

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**DALLI DARI BİTKİSİNDEN HİDROJEN PEROKSİT – ASETİK ASİT ÖN
ARITMA YÖNTEMİ İLE BİYORYAKIT ÜRETİM PROSESİNİN
OPTİMİZASYONU**

İbrahim Alper BAŞAR

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AĞUSTOS 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**DALLI DARI BİTKİSİNDEN HİDROJEN PEROKSİT – ASETİK ASİT ÖN
ARITMA YÖNTEMİ İLE BİYİYAKIT ÜRETİM PROSESİNİN
OPTİMİZASYONU**

İbrahim Alper BAŞAR

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AĞUSTOS 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DALLI DARI BİTKİSİNDEN HİDROJEN PEROKSİT – ASETİK ASİT ÖN
ARITMA YÖNTEMİ İLE BİYİYAKIT ÜRETİM PROSESİNİN
OPTİMİZASYONU**

**İbrahim Alper BAŞAR
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu tez
Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
FYL-2017-2348 nolu proje ile desteklenmiştir.**

AĞUSTOS 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DALLI DARI BİTKİSİNDEN HİDROJEN PEROKSİT – ASETİK ASİT ÖN
ARITMA YÖNTEMİ İLE BİYİYAKIT ÜRETİM PROSESİNİN
OPTİMİZASYONU

İbrahim Alper BAŞAR
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 28/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr. N.Altınay PERENDECİ (Danışman)

Prof.Dr. Gökhan CİVELEKOĞLU

Doç.Dr. Çiğdem MORAL

ÖZET

DALLI DARI BİTKİSİNDEN HİDROJEN PEROKSİT – ASETİK ASİT ÖN ARITMA YÖNTEMİ İLE BİYORYAKIT ÜRETİM PROSESİNİN OPTİMİZASYONU

İbrahim Alper BAŞAR

Yüksek Lisans Tezi, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. N. Altınay PERENDECİ

Ağustos 2018; 184 sayfa

Bu yüksek lisans tezinin amacı; enerji bitkisi dallı darıdan etanol ve metan olmak üzere iki biyoryakıtın minimum proses maliyeti ile maksimum miktarda üretiminin yapılması için entegre termokimyasal ve fermantasyon proseslerinin geliştirilmesidir.

Bu kapsamda yüksek lisans tez çalışmasında öncelikle enerji bitki dallı darı karakterizasyonu yapılmış ve lignoselülozik yapısındaki C5 ve C6 şekerlerin açığa çıkarılabilmesi ve dallı darıdan etanol ve metan üretim veriminin artırılması amacıyla dallı darıya hidrojen peroksit (H_2O_2) ve asetik asit (CH_3COOH - HAc) (HP&HAc) ön arıtma prosesi uygulanmış ve maksimum biyoryakıt üretimi açısından HP&HAc ön arıtma prosesinin optimizasyonu yapılmıştır.

HP&HAc ön arıtma proses optimizasyonunda Cevap yüzey yöntemi (CYY), Merkezi kompozit tasarım (MKT) kullanılmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesinin deneysel tasarımı Design Expert 7.1.5 programı ile yapılmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesinde H_2O_2 miktarı, HAc miktarı, reaksiyon süresi ve reaksiyon sıcaklığı parametreleri kullanılarak program tarafından önerilen ön arıtma koşullarına göre deneyler yapılmış, belirlenen cevap değişkenlerinin analiz sonuçları Design Expert programına aktarılmıştır. MKT deney tasarımında, cevap değişkeninin modellenmesi, önerilen modelin uygunluğunun test edilmesi için ANOVA testi uygulanmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesi maksimum etanol ve metan üretimi ve minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi açısından optimize edilmiş ve optimum proses koşulları tespit edilmiştir. HP&HAc ön arıtma prosesi ile muamele edilen numuneler kullanılarak eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon prosesi ile etanol üretim prosesi optimize edilmiş ve etanol üretilmiştir. Etanol üretimi sonrasında fermantasyon ortamı da dahil tüm atıklar kullanılarak minimum atık stratejisi ile metan fermantasyonu yapılarak ikinci biyoryakıt metan üretimi yapılmıştır. Son olarak HP&HAc ön arıtma deneyleri sonrasında dallı darının yüzey özelliklerindeki değişiminin incelenebilmesi için Taramalı Elektron Mikroskop (TEM) ve bağ karakterizasyonunun değişiminin incelenebilmesi için Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır.

