüksek biyoetanol verimleri ile sonuçlanır (Balat, 2011). SSF’nin kısmi sakkarifikasyondan sonra karışım kolaylığı sağlaması, düşük enerji tüketimi ve herhangi bir zaman noktasında karşılaştırıldığında daha düşük viskoziteye sahip olma, düşük konsantrasyonda inhibitör oluşturmaması gibi avantajlara sahiptir(Koppram ve Olsson, 2014).

Konsolide biyoişlem (CBP), düşük maliyetli hidroliz, sakkarifikasyon ve fermantasyon aşamalarını birleştirici nihai konfigürasyondur(Olson ve ark., 2012). CBP, özel enzim üretimi ve / veya daha etkili biyokütle hidrolizi ile bağlantılı olarak işletme ve sermaye maliyetlerinin ortadan kaldırılması nedeniyle avantajlı bir prosestir (Olson ve ark., 2012; Xu ve ark., 2009).

Çizelge 1.4.Biyoetanol üretiminde kullanılan çeşitli ham maddeler için fermantasyon koşulları

Hammadde	Ön hazırlık ve Sakkarifikasyon	Fermantasyon Koşulları	Mikroorganizma
Şeker kamışı küspesi	Seyreltik asit hidrolizi	Kesikli	<i>C.shehatae NCIM3501</i>
Buğday samanı	Seyreltik asit hidrolizi, Enzimatik asit hidrolizi	SSF, SHF	<i>E.coli FBR5</i>
Endüstriyel atık	-	SSF	<i>K. marxianus, S. cereviseae</i>
Ayçiçeği sapı	Buhar, Enzimatik	Kesikli	<i>S. cereviseae var ellipsoideus</i>
Yer fıstığı kabuğu	Asit hidrolizi	Kesikli	<i>S. cereviseae</i>
Buğday kepeği	Seyreltik asit hidrolizi, Enzimatik asit hidrolizi	SSF	<i>S. cereviseae</i>
Arpa kabuğu	Buhar, Enzimatik	SSF	<i>S. cereviseae</i>

1.5.Biyoetanol Üretimi İçin Kullanılan Hammaddeler

Bugüne kadar üç kuşak enerji ürünü geliştirilmiştir. İlk nesil biyoyakıtlar mısır, soya fasulyesi, şeker kamışı ve kolza tohumu gibi yenilebilir hammaddelerden üretilmektedir. İkinci nesil biyoyakıtlar; atıklardan ve lignoselülozik hammaddelerden, üçüncü nesil biyoyakıtlar ise mikro ve makro alglerden üretilmektedir(Daroch ve ark., 2013; Lee ve Lavoie, 2013). Kullanılan biyoyakıt hammaddelerinden etanol verimleri Çizelge 1.5’de görülmektedir(Rodionova ve ark., 2017).

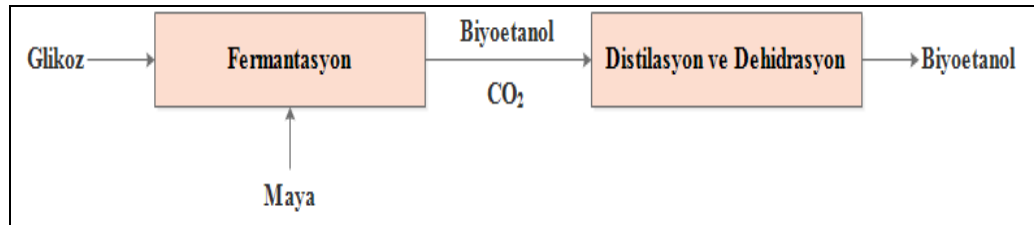
Çizelge 1.5. Bazı biyoetanol kaynaklarının etanol verimleri

Hammadde	Etanol Verimi (galon / dönüm)	Etanol Verimi (L/hektar)
Mısır Koçanı	112–150	1050–1400
Buğday	277	2590
Manyok	354	3310
Tatlı Sorgum	326–435	3050–4070
Mısır	370–430	3460–4020
Şeker Pancarı	536–714	5010–6680
Şeker Kamışı	662–802	6190–7500
Dallı Darı	1150	10,76
Mikroalg	5000-1500	46 760-1 402 900

1.5.1.Birinci nesil hammaddeler

Birinci nesil etanol üretiminde buğday, arpa, mısır, patates, gibi nişasta bakımından zengin gıda ürünleri veya sukroz içeren hammaddeler kullanılır. Özellikle mısır ve şeker kamışının birinci nesil biyoetanol üretimi için hammadde olarak kullanılması yaygındır(Lee and Lavoie, 2013).

Şeker bazlı hammaddelerden biyoetanol üretimi kolay olup ön işlem olmaksızın fermantasyon sürecine tabi tutulabilmektedirler. Şeker kamışından hektar başına 6740 L, şeker pancarından hektar başına 5500 L, mısır için ise hektar başına 4180 L biyoetanol üretilenir(Lee ve Lavoie, 2013).

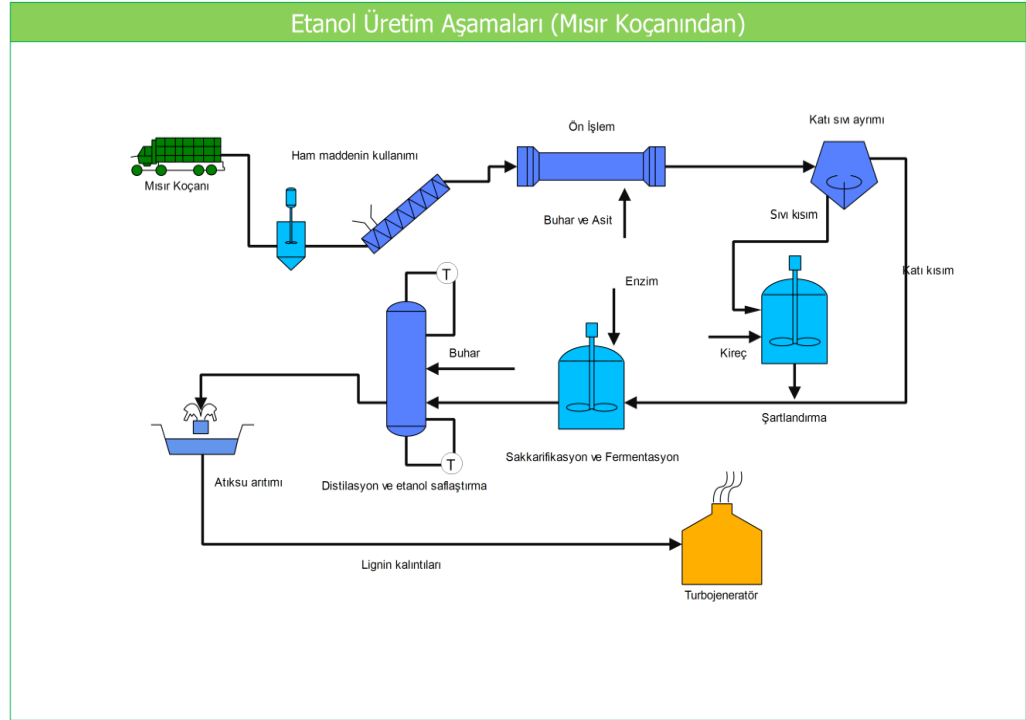


Şekil 1.4. Şeker içeren hammaddeden biyoetanol üretiminin akım şeması

Nişasta bazlı hammaddelerde ise; nişasta doğal bir biyopolimer olup α (1,4) bağlı anhidroglikoz birimleri ile doğrusal polisakarit amiloz ve dallanma noktalı (1,6) bağlantılara sahip α (1,4) -AGU zincirleri ile dallanmış polisakarit amilopektin yapılarından oluşur(Subramanian, 2017).

Bakterilerin ve mayaların nişastayı etanole dönüştürülebilmesi için nişastanın suyla reaksiyonu (hidroliz) ve uzun glikoz molekülü yapısının kırılması (sakkarifikasyon) gerekmektedir(Demirbaş, 2005). Bu kısım ön işlemler kısmında anlatılmıştır. Ticari nişasta kaynakları arasında mısır, buğday, arpa, yulaf, pirinç ve sorgum tohumları, yumru kökleri ve patates kökleri, manyok ve sagu palmyesi özleri bulunmaktadır. Bu kaynakların yapısındaki nişasta varlığı değişiklik göstermektedir. Örneğin mısır çekirdeğinde ortalama olarak % 72, tritikalede (buğdayın alt sınıfı) % 62.4-70.9 ve manyok köklerinde ise olgunlaşmış kökleri ise % 15-33 arasında nişasta bulunmaktadır(Van Zyl ve ark., 2012).

Örneğin yüksek miktarda nişasta içeren mısır (%70 karbonhidrat), etanol için değerli bir hammadde (Bothast, 2005). Modern bir etanol fabrikası, 25.4 kg mısır koçanından yaklaşık 10 L etanol üretebilir (Martin, 2010).



Şekil 1.5. Mısır bitkisinden biyoetanol üretimi akış diyagramı

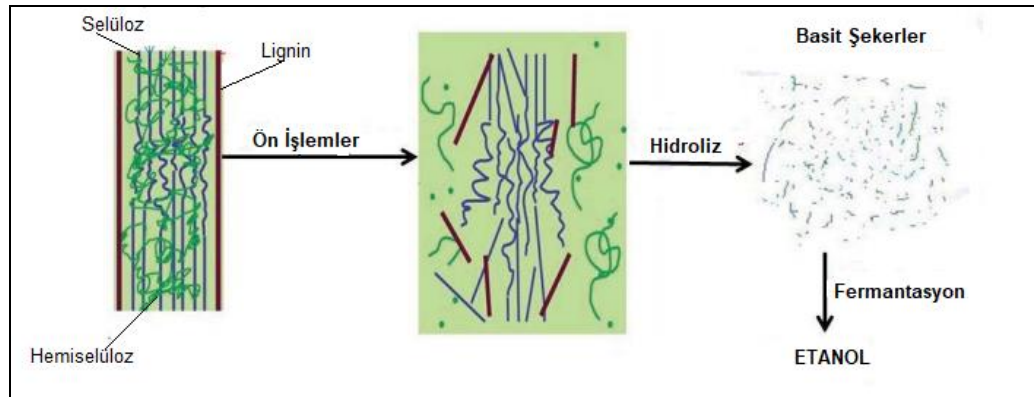
1.5.2.İkinci nesil hammaddeler

İkinci nesil hammaddeleri ligno-selülozik maddeler ve yan ürünleri (tahıl samanı, şeker kamışı küspesi, orman artıkları), atıklar (belediye katı atıklarının organik bileşenleri) ve özel besleme stokları (amaçlı yetiştirilen bitkiler, kısa rotasyon ormanları ve diğer enerji bitkileri) oluşur ve bu ham maddelerin ek arazi gereksinimi yoktur. Ayrıca gıda üretimi üzerinde de herhangi bir etkisi olmadan kullanılabilirler (Sims ve ark., 2010). Ayrıca bir lignoselülozik biyo-rafineri sisteminin, fosil yakıt referans sistemine kıyasla % 60 sera gazı emisyonu tasarrufu sağlayabildiğini de bildirmiştir (Akgul ve ark., 2012).

İkinci nesil biyoetanol üretiminin gelişimi, ilk nesil üretim kadar gelişmiş olmamakla birlikte ulusal boyutta hammaddenin mevcudiyetine bakıldığında, devasa bir potansiyele sahiptir. Örneğin en büyük palmiye yağı üreticilerinden olan Malezya, çoğunlukla işlenmemiş aşırı yağlı palmiye atığı üretir ve ülkenin toplam tarımsal atıklarının% 85'ini palmiye yağı endüstrisinden geldiği kaydedilmiştir(Aditiya ve ark., 2016).

Lignoselüloz, nişastadan daha karmaşık bir hammaddedir. Bir karbonhidrat polimeri (selüloz ve hemiselüloz) ve lignin karışımından oluşur ve karbonhidrat polimerleri esas olarak hidrojen bağları ve aynı zamanda bazı kovalent bağlarla lignine sıkıca bağlanır(Lee, 1997).

Biyokimyasal olarak lignoselülozdan etanol üretimi fermente edilebilir şekerlerin oluşumu için hidroliz (selüloz ve hemiselülozu lignin ile komplekslerinden serbest bırakmak için delignifikasyon ve serbest şekerlerin üretilmesi için karbonhidrat polimerlerinin depolimerizasyonu(Lee, 1997)), fermentasyon (karma heksoz ve pentoz şekerlerinin fermentasyonu) ve saflaştırma olmak üzere üç ana basamağa ayrılmaktadır(Adıgüzel, 2013). Lignoselülozik hammaddelerden etanol eldesi Şekil 1.6'da görülmektedir(Madadi ve ark., 2017).



Şekil 1.6. Lignoselülozik hammaddeden etanol eldesi

1.5.3.Üçüncü nesil hammaddeler

Birinci nesil hammaddelerinin seri üretimi için daha fazla alan gerektirmesi, insan ve hayvan gıda ihtiyacı için var olan alanları azaltması gibi ekonomik ve

politik kaygılara neden olmuştur. İkinci nesil biyoyakıt üretim süreci ise hammaddenin dönüşümü için pahalı ve karmaşık teknolojiler gerektirmesi(Alam ve ark., 2015), orman tahribine sebep olması ve hammaddenin toplanmasından sonra temizlik gereksinimi gibi sebeplerden dolayı sorun oluşturmaktadır(Kang ve ark., 2012). Alglerden üretilen üçüncü nesil biyoyakıtların ise, birinci ve ikinci nesil biyoyakıtlarda karşılaşılan dezavantajlardan yoksun, uygulanabilir bir alternatif enerji kaynağı olduğu düşünülmektedir(Dragone ve ark., 2010). Algler (mikro ve makroalgler); yüksek lipid ve karbonhidrat içeriği, yüksek proton dönüşümü, çok çeşitli su ortamlarında kolay yetiştirme, nispeten düşük arazi kullanımı ve yüksek karbondioksit (CO₂) Emilimi nedeniyle umut verici hammaddelerdir(Azmah ve ark., 2016). Mikroalgler, yeterli miktarda karbon (organik veya inorganik), N (üre, amonyum veya nitrat), P ve diğer iz elementler olduğu sürece, tatlı sularda, deniz suyunda, belediye atık suları, endüstriyel atık sular ve hayvan atık suları gibi çeşitli su ortamlarında yetiştirilebilirler(Alam ve ark., 2015). Aşağıdaki Çizelge 1.6’da birinci ikinci ve üçüncü nesil hammaddelerin karşılaştırılması bulunmaktadır(Azmah ve ark., 2016).

Çizelge 1.6. Birinci, ikinci ve üçüncü nesil biyoetanolün karşılaştırılması

Kıyaslama Parametreleri	Birinci Nesil	İkinci Nesil	Üçüncü Nesil
	Yenilebilir Ürünler	Lignoselülozik Biyokütle	Algal Biyokütle
Arazi Tipi	Ekilebilir Arazi	Ekilebilir ve marjinal alan	Deniz suyu, temiz su, atıksu
Dönüşüm teknolojileri	Şeker Ekstraksiyonu Fermantasyon Damıtma	Ön işlem Hidroliz Fermantasyon Damıtma	Hidroliz Fermantasyon Damıtma
Biyoetanol verimi	Düşük	Orta	Yüksek
Çevreye etkisi	CO ₂ azaltılmasına düşük katkı	CO ₂ azaltılmasına yüksek katkı	CO ₂ azaltılmasına yüksek katkı
Avantajları	Nispeten basit dönüşüm süreci	Gıda kaynakları ile rekabetin olmaması	Yüksek büyüme oranı
Dezavantajları	“Yiyecek - yakıt” tartışması	Hammaddenin inatçı yapısı	Sınırlı yatırımlar ve proses dizaynındaki zorluklar

1.6.Kullanılan Mikroorganizmalar

Etanol üretiminde gerek mayalar gerekse bakteriler kullanılmaktadır. İdeal bir etanol üretimi için kullanılacak substratta mikroorganizmada olması gereken özellikler ise;

- 1) Geniş aralıklı substrat kullanabilir olması
- 2) Yüksek etanol verimliliğine ve üretkenliğine sahip olması
- 3) Yüksek konsantrasyonlarda etanol ve sıcaklığa dayanıklı olması
- 4) Hidrolizatta bulunan ve selüloolitik aktiviteye sahip inhibitörlere karşı toleranslı davranması gerekir. (Sarkar ve ark., 2012).

Tüm mikroorganizmaların hem pentozları hem de heksozları işleyememe, düşük verimlilikteki etanol veya düşük etanol konsantrasyonlarında bu ürünün hücre materyaline dönüşümü gibi sınırları vardır. Dahası, fermantasyonun oksijensiz durumu, mikroorganizma popülasyonunu yavaş yavaş yok eder(Lynd, 1996).

1.6.1.Mayalar

Binlerce yıl önce, *S. cerevisiae* gibi mayalar, özellikle bira ve şarap endüstrilerinde alkol üretiminde kullanılmıştır. Mayalar, yüksek etanol verimi sağlaması ve yüksek etanol konsantrasyonuna dayanabilmesinden dolayı damıtma maliyetini düşük tutar(Hajar ve ark., 2017). *Clostridium sp.*, *Saccharomyces cerevisiae* en iyi bilinen etanol üreten maya türleridir(Najafpour ve ark., 2004). Etanol üreten çeşitli maya türleri ve fermantasyon koşulları verilmiştir(Lin ve Tanaka, 2006).

S. cerevisiae, patojenik olmamasından dolayı rağbet gören, etanol ve ekmek gibi tüketilebilir ürünlerin üretiminde uzun süredir uygulanmış olması nedeniyle güvenilir kabul edilen bir organizmadır(Ostergaard ve ark., 2003). *Saccharomyces*

cerevisiae mayasının, bakterilerden daha sağlam olduğu, yüksek etanol konsantrasyonuna karşı daha toleranslı olduğu kanıtlanmıştır(Edgardo ve ark., 2008).