Karakterizasyon analizleri sonucunda dallı darı numunesinin karbon (C) içeriği %40,13 olarak tespit edilmiştir. Selüloz ve hemiselüloz miktarları ise %33.13 ve %34.76 olarak ölçülmüştür. Yüksek karbon içeriği, dikkati çeken miktarda selüloz ile

hemiselüloz miktarı (%67.89) ve yapısal karbonhidrat içeriği (2.17 mg/mL) dallı darının enerji üretiminde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Eş zamanlı şekerleştirme ve fermentasyon prosesi sonucunda maksimum etanol, maksimum çindşeker konsantrasyonunun elde edildiği HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonlarında) üretilmiştir. Bu HP&HAc ön arıtma koşulunda muamele edilen dallı darı numunesinden 81.65 mgEtOH/gTKM etanol üretilmiştir. Ham dallı darı numunesinden ise 32.62 mgEtOH/gTKM etanol üretilmiştir. HP&HAc ön arıtma uygulaması ile üretilen etanol miktarı, ham dallı darı numunesinden üretilen etanol miktarından %150.36 daha fazla gerçekleşmiş ve teorik etanol veriminin %49.55'ine ulaşılmıştır. Etanol üretimi sonrasında üretilen etanol distilasyon yolu ile buharlaştırılmış, fermentasyon ortamı ve ön arıtmadan kalan sıvı faz birleştirilerek tüm atıklardan metan üretimi amacıyla biyokimyasal metan potansiyeli testi (BMP) yapılmıştır. Maksimum metan üretimi 100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonları uygulanan dallı darı numunesinden 363.82 mLCH₄/gUKM olarak elde edilmiştir. Shawneé çeşidi ham dallı darı numunesinin BMP değeri ise 195.50 mLCH₄/gUKM olarak ölçülmüştür. HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen numuneden üretilen metan ham dallı darı numunesinden üretilen metana göre %86.09 artmıştır.

Bağımsız değişken değerleri Design Expert® 7 programına işlenmiş ve modellenmiştir. Etanol ve BMP için kurulan modellerin R² değerleri sırası ile 0.8650 ve 0.8508 olarak hesaplanmıştır. HP&HAc ön arıtma proseslerinin optimizasyonunda iki farklı yaklaşım kullanılmıştır. Birinci yaklaşımda; maksimum etanol ve metan üretilmesi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulları 100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonları olarak bulunmuştur. İkinci yaklaşımda; minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulları ise 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonları olarak önerilmiştir. Program tarafından önerilen optimum HP&HAc ön arıtma koşullarında modellerin güvenilirliğini test etmek için validasyon deneyleri yapılmıştır. Modeller tarafından tahmin edilen ve validasyon deneyleri sonucunda elde edilen değerler arasındaki hata miktarlarının düşük olması, elde edilen modellerin güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma kapsamında Türkiye'de yetiştirilen 1 ton tarlada kurutulmuş Shawneé çeşidi dallı darı enerji bitkisinden; ham halde iken 36.32 L etanol, 161.15 L metan, maksimum etanol ve metan üretilmesi için optimum HP&HAc ön arıtma koşullarında 95.6 L etanol ve 292.89 L CH₄ ve minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşullarında ise 38.77 L etanol ve 282.43 L CH₄ üretileceği bulunmuştur. Buna göre ham dallı darıdan elde edilen etanol ve metan ile kıyaslandığında, maksimum etanol ve metan üretilmesi için optimum HP&HAc ön arıtma koşullarında %163.21 etanol, %81.75 metan artışı, minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşullarında ise %6.76 etanol, %75.25 metan artışı sağlanmıştır.