Etanol fermantasyonlarında, maya hücreleri bir dizi stres altındadır. Bu stresler genel olarak şunlardır; sülfür (>100 mg/L), etanol stresi (% 15 (v/v)), sıcaklık (35-38 °C), pH (<3.5), asetik asit (%0.05 (w/v)), laktik asit (%0.8 (w/v)) ve ozmotik basınçlı şeker (% 25 (w/v)). Birçoğu, maya hücrelerini herhangi bir tek hücreden daha ciddi şekilde etkileyen sinerjilerdir ve düşük etanol veriminin yanı sıra maya canlılığı ve canlılığının azalmasına yol açar(Guo ve ark., 2013).

Çizelge 1.7. Temel fermantasyon ürünü olarak etanol üreten maya türleri

Soy- Türler	Sıcaklık (°C)	pH	Karbon Kaynağı (g/L)	İnkübasyon Süresi (sa)	Üretilen etanol (g/L)
27817- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30	5.5	Glikoz (50–200)	18-94	5.1-91.8
L-041-S. <i>cerevisiae</i>	30-35	-	Sukroz (100)	24	25-50
181-S. <i>cerevisiae(aerobic)</i>	27	6.0	Glikoz (10)	40-160	-
27774- <i>Kluyveromyces fragilis</i>	30	5.5	Glikoz (20–120)	18-94	48.96 (max)
30016- <i>Kluyveromyces marxianus</i>	30	5.5	Glikoz (100)	18.94	44.4 (max)
30091- <i>Candida utilis</i>	30	5.5	Glikoz (100)	18.94	44.4 (max)
ATCC-32691 <i>Pachysolen tannophilus</i>	30	4.5	Glukoz (0-25) ve ksiloz (0-25)	100	7.8 (max)

1.6.2.Bakteriler

Gram negatif bakteriler *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Zymomonas mobilis.*, *E. coli* ve *K. oxytoca* doğal olarak geniş aralıkta şeker kullanabilirler. Bu nedenle çalışmalar seçici olarak etanol üretmek için bu türlerin mühendislikleri üzerine yoğunlaşmıştır(Dien ve ark., 2003). Mikroorganizmalar, farklı nesil fermantasyon süreçlerinde (laktat, asetat, süksinat ve butirat gibi organik asitlerin

yanı sıra etanol, bütanol, aseton ve bütandiol) kullanılmaktadırlar(Ingram ve ark., 1987).

Escherichia coli gibi bakteriler, doğal olarak lignoselülozdaki tüm şeker bileşenlerini metabolize etme yeteneklerine sahiptir. Çevresel zorluklar, geniş substrat aralığı ve mineral tuz ortamlarında iyi büyüme kabiliyeti gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir(Zhou ve ark., 2008).

Gram negatif bir bakteri olan *Zymomonas mobilis*, nişasta ve lignoselülozik hidrolizatlardan ve şekerden etanol eldesinde yoğun olarak çalışılmış ve *S. cerevisiae* ile karşılaştırıldığında, *Z. mobilis* etanole daha yüksek tolerans, daha yüksek glikoz alımı ve gelişmiş etanol verimi göstermiştir. Fakat dar substrat aralığı nedeniyle *S. Cerevisiae*'nin yakıt etanol üretimi için piyasadaki yerini alamaz. *Z. mobilis*'in, her bir glikoz molekülünden sadece bir ATP molekülü veren Entner-Doudoroff yolu kullanarak glikozu metabolize eder(Zabed ve ark., 2017).

1.7.Sürece Etki Eden Faktörler

Fermantasyon sırasında, pH, etanol konsantrasyonu ve sıcaklık gibi birçok etkili parametre, mikroorganizmaların spesifik büyüme hızını etkileyebilir ve substrat ya da oluşan ürün konsantrasyonundan dolayı inhibisyon meydana getirebilmektedir. Hücre popülasyonlarının yaşayabilirliği, spesifik fermantasyon hızı ve şeker alım oranı, istenen ortam koşuluyla doğrudan ilişkilidir(Lin ve ark., 2014). Özellikle sıcaklığın enzim aktivitesi, mikroorganizmaların büyüme ve etanol üretim verimi üzerinde kayda değer etkisi vardır(Hajar ve ark., 2017). Etanol fermantasyonu için optimum sıcaklık 28-35°C olarak bilinmektedir. Daha düşük ve ya yüksek sıcaklıklarda yüksek etanol verimine sahip mayalar olmasına karşın, genel olarak maya metabolizmasını etkilediği ve bunun sonucunda gliserol, asetik asit, süksinik asit,vb. ikincil metabolitlerin oluşumunu da etkilediği bilinmektedir(Torija ve ark., 2003).

Ajitasyon (çalkalama) oranı, fermantasyon sürecinde besin maddelerinin fermantasyon suyundan hücrelerin içine geçmesini artırması ve etanolünde hücrenin iç kısmından fermantasyon ortamına çıkmasının sağlanmasında önemli rol oynar. Ajitasyon ayrıca hücrelerde etanolün inhibisyonunu azaltır ve şeker tüketimini artırır. Fermantasyon işleminde mayalar için optimum ajitasyon oranı 150-200 RPM olup hücrelerin sınırlı metabolik aktivitelerinden dolayı aşırı hız uygun değildir (Zabed ve ark., 2014).

Etanol, etanol üreten maya hücrelerinde bile toksik etki yapmaktadır. Yüksek etanol konsantrasyonları proteinler, fosfolipid çift katmanlar ve diğer hidratlanmış hücre bileşenleri üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olup büyümeyi, metabolik aktiviteyi ve etanol üretim verimini sınırlar(Hallsworth, 1998).

Fermantasyon işleminde, yüksek başlangıç glikoz konsantrasyonu (% 20-25) daha uzun ve eksik fermantasyona sebep olmaktadır ve kullanılan kültürün spesifik büyüme oranında düşüşe sebep olmaktadır(King ve Hossain, 1982). pH ise hücre enzimlerinin aktivitesi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir ve biyolojik reaksiyonların kimyasal yollarını ve kinetiğini değiştirebilir(Akin ve ark., 2008).

Sonuç olarak çevresel şartlar kullanılan mikroorganizma türüne ve hammaddeye bağlı olarak değişkenlik gösterir. Aşağıdaki Çizelge 1.8’de bazı maya suşları için optimum çevresel koşullar sunulmuştur(Hajar ve ark., 2017).

Çizelge 1.8. Biyoetanol verimini etkileyen faktörler ve oranlar

Maya Şusu	Hammadde	Sıcaklık (°C)	pH	Zaman (sa)	Şeker Kons. (g/L)	Ajitasyon oranı (rpm)	Aşı Boyutu (%)	Etanol Kons. (g/L)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CHY1011	Manyok Nişastası	32	4,5	66	585	120	5	89,1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ZU-10	Mısır sapı	30	5,5	72	99	120	5	41,2
<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	Odun	30	5,5	16	37,47	150	10	18,52
<i>Kluyveromyces marxianus</i> CECT 10875	Buğday samanı	42	5,5	72	-	150	-	36,2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K35	Erişte atıkları	30	-	24	84,4	250	5	41,3

Bu çalışmada ise hammadde kaynağı olarak ekmek atıkları kullanılmıştır. Ekmek, buğday ununa su, tuz, maya şeker enzim (malt unu vb.) ve gerekli görülürse katkı maddeleri eklenerek yoğrulması, şekillendirilmesi ve fermantasyona bırakılıp daha sonra pişirilmesi sonucu elde edilen üründür ve ekşi hamurlu, kepekli, karışık tahıllı gibi çeşitliliğe sahiptir(Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği, 2012). Tipik bir beyaz ekmek %45–58'i karbanhidrat,%8,7'i protein, %3,2'si yağ ve %2'si külden oluşmaktadır. Ekmek, yapımı sırasında eklenen katkı maddelerinden ve hammaddesi olan buğdaydan dolayı önemli vitaminler (tiamin, niasin, folik asit vb.) ve mineraller(K, P, Mg, Na vb.)içermektedir(Özkaya, 1986).

Ekmeğin zengin, besleyici bileşenler içermesi ve kolay üretilip temin edilebilmesi gibi özelliklerden dolayı insanlar günlük enerji ihtiyaçlarının %50'sini ekmekten karşılamaktadırlar. Kişi başına yıllık ekmek tüketiminin; Avustralya'da 44 kg, Mısır'da 180 kg, İran'da 150 kg, İtalya'da 73 kg, Kuveyt'de 98 kg, Suriye'de 130 kg, ABD'de 34 kg ve ülkemizde ise 60 kg olduğu rapor edilmiştir(Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği, 2012). Fazlasıyla tüketilen bu besin kaynağının israfı da fazla olmaktadır. Ülkemizde araştırmalara göre kişi başı atık ekmek miktarı 20 gramdır. Benzer araştırmalar bir yılda ülkemizde israf edilen 2.1 milyar adet ekmeğin ülkenin 23 günlük ihtiyacı kadar olduğunu ortaya koymaktadır(T.C. Toprak Mahsülleri Ofisi ,2018).

Çizelge 1.9. 100 gramlık porsiyon ekmek için besin değerleri

Porsiyon Miktarı:100 g. Standart Beyaz Ekmeğin Besin Değerleri	
İçindeki	Miktarı
Kalori (kcal)	265
Toplam yağ	3.2 g
Trans yağ	0 g
Kolesterol	0 mg
Sodyum	491 mg
Potasyum	115 mg
Karbonhidrat	49 g
Diyet Lifi	2.7 g

100 gramlık ekmeğin yarısından fazlası etanole fermente olabilir bileşenlerden oluşmaktadır. Kabaca İngiliz çöreği, simit ve beyaz ekmek gibi ekmek türevlerinin ağırlıkça % 40 ila 45'i nişastadan oluşmaktadır(Raman, 2017).

Ekmek atıklarının en önemli değerlendirme şekli hayvan yemi olarak kullanımıdır. Ancak atık ekmekte küf oluşumu söz konusudur ve bu küfe bağlı mikotoksinlerin besin zincirine katılması bir dizi sağlık sorununa sebep olmaktadır(Ebrahimi ve ark., 2008; Tabibi ve Salehian, 1974; Visconti ve Bottalico, 1983). Atık ekmek türevleri için uygulanabilecek en iyi alternatif ekmek israfının azaltılması olmakla birlikte kısa vadede ekmek israfının halen yüksek boyutlarda kalacağı öngörülmektedir.

Dolayısı ile sahip olduğu yüksek fermente olabilir bileşen ve israfının yoğun miktarlarda olması, ekmeği biyoetanol üretiminde ideal bir ham maddeye dönüştürmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında ham madde olarak ekmek kullanılmıştır.

Ekmekte bulunan nişastanın glikoz ve diğer fermente olabilir şeker türevlerine dönüştürülmesi için alfa ve beta amilaz enzimleri gerekmektedir. Arpa tohumları ile bu süreç binlerce yıldır yapılmaktadır. Diastatik güç olarak bilinen üç temel enzimin nişastayı glikoza çevirebilme yeteneği arpa için diğer tahıllara göre daha yüksektir. Çimlenme aşaması başlamış ancak sonra durdurularak kurutulmuş arpa tohumlarına malt denmekte olup diastatik güç bu çimlendirme aşamasında maksimum seviyeye çıkar(Çizelge 1.10).

Çizelge 1.10. Tahıl tiplerine göre diastatik güç

Tahıl Tipi	Diastatik Güç (Derece Lintner)
6 Sıralı Arpadan Elde edilen Malt	150
2 Sıralı Arpadan Elde edilen Malt	110
Buğday maltı	120
Ham Buğday	0
İşlenmemiş Yardımcı tahıllar (pirinç, mısır)	0

Bu nedenle çalışmada enzim ihtiyacının giderilmesi için arpadan elde edilmiş malt kullanılmıştır. Bu sayede ekonomik fayda sağlandığı gibi enzimler ihtiyaç halinde üretilerek taze kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalar, bazı halojen tuzlarının çeşitli ortamlardaki amilaz aktivitesine etki ettiğini ortaya koymaktadır. İlk çalışmaların tarihleri 1900'lerin başına kadar uzanmakta olup bazı halojen türlerinin ağızdaki sindirime etkisi araştırılmıştır. Yapılan ilk çalışmalar halojenlerin etkisinin olup olmadığını belirlemeye yönelik olup takip eden çalışmalarda halojenlerin farklı konsantrasyonları test edilmiştir. Bu çalışmalarda nişastaya bağlanan amilaz miktarının NaCl konsantrasyonu ile orantılı olduğu(Ambard ve Trautmann, 1933), patatesi sindiren amilazın NaF konsantrasyonunun 1/1.75 M seviyelerine kadar arttığı bildirilmiştir(McClure, 1933). Ancak bu halojenlerin amilaz aktivitesine etkisi araştırılmış olmasına rağmen biyoetanol üretim sürecine etkisi üzerine çalışmaya rastlanmamıştır. Bu halojenler amilaz aktivitesini arttırırken fermantasyon sürecine nasıl bir etki yapacağı araştırılması gereken bir konudur. Bu nedenle bu tezde NaF, NaCl, KBr ve KI bileşiklerinin ekmek atıklarındaki nişastanın arpa maltı enzimleri ile hidrolizi ve sonrasında fermantasyon aşamasına etkileri araştırılmıştır. Çalışma boyunca maya olarak *Saccharomyces cerevisiae* kullanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Literatürde bu konuya dair kapsamlı çalışmalar bulunmaktadır. Genel olarak çalışmalar kullanılan hammaddeye, reaktör tipine, uygulanan ön işleme ve kullanılan mikroorganizma tipine göre farklılık göstermektedir.

2.1.Kullanılan Hammadde ve Uygulanan Ön İşleme Bağlı Yapılan Çalışmalar

Ana Belén Guerrero ve ark. (2018) tarımsal muz atığının biyoetanol üretimi için potansiyelini çalışmış ve Muz bitkisinin *rachis* (çiçek taşıyan sap kısmı) kısmından 103 L/ton kuru madde etanol elde edilmiştir. *Psödosteminden* kısmından (bitkide bulunan sahte kök diye adlandırılan kısım) 112 L/ton kuru madde etanol elde edilmiştir.

Diğer yapılan bir çalışmada ise hammadde olarak uçucu yağı alınmış defne yaprağı artığı kullanılmıştır. Hammaddeye sırasıyla sakkarifikasyon ve fermantasyon işlemleri uygulanmışlardır. Çeşitli enzimatik süreçlerden geçirildikten sonra, en yüksek etanol derişimine (4.88 g/L) ise maya miktarı 10.1 g/L; pH 5.49 ve 37°C olan ortamda ulaşmışlardır(Göycincik ve Yücel, 2015).

Dubey ve ark. (2012) asidik ön işlemde geçirilmiş kağıt atıklarından (% 70,12 $\pm$ 4,88 karbonhidrat) biyoetanol üretimini değerlendirmişlerdir. İlk olarak atık kağıtlarda α -selüloz (61.5 $\pm$ 3.49), pentozlar (7.42 $\pm$ 0.36), lignin (% 16.33 $\pm$ 0.96), kül (% 12.50 $\pm$ 0.33) ve nem (% 8.28 $\pm$ 0.63) bulunduğunu tespit etmişlerdir ve değişen koşullar altında (katı / sıvı oranı 1/8-1/14 (ağırlık / hacim), reaksiyon süresi 1-6 saat ve 120 °C ve asit konsantrasyonu 0.005-1.00 N) bir otoklavda seyreltik asit ön işlemine tabi tutmuşlardır. Atık kağıdın optimum ön işlem koşulları altında (120° C, 2 saat, 0,50 N H₂SO₄) elde edilen hidrolizatının *Pichia stipit* ile fermantasyondan elde edilen etanol üretimi ve veriminin sırasıyla 3.73 $\pm$ 0.16 g/L ile % 77.54 $\pm$ 4.47 olduğunu bildirmişlerdir.

Sago atıklarının (tropikal palmiye gövdelerinin özünden elde edilen bir nişasta) hammadde kaynağı olarak kullanıldığı bir diğer çalışmada ise karbondioksit ile hızlandırılmış mikrodalga hidrotermal hidrolizi kullanılarak biyoetanol üretimi incelenmiştir. Çalışma sonunda maksimum % 43.8 teorik glikoz ve % 40.5 teorik etanol verimi elde edildi. Elde edilen bu etanol verim katsayısı, 0.47 (g glikoz başına g etanol) olup bu da 100 g kuru sago atığı başına 15.6 g etanol elde edildiği anlamına gelmektedir(Thangavelu ve ark., 2014).

Seong Choi ve ark. (2013) ise mandalina (*Citrus unshiu*) soyma (MP) atıklarından etanol üretmek için, ateşlenmiş bir brülör ve bir ekseninde dönen yatay silindir kullanan bir biyokütle ön hazırlık sistemi tasarlamışlardır. Ön işlemler için kimyasal madde kullanmadan 150 °C'de 10 dakika sürede yapılan işlemde partiküllerin boyutunu 1 mm'den daha düşük bir seviyeye indirilmiştir. Önceden işlemde geçirdikleri MP'nin enzimatik hidrolizi 50 mM sodyum asetat tamponu (pH 4.8) içinde 45 °C'de 6 saat boyunca gerçekleştirilerek ve toplam sakkarifikasyon oranı yaklaşık % 95.6'ya ulaşılmıştır. Vakumla buharlaştırma işlemi, fermente edilebilir şeker konsantrasyonunu % 10'a yükseltilmiştir (glikoz % 7.1 ve fruktoz % 2.9). Laboratuvar ölçekli biyoreaktöründe 30 ° C'de pH 5.0'de 12 saat süreyle fermentasyon, ham MP'den 36 saatte % 78'e kıyasla etanol verimini % 90.6'ya yükselttiği sonucuna ulaşmışlardır.

Seong ve ark. (2012) çalışmalarında ise kahve posalarından biyoetanol üretimi çalışılmışlardır. Kahve tozu için kahve ekstraksiyonu ve hazır kahve hazırlama sonrasında üretilen kahve kalıntısı atığı (CRW) birincil bir endüstriyel atıktır. Çalışmada, biyoetanol üretimi için CRW kullanımı değerlendirilmiş, CRW'nin karbonhidrat içeriği, *Saccharomyces cerevisiae* tarafından fermente edilebilir glikoz, galaktoz ve mannoz gibi fermente edilebilir şekerlerden oluştuğu belirlenmiştir. Enzimatik hidrolizi arttırmak için, ön hazırlık ile 10 dakika boyunca 1.47 MPa basınç altında ön işleme tabi tutulmuştur ve CRW'nin mayalanabilir şekerlere enzimatik dönüşüm oranı % 85.6 olarak bulunmuştur. Enzimatik hidrolizi takiben eşzamanlı sakkarifikasyon ve fermentasyon sonrası etanol konsantrasyonu ve verim (şeker içeriğine dayalı olarak) sırasıyla 15.3 g/L ve % 87.2'dir.