Literatürde enerji bitkisi dallı darı kullanılarak HP&HAc ön arıtma prosesi ile kombine etanol ve metan üretim proseslerinin incelendiği, etanol ve metan üretimi için optimum proses koşullarının belirlendiği ve atık üretilmeden iki biyoyakıt üretiminin incelendiği herhangi bir çalışma bulunmadığından, bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar yapılacak olan sonraki çalışmalarda referans noktası olarak kullanılabilir. değerdedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Biyokimyasal metan potansiyeli, Cevap yüzey yöntemi, Dallı darı, Etanol fermantasyonu, Optimizasyon, Ön arıtma

JÜRİ: Doç. Dr. N. Altınay PERENDECİ
Prof. Dr. Gökhan CİVELEKOĞLU
Doç. Dr. Çiğdem MORAL

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF BIOFUEL PRODUCTION FROM SWITCHGRASS WITH HYDROGEN PEROXIDE – ACETIC ACID PRETREATMENT METHOD

İbrahim Alper BAŞAR

MSc Thesis in Environmental Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. N. Altınay PERENDECI

August 2018; 184 pages

The aim of this master's thesis is to develop integrated thermochemical and fermentation processes for the production of maximum quantities of two biofuels, ethanol, and methane, with minimum process cost from the energy crop switchgrass.

In this master's thesis, firstly, the energy crop switchgrass characterization was carried out and to reach to C5 and C6 sugars in the lignocellulosic structure hydrogen peroxide (H_2O_2) and acetic acid (CH_3COOH - HAc)(HP&HAc) pretreatment was applied. To increase the ethanol and methane production efficiency HP&HAc pretreatment process was optimized for maximum biofuel production.

Response surface method (RSM), Central composite design (CCD) were used in HP&HAc pretreatment process optimization. Experimental design of HP&HAc pretreatment process was done with Design Expert 7.1.5 software. Experiments were conducted according to the pretreatment conditions proposed by the software using parameters of H_2O_2 amount, HAc amount, reaction time and reaction temperature in the HP&HAc pretreatment process, and the analysis results of the determined response variables were transferred to Design Expert software. In the CCD experiment design, ANOVA test was applied to model the response variable and to test the conformity of the proposed model. The HP&HAc pretreatment process was optimized for maximum ethanol and methane production and maximum ethanol and methane production at minimum process cost, and optimum process conditions were detected. Using HP&HAc pretreated samples, the ethanol production process was optimized with simultaneous saccharification and fermentation process (SSF) and ethanol was produced. After ethanol production, with minimum waste strategy using all wastes including ethanol fermentation medium, the second biofuel, methane production, was carried out by using methane fermentation. Finally, after HP&HAc pretreatment experiments Scanning Electron Microscope (SEM) was used to investigate the changes in surface properties and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) was used to examine the change in bond characterization of switchgrass.

As a result of the characterization analysis, carbon (C) content of the switchgrass was determined as 40.13%. The amount of cellulose and hemicellulose were 33.13% and 34.76%, respectively. High carbon content, cellulose, and hemicellulose content (67.89%) and structural carbohydrate content (2.17 mg / mL) suggest that switchgrass can be used in energy production.

At the conclusion of the simultaneous saccharification and fermentation process, maximum ethanol was produced in the HP&HAc pretreatment condition of 100 °C reaction temperature, 24 h reaction time, 0% HAc and 2% H₂O₂ concentrations in which the maximum sugar concentration was also obtained. 81.65 mgEtOH/gTS ethanol was produced from switchgrass samples treated in this HP&HAc condition. From raw switchgrass samples, 32.62 mgEtOH/gTS ethanol was produced. The amount of ethanol produced by the HP&HAc pretreatment application was 150.36% greater than the amount of ethanol produced from the raw switchgrass sample and reached 49.55% of the theoretical ethanol yield. Ethanol was evaporated via distillation, fermentation medium and liquid phase from pretreatment were combined and biochemical methane potential test (BMP) was performed to produce methane from all wastes. The maximum methane production was obtained as 363.82 mLCH₄/gVS from the switchgrass samples pretreated at 100 °C reaction temperature, 6 hours reaction time, 2% HAc and 0% H₂O₂ concentrations. Average BMP value of the switchgrass variety of Shawnee samples was measured as 195.50 mLCH₄/gVS. Methane produced from the samples treated with HP&HAc pretreatment increased by 86.09% compared to methane produced from raw samples of switchgrass.

Independent variable values are processed and modeled in Design Expert® 7 software. The R² values of the models established for ethanol and BMP were calculated as 0.8650 and 0.8508, respectively. In the first approach; optimum HP&HAc pretreatment conditions for maximum ethanol and methane production were found as 100 °C reaction temperature, 22.9 hours reaction time, 2% HAc and 2% H₂O₂ concentrations. In the second approach; optimum HP&HAc pretreatment conditions for maximum ethanol and methane production at minimum process cost were suggested as 50 °C reaction temperature, 6 hours reaction time, 1.87% HAc and 0% H₂O₂ concentrations. Validation tests were conducted to test the reliability of the models under optimum HP&HAc pretreatment conditions recommended by the software. The low error between the values estimated by the model and the results obtained from the validation experiments shows that the obtained models can be used safely.

In this study, from 1 tonne of switchgrass variety of Shawnee energy crop grown in Turkey and dried on the field; 36.32 L ethanol, 161.15 L CH₄ produced from raw samples, 95.6 L ethanol ve 292.89 L CH₄ produced from samples pretreated at optimum HP&HAc pretreatment conditions for maximum ethanol and methane production and 38.77 L ethanol, 282.43 L CH₄ produced from samples pretreated at optimum HP&HAc pretreatment conditions for maximum ethanol and methane production at minimum process cost. According to this, 163.21% ethanol, 81.75% methane increase in optimum HP&HAc pretreatment conditions for maximum ethanol and methane production, 6.76% ethanol, 75.25% methane increase in optimum HP&HAc pre-treatment conditions for maximum ethanol and methane production at minimum process cost were obtained, compared to ethanol and methane produced from raw switchgrass.

Since there are no studies in the literature evaluating the ethanol and methane production processes combined with HP&HAc pretreatment process, determining optimum process conditions for ethanol and methane production and producing two biofuels without waste production using the energy crop switchgrass, the results obtained

from studies conducted within the scope of this master's thesis are the values that can be used as reference points in subsequent studies.

KEYWORDS: Biochemical methane potential, Ethanol fermentation, Optimization, Pretreatment, Response surface method, Switchgrass

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. N. Altınay PERENDECI
Prof. Dr. Gökhan CİVELEKOĞLU
Assoc. Prof. Dr. Çiğdem MORAL



ÖNSÖZ

Günümüzde enerji, dünyada büyük devletlerin politikalarının belirleyicisi olan ve kaynak uğruna savaşlar çıkarılan bir konumdadır. Bunun nedeni, dünya üzerinde azalmakta olan fosil yakıt kaynaklarını elinde tutan devletlerin enerji güvenliklerini sağlamaları ve ekonomilerini güçlü tutmalarıdır. Sanayi devriminden günümüze enerji ihtiyacının neredeyse tamamını birincil enerji kaynakları karşılamıştır. Bununla birlikte, artan nüfus ve endüstrileşmeyle enerji ihtiyacının artması, birincil enerji kaynaklarının sınırlı ve sürdürülebilir olmaması ve kullanımlarının çevre sorunlarına yola açması nedeni ile alternatif enerji kaynaklarına yönelim artmıştır. Bu yönelim, yenilenebilir kaynaklarından enerji eldesi teknolojinin geliştirilmesi ve bilimsel çalışma sayısının artması ile hızlanmış, gelecekte birincil enerji kaynaklarının yerine kullanılabilecek alternatif çözümler elde edilmesini sağlamıştır.

Geliştirilen yenilenebilir enerji teknolojileri elektrik üretimindeki payını her geçen gün arttırırsa da bu teknolojilerin ulaşım sektöründe yaygın kullanımları kısa vadede mümkün olmayacaktır. Ulaşım sektöründe mevcut altyapıya uygun, yenilenebilir bir alternatif enerji kaynağı konusunda biyokütle enerjisi ön plana çıkmaktadır. Biyokimyasal veya termokimyasal işlemlerden geçirilerek enerji yoğunluğu yüksek, katı, sıvı veya gaz halinde biyoyakıtların biyokütleden üretilmesi mümkündür. Bu tarz biyoyakıtlar, fosil yakıtların yerlerini alabilmekle beraber fosil yakıtlarla birlikte kullanılarak bu yakıtların çevreye olan negatif etkilerini azaltabilme özelliğine sahiptirler.