Walsum ve ark. (1996) sıvı sıcak su (LHW) (220 ° C, 5 MPa, 120 s) kullanılarak ön işleme tabi tutulan lignoselülozik materyaller, *Trichoderma reesei* selüloz varlığında *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak eşzamanlı sakrifikasyon ve fermantasyon (SSF) ile etanole fermente edilmiştir. Şeker kamışı (alındığı gibi), kavak cipsleri (en küçük boyut 3 mm) ve karışık sert ağaç unu (-60 +70 ağ), 15-30 FPU / g enzim yüklerinde 2-5 gün içinde etanole % 90 verimle etanole dönüşümü sağlanmıştır. LHW ön işleminden üretilen hidrolizat, *S. cerevisiae*'nin toplu büyümesinde hafif bir inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir.

Alkali ön işlemin kullanıldığı bir çalışmada ise *Chlorococcum infusionum* türündeki mikroalgden biyoetanol üretimi çalışılmıştır. NaOH konsantrasyonu, sıcaklık ve ön işlem süresi üzerinde denemeler yapılmış olup, maksimum biyoetanol veriminin 120°C'de 30 dk. boyunca % 0,75 NaOH (w/v) uygulandığı ön işlemden sonra en yüksek glikoz verimi 350 mg/g ve biyoetanol verimi ise 0,26 g etanol/g alg olduğu bildirilmiştir(Harun ve ark., 2010).

Campo ve ark. (2006) ise taze ve işlenmiş sebzelerden elde edilen atıkların hammadde kaynağı olarak kullanılabilmesi için sülfürik asiti katalizör olarak kullanarak seyreltilmiş asit hidroliz ön işlemi uygulamışlardır. Deneyler sonucunda tekli şeker geri kazanımının domates ve kırmızıbiber için azami oranları sırasıyla % 40.29 ve 50.20 olduğunu bildirmişlerdir. Nişastalı yiyeceklerde (baklagiller, mercimek ve nohut gibi baklagiller gibi) ise yüksek şeker geri kazanımını en üst düzeye çıkarmak için daha yoğun ön işlem gerekli olduğuna ulaşmışlardır. Sonuç olarak, taze ve işlenmiş sebze atıklarının biyoetanol üretimi için potansiyel hammaddeler olarak düşünülebileceğine ulaşmışlardır.

2.2.Kullanılan Mikroorganizmaya Bağlı Yapılan Çalışmalar

Rani ve ark. (2010) patates yumrularından (*Solanum tuberosum*) 70 ° C'de ısıtılıp kurutulduktan sonra elde edilen unundan etanol üretimi çalışmıştır. Patates ununun homojen bulamacı,(katı sıvı oranı 1: 4) a-amilaz (2.05 DUN U / g nişasta) ile 80 ° C'de 30 dakika süreyle sıvılaştırılmasından sonra 2 saat boyunca 60 ° C'de glukoamilaz (20.5 GA U / g nişasta) ile sakrifiye edilmiş ve hidrolizat içinde % 15.2 toplam indirgeyici şeker ölçülmüştür. Hidrolizatın *Saccharomyces cerevisiae* HAU-1 ile 30 ° C'de 48 saat süreyle fermantasyonu, 56.8 g/L etanol üretimi ile sonuçlanmıştır.

Lee ve ark. (2011) *Undaria pinnatifida*, *Chlorella vulgaris* ve *Chlamydomonas reinhardtii* türlerindeki deniz alglerinden biyoetanol üretimi için çeşitli E. Coli şuşları kullanmışlardır. Ön işlem olarak seyreltik asit hidrolizi ya da enzimatik hidroliz kullanmışlardır. Etanolik E. Coli W3110 şuşları E. coli SJL25, E. coli SJL2526, E. coli SJL27 ve E. coli SJL2627 kullanmışlardır. Maksimum biyoetanol verimi *C. Vulgaris*'in sakkarifikasyonundan sonra E. coli SJL2526 ile gerçekleşen fermantasyon süreci sonunda 0.4 g etanol / g biyokütle verimi elde ettiler.

He ve ark. (2009) *Paenibacillus sp.* ve farklı *Zymomonas mobilis* şuşları ile tatlı patatesten elde edilen ham nişasta ile biyoetanol üretimi çalışmışlardır. Ham nişasta *Paenibacillus sp.* ile *Zymomonas mobilis*'in direk kullanabileceği glikoza dönüştürülmüştür. Çalışmalarında *Z. Mobilis* ATCC 29191 ve *Paenibacillus sp.* 9' u içeren küçük hacimli kültürlerde en yüksek etanol konsantrasyonunu (6.89 g / l) vermiş olup, büyük ölçekli fermantasyonda ise son etanol konsantrasyonu 6.60 g / L elde edilmiştir. Bu değer 120 saatlik bir fermantasyon süresinden sonra 50.0 g / L nişastadan etanolün teorik veriminin% 23.24'üne tekabül etmektedir.

Yanase ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada selülozdan etanol üreticisi olan, yüksek büyüme ve fermantasyona sahip bir termotolerant maya olan *Kluyveromyces marxianus* kullanmışlardır. Tür, hücre yüzeyinde *Trichoderma reesei* endoglukanase ve *Aspergillus aculeatus* β-glukozidaz gösterecek şekilde genetik olarak tasarlanmış

ve selülozik β -glukan ile doğrudan 12 saat içerisinde 48 ° C'de 10 g / L'lik bir etanole dönüştürmüştür. Etanol verimi (tüketilen β glukan gramı başına üretilen etanol gramı) 0,47 g/g olup bununda teorik verimin% 92.2'sine tekabül ettiğini bildirmişlerdir.

2.3.Kullanılan Prosese Bağlı Yapılan Çalışmalar

Ho ve ark. (2013) yaptığı çalışmada karbonhidrat bakımından zengin bir mikroalg olan *Chlorella vulgaris* FSP-E'nin çeşitli hidroliz stratejileri ve fermantasyon işlemleri yoluyla biyoetanol üretimi araştırılmıştır. *C. vulgaris* FSP-E biyokütlesinin (kuru ağırlık başına % 51 karbonhidrat içeren) enzimatik hidrolizi, % 90.4 glikoz verimi sağlamıştır. Enzimatik mikroalg hidrolizatını SHF ve SSF uygulamaları sırasıyla% 79.9 ve% 92.3 teorik verimle etanole dönüştürdü. % 1 sülfürik asitli su ile seyreltilmiş asidik hidrolizde ise *C. vulgaris* FSP-E biyokütlesinin sakrifiye edilmesi verimli oldu ve başlangıçta 50 g/L konsantrasyonunda mikroalgal karbonhidratlardan yaklaşık % 93.6 glikoz verimi elde edildi. SHF işlemi sonunda ise 11.7 g/L konsantrasyonunda (% 87.6 teorik verim) etanol üretmiştir.

Tan ve ark. (2014) deniz yosunu atıklarından SHF ve SSF prosesleri kullanılarak etanol üretimi amaçlandı. SHF işlemi için, üç işlem değişkeni, substrat konsantrasyonu, pH ve sıcaklık değiştirilerek enzimatik hidroliz gerçekleştirildi. En yüksek glikoz verimi (% 99.8); pH 4.8'de, 50 ° C'lik bir sıcaklıkta ve % 2 (w/v) elde edildi. Daha sonra fermantasyon işlemi ile SHF'de % 55.9'luk bir biyoetanol verimi elde edildi. Buna karşılık SSF'de ise % 90.9 biyoetanol verimi elde edildi. Bu sonuçlar doğrultusunda deniz yosunu katı atıklarından biyoetanol üretiminde SSF'sinin SHF'ye göre bir takım avantajlara (maliyet ve enerji tasarrufu sağlayan basit bir tek aşamalı prosedür) sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Khuong ve ark. (2014) konsolide biyoişlem (CBP) prosesi kullanılarak selüloz fermente eden mantar *Phlebia* sp. ile şeker kamışı atıklarının alkali ön muamele ile

optimizasyonunu incelenmişlerdir. Mantar 120 saat boyunca hızla selüloz ve ksilanaz üretmiştir. Bu mantar NaOH ile ön işleme tabi tutulmuş 20 g/ L şeker kamışı atığıyla fermante edildiğinde 4,5 g/L etanol ürettiğini bildirmişlerdir(% 65.7 verim).

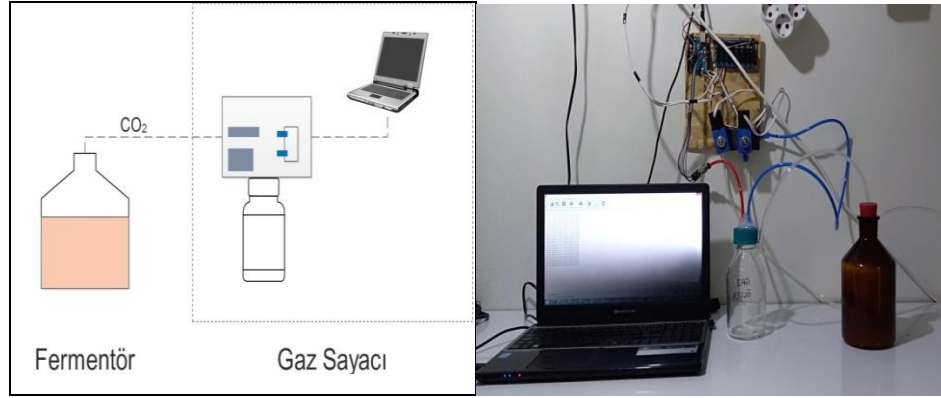
3.MATERYAL ve YÖNTEM**3.1. Materyal**

Tez çalışması kapsamında üç farklı grupta kesikli reaktörler kurulmuştur. Bunlar;

- 1- Hidroliz testleri için kurulan 1 litrelik reaktörler
- 2- Halojen etkisinin belirlenebilmesi için kurulan çoklu reaktör sistemi ve
- 3- 400 L'lik pilot ölçekli biyoetanol üretim düzeneği olup takip eden bölümlerde her bir reaktör grubu açıklanacaktır.

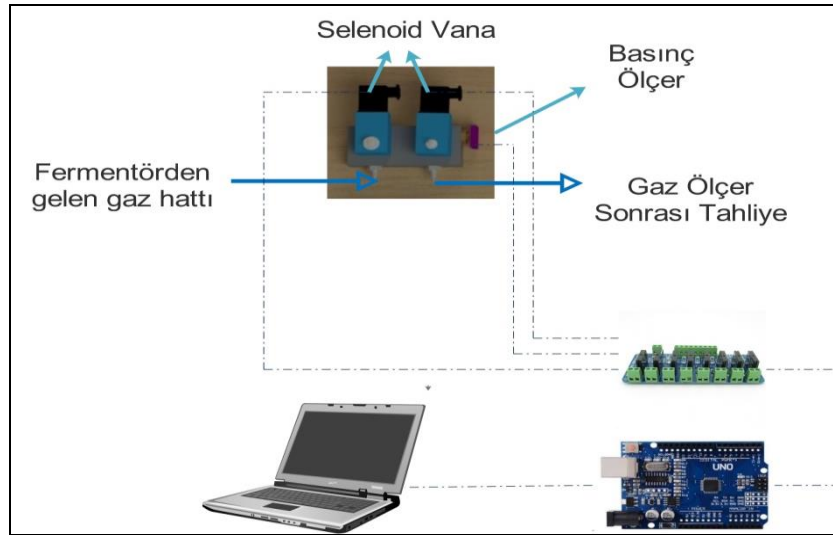
3.1.1.Hidroliz testleri için kurulan 1 litrelik reaktörler

Bu aşamada 1 Litrelik amber şişesi fermentör olarak kullanılmıştır. Reaktörde üretilen gazın ölçümü için de tez danışmanının ve Arş. Gör. Ozan BEKMEZCİ'nin proje çalışanları olduğu 16121 nolu “Süt endüstrisi atıksuyundan biyogaz üretiminde iz element ihtiyacının belirlenmesi” isimli projede üretilen bir gazölçer kullanılmıştır. Sisteme ait şematik ve fotoğrafik gösterim Şekil 3.1’de sunulmuştur.



Şekil 3.1. 1 litrelik kesikli fermentör ve gaz ölçere ait şematik ve fotoğraflık görüntü

Kurulan bu reaktörde 1 litrelik amber şişesi kauçuk bir tıpa ile kapatılmıştır. Tıpanın ortası delinmiş ve buradan 8 mm'lik pnömatik hortum ile fermentörde oluşan gazın gazölçere geçişi sağlanmıştır. Gazölçer bir adet gaz toplama odacığı, arduino uno, selenoid vanalar, basınç ölçer, sıcaklık ölçer, SCADA (supervisory control ve data acquisition) sisteminden oluşmaktadır. Gazölçere ait şematik gösterim aşağıda Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.2. Gaz ölçere ait şematik gösterim

Şematik gösterimi verilen gaz sayacının çalışma prensibi şu şekildedir:

Fermentörden gelen gaz, normalde açık (NA) vana tarafından sayaca girer ancak normalde kapalı (NK) vana tarafından çıkamaz. Dolayısıyla, gaz üretilmeye

devam ettikçe, fermentörden gelen boru hattında ve gaz toplama odacığında basınç artışı olur. Odacıktaki basınç önceden belirlenen bir seviyeye ulaştığında, örneğin dış ortam basının 50 mbar fazlasına, gaz boşaltma sekansı başlar:

- 1) NA vana kapanır ve 0,5 saniye beklenir.
- 2) NK vana açılır.
- 3) 5 saniye beklenir: Bu sırada gaz toplama odacığındaki basınç ile ortam basıncı dengeleninceye kadar odacıktaki gaz NK vanadan dışarı çıkar.
- 4) NK vana kapatılır ve 0,5 saniye beklenir.
- 5) NA vana açılır.
- 6) Sıcaklık ile sekans başındaki ve denge oluştuğundaki basınç bilgileri bilgisayara gönderilir.

Bu işlem sırasında tahliye edilen gazın miktarı;

- 1) Gaz toplama odacığının hacmi,
 - 2) Sıcaklık ve
 - 3) Tahliye sonrası denge basıncı (ortam basıncı) ile tahliye öncesi basınç arasındaki farka
- bağlı olarak ideal gaz kanununa göre hesaplanır.

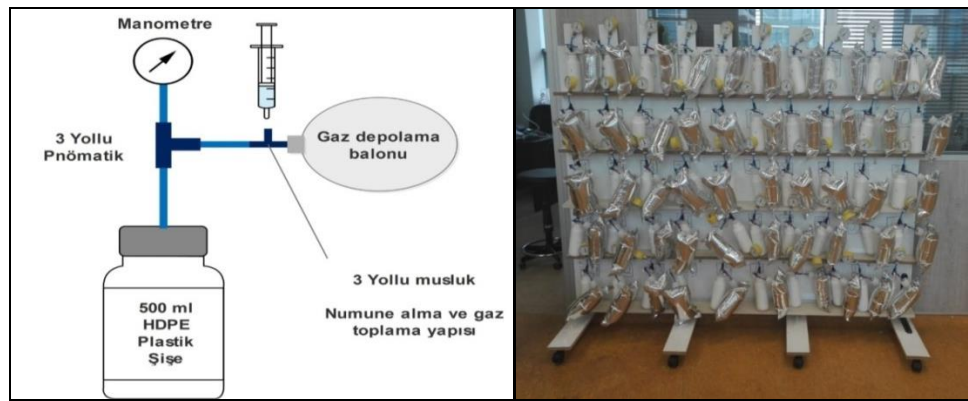
Çalışmada kullanılmış olan BMP183 basınç sensörü, mutlak basınç ve sıcaklık ölçümünü aynı anda yapabilmektedir. Gaz toplama odacığının hacmi de önceden bilindiğin için ideal gaz yasasına göre ($P \cdot V = n \cdot R \cdot T$), tahliye edilen gazın miktarını belirlemek mümkün olacaktır.

Gaz sayacının bilgisayardaki programı, her bir tahliye için gelen veriyi, bir Excel tablosunda, ilgili sayaç için ayrılmış kolonlara tarih ve saat bilgisi ile sıcaklık, başlangıç basıncı, tahliye basıncı (ortam basıncı) ve bunlara göre hesapladığı tahliye edilen normal hacmi kaydeder.

Vanaları açıp kapatma, basınç sensöründen veri alma ve bilgisayara veri gönderme gibi işlemleri yapacak SCADA (supervisory control ve data acquisition) sistemi, Arduino Uno platformu ile yapılmıştır.

3.1.2.Halojen etkisinin belirlenebilmesi için kurulan çoklu reaktör sistemi

Eş zamanlı olarak aynı koşullarda halojen etkisi ile hidroliz olmuş ekmek atıklarından fermentasyon süreci için Harran Üniversitesi GAP Yenilenebilir Enerji ve Enerji Verimliliği Merkezinde bulunan 50 reaktörlük sistem kullanılmıştır. Bu sistemdeki her bir reaktör reaksiyonun gerçekleştiği gövde kısmı, reaktörde oluşan gazın biriktiği balon kısmı ve 50 mBar'lık manometreninde bulunduğu bağlantı ve numune alma yapılarından oluşmaktadır. Fermentörlerin kurulumu sırasında; konik silikon kauçuk tıpa (36-44 mm), 6 mm pnömatik hortum, 6 mm fittings, 3 yollu pnömatik vana, 3 yollu musluk, 50 mBar manometre, 500 mL HDPE plastik şişe ve $1860 \pm 20,5$ mL hacminde alüminyum balon (24°C sıcaklıkta, 50 mBar basınç altında) kullanılmıştır. Reaktörün ağzını kapatmak için kullanılan silikon tıplar 6 mm'lik hortumun sızdırmaz bir şekilde geçeceği şekilde delinmiştir. Hortum bu noktadan geçirilerek 3 yollu pnömatik vana ile bağlantısı sağlanmıştır. Bu vanalardan biri reaktör kısmına bağlı biri reaktörde biriken biyogazın tahliye edilip biriktirildiği balona ve sonuncusu ise basınç ölçere bağlıdır. Pnömatik vananın bir ucuna bağlanan hortumun ucundaki üç yollu vana gazın birikeceği balona bağlıdır. Deney sonrasında oluşan gaz burada birikir ve gerekmesi durumunda gaz kromatografisinde okuma yapmak için numuneler bu noktadan alınır. Kullanılan bir reaktöre ait şematik gösterim ve çoklu reaktör sistemine ait fotoğraf Şekil 3.3'de sunulmuştur.