Türkiye, jeopolitik ve tarihi konumu nedeni ile sürekli güçlü durması gereken ve kendi kendine yetebilen bir ülke olmalıdır. Ülkemiz, elektrik enerjisi ürettiği fosil yakıtlarda %50, ulaşımında kullanılan fosil yakıtlarda ise neredeyse tamamen dışa bağımlıdır. Bu bağımlılık, ekonomik olarak Türkiye'ye büyük bir yük getirmekle beraber dış politikada ülkemizi zayıflatmaktadır. Bu nedenle Türkiye'nin enerji arz güvenliğini sağlayacak şekilde enerji üretim çeşitliliği artırması gerekmektedir. Güneş, rüzgâr ve biyokütle gibi yenilenebilir enerji kaynakları önemli bir potansiyel sunmaktadır. Tarım, teknoloji ve ulaşım alanlarında enerji kullanımı günden güne artan Türkiye'de biyokütle enerjisi ve ikinci nesil biyoyakıt kaynağı olan enerji bitkileri önemli katkı sağlama potansiyeline sahiptir.

Dallı darı enerji bitkisi yüksek biyokütle üretme kapasitesi, zengin yapısal karbonhidrat içeriği, kurak alanlarda yetişebilme özelliği ve bitkiyi hasattan sonra tekrar büyütebilen kök yapısı sayesinde biyoyakıt üretimi konusunda başarılı bir biyokütle kaynağıdır. Ülkemizde dallı darı bitkisinin tarımının gerçekleştirebileceği birçok bölge ve gerekli tarımsal teknoloji ile altyapı mevcuttur. Bu tez kapsamında dallı darı enerji bitkisinden verimli şekilde etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi konusu araştırılmış, hidrojen peroksit ve asetik asit (HP&HAc) ön arıtma prosesi, etanol ve metan üretim prosesi verimli enerji üretimi amacıyla optimize edilmiştir.

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında beni en iyi şekilde yönlendiren, sabrı ve anlayışıyla her konuda yol gösteren, her türlü laboratuvar ekipmanını kullanmama ve öğrenmeme imkân sağlayan, çalışmaktan onur duyduğum danışman hocam Doç. Dr. N. Altınay PERENDECI'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümünden değerli hocalarım Arş. Gör. Elçin KÖKDEMİR ÜNŞAR'a ve Arş Gör. Fatih YILMAZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını benden esirgemeyen, zirai konularda bu çalışmaya destek veren değerli hocalarım Prof. Dr. Osman YALDIZ'a ve Arş. Gör. Haşmet Emre AKMAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında tecrübelerini benimle paylaşıp laboratuvara hızlı bir şekilde adapte olmamı sağlayan arkadaşlarım Çevre Yüksek Mühendisi Sezen GÖKGÖL'e ve Çevre Yüksek Mühendisi Burçin SEZEK TIRAŞ'a,

Başta Kimya Mühendisi Hilal ÜNYAY olmak üzere laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen diğer çalışma arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Bu hayattaki en büyük neşe ve moral kaynağım olan, desteği sayesinde üstesinden gelemeyeceğim zorluk olmayan, bu tez süresi boyunca tüm hayat planlarını erteleyerek büyük sabırla benden desteğini esirgemeyen sevgili hayat arkadaşım Sanela BAŞAR'a,

Benim bu günlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen, verdiğim her kararda bana destek olan değerli annem Nebahat ÖZDİLEK'e ve değerli babam Hamza BAŞAR'a sonsuz teşekkürler.

Sürekli bir adım önümden giderek tüm zorlukları benden önce yaşayıp tecrübelerini benimle paylaşan ve her konuda hayatımı kolaylaştıran değerli ağabeyim Makine Yüksek Mühendisi Feyzi Emrah BAŞAR'a,