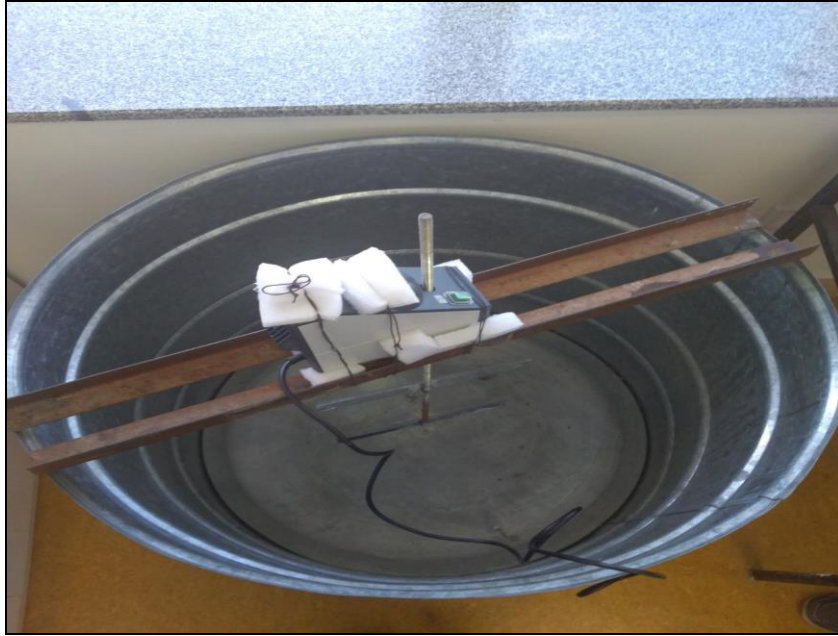


Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan 50 reaktörden oluşan düzeneğe ait fotoğrafik gösterim.

3.1.3.Pilot ölçekli biyoetanol üretim düzeneği

Biyoetanol üretim düzeneği bir adet 400 litrelik hidroliz ünitesi, 1 adet 400 litrelik fermentör, bir adet 400 litrelik damıtma sistemi ve 1.5 metre uzunluğunda damıtma kulesinden oluşmaktadır.

400 Litrelik Hidroliz Ünitesi; Hidroliz ünitesi çapı 80 cm ve yüksekliği 80 cm olan silindirik bir hazne olup merkez noktasında bir karıştırıcı bulunmaktadır(Heidolph RZR 2051). Ünite paslanmaz kromdan üretilmiş olup fotoğraflık gösterimi aşağıda sunulmuştur.

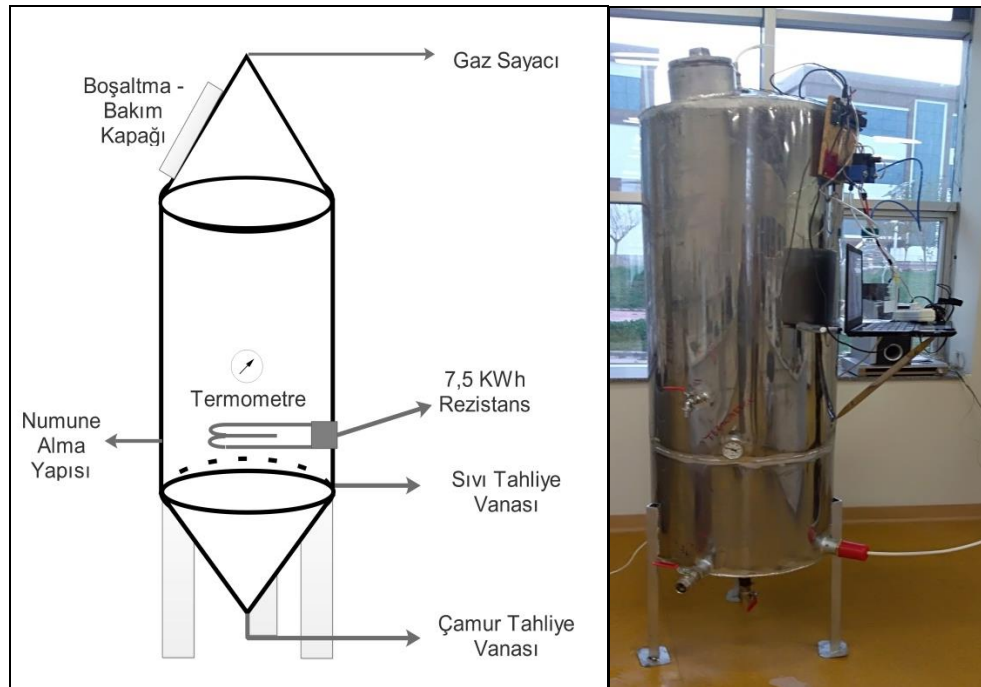


Şekil 3.4. 400 Litrelik hidroliz ünitesi

400 L'lik Fermentör: Fermentör silindirik şekle sahip olup çapı 60 cm ve yüksekliği 140 cm'dir. Fermentörde alt taban ve üst tavan dışı doğru konik şekilde tasarlanmış olup konik kısmın yüksekliği 10 cm'dir. Alt konik tabanın merkezinde ve reaktörün alt konik yapısının hemen üzerinde fermentörün tahliyesi için sırasıyla 1 ve yarım inç kalınlıkta paslanmaz küresel tahliye vanası bulunmaktadır. Fermentörden numune alınabilmesi için de tabanından 60 cm yükseklikte numune alma yapısı bulunmaktadır. Numune alma yapısının 20 cm altında ise termometre

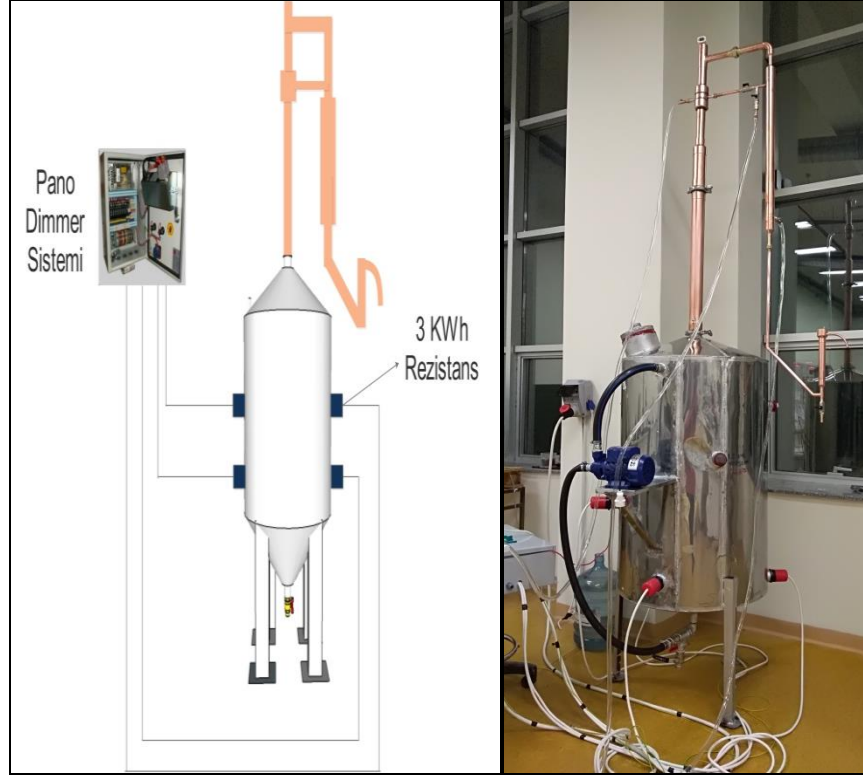
bulunmaktadır. Gerektiğinde reaktörün ısıtılabilmesi için reaktörde 7500 Watt gücünde rezistans bulunmaktadır.

Fermentörün üst koni yamacında ise gerektiğinde içine müdahale edilebilmesi için bir kapak ve tepe noktasında oluşan gazın toplanıp ölçülebilmesi için bir gaz tahliye borusu bulunmaktadır. Fermentöre ait şematik ve fotoğraflık gösterim Şekil 3.5’de sunulmuştur.



Şekil 3.5. Fermentöre ait şematik ve fotoğraflık gösterim

Damıtma Tankı; Fermentörde oluşan etanolün saflaştırılabilmesi için 70 cm çapında ve 110 cm yüksekliğinde silindirik ve paslanmaz kromdan yapılmış damıtma tankı yapılmıştır. Fermentördekine benzer şekilde üst ve alt kısmı dışı doğru 10 cm yüksekliğinde konik yapıdadır. Damıtma tankı tabanında fermentörde olduğu gibi bir tahliye vanası mevcuttur. Reaktörde ısıtmanın yapılabilmesi için dört adet 3000 Watt gücünde rezistans (toplam 12 kwh) bulunmaktadır. Reaktörün tepe noktasında ise fermentördekine benzer şekilde bir kapak bulunmaktadır.



Şekil 3.6.Damıtma tankına ait şematik ve fotoğrafik gösterim.

Reaktörde homojen ısınmayı sağlayabilmek için reaktör tabanından çekilen sıvı pompa yardımı ile (pompa marka ve özellikleri) reaktör üstünden sisteme geri verilmektedir. Ayrıca reaktörde ısı dağılımının daha dengeli olabilmesi için rezistanslar DIMMER sistemine bağlanmıştır. Dimmer devresi, alternatif akım ile çalışan bir güç kontrol devresidir. Damıtma tankına verilen toplam ısıtma gücünün hedeflenen sıcaklığa ulaştıktan sonra sabit tutulması için kullanılır.

Damıtma Kulesi; Fermentör sonrasında oluşan fermantasyon çözeltisinde bulunan etanolün saflaştırılabilmesi için bir damıtma kulesi kullanılmıştır. Bu kule yaklaşık 150 cm yükseklikte olup etanol ve suyun farklı sıcaklıklarda kaynaması ve yoğunlaşması prensibine dayanmaktadır. Sistem şu şekilde çalışır. Damıtma tankının yaklaşık 95 °C'ye kadar ısıtılması sonucu fermentör sıvısındaki su ve etanol buharlaşarak damıtma kulesinde yukarı doğru ilerler. Bu sayede damıtma kulesi ısınır. Su ve etanol buharı ilk olarak kule içindeki bakır filtrelerden geçer. Burada buhar ile birlikte taşınan partikül maddeler filtre olur. Bakır filtrelerden sonra alkol ve su buharı seramik halkaların bulunduğu bir katmana gelir. Seramik halkalar

sıcaklığı tutarak kolondaki sıcaklığın tutulmasına yardımcı olur. Kolon bu kısımda yaklaşık 82 – 85 °C sıcaklığa ulaşır. Su ve etanol buharı sonrasında reflux ünitesine geçer. Bu kısımdaki buhar tekrar 78 °C'ye kadar düşürülür. Bu sayede su buharının büyük kısmı yoğunlaşıp damıtma tankına doğru geri dönerken etanol buharlaşmaya devam eder. Bu ünitiden sonra etanol buharı yoğunlaştırma bölmesine geçer ve burada hızla sıcaklık 20 °C'ye düşürülür ve etanol yoğunlaşıp sıvı hale geçer.



Şekil 3.7. Bakır damıtma kulesinin iç ve dış yapısı görünümü

Soğutma için kullanılan su ilk olarak etanolün 78 °C'den hızla 20 °C'ye düşürülmesi için etanol yoğunlaştırma bölgesine girer. Burada etanol hızla soğurken, suyun sıcaklığı artar. Isınmış su etanol yoğunlaştırma bölgesinden çıktıktan sonra reflux bölgesine girer. Isınmış olarak bu bölmeye giren su gelen buharda kısmi bir sıcaklık düşüşüne sebep olur ve bu sayede etanolün reflux bölmesinde yoğunlaşması engellenir. Damıtma kulesine ait teknik özellikler aşağıda Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. 66 mm damıtma kolon sisteminin ebatları

Kazan Kapasitesi:	500 Litre,
Toplam Kolon yüksekliği	150 cm(100 cm Ana Kolon ve 50 cm Reflux Kolonu)
Kolon Malzemesi	Bakır
Kolon Çapı	66 mm
Kolon Et Kalınlığı	2 mm
Reflux Kolon-Soğutucu(Cooler) bağlantı ara Parçası Uzunluğu	40 cm
Reflux Kolon-Soğutucu(Cooler) bağlantı ara Parçası Çapı	28 mm
Soğutucu-Parrot Bağlantısı	15 mm konik düz Rakor
Soğutucu Malzemesi	Bakır
Soğutucu Yüksekliği	80 cm
Soğutucu Çapı	42 mm
Soğutucu su Giriş ve Çıkış Elemanları	Pirinç
Parrot Malzemesi	Bakır
Ana Kolon-Kazan Bağlantısı	66 mm 304 Paslanmaz Flansh Yakalı contalı ve Paslanmaz Klamp vasıtasıyla
Ana Kolon-Reflux Kolonu Bağlantısı	Bakır Flansh yakalı, contalı ve 304 paslanmaz Klamp vasıtasıyla
Parrot Yüksekliği	40 cm
Parrot Ölçüm Hazne Çapı	28 mm
Parrot Ölçüm Hazne Derinliği	25 cm

3.2.Yöntem

3.2.1.Hidroliz testleri için kurulan 1 litrelik reaktörler

Bu test maya uyandırma malt ile hidroliz işleminin değerlendirilebilmesi için yapılmıştır. Bu amaçla ilk olarak birinci reaktöre 20 gram ekmek ve 4000 mg UAKM/L eşdeğerinde maya 1 litrelik fermentöre alınmıştır. İkinci reaktörde ise 20 gram ekmek, 20 gram malt özütü ile karıştırıldı ve kademeli hidroliz (72 °C’de 1 saat sıvılaştırma ve 68 °C’de 2 saat sakkarifikasyon) uygulandı. Reaktörde mayaların gelişiminin sorunsuz olması için yardımcı maddeler 3 g KH_2PO_4 , 3 g K_2HPO_5 , 0.25 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve 0.08 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ eklendi. 3 gün süre ile fermantasyona tabi tutulmuş ve bu süreçte başlangıç ve bitiş pH, karbonhidrat, AKM ve gaz ölçümleri yapılmıştır. Üretilen etanol miktarı bu kısım için teorik olarak hesaplanmıştır.

3.2.2.Halojen etkisinin belirlenebilmesi için kurulan çoklu reaktör sistemi

Bazı halojenlerin hidroliz ve fermantasyon verimine etkisinin değerlendirilebilmesi için farklı konsantrasyonlarda NaF, NaCl, KI ve Br hidroliz ortamına eklenmiş ve hidroliz performansına etkisi araştırılmıştır. Ayrıca bu hidrolizatın fermantasyon süreci de takip edilmiş ve gerek hidroliz aşamasına gerekse fermantasyon aşamasına etkileri ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda hidroliz ortamına eklenen halojen konsantrasyonları aşağıdaki Çizelge 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Halojen etkisi testi için reaktörlere ait işletim koşulları

Reaktör No	Halojen Kons.	Ekmek kons.	Malt kons.
1	100 mg NaF/L	20 g/L	20g/L
2	1000 mg NaF/L		
3	2000 mg NaF/L		
4	580 mg NaCl/L		
5	5800 mg NaCl/L		
6	11600 mg NaCl/L		
7	5 g KI/L		
8	10 g KI/L		
9	50 g KI/L		
10	0,75 g KBr/L		
11	7,53 g KBr/L		
12	15,06 g KBr/L		
13	-		
14	-		-

Hidroliz aşaması 1 litrelik ana reaktörlerden oluşmakta olup fermantasyon aşamasında ise bu 1 litrelik reaktörlerden sıvı hacmi 250 ml olan 3 adet kesikli reaktör kurulmuştur. Hidroliz aşamasında her bir 1 litrelik reaktöre 20 gram ekmek atığı, 20 gram malt ve farklı konsantrasyonlarda halojen eklenmiştir. İki grup (13 ve 14 nolu reaktörler) kontrol olarak çalıştırılmıştır. Bunlardan 13 nolu gruba halojen eklenmemiş ve 14 nolu gruba ise malt eklenmemiştir. Bu sayede malt içeriğindeki enzimlerin çalışma süreçlerine halojenin etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

Reaktörlerde malt eklemesi ile birlikte pH 6.36 ± 0.15 olarak ölçülmüş ve enzimatik süreç için ilave bir pH ayarlaması yapılmamıştır. Hidroliz aşamasında

reaktörler 1.5 saat boyunca 72 °C’de sıcak su banyosunda 100 RPM’de karıştırılmıştır. 1.5 saat sonunda sıcaklık 68 °C’ye düşürülerek sakkarifikasyon süreci başlatılmıştır. Bu aşamada pH kontrol edilmiş ve 5.83±0.14 olarak ölçülmüştür. Hidroliz ve sakkarifikasyon süreleri malt içerisindeki enzimlerin U değerleri baz alınarak hesaplanmıştır(Trait Descriptions, 2016).

Hidroliz süreci sonunda reaktördeki sıvı homojen olarak 3 farklı 500 ml’lik kesikli fermentöre alınmıştır (çoklu reaktör sistemi). Fermentörlerde 4000 mg UAKM/L eşdeğerinde maya eklenerek fermantasyon süreci 30 °C’de sıcaklık kontrollü odada başlatılmıştır. Fermantasyon süreci gaz çıkışı ile takip edilmiş olup 3. gün sonunda sonlandırılmıştır.

3.2.3.400 L’lik pilot ölçekli biyoetanol üretim düzeneği

Sistemin etanol üretimi yapabilirliğinin ve saflaştırması veriminin test edilebilmesi için fermentör ve damıtma sistemi ayrı ayrı test edilmiştir.

Fermentörün test edilmesi için ilk aşamada sızdırmazlık testleri yapılmıştır. Bu amaçla reaktör su ile doldurulmuş ve olası kaçalar tespit edilerek önlemler alınmıştır. İkinci aşamada ise reaktöre hidroliz ünitesinde hazırlanmış 400 litrelik ve içinde 50 kg şeker bulunduran çözelti (125 gram Şeker /L) fermentöre verilmiştir. Reaktörde mayaların azot, fosfor gibi besin ihtiyaçlarının karşılanabilmesi için 1 kg karbon içermeyen DAP 18-46-0 gübresi eklenmiştir. Bu gübrenin 100 kg’ında 18 kg azot, 56 kg fosfor penta oksit bulunmaktadır. İçerdiği fosforun da %90’ından fazlası su içinde eriyebilir özelliktedir. Maya 4000 mg/L UAKM olacak şekilde reaktöre eklenmiştir (12 paket 500 mg’lık fırıncı mayası). Çalışma boyunca fermentörden düzenli olarak pH, karbonhidrat ve gaz debisi izlenmiştir.

Damıtma düzeneğinin test edilebilmesi için ise fermentör ünitesine benzer şekilde sızdırmazlık testinden sonra 400 litre % 7.5’lik etanol çözeltisi damıtma tankına eklenmiş ve damıtma süreci denenmiştir. Bu süreçte soğutma suyu debisi, sıcaklığı, kolon ve damıtma tankı sıcaklığı, verilen enerji miktarı ve üretilen

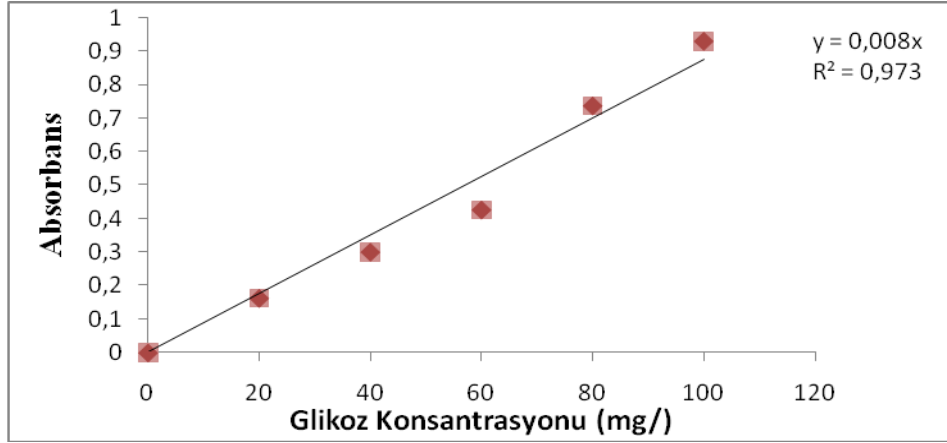
etanolün saflığı düzenli izlenmiştir. Buna göre en yüksek saflıktaki etanolün elde edilebilmesi için optimizasyon çalışması yapılmıştır.

3.4.Analitık Yöntemler

Ön işlemler sırasında enzim aktivitesi şeker seviyeleri ve pH düzenli izlendi. Etanol, glikoz ve sakkaroz konsantrasyonları SHIMADZU DGU 20ASR marka HPLC’de CarboSep CHO 87P kolonu ile ölçüldü. Damıtma kolonundan distile edilen etanolün saflığının belirlenmesinde hidrometre ve kullanılmıştır. pH, WTW marka multimetre ile belirlenmiştir. Toplam karbonhidrat tayininde Dubois ve arkadaşlarının tarif ettiği metot kullanılmıştır(Dubois ve ark., 1956). AKM ve UAKM standart metotlarda tarif edildiği şekilde yapıldı(APHA, 2005).

3.4.1.Toplam karbonhidrat tayini

Bu analiz Dubois ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde yapılmıştır. Numunler analiz öncesi 0.45 µl filtreden geçirilmiştir. Cam tüplere alınan 200 ml numune 1 ml H₂SO₄ eklenerek karıştırılmıştır ve numunede bulunan organik maddelerin parçalanması sağlanmıştır. Daha sonra cam tüpe 10 µl % 82’lik fenol çözeltisi eklenmiş ve 20 dakika bekletilerek renk dönüşümü gözlenmiştir. Renk dönüşümü sonrasında numuneler 495 nm’de spektrofotometrede (Merck Spectroquant Pharo 100) okunmuştur. Kullanılan metoda ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.8’de sunulmuştur.



Şekil 3.8. Toplam karbonhidrat tayini için kalibrasyon eğrisi

3.4.2.Etanol, glikoz ve sakkaroz tayinleri

Çalışma boyunca etanol, glikoz ve sakkaroz konsantrasyonları konsantrasyonları SHIMADZU DGU 20ASR marka HPLC’de CarboSep CHO 87P kolonu ile ölçüldü. Çalışma sırasında alınan numuneler bozulma ve kontaminasyon riskini azaltmak için filtreden geçirilerek buzdolabında saklanmıştır.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Materyal ve yöntemde belirtilen tüm çalışmaların sonuçları bu kısımda ayrı başlıklar altında belirtilmiştir.

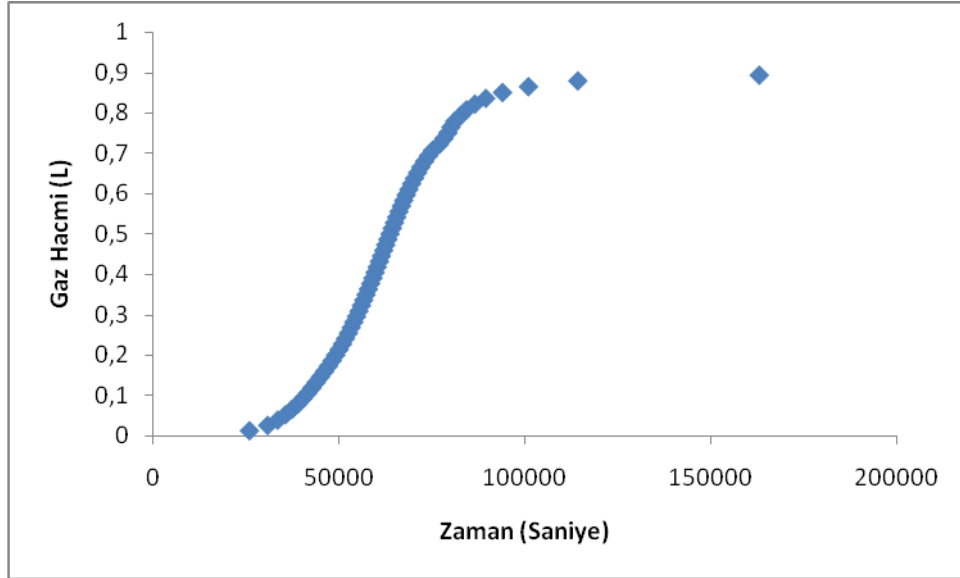
4.1.Hidroliz Testleri

Bu aşamada mevcut düzeneğin çalışabilirliğinin kontrolü için 1 litrelik fermentörlerde hidrolizli fermantasyon çalışması yapılmıştır. Bu amaçla 1 litrelik su içerisine 20 gram ekmek atığı ve 20 gram malt eklenmiştir. 3 saatlik hidroliz testi sonucunda hidroliz verimi ölçülmüştür. Bu amaçla test öncesinde ve sonrasında AKM, karbonhidrat ve pH ölçülmüştür olup sonuçlar aşağıda sunulmuştur(Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Çalışmaya ait AKM, karbonhidrat ve pH değerleri

	AKM (mg/L)	Karbonhidrat (mg/L)	pH
Başlangıç	40000±1200	1658±49,74	6,36
Hidroliz Sonu / Fermantasyon Başlangıcı	7060±211,8	21234±685,89	5,83
3. Günün Sonu	6240±494,9	580±17,4	3,49

Fermantasyon sürecinde oluşan gaz hacimleri anlık olarak takip edilmiştir. 3 gün süren çalışmada 2. günden sonra gaz çıkışı gözlenmemiştir. Çıkan toplam gaz miktarı 890 mL olup teorik olarak 1.63 gram etanol oluşumuna işaret etmektedir.



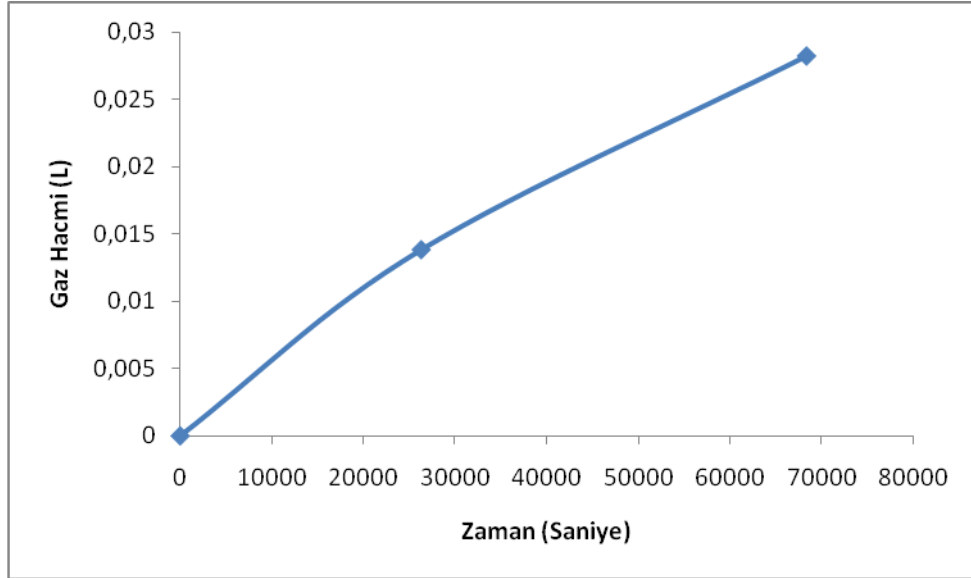
Şekil 4.1. Hidrolizli ekmek artığı fermantasyonu çalışması zamana bağlı gaz hacimleri

Hidrolizsiz ortamda ekmek ile mayanın 1 litrelik süreçteki tepkilerinin anlık gaz üretimi ile kontrol edilebilmesi için ayrıca 1 L'lik hidroliz aşaması uygulanmadan 20 g ekmek ve 4000 mg/L UAKM eş değerinde maya fermantöre eklenmiş ve test öncesinde ve sonrasında AKM, karbonhidrat pH ve anlık gaz üretimi ölçülmüştür. Sonuçlar aşağıdaki çizelge ve grafikte sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Ekmek artığından fermantasyon testine ait AKM, karbonhidrat ve pH değerleri

	AKM (mg/L)	Karbonhidrat (mg/L)	pH
Başlangıç	19400±219,20	485±14,55	6,53
3. günün Sonu	11065±671,54	341,26±10,26	3,67

. Gaz ölçümüne ait grafik ise aşağıda sunulmuştur. Hidrolizsiz ekmek fermantasyonunda ekmekte kalabilen şeker grupları fermente olduğundan gaz hacmi düşüktür. Gaz ölçer ise sadece iki ölçüm alabilmiştir. Toplam gaz hacmi ise 0,028 L'dir.



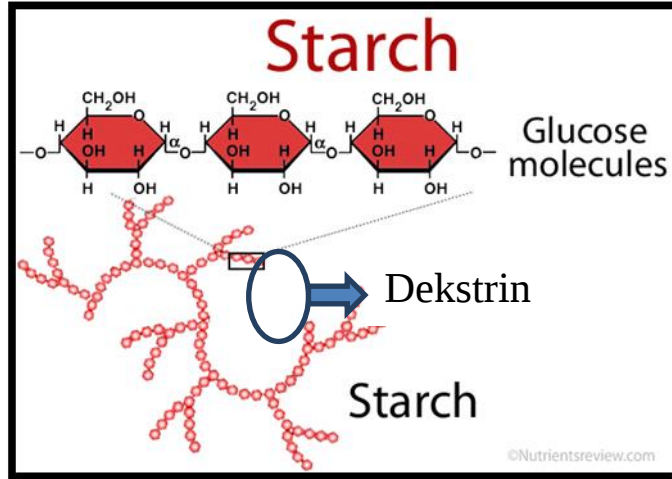
Şekil 4.2. Hidrolizsiz ekmek atığı fermantasyonunda oluşan gaz hacmi.

4.2.Halojen Testleri

Halojen testleri iki gruba ayrılmıştır. İlk grupta (kontrol grupları) hidrolizli (halojen içermeyen) ve hidrolizsiz denemelerin sonuçları verilmiştir. İkinci kısımda ise halojen testlerine ait sonuçlar kontrol grupları ile kıyaslamalı olarak sunulmuştur.

4.2.1.Kontrol grupları

Hidroliz aşaması nişastanın maya tarafından kullanılabilir boyutlara getirilmesi sürecidir. Bu süreçte alfa ve beta amilaz enzimleri görev alır. Alfa amilaz enzimleri nişasta moleküllerini 1.4 bağlarından kırarak dextrin şekerini oluşturur. Ancak dekstrin maya tarafından kullanılamaz ve fermantasyon başlamaz. Bu aşamada beta amilaz enzimleri kalan reaksiyonu (nişastadan fermente edilebilir şeker türevlerinin oluşumu) tamamlar. Bu aşamada maya şekerleri kullanarak etanol fermantasyonu yapabilir.



Şekil 4.3. Nişasta, dekstrin ve glikoz moleküllerinin yapısı

Ekmek artıklarından etanol sentezinde de yukarıda bahsedilen sebeplerden dolayı hidroliz adımı gereklidir. Literatürde bu konuda yapılan çalışmalarda öncelikle alfa amilaz enzimi ve ardından glikoamilaz enzimi kullanılmış ve fermente olabilir şeker türevleri açığa çıkarılmıştır(Ebrahimi ve ark., 2008). Ekmek türevi atıklardan etanol sentezinde dolayısı ile hidroliz adımı bir gerekliliktir.

Ancak ekmek yapısında bazı fermente olabilir şekerleri barındırır. Fırıncılıkta yaygın olarak sukroz (çay şekeri olarak da bilinir) kullanılır. Sukroz glikoz ve fruktoz şekerlerinin bağ kurmuş halidir ve tatlılığın ölçümü için bu şeker türü bir standart kabul edilir (Sukrozun tatlılık değeri 100'dür)(Bayraktar, 2001).

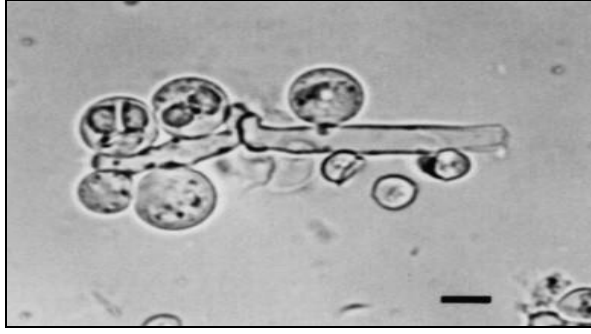
Fırıncıların yaygın olarak kullandığı şeker türü sukrozdur(glikoz+fruktoz=sukroz). Tatlılık seviyesini ölçmek için bu şeker türü diğer tüm şekerlerin değerlendirilmesinde standart kabul edildi. Sukrozun tatlılık değeri 100'dür. Bu ölçüm ayrıca yapay tatlandırıcılarda kullanıldı. Maillard reaksiyonu ile üretilen fırın ürünlerinde protein vasıtasıyla renk verebilen 2 tür şeker vardır. İndirgenen şekerler glikoz maltoz ve laktozdur ve bunlar protein varlığında fırınlanma işlemi boyunca koyulaşır ve karemalleşir. Ekmekteki protein varlığı yumurtadan undan ve ya süttten gelmektedir. Bu reaksiyon sürecinde nem olmaktadır. Şekerin fırıncılık işleminde birçok fonksiyonu vardır. En yaygın olanı ekmeğin tadı için eklenmesidir. Nemi tutar, tazeliğine katkı sağlar, çiğnenebilirlik, esneklik ya da

sertliğine katkı sağlar, Aynı zamanda ekmek hamurunun viskozitesine katkı sağlayarak ürünün uzama ya da parçalanma özelliklerine etki eder. Fermente olabilir şekerin fırıncılık süreçlerindeki bu kullanımını sınırlayan tek durum hamurdaki mayanın şekeri tüketmesidir. Bu nedenle yukarıda sayılan özellikler mayanın ihtiyacından daha fazla şeker eklenmesi durumunda geçerlidir. Çizelge 4.3’de mayalı ekmekler için şeker seviyeleri verilmiştir(Busken, 2007).

Çizelge 4.3. Mayalı ekmek’te bulunabilen şeker yüzdeleri

Ekmek Türevleri	% Şeker Miktarları
Ocak tipi ekmek	0,5 – 4
Beyaz ekmek	6 – 12
Tatlı ekmek	14 – 22

Literatürde ekmek türevli maya bazlı etanol üretiminde fermantasyon öncesinde hidroliz için enzim ilavesi gerekmektedir. Yapılan literatür çalışmasında da *Saccharomyces cerevisiae*’nın doğrudan kullanımı üzerine çalışma olmamasına rağmen bazı başka maya türevlerinin amilaz türevlerini üretebildiği belirtilmiştir. *S. fibuligera* gıda kaynaklı bir maya olup yüksek amilolitik aktiviteye sahiptir(amilaz ve türevlerini sentezleyebilme yeteneği). Yapılan çalışmalar *S. Fibuligera* hücrelerinin iki çeşit amilolitik enzim ürettiğini (α -amylase ve glucoamylase)ortaya koyarken bazı araştırmacılar tek tip enzim ürettiğini savunmaktadır (Hostinová, 2002). *Saccharomycopsis fibuligera* CBS 6266 ‘ın mikroskopik gösterimi şekilde görülmektedir(Kurtzman ve Smith, 2011).