Tez sürecinde manevi desteklerini benden esirgemeyen ikinci ailem olan Mehmed MUJKANOVİĆ ve Fatima MUJKANOVİĆ'e sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	vii
AKADEMİK BEYAN	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Dünya Enerji Dengesi ve Projeksiyonu	3
2.2. Türkiye’de Enerji Dengesi ve Projeksiyonu	5
2.3. Yenilenebilir Enerji Kaynakları	7
2.3.1. Rüzgâr enerjisi	7
2.3.2. Güneş enerjisi	8
2.3.3. Jeotermal enerji.....	8
2.3.4. Hidrolik enerji.....	8
2.3.5. Biyokütle enerjisi.....	9
2.4. Lignoselülozik Biyokütle	10
2.4.1. Selüloz	11
2.4.2. Hemiselüloz	12
2.4.3. Lignin.....	13
2.5. Dallı Darı (<i>Panicum Virgatum L.</i>)	13
2.6. Ön Arıtma Yöntemleri	19
2.6.1. Fiziksel ön arıtma yöntemleri	19
2.6.1.1. Mekanik parçalama	19
2.6.1.2. Ultrases yöntemi (Sonikasyon)	19
2.6.1.3. Hidrodinamik kaviteasyon	20
2.6.1.4. Atımlı elektrik alan.....	20
2.6.2. Kimyasal ön arıtma yöntemleri	20
2.6.2.1. Asit hidrolizi.....	20
2.6.2.2. Alkali hidroliz	21
2.6.2.3. İyonik sıvılar ile ön arıtma	21
2.6.2.4. İnorganik tuzlar ile ön arıtma	21

2.6.2.5. Organik solventler ile ön arıtma	22
2.6.2.6. Oksidatif delignifikasyon	22
2.6.3. Termo-kimyasal ön arıtma yöntemleri	22
2.6.3.1. Buharla patlatma	22
2.6.3.2. Amonyak lif patlatma (AFEX).....	23
2.6.3.3. Karbondioksit ile patlatma	23
2.6.3.4. Sıvı sıcak su ile ön arıtma	24
2.6.4. Biyolojik ön arıtma yöntemleri.....	24
2.7. Hidrojen Peroksit – Asetik Asit Ön arıtma (HP&Ac).....	25
2.7.1. Asetik asit ve kimyasal özellikleri.....	26
2.7.2. Hidrojen peroksit ve kimyasal özellikleri.....	28
2.7.3. HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen lignoselülozik materyal ile ilgili literatürde mevcut çalışmalar	30
2.8. Önarıtım Sonrası İnhibitör Madde Giderimi	34
2.8.1. Aşırı kireçleme.....	35
2.8.2. Aktif karbon.....	35
2.8.3. İyon değiştirici	35
2.8.4. Buharlaştırma.....	35
2.9. Etanol Fermantasyonu ve Mekanizması	35
2.9.1. Enzimatik hidroliz	36
2.9.2. Etanol fermantasyonu	39
2.9.3. Eş zamanlı şekerleşme ve fermantasyon	44
2.10. Metan Fermantasyonu ve Mekanizması.....	44
2.10.1. Hidroliz.....	46
2.10.2. Asidojenesis.....	46
2.10.3. Asetojenesis	47
2.10.4. Metanojenesis	48
2.10.5. Metan fermantasyonunda kullanılan biyokütle ve atıklar	49
2.11. Proses Optimizasyonu	50
2.11.1. Cevap yüzey yöntemi (CYY)	50
2.11.2. Merkezi kompozit tasarım (MKT).....	52
2.12. Tez Çalışmasının Amacı	52
3. MATERYAL VE METOT	55
3.1. Dallı Darı Enerji Bitkisinin Alınması, Hazırlanması ve Boyut Küçültme.....	55
3.2. Dallı Darının Karakterizasyon Analizleri	56
3.2.1. Toplam katı madde (TKM) analizi	56