Şekil 4.4. *Saccharomycopsis fibuligera* CBS 6266

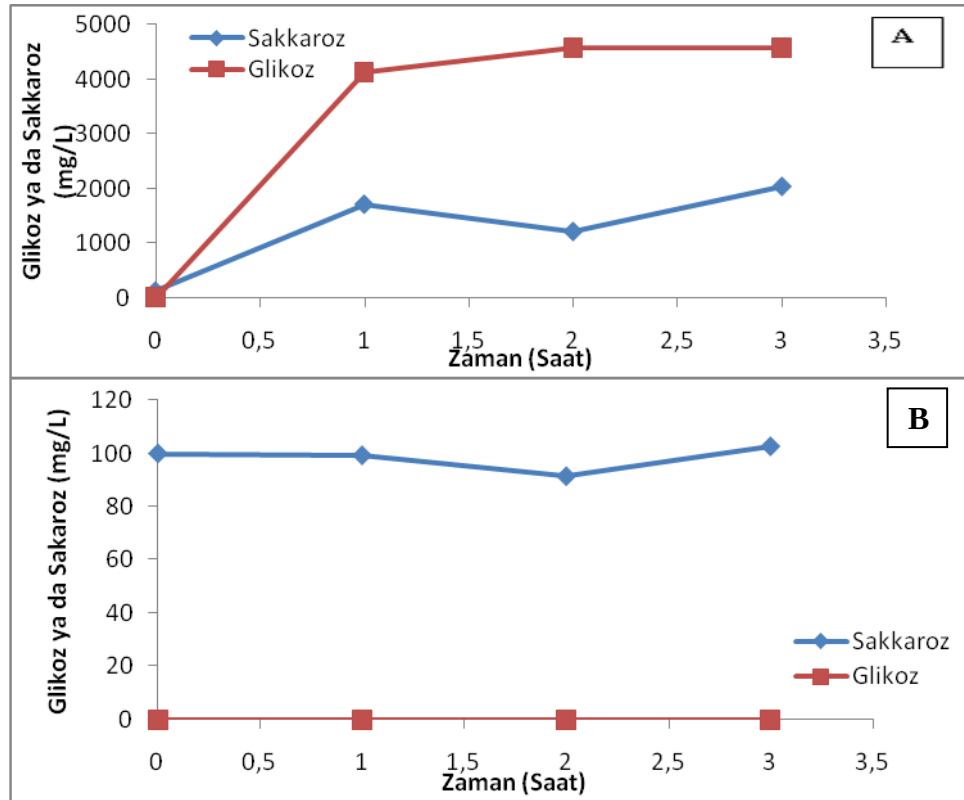
Saccharomyces cerevisiae ile patates kaynaklı nişasta türevlerinin doğrudan fermantasyon üzerine yapılan çalışmalarda ise *Aspergillus niger*, ve *A.niger*'in eş kültürleri *Saccharomyces cerevisiae* ile birlikte kullanılmıştır. Amilolitik aktivite, nişasta kullanım miktarı ve oranı, etanol verimi eş kültürlerde mono kültürlerle kıyasla sinerjik metabolik etkileşim nedeni ile birkaç kat artmıştır. Ko kültürdeki *Saccharomyces cerevisiae* miktarının % 4'ten 12'ye artırılması etanol üretiminde dramatik bir artışa ve teorik maksimum etanolün 2 gün içinde üretilebilmesine imkan tanımıştır.

Ancak literatürde *Saccharomyces cerevisiae* ile doğrudan fermantasyon üzerine çalışmalar farklı bakteriler ile karışık kültür olarak tanımlanmış olup *Saccharomyces cerevisiae*'nin monokültürlerinin kullanımı üzerine çalışmalar bulunmamaktadır. Özellikle ekmek türevi nişastalı atıklar için fermantasyon öncesinde çeşitli hidroliz adımları izlenmiş olup *Saccharomyces cerevisiae*'nin hidroliz olmaksızın ekmek türevleri ile ilişkisi üzerine çalışma yoktur.

Tez çalışmasının bu kısmında bu nedenle ekmek türevi nişastalı atıkların doğrudan fermantasyonu hidroliz adımı takip edilmiş fermantasyon süreci ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Bu amaçla kurulan iki set fermentör kurulmuştur. Bu fermentörlerden ilk sette hidroliz adımı uygulanmış (alfa ve beta amilaz enzimleri ile) ekmek hidrolizatı; ikinci sette ise doğrudan ekmek eklenmiş olup *Saccharomyces cerevisiae* ile fermantasyona bırakılmıştır.

Hidroliz aşamasında, iki setten birinde alfa ve beta amilaz enzimleri (malt formunda) kullanılmış olup alfa amilaz için 70 °C’de 1.5 saat ve beta amilaz enziminin çalışabilmesi için de 62 °C’de 1.5 saat bekletilmiştir.

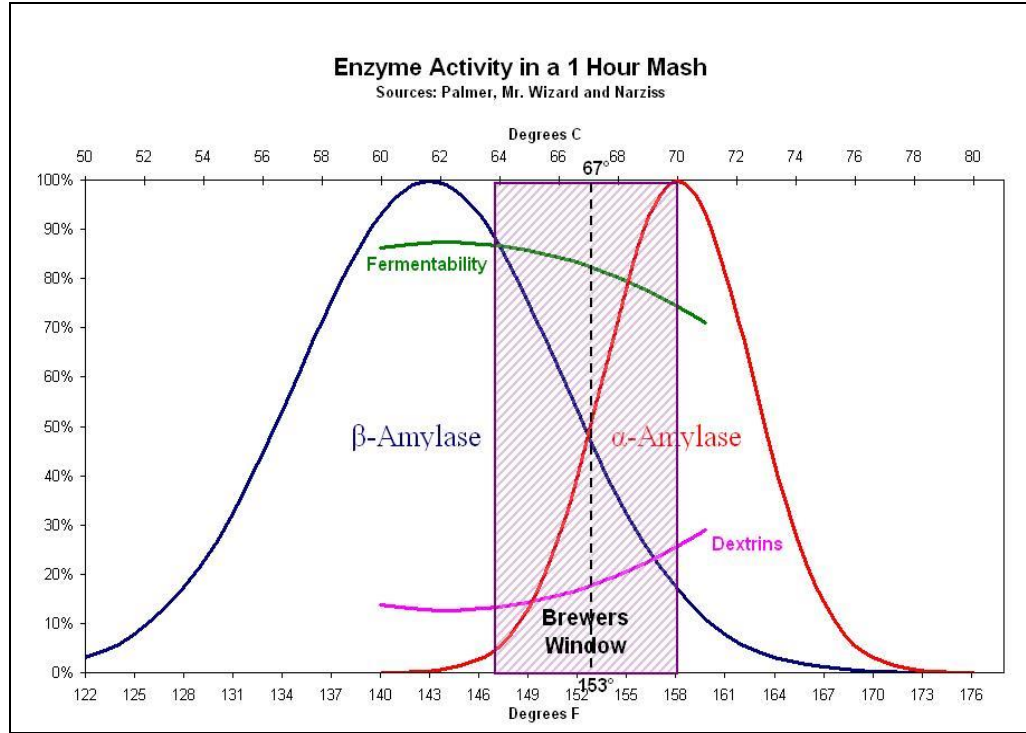
Hidrolizsiz set için ise aynı işlemler alfa ve beta amilaz enzimleri eklenmeden uygulanmıştır. Çalışmada her saat başı numune alınmış olup glikoz ve sakkaroz değerleri izlenmiştir. Değerler Şekil 4.5’de sunulmuştur.



Şekil 4.5. 3 saatlik hidroliz sürecinde glikoz ve sakkaroz şekerlerinin zamana bağlı değişimi

Hidrolizli süreçte sakkaroz değerleri ilk 1. saat sonunda 100 mg/L seviyesinden 1720 mg/L seviyesine çıkarken 3. saatin sonunda daha da yükselerek 2050 seviyelerine ulaşmıştır. Glikoz ise aynı süreçte 1. saatin sonunda 4120 mg/L seviyesine ve 3. saatin sonunda ise 4520 mg/L seviyesine ulaşmıştır. Yapılan 3 saatlik çalışmanın ilk 1.5 saati alfa amilaz sıcaklık koşulları ve sonraki 1.5 saati beta amilaz enzimi sıcaklık koşullarına göre yapılmış olmasına rağmen ilk saatlerde hızlı bir sakkaroz yükselişi gözlenmiştir. Bu durum eş zamanlı sıvılaştırma ve sakkarifikasyon olduğuna işaret etmektedir. Bu durum aşağıdaki şekil ile

açıklanmaktadır(“The Brewer’s Window: What Temperature Should I Mash at?,” 2012). İlk 70 °C’lik 1.5 saatlik süreçte beta amilaz enzimi aktiftir.



Şekil 4.6. Alfa ve beta enzimleri varlığında sıcaklığa bağlı olarak enzim aktiviteleri

Çalışmada pH ise düzenli takip edilmiş olup alfa amilaz için 6.20 ± 0.18 ; beta amilaz süreci için ise 5.64 ± 0.15 'e ayarlanmıştır.

Hidroliz aşaması sonrası her bir setten (hidrolizli ve hidrolizsiz) 250 ml’lik sıvı içeren 3’er reaktör kurulmuş ve reaktörler 72 saatlik fermantasyona tabi tutulmuştur. Çalışma başlangıcında her bir reaktörden toplam organik karbon, glikoz ve sakkaroz ile 72 saatlik süreç sonunda bu analizlere ilave olarak oluşan gaz hacmi ve etanol miktarı ölçülmüştür. Sonuçlar yukarıdaki şekilde hidrolizli ve hidrolizsiz süreç için ayrı ayrı sunulmuştur. Ölçülen sakkaroz ve glikoz miktarları ise aşağıda Çizelge 4.4’de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Hidrolizli ve hidrolizsiz süreç için ölçülen glikoz ve sakkaroz miktarları

	Hidrolizli		Hidrolizsiz	
	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş
Glikoz (mg/L)	4520	0	0	0
Sakkaroz (mg/L)	2043	0	100	72.6±15

Çalışma boyunca fermantasyon sürecinde oluşan gazlar (büyük oranda CO₂) alüminyum gaz balonlarına toplanmış ve süreç sonunda toplam gaz miktarı ölçülmüştür. Buna göre her bir set için oluşan gaz hacimleri ile üretilen etanol miktarına bağlı olarak teorik gaz miktarları aşağıdaki Çizelge 4.5’de sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Teorik ve ölçülen gaz değerleri

	Hidrolizli	Hidrolizsiz
Ölçülen Etanol (mg/L)	10,60	1,15
Reaktör Hacmi (L)	0,25	0,25
Etanol (g)	2,65	0,28
Teorik gaz (ml)	1,44 L	0,152
Ölçülen gaz (ml)	938±26	162±38

4.2.2.Halojen testlerinin sonuçları

Halojenler, periyodik tablonun 7A grubunda bulunan, tepkimeye eğilimli ametallerdir. Diğer bir ifade ile madenlerle bileşince tuz verebilen brom, flor, klor ve iyot elementlerine verilen isimdir. Yapılan bazı çalışmalarda halojenlerin amilaz aktivitelerine etkisi olduğu bildirilmiştir(Clifford, 2015; McClure, 1939). Ancak bazı halojenler hidroliz aşamasında amilaz aktivitesini olumlu yönde etkileyebilirken, fermantasyon aşamasında maya üzerinde inhibe edici ya da toksik etkiye sebep olabilir. Bu nedenle klor, flor, brom ve iyot elementlerinin tüm sürece etkisi tez çalışmasının bu bölümünde araştırılmıştır. Bu amaçla literatürde sunulmuş halojen konsantrasyonları araştırılmış ve aşağıdaki Çizelge 4.6’ da görülmektedir.

Çizelge 4.6. Halojenler ve amilaza etkileri üzerine yapılan çalışmalarda test edilen değerleri

Halojen	Test Edilen Konsantrasyonları	Referans
NaCl	100-2000 mg/L	(Clifford, 2015)
NaF	580-11600 mg/L	(McClure, 1939)
KI	5000-50000 mg/L	(Clifford, 2015)
KBr	750- 15060 mg/L	(Clifford, 2015)

Buna göre, farklı konsantrasyonlarda florür, klor iyot ve brom içeren hidroliz reaktörleri 3 saat süre ile hidroliz aşamasına tabi tutulmuş ve saat başı numune alınmıştır. Buna göre her bir halojen için aşağıda hidroliz ve fermentasyon aşaması sonuçları sunulmuştur.

Klor üzerine yapılan çalışmalarda Li, Na, K ve NH_4^+ formundaki klorun diyastatik etkiyi (enzimin nişastayı parçalayabilme yeteneği) arttırdığı bildirilmektedir. Diğer formdaki tuzlardan olan Mg (MgCl_2 formunda) 0.5 M konsantrasyonu için amilaz aktivitesini inhibe ettiği ve Li, NH_4^+ ve Ca tuzları için bu konsantrasyonun daha az etkili olduğu belirtilmiştir.

Yapılan çalışmada 1. Ve 3. Saat sonu glikoz ve sakkaroz konsantrasyonları ve 3. saatten sonra fermentasyon sürecine girmiş numunelerin fermentasyon sonrasındaki etanol üretimleri aşağıdaki çizelgede sunulmuştur.

Çizelge 4.7. NaCl nin farklı konsantrasyonları için bulunan değerler

	Hidroliz				Fermantasyon			
	1 Saat		3. Saat		Etanol (%)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Gaz (ml)
NaCl (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)				
580	1.518	3.608	1.975	4.744	1,35±0,04	-	-	1028±71
5800	1.267	5.336	1.604	5.471	0,95±0,23	-	-	802±10
11600	962	4.642	1.258	5.630	0,87±0,22	-	-	705±13
Halojensiz	1.719	4.123	2.043	4.570	1,37±0,01	-	--	938±26
Hidrolizsiz	99	0	103	0	0,15±0,02	-	-	162±38

Çizelge 4.7’de görülebileceği üzere, hidroliz verimi NaCl tuzunun konsantrasyonuna bağlı olarak artış göstermiştir. Hidroliz süresi sonunda, 11600 mg/L NaCl içeren hidroliz reaktöründe 5630 mg/L glikoz konsantrasyonu ile en yüksek glikoz üretim verimi elde edilmiştir. Kontrol reaktörü (halojen ilavesi olmayan) ile kıyaslandığında bu değer %23 daha yüksektir. 5800mg/L lik NaCl denemesi izlendiğinde ise ilk 1 saatin sonunda 5336 mg/L seviyesine ulaşılmış ve 1. saat ile 3. saat arasında kayda değer bir artış gözlenmemiştir.

Hidroliz süreci sonrasında fermantasyona tabi tutulan örneklerde de fermantasyon verimleri çizelgede görülmektedir. Buna göre tuz konsantrasyonunun artması ile fermantasyon verimi düşmektedir. 580 mg/L NaCl için %1.35 etanol üretilirken 11600 mg/L NaCl için bu değer 0.87 %’ye düşmektedir.

Flor üzerine yapılan literatür taramasında K ve NH_4^+ formundaki florun tükürükte bulunan amilaz aktivitesini inhibe ettiği ancak daha güncel çalışmalarda pH’ya bağlı olarak NaF konsantrasyonları denenmiş ve 0.1, 0.2 ve 0.3 M NaF için sırası ile pH 6.3-6.7, 6.6-6.8, ve 6.6-6.8 aralıklarında yapılan denemelerde %24’e kadar tuz içermeyen ortamda amilaz aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir(McClure, 1939).

Buna göre yapılan çalışmada 100, 1000 ve 2000 mg/L NaF içeren hidroliz reaktörleri klor sürecinde olduğu gibi hidrolize ve sonrasında fermantasyona tabi tutulmuştur.

Çizelge 4.8. NaF'ın farklı konsantrasyonları için bulunan değerler

	Hidroliz				Fermantasyon Sonu			
	1. Saat		3. Saat					
NaF (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Etanol (%)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Gaz (ml)
100	1709	4116	1635	4022	0,82±0,07			968±53
1000	1619	4444	1446	3930	1±0,08			647±24
2000	1115	3647	1032	4178	0,56±0,11	20±16	978±138	415±18
Halojensiz	1719	4123	2043	4570	1,37±0,01			938±26
Hidrolizsiz	99	0	103	0	0,15±0,02			162±38

Yapılan çalışmada 100 ile 2000 mg/L konsantrasyonlarında test edilen NaF'ın fermantasyon sürecine olumlu bir etkisi gözlenmemiştir. Bulunan etanol konsantrasyonları halojensiz kontrol grubundan daha da düşük gözlenmiş olup muhtemel bir inhibisyon söz edilebilir. Benzer bir durum hidroliz süreci için de geçerli olup NaF'ın hidroliz sürecine olumlu bir etkisi gözlenmemiştir.

Brom ile yapılan çalışmalarda $MgBr_2$, NH_4Br , $LiBr$ ve $BaBr_2$ için optimum konsantrasyonun 0.125 ve 0.008 M olduğu belirtilmiştir. Tez çalışmasında ise 750 ile 15060 mg/L'lik konsantrasyonlar denenmiş olup sonuçlar Çizelge 4.9'da sunulmuştur.

Çizelge 4.9. KBr'un farklı konsantrasyonları için bulunan değerler

	Hidroliz						Fermantasyon Sonu	
	1.saat		2.saat		3.saat			
KBr (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Etanol (%)	Gaz (ml)
750	2312	3861	2346	4217	2474	3545	1,28±0,06	884±31
7530	2139	4451	2297	4618	1675	3489	0,90±0,17	777±137
75060	2088	5093	2215	5148	2074	4620	1,03±0,05	608±6,4
Halojensiz	1719	4123			2043	4570	1,37±0,01	938±26
Hidrolizsiz	99	0			103	0	0,15±0,02	162±38

Yükselen KBr konsantrasyonları hem hidroliz aşamasında hem de fermentasyon aşamasında olumlu yönde etki göstermiştir. 15060 mg/L konsantrasyonundaki hidroliz reaktöründe kontrol reaktörüne nazaran küçük bir artış gözlenmiştir (~1 civarı). Etanol konsantrasyonu ise test edilen üç KBr konsantrasyonu için en yüksek değer yine 0,75 mg/L'lik değerde bulunmuştur. Ancak etanol konsantrasyonu kontrol grubu reaktöründen daha düşük bulunmuş olup etanol verimini arttırmamıştır. Fermentasyon sonu kurulan reaktörlerden alınan numunelerde sakkaroz ve glikoz ölçülebilir seviyenin altındadır.

İyotun amilaz aktivitesine etkisi literatürde çeşitlilik göstermektedir. Li, NH₄, Mg ve Ca türevi iyotlar 0.5 M konsantrasyonlarda inhibe edici etkiler gösterirken CaI₂ için 0.06M; LiI ve MgI₂ için 0.03 M ve NH₄I için 0.25 M konsantrasyonlarında inhibisyon gözlenmiştir. Na, K ve Ba türevi iyotlar ise 0.5 M konsantrasyonda amilazın diastatik aktivitesini arttırıcı etki göstermiştir(Clifford, 2015).

Yapılan çalışmada üç farklı reaktöre 5000-50000 mg/L konsantrasyonun da KI eklenmiş ve sonuçlar aşağıdaki çizelgede sunulmuştur. Buna göre 10000 mg/L konsantrasyonunda KI optimum verimi sağlamış ve 3. saatin sonunda 2043 mg/L ve 4570 mg/L'lik kontrol reaktörlerine nazaran 2291 mg/L ve 6185 mg/L'lik konsantrasyonlar sağlamıştır. Ancak en yüksek etanol konsantrasyonu 5 mg/L KI konsantrasyonunda 0.91 % ile tespit edilmiş olup bu değer kontrol grubundan düşüktür. Buna göre KI'nın düşük konsantrasyonlarının amilaz aktivitesini arttırdığı, ancak fermentasyon verimini düşürdüğü sonucuna varılabilir. Test edilen 5000-50000 mg/L'lik konsantrasyonlar kendi içinde değerlendirildiğinde 5000 ila 10000 mg/L aralığındaki KI'nın gerek hidroliz gerekse fermentasyon sürecinde optimum olduğu sonucuna varılabilir.

Çizelge 4.10. KI'nın farklı konsantrasyonları için bulunan değerler

	Hidroliz						Fermantasyon Sonu	
	1		2		3			
KI(mg /L)	Sakka roz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Sakkaroz (mg/L)	Glikoz (mg/L)	Etanol (%)	Gaz (ml)
5000	2206	5020	2118	5586	2174	5443	0,91±0,25	682±22
10000	1921	5051	2163	5976	2291	6185	0,80±0,15	664±48
50000	1463	4349	1639	4384	1788	4892	0,52±0,12	390±26
Haloje nsiz	1719	4123			2043	4570	1,37±0,01	938±26
Hidroli zsiz	99	0			103	0	0,15±0,02	162±38

4.3.Pilot ölçekli biyoetanol düzeneğinin optimizasyonu

Biyoetanolün çeşitli ortamlarda yakıt olarak kullanılabilmesi için saflık derecesinin minimum % 96 olması gerekmektedir. Bunun için gerek eklemek atıklarından gerekse farklı selülozik ya da şeker bazlı atıklardan alkol fermantasyonu sonucunda oluşan alkol damıtma teknolojileri ile saflaştırılır. Tez çalışmasının bu kısmında alkol saflaştırma için kurulan düzenek ile alkol saflaştırma testleri yapılmıştır. Bu amaçla 400 litrelik reaktöre % 10 oranında alkol içeren sulu çözelti eklenmiş ve saflaştırma süreci başlatılmıştır.

Damıtma tankında 3 KWh gücünde 4 adet rezistans bulunmaktadır. Basit çay ocaklarında istenilen sıcaklık termostat ile sağlanır. Ayarlı termostat sıcaklık istenilen değerin altında iken çalışır ve istenilen değerin üzerine çıktığında durur.

Ancak rezistanslar çalışmaya başladığı anda bile hemen ısınmazlar (ya da çalışma durduğunda hemen soğumazlar) ve bu durum sıcaklıkta bir salınım meydana getirir.

Etanol saflaştırma gibi sıcaklığın çok hassas olması gereken durumlarda klasik rezistansa bağlı aç kapa sistemleri çalışmazlar. Bunun yerine rezistanslar Dimmer sistemine bağlı olup gerektiğinde reaktöre verilen gücün azaltılması mümkündür.

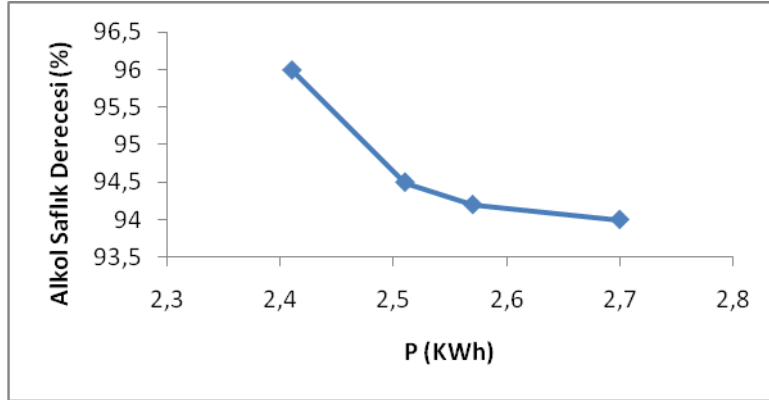
Dimmer sistemi alternatif akım ile çalışmakta olup yaygın olarak aydınlatmada kullanılmaktadır(Velasco ve ark., 2011). Ayrıca sıcaklık kontrolü, motor hızı kontrolü gibi uygulamalarda da kullanılmaktadır. Kabaca rezistanslara giden gücün istenilen seviyede açılmasına olanak sağlamaktadır. Bu sayede damıtma tankında ve kule tepesinde istenilen sıcaklık tam olarak ayarlı direnç ile sağlanabilmektedir.



Şekil 4.7. Dimmer sistemi ara yüzü

Damıtma tankında çalışma prensibine göre damıtma verimini etkileyen birkaç parametre vardır. Buna göre reaktöre verilen güç, soğutma suyu sıcaklığı ve debisi ile ortam sıcaklığı damıtma verimine doğrudan etki eder. Eğer reaktöre çok fazla güç uygulanırsa, alkol ile birlikte su kaynaması da olacağından saflaştırma verimi düşer. Soğutma suyu sıcaklığı ve debisi de yeterli miktarda olmalıdır. Aksi halde reflüks ünitesinde sıcaklık 78 °C’de sabit tutulamaz ve yoğunlaştırma ünitesinde alkol istenilen sıcaklığa düşmez. Bunun için bir optimizasyon çalışması gerekmekte olup su debisi, sıcaklığı ve reaktöre verilen güç bu aşamada optimize edilmiştir.

Bu maksatla Dimmer sistemine güç kayıt datalogger takılmış ve reaktöre verilen toplam güç miktarı izlenmiştir. Bu izleme aşamasında soğutma suyu debisi ve sıcaklığı da takip edilmiş ve değişen koşullarda elde edilen alkolün saflık derecesi ölçülmüştür. Yapılan bu çalışmada elde edilen bulgular aşağıdaki grafikte sunulmuştur.



Şekil 4.8. Reaktöre verilen toplam güce bağlı olarak alkol saflığı

Damıtma tankı toplamda 12 KWh güce kadar çıkabilecek şekilde tasarlanmıştır. Damıtma süreci başlatıldığında 12 KWh toplam güç sıcaklığın reaktörde 94-95 °C'ye, damıtma kulesinde ise 78 °C'ye kadar çıkması için kullanılır. Ancak etanolün kaynaması başladığında 12 KWh'lık gücün 2.41 KWh'a düşürülmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu optimizasyon çalışmasına ait diğer detaylar aşağıdaki Çizelge 4.11'de sunulmuştur.

Çizelge 4.11. Alkol saflaştırma sürecinde sistem optimizasyon çalışması detayları

Alkol Saflığı (%)	P (KWh)	S (kVA)	I1 (Amper)	I2 (Amper)	I3 (Amper)	Soğutma suyu	
						Sıcaklık (°C)	Debi (ml/dk)
94	2,70	2,94	4,42	4,38	4,31	30,4	3225,8
94,2	2,57	2,87	4,31	4,29	4,21	29,6	3448,2
94,5	2,51	2,83	4,24	4,24	4,15	30,1	3409,0
96	2,41	2,77	4,16	4,17	4,07	29,5	3496,5

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında ülkemizde yıllık 21 milyar tona ulaşan ekmek atığının etanol üretim süreci incelenmiştir. Bu süreçte bir set ekmek atığı doğrudan fermantasyon aşamasına alınmış, diğer bir set ekmek atığı ise önce hidroliz aşamasına sonra da fermantasyon aşamasına tabi tutulmuştur. Bu sayede hidroliz aşamasının etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise amilaz aktivitesine etki eden halojen tuzlarının hidroliz ve fermantasyon sürecine etkisi araştırılmıştır.

Malt ile hidrolize uğramış reaktörde 20 gram ekmek atığı için başlangıç karbonhidrat konsantrasyonunda yaklaşık % 97 azalma görülmüş olup, 0.83 L gaz çıkışı elde edilmiştir. Hidroliz uygulanmayan çalışmada ise sadece 0.03 L gaz çıkışı ölçülmüş olup karbonhidrat azalışında kayda değer bir etki görülmemiştir.

Halojen testlerinde 10000 mg/L KI ile en yüksek hidroliz verimi elde edilmiştir. Halojenler hidroliz sürecine nazaran fermantasyon sürecine olumsuz etkide bulunmuşlardır. Düşük halojen konsantrasyonları içeren testlerde optimum etanol konsantrasyonları ölçülmüştür.

Dimer sistemi ile damıtma tankı sıcaklığı 12 KWh toplam güç ile 95 °C'ye ulaştıktan sonra güç 2.41 KWh'a düşürülerek düzenekte %96 saflığa ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- A.CARDONA, CARLOS ,J. S., 2007. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. *Bioresour. Technol.* 92, 2415–2457.
- AKBAR, D., SUBEDÍ, R., 2019. Reviewing commercial prospects of bioethanol as a renewable source of future energy—an Australian perspective. *Adv. Eco-Fuels a Sustain. Environ.* 441–458.
- ADİTİYA, B.H., MAHLIA, M.T., CHONG, W.T., 2016. Second generation bioethanol production: A critical review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 66, 631–653.
- ADIGÜZEL, A.O., 2013. Lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretimi için kullanılan ön-muamele ve hidroliz yöntemleri Pre-Treatment and hydrolysis methods for bioethanol production from lignocellulosic material. *SAÜ. Fen Bil. Der.* 17, 381–397.
- AHMAD, M.N.M., WALKER, G.M., LENİHAN, P., O'NEİLL, E., ROONEY, D.W., OROZCO, A., 2009. Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Chem. Eng. J.* 156, 395–403.
- AKALIN, B., SEYREKBASAN, 2015. Dünyadaki Biyoetanol Politikalarının Türkiye Koşulları ile Karşılaştırmalı İncelenmesi ve Türkiye Şartlarına Uygunluk Açısından Biyoetanol Üretiminde Kullanılan Hammaddelerin Değerlendirilmesi. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 29, 157–168.
- AKGUL, O., SHAH, N., PAPAGEORGIOU, L.G., 2012. An optimisation framework for a hybrid first / second generation bioethanol supply chain. *Comput. Chem. Eng.* 42, 101–114.
- AKIN, H., BRANDAM, C., MEYER, X.M., STREHAIANO, P., 2008. A model for pH determination during alcoholic fermentation of a grape must by *Saccharomyces cerevisiae*. *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 47, 1986–1993.
- ALAM, F., MOBİN, S., CHOWDHURY, H., 2015. Third generation biofuel from Algae. *Procedia Eng.* 105, 763–768.
- ALIZADEH, H., TEYMOURİ, F., GILBERT, T., DALE, B., 2005. Pretreatment of Switchgrass by Ammonia Fiber Explosion (AFEX). *Appl. Biochem. Biotechnol.* 121–124, 1133–1141.
- ALVIRA, P., BALLESTEROS, M., NEGRO, M.J., 2010. Bioresource Technology Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis : A review. *Bioresour. Technol.* 101, 4851–4861.
- AMBARD, L., TRAUTMANN, S., 1933. The effect of halogen salts. *C. R. Biol.* 112, 1532.
- APHA, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington DC, USA.
- Azeotropic distillation, 2019, URL [http:// www. rsc.org/publishing /journal/prospect/ontology.asp?id=CMO:0002634&MSID=c3py](http://www.rsc.org/publishing/journal/prospect/ontology.asp?id=CMO:0002634&MSID=c3py) URL
- AZMAH, S., ABDULLA, R., HAJAR, S., AZHAR, M., MARBAWI, H., AZLAN J., RAVINDRA, P., 2016. A review on third generation bioethanol feedstock.

- Renew. Sustain. Energy Rev. 65, 756–769.
- BADGER, P.C., 2002. Ethanol From Cellulose : A General Review. Trends new Crop. new uses 17–21.
- BALAT, M., 2011. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway : A review. Energy Convers. Manag. 52, 858–875.
- BALAT, M., BALAT, H., 2009. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. Appl. Energy.
- BASSAM, N. EL, MAEGAARD, P., SCHLİCHTING, M.L., 2013. Chapter Nine - Biomass and Bioenergy, in: Distributed Renewable Energies for Off-Grid Communities. pp. 125–165.
- BAYRAKTAR, M., 2001. Diabetes Mellitus Tedavisinin Genel İlkeleri, Diyet ve Egzersiz. Türkiye Tıp Derg. 8, 9–19.
- BOTHAST, M.R.J., 2005. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. Appl. Microbiol. Biotechnol. 67, 19–25.
- BUSKEN, D., 2007. The many roles of sugars in baking Column baking. Cereal Foods World 52, 205–206.
- CHANDEL, A.K., ES, C., RUDRAVARAM, R., NARASU, M.L., 2007. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies : An appraisal. Biotechnol. Mol. Biol. 2.
- CHİARAMONTİ, D., 2007. Bioethanol: role and production technologies, in: Improvement of Crop Plants for Industrial End Uses. Springer, pp. 209–251.
- CHUNDAWAT, S; BALAN, V; SOUSA, L; DALE, B., 2010, Thermochemical pretreatment of lignocellulosic biomass. Bioalcohol Prod. 24–72.
- CLİFFORD, W.M., 2015. The effect of halogen salts on salivary and pancreatic amylase. Biochem. J. 30, 2049–2053.
- DALLMANN, T., FAÇANHA, C., 2017. International comparison of Brazilian regulatory standards for light-duty vehicle emissions. ICCT White Paper. Int. Counc. Clean Transp. 1–40.
- DAROCH, M., GENG, S., WANG, G., 2013. Recent advances in liquid biofuel production from algal feedstocks. Appl. Energy 102, 1371–1381.
- DEL CAMPO, I., ALEGRÍA, I., ZAZPE, M., ECHEVERRÍA, M., ECHEVERRÍA, I., 2006. Diluted acid hydrolysis pretreatment of agri-food wastes for bioethanol production. Ind. Crops Prod. 24, 214–221.
- DEMİRBAS, A., 2007. Progress and recent trends in biofuels. Prog. Energy Combust. Sci. 33, 1–18.
- DEMİRBAS, A., 2008. Biofuels sources , biofuel policy , biofuel economy and global biofuel projections. Energy Convers. Manag. 49, 2106–2116.
- DEMİRBAS, A., 2004. Combustion characteristics of different biomass fuels. Prog. Energy Combust. Sci. 30, 219–230.
- DEMİRBAS, A., 2005. Bioethanol from cellulosic materials: A renewable motor fuel from biomass. Energy Sources 27, 327–337.
- DİEN, B.S., COTTA, M.A., JEFFRIES, T.W., 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production: Current status. Appl. Microbiol. Biotechnol. 63, 258–266.
- DRAGONE, G., FERNANDES, B., VİCENTE, A.A., TEİXEİRA, J.A., 2010. Third generation biofuels from microalgae. Appl. Microbiol. Microb. Biotechnol. 1355–1366.
- DUBEY, A.K., GUPTA, P.K., GARG, N., NAİTHANİ, S., 2012. Bioethanol production from waste paper acid pretreated hydrolyzate with xylose fermenting

- Pichia stipitis*. Carbohydr. Polym. 88, 825–829.
- DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J.K., REBERS, P. A., SMITH, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28, 350–356.
- EBRAHİMİ, F., KHANAHMADI, M., ROODPEYMA, S., TAHERZADEH, M.J., 2008. Ethanol production from bread residues. Biomass and Bioenergy 32, 333–337.
- EDGARDO, A., CAROLINA, P., MANUEL, R., JUANITA, F., BAEZA, J., 2008. Selection of thermotolerant yeast strains *Saccharomyces cerevisiae* for bioethanol production. Enzyme Microb. Technol. 43, 120–123.
- EDLUND, M., MARGEOT, A., SLADE, R., 2009. New improvements for lignocellulosic ethanol. Curr. Opin. Biotechnol.
- FAN, Z., 2014. Consolidated Bioprocessing for Ethanol Production. Biorefineries 141–160.
- FERSİZ, S., 2018. Biyokütleden Biyoetanol Üretimi için Uygulanan Ön Hazırlık İşlemleri Pretreatment Methods for Producing Bioethanol from Biomass. Doğal Afetler ve Çevre Derg. 90.
- GODOY, A., AMORIM, H. V., LOPES, M.L., OLIVEIRA, A.J., 2008. Continuous and batch fermentation processes: advantages and disadvantages of these processes in the Brazilian ethanol production. Int. sugar J. 110.
- GÖYCİNCİK, S., YÜCEL, Y., 2015. Defne Yaprığı Artığının Biyoetanol Üretiminde Kullanım Potansiyelinin Araştırılması Investigation of the Utilization Potential of Laurel Leaf Residues for Bioethanol Production 96, 87–96.
- GUERRERO, A.B., BALLESTEROS, I., BALLESTEROS, M., 2018. The potential of agricultural banana waste for bioethanol production. Fuel 213, 176–185.
- GUO, W.Q., YANG, S.S., XIANG, W.S., WANG, X.J., REN, N.Q., 2013. Minimization of excess sludge production by in-situ activated sludge treatment processes - A comprehensive review. Biotechnol. Adv. 31, 1386–1396.
- HONGZHANG, C., 2015. Lignocellulose biorefinery feedstock engineering. Lignocellul. Biorefinery Eng. 37–86.
- HAJAR, S., AZHAR, M., ABDULLA, R., JAMBO, S.A., MARBAWI, H., AZLAN, J., AZIFA, A., FAİK, M., FRANCIS, K., 2017. Yeasts in sustainable bioethanol production : A review. Biochem. Biophys. Reports 10, 52–61.
- HALLSWORTH, J.E., 1998. Ethanol-induced water stress in yeast. J. Ferment. Bioeng. 85, 125–137.
- HAMELİNCK CARLO N., HOOIJDONK, G. VAN, 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass : techno-economic performance in short-, middle- and long-term. Biomass and Bioenergy 28, 384–410.
- HARUN, R., DANQUAH, K., FORDE, G.M., 2010. Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. J. Chem. Technology Biotechnol. Biotechnol. 199–203.
- HE, M.X., LI, Y., LIU, X., BAI, F., FENG, H., ZHANG, Y.Z., 2009. Ethanol production by mixed-cultures of *Paenibacillus* sp. and *Zymomonas mobilis* using the raw starchy material from sweet potato. Ann. Microbiol. 59, 749–754.
- HO, S.H., HUANG, S.W., CHEN, C.Y., HASUNUMA, T., KONDO, A., CHANG, J.S., 2013. Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock. Bioresour. Technol. 135, 191–198.