3.2.2. Uçucu katı madde (UKM) analizi	56
3.2.3. Toplam karbon (TK), inorganik karbon (IK) ve toplam organik karbon (TOK) analizleri	57
3.2.4. Toplam Kjeldahl azotu (TKN) analizi	57
3.2.5. Çözünmüş ve toplam protein analizi	57
3.2.6. Çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ) analizi	57
3.2.7. Toplam indirgen şeker analizi	58
3.2.8. Toplam şeker analizi	58
3.2.9. Yapısal karbonhidrat analizi	58
3.2.10. Asitte çözünen ve çözünmeyen lignin analizi	60
3.2.11. Ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) analizi	60
3.2.12. Van Soest fraksiyon (Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözünür madde (SOLU)) analizleri	61
3.2.13. Elemental analiz	61
3.2.14. İz element analizi	61
3.2.15. Alt ısı değeri analizi	61
3.3. Karakterizasyon Analizlerinde Kullanılan Ekipmanlar	61
3.4. MKT Metodu ile Hidrojen Peroksit – Asetik Asit Ön Arıtma (HP&HAc) Deneylerinin Planlanması ve Optimizasyonu	63
3.5. Hidrojen Peroksit – Asetik Asit Ön Arıtma Deney Sistemi ve Ön Arıtma Etkinlik Analizleri	65
3.5.1. Hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma deney sistemi	65
3.5.2. Ön arıtma etkinliği analizleri	66
3.5.2.1. pH analizi	66
3.5.2.2. İndirgen şeker analizi	66
3.5.2.3. Kimyasal oksijen ihtiyacı analizi	66
3.5.2.4. Yapısal karbonhidrat analizi	66
3.5.2.5. İnhibitör madde analizi	66
3.6. Etanol Fermantasyonu	67
3.6.1. Etanol fermantasyonu için inhibitör madde giderimi	67
3.6.2. Eş zamanlı şekerleştirme ve etanol fermantasyonu (SSF)	67
3.6.3. SSF için maya çoğaltma	71
3.6.4. Deneylerde kullanılan enzim dozunun belirlenmesi	75
3.6.5. Etanol miktarının belirlenmesi	76
3.7. Biyokimyasal Metan Potansiyeli (BMP)	77
3.7.1. Makro ve mikro besin elementleri ile tampon çözeltisi	79
3.7.2. Anaerobik aşı çamuru ve aşı çamuru BMP değeri	80

3.7.3. Gaz kompozisyonu ve toplam gaz miktarının belirlenmesi	80
3.7.4. Metan miktarının hesaplanması.....	81
3.8. HP&HAc Ön Arıtma Sonrası Karakterizasyon.....	82
3.8.1. Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre FTIR analizi	82
3.8.2. Taramalı elektron mikroskobu TEM ile yüzey analizi	82
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	83
4.1. Dallı Darı Karakterizasyon Analiz Sonuçları	83
4.2. HP&HAc Ön arıtma Sonuçları.....	87
4.2.1. HP&HAc ön arıtmanın pH üzerine etkisi.....	87
4.2.2. HP&HAc ön arıtmanın ÇİndŞeker üzerine etkisi.....	90
4.2.3. HP&HAc ön arıtmanın çKOİ üzerine etkisi	94
4.2.4. HP&HAc ön arıtmanın inhibitör madde üzerine etkisi	97
4.2.5. HP&HAc ön arıtmanın yapısal karbonhidratlar üzerine etkisi.....	99
4.3. Etanol Fermantasyonu ve HP&HAc Ön arıtmanın Etanol Fermantasyonuna Etkisi.....	104
4.3.1. Etanol fermantasyonu için optimum enzim miktarının belirlenmesi	104
4.3.2. HP&HAc ön arıtmanın etanol fermantasyonuna etkisi	105
4.4. Metan Fermantasyonu ve HP&HAc Ön arıtmanın Metan Fermantasyonuna Etkisi.....	110
4.5. Model Verileri	114
4.6. Model Sonuçları	117
4.6.1. Çözülmüş indirgen şeker (çİndŞeker) model sonuçları	117
4.6.2. çKOİ model sonuçları.....	125
4.6.3. Etanol model sonuçları	132
4.6.4. Biyokimyasal metan potansiyeli model sonuçları	139
4.7. HP&HAc Ön arıtma Prosesinin Etanol ve Metan Üretimi için Optimizasyonu ve Validasyonu	146
4.8. HP&Ac Ön arıtmanın Dallı Darıya Etkisinin Belirlenmesi.....	151
4.8.1. HP&HAc ön arıtma sonrası elde edilen katı faz FTIR sonuçları	151
4.8.2. HP&HAc ön arıtma sonrasında elde edilen katı faz TEM sonuçları.....	155
5. SONUÇLAR	159
6. KAYNAKLAR	165
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Dallı Darı Bitkisinden Hidrojen Peroksit – Asetik Asit Ön arıtma Yöntemi İle Biyoyakıt Üretim Prosesinin Optimizasyonu” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

...../...../.....