- HOSTĚNOVÁ, E., 2002. Amylolytic enzymes produced by the yeast *Saccharomycopsis fibuligera*. *BIOLOGIA-BRATISLAVA*- 57, 247–252.
- HUANG, H.; RAMASWAMY, S.; TSCHIRNER, U.; RAMARAO, B., 2010. Separation and purification processes for lignocellulose-to-bioalcohol production. *Bioalcohol Prod.* 246–277.
- İMRAĞ, H., 2006. “Benzinli Motorlarda Biyoetanol Kullanımının Motor Karakteristik Değerlerine ve Egzoz Emisyonlarına Etkilerinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- INGRAM, L.O., CONWAY, T., CLARK, D.P., SEWELL, G.W., PRESTON, J.F., 1987. Genetic engineering of ethanol production in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2420–2425.
- INTERNATIONAL SUGAR ORGANIZATION, 2016, <https://www.isosugar.org/sugarsector/ethanol>
- JEDDOU, B., SAMEH, M., IMEN, G., DONYES, F., DHOUHA, G., GHORBEL, E., OUMÈMA, N., 2014. Potato peel as feedstock for bioethanol production : A comparison of acidic and enzymatic hydrolysis. *Ind. Crop. Prod.* 52, 144–149.
- JOHN, R.P., ANISHA, G.S., NAMPOOTHIRI, K.M., PANDEY, A., 2011. Micro and macroalgal biomass : A renewable source for bioethanol. *Bioresour. Technol.* 102, 186–193.
- JUNG, Y.; KİM, K., 2015. Acidic Pretreatment. *Pretreat. Biomass* 27–50.
- KANG, E., MİN, B., AH, H., KİM, J., 2012. Journal of Industrial and Engineering Chemistry Analysis of mono-sugars obtained by acid hydrolysis of algae-based polysaccharides. *J. Ind. Eng. Chem.* 18, 1366–1369.
- KATYAL, A., 2007. FORENSIC Applications Of Contaminant Transport Models In The Subsurface. *Intro. to Environ. Forensics* 513–515.
- KHUONG, L.D., KONDO, R., DE LEON, R., KİM ANH, T., SHİMİZU, K., KAMEİ, I., 2014. Bioethanol production from alkaline-pretreated sugarcane bagasse by consolidated bioprocessing using *Phlebia* sp. MG-60. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 88, 62–68.
- KİM, S., DALE, B.E., 2004. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioenergy* 26, 361–375.
- KİNG, F.G., HOSSAIN, M.A., 1982. The effect of temperature, pH, and initial glucose concentration on the kinetics of ethanol production by *Zymomonas mobilis* in batch fermentation. *Biotechnol. Lett.* 4, 531–536.
- KİSS, A.A., SUSZWALAK, D.J.-P.C., 2012. Enhanced bioethanol dehydration by extractive and azeotropic distillation in dividing-wall columns. *Sep. Purif. Technol.* 86, 70–78.
- KOPPRAM, R., OLSSON, L., 2014. Combined substrate , enzyme and yeast feed in simultaneous saccharification and fermentation allow bioethanol production from pretreated spruce biomass at high solids loadings. *Biotechnol. Biofuels* 1–9.
- KUPCZYK, A., MAĆZYŃSKA, J., REDLARSKI, G., TUCKI, K., BĄCZYK, A., RUTKOWSKI, D., 2019. Selected Aspects of Biofuels Market and the Electromobility Development in Poland: Current Trends and Forecasting Changes. *Appl. Sci.* 9, 254.
- KURTZMAN, C.P., SMİTH, M., 2011. *Saccharomycopsis fibuligera*, in: *The Yeasts*.
- LEE, J., 1997. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *J. Biotechnol.* 56, 1–24.

- LEE, R.A., LAVOÏE, J.-M., 2013. From first- to third-generation biofuels: Challenges of producing a commodity from a biomass of increasing complexity. *Anim. Front.* 3, 6–11.
- LEE, S., OH, Y., KIM, D., KWON, D., LEE, C., LEE, J., 2011. Converting carbohydrates extracted from marine algae into ethanol using various ethanolic *Escherichia coli* strains. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 164, 878–888.
- LIMAYEM, A., RICKE, S.C., 2012. Lignocellulosic biomass for bioethanol production : Current perspectives , potential issues and future prospects. *Prog. Energy Combust. Sci.* 38, 449–467.
- LIN, M.Y., TANAKA, S., 2006. Ethanol fermentation from biomass resources : current state and prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 69, 627–642.
- LIN, Y., ZHANG, W., LI, C., SAKAKIBARA, K., TANAKA, S., KONG, H., 2014. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and Bioenergy* 47, 395–401.
- LIPNIZKI, F., 2010. Membrane process opportunities and challenges in the bioethanol industry. *Desalination* 250, 1067–1069.
- LYND, L.R., 1996. Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy. *Annu. Rev. energy Environ.* 21, 403–465.
- MAÇZYŃSKA, J., KRZYWONOS, M., KUPCZYK, A., TUCKI, K., SIKORA, M., PIŃKOWSKA, H., BĄCZYK, A., WIELEWSKA, I., 2019. Production and use of biofuels for transport in Poland and Brazil – The case of bioethanol. *Fuel* 241, 989–996.
- MADADÍ, M., TU, Y., ABBAS, A., 2017. Recent Status on Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production Recent Status on Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production. *Electronic J. Biol.* 13, 135–143.
- MARTÍN, M.A., 2010. First generation biofuels compete. *N. Biotechnol.* 27, 596–608.
- MCCLURE, F.J., 1939. Effect of fluorides on salivary amylase. *Public Heal. Reports* 2165–2171.
- MCCLURE, F.J., 1933. A review of fluorine and its physiological effects. *Physiol. Rev.* 13, 277–300.
- MCKEEN, L., 2012. Markets and Applications for Films, Containers, and Membranes. *Permeability Prop. Plast. Elastomers* 59–75.
- MICHELIN, M., TEIXEIRA, J.A., 2016. Liquid hot water pretreatment of multi feedstocks and enzymatic hydrolysis of solids obtained thereof. *Bioresour. Technol.* 216, 862–869.
- NAGY, E., 2012. Pervaporation. *Basic Equations Mass Transp. through a Membr. Layer* 267–291.
- NAİK, S.N., GOUD, V. V., ROUT, P.K., DALAI, A.K., 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14, 578–597.
- NAJAFPOUR, G., YOUNESI, H., SYAHIDAH, K., ISMAIL, K., 2004. Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresour. Technol.* 92, 251–260.
- OLSON, D.G., MCBRIDE, J.E., JOE SHAW, A., LYND, L.R., 2012. Recent progress in consolidated bioprocessing. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23, 396–405.

- OSTERGAARD, S., OLSSON, L., NIELSEN, J., 2003. Metabolic Engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 34–50.
- ÖZKAYA, H., 1986. Buğday, un ve ekmeğin besin değeri ve ekmeğin zenginleştirilmesi. *GIDA/THE J. FOOD* 11.
- Prabir, B., 2013. Production of Synthetic Fuels and Chemicals from Biomass. *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction* 375–404.
- PESSOA, A., MANCİLHA, I.M., SATO, S., 1997. Acid hydrolysis of hemicellulose from sugarcane bagasse. *Brazilian J. Chem. Eng.* 14, 291–297.
- QURESHI, N., 2014. Integrated Processes for Product Recovery. *Biorefineries* 101–118.
- RAMAN, R., 19 Foods That Are High in Starch, 2017, URL <https://www.healthline.com/nutrition/high-starch-foods>
- RANI, P., SHARMA, S., GARG, F.C., RAJ, K., WATI, L., 2010. Ethanol production from potato flour by *Saccharomyces cerevisiae*. *Indian J. Sci. Technol.* 3, 733–736.
- RODIONOVA, M. V., POUDYAL, R.S., TIWARI, I., VOLOSHIN, R.A., ZHARMUKHAMEDOV, S.K., NAM, H.G., ZAYADAN, B.K., BRUCE, B.D., HOU, H.J.M., ALLAKHVERDIEV, S.I., 2017. Biofuel production: Challenges and opportunities. *Int. J. Hydrogen Energy* 42, 8450–8461.
- ROSILLO-CALLE, F., WALTER, A., 2006. Global market for bioethanol : historical trends and future prospects. *Energy Sustain. Dev.* 10, 20–32.
- S, D.J.C.A.H.G.B., 2015. Patterns of Alcohol Consumption and Sleep in Shiftworkers. *Modul. Sleep by Obesity, Diabetes, Age, Diet* 353–363.
- SARKAR, NIBEDITA; SUMANTA, KUMAR GHOSH; BANNERJEE, SATARUPA. AIKAT, K., 2012. Bioethanol production from agricultural wastes An overview. *Renew. Energy* 37, 19–27.
- SCOTT, K., 1995. SEPARATION OF LIQUID MIXTURES/PERVAPORATION. *Handb. Ind. Membr.* 331–351.
- SCHOLZ, M., 2006. Water softening. *Wetl. Syst. to Control Urban Runoff* 135–139.
- SEONG, I., GON, S., KIM, S., BAE, H., 2012. Bioresource Technology Conversion of coffee residue waste into bioethanol with using popping pretreatment. *Bioresour. Technol.* 125, 132–137.
- SEONG, I., KIM, J., GON, S., HYOUN, K., BAE, H., 2013. Bioethanol production from mandarin (Citrus unshiu) peel waste using popping pretreatment. *Appl. Energy* 102, 204–210.
- SIERRA, ROCÍO; GRANDA, CESAR BENIGNO; HOLTZAPPLE, T.M., 2009. Lime Pretreatment, in: *Biofuels*. pp. 115–124.
- SIMS, R.E.H., MABEE, W., SADDLER, J.N., TAYLOR, M., 2010. Bioresource Technology An overview of second generation biofuel technologies. *Bioresour. Technol.* 101, 1570–1580.
- SINGH DUHAN, J., KUMAR, A., KUMAR TANWAR, S., 2013. Bioethanol production from starchy part of tuberous plant (potato) using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170. *African J. Microbiol. Res.* 7, 5253–5260.
- SOLOMON, B.D., BARNES, J.R., HALVORSEN, K.E., 2007. Grain and cellulosic ethanol : History , economics , and energy policy 31, 416–425.
- SUBRAMANIAN V, V.D., 2017. Thermoelectric Properties of Biopolymer Composites. *Biopolym. Compos. Electron.* 155–183.
- SUN, Y., CHENG, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol

- production : a review. *Bioresour. Technol.* 83, 1–11.
- SUN, Y., CHENG, J.J., 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production 96, 1599–1606.
- SUNDARAM, V., MUTHUKUMARAPPAN, K., KAMIREDDY, S.R., 2015. Effect of ammonia fiber expansion (AFEXTM) pretreatment on compression behavior of corn stover, prairie cord grass and switchgrass. *Ind. Crops Prod.* 74, 45–54.
- T.C. TOPRAK MAHSÜLLERİ OFİSİ, 2018. URL <http://www.ekmekisrafetme.com/>
- TABİBİ, M., SALEHİAN, A.A., 1974. Food poisoning in bread caused by *Aspergillus flavatoxin*: winter of 1967, Teheran. *Acta Med. Iran.* 17, 63–69.
- TAN, I.S., LEE, K.T., 2014. Enzymatic hydrolysis and fermentation of seaweed solid wastes for bioethanol production: An optimization study. *Energy* 78, 53–62.
- TASIĆ, M.B., KONSTANTINOVIĆ, B. V., LAZIĆ, M.L., VELJKOVIĆ, V.B., 2009. The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. *Biochem. Eng. J.* 43, 208–211.
- THANGAVELU, S.K., AHMED, A.S., ANİ, F.N., 2014. Bioethanol production from sago pith waste using microwave hydrothermal hydrolysis accelerated by carbon dioxide. *Appl. Energy* 128, 277–283.
- THE BREWER'S WINDOW: What Temperature Should I Mash at?, 2012, URL <https://missionarybrewer.wordpress.com/2012/02/01/the-brewers-window-what-temperature-should-i-mash-at/>
- TORIJA, M.J., ROZÈS, N., POBLET, M., GUILLAMÓN, J.M., MAS, A., 2003. Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. *Int. J. Food Microbiol.* 80, 47–53.
- TRAIT DESCRIPTIONS, 2016, URL <https://t3sandbox.org/t3/sandbox/barley/traits.php>
- TRAVAINI, R., MARTÍN-JUÁREZ, J., LORENZO-HERNANDO, A., BOLADO-RODRÍGUEZ, S., 2016. Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. *Bioresour. Technol.* 199, 2–12.
- TÜRK GIDA KODEKSİ EKMEK VE EKMEK ÇEŞİTLERİ TEBLİĞİ, 2012. URL <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/01/20120104-6.htm>
- TÜTÜN VE ALKOL PİYASASI DÜZENLEME KURUMU FAALİYET RAPORU, 2017.
- URL1, 2018. Biyokütle <http://www.rsc.org/publishing/journals/prospect/ontology.asp?id=CMO:0002634&MSID=c3py00190c>
- URL2, 2018. Biyoetanol, <http://www.yegm.gov.tr/yenilenebilir/biyoetanol.aspx>
- VAN WAARDE, A., VAN DEN THILLART, G., VERHAGEN, M., 1993. Ethanol formation and pH-regulation in fish. *Surviv. hypoxia Mech. Control Adapt.* 157–170.
- VAN WALSUM, G.P., ALLEN, S.G., SPENCER, M.J., LASER, M.S., ANTAL, M.J., LYND, L.R., 1996. Conversion of lignocellulosics pretreated with liquid hot water to ethanol. *Appl. Biochem. Biotechnol. - Part A Enzym. Eng. Biotechnol.* 57–58, 157–170.
- VAN ZYL, W.H., BLOOM, M., VÍKTOR, M.J., 2012. Engineering yeasts for raw starch conversion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 95, 1377–1388.
- VELASCO-QUESADA, G., ROMAN-LUMBRERAS, M., CONESA-ROCA, A., 2011. Comparison of central dimmer systems based on multiple-tapped autotransformer and high-frequency switching converter. *IEEE Trans. Ind.*

- Electron. 59, 1841–1848.
- VISCONTI, A., BOTTALICO, A., 1983. High Levels of Ochratoxins A and B in Moldy Bread Responsible for Mycotoxicosis in Farm Animals. *J. Agric. Food Chem.* 31, 1122–1123.
- VOHRA, M., MANWAR, J., MANMODE, R., PADGILWAR, S., PATIL, S., 2014. Journal of Environmental Chemical Engineering Bioethanol production : Feedstock and current technologies. *J. Environ. Chem. Eng.* 2, 573–584.
- VORAYOS, N., KIATSIRIROAT, T., VORAYOS, N., 2006. Performance analysis of solar ethanol distillation. *Renew. Energy* 31, 2543–2554.
- WHAT IS DIASTATIC POWER? [WWW Document], 2019. URL <http://www.picobrewery.com/askarchive/diastatic.html>
- WHEALS, A.E., BASSO, L.C., ALVES, D.M.G., AMORIM, H. V, 1999. Fuel ethanol after 25 years. *Focus (Madison)*. 17, 482–487.
- XU, Q., SINGH, A., HIMMEL, M.E., 2009. Perspectives and new directions for the production of bioethanol using consolidated bioprocessing of lignocellulose. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20, 364–371.
- XU, Z., HUANG, F., 2014. Pretreatment Methods for Bioethanol Production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 43–62.
- YADAV, S.K., 2017. Bioresource Technology Technological advances and applications of hydrolytic enzymes for valorization of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 245, 1727–1739.
- YANASE, S., HASUNUMA, T., YAMADA, R., TANAKA, T., OGINO, C., FUKUDA, H., KONDO, A., 2010. Direct ethanol production from cellulosic materials at high temperature using the thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* displaying cellulolytic enzymes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 88, 381–388.
- ZABED, H., FARUQ, G., SAHU, J.N., AZIRUN, M.S., HASHIM, R., NASRULHAQ BOYCE, A., 2014. Bioethanol Production from Fermentable Sugar Juice. *Sci. World J.* 2014, 1–11. ZABED, H., SAHU, J.N., SUELY, A., BOYCE, A.N., FARUQ, G., 2017. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 71, 475–501.
- ZHOU, S., YOMANO, L.P., YORK, S.W., INGRAM, L.O., SHANMUGAM, K.T., 2008. Re-engineering *Escherichia coli* for ethanol production. *Biotechnol. Lett.* 30, 2097–2103.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tülay YILMAZ
Uyruğu : T.C.
DoğumYeri veTarihi : Gaziantep, 29.05.1996
Telefon : 0530 035 2128
e-mail : tulayylmaz@outlook.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme yılı
Lise	: Hacı Muzaffer BAKBAK Kız Teknik ve Meslek Lisesi, Şahinbey, GAZİANTEP	2013
Üniversite	: Harran Üniversitesi, Mühendislik Fak., Çevre Mühendisliği, ŞANLIURFA	2017
Yüksek Lisans	: Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst., Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, ŞANLIURFA	2019

YABANCI DİL

İngilizce