İbrahim Alper BAŞAR



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µm	: Mikrometre
cm	: Santimetre
Dk	: Dakika
g	: Gram
kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
Kw	: Kilowatt
L	: Litre
m	: Metre
M	: Molarite
m ³	: Metreküp
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
Mtep	: Milyon ton eşdeğer petrol
N	: Normalite
R ²	: Determinasyon katsayısı
rpm	: Dakikada devir sayısı
sa	: Saat
w/v	: Birim hacimdeki kütle
w/w	: Ağırlıkça oran

Tez yazımında ondalık sayı ayırıcı olarak nokta (.) kullanılmıştır.

Kısaltmalar

AIL	: Asitte Çözünemeyen Lignin
ANOVA	: Varyans Analizi
ASL	: Asitte Çözünebilen Lignin
BMP	: Biyokimyasal Metan Potansiyeli
CELL	: Selüloz
CYG	: Cevap Yüzey Grafiği
CYY	: Cevap Yüzey Yöntemi
çKOİ	: Çözünmüş Kimyasal Oksijen İhtiyacı
çİndŞeker	: Çözünmüş İndirgen Şeker
EtOH	: Etanol
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
GC	: Gaz Kromatografisi
HAc	: Asetik Asit
HEMI	: Hemiselüloz
HMF	: Hidroksimetil Furfural
HP&HAc	: Hidrojen Peroksit – Asetik Asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
KG	: Kontur Grafiği
KM	: Katı Madde
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
LIGN	: Lignin
MKT	: Merkezi Kompozit Tasarım
ODTÜ	: Orta Doğu Teknik Üniversitesi
Pro	: Protein

SHF	: Ayrı zamanlı Şekerleşme – Fermantasyon
SOLU	: Çözünür Fraksiyon
SSF	: Eş zamanlı Şekerleşme – Fermantasyon
TIK	: Toplam İnorganik Karbon
TK	: Toplam Karbon
TKM	: Toplam Katı Madde
TKN	: Toplam Kjeldahl Azotu
TOK	: Toplam Organik Karbon
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UKM	: Uçucu Katı Madde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Dünyada kullanılan enerjinin kaynaklara göre dağılımı.....	3
Şekil 2.2. Dünya nüfus projeksiyonu.....	4
Şekil 2.3. Dünya fosil yakıt rezerv miktarları.....	4
Şekil 2.4. Türkiye’de kullanılan enerjinin üretim kaynakları	5
Şekil 2.5. 2016 yılı Türkiye’nin yenilenebilir enerji kaynaklarından elektrik üretimi dağılımı.....	7
Şekil 2.6. Lignoselülozik biyokütlenin yapısı ve içeriği.....	11
Şekil 2.7. Aralarında hidrojen bağı kuran selüloz zincirlerinin yapısı.....	12
Şekil 2.8. Hemiselüloz yapısı	12
Şekil 2.9. Lignin yapısı ve bileşimi.....	13
Şekil 2.10. Doğal ortamda yetişkin Dallı darı	14
Şekil 2.11. Dallı darı bitkisinin kök sistemi.....	15
Şekil 2.12. Hidrojen peroksit ve asetik asit reaksiyon denklemi.....	25
Şekil 2.13. Enzimlerin selüloz hidrolizindeki görevleri.....	38
Şekil 2.14. <i>Saccharomyces cerevisia</i> ’nın Embden – Meyerhof – Parnas metabolik yolu.....	42
Şekil 2.15. Anaerobik parçalanma aşamaları	46
Şekil 2.16. Asidojenlerin ve metanojenlerin elektron alış – veriş dengesi.....	48
Şekil 2.17. Cevap yüzey yönteminde (a) Cevap eğrisi (b) Cevap yüzeyi.....	51
Şekil 2.18. $k=3$ değişkene için MKT.....	52
Şekil 3.1. Shawnee türü Dallı darının öğütme ve eleme çalışmaları.....	55
Şekil 3.2. HPLC cihazı (Dionex Ultimate 3000) ve refraktif indeks dedektörü..	60
Şekil 3.3. HP&HAc ön arıtma sistemi.....	65
Şekil 3.4. a) Etanol üretim reaktörü; b) Etanol fermantasyonu.....	69

Şekil 3.5. Maya çoğaltma işleminde kullanılan maya reaktörü	72
Şekil 3.6. YPD agara farklı seyreltme oranlarında yapılan maya ekimi.....	72
Şekil 3.7. 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda brix değerinin zamana karşı değişimi.....	73
Şekil 3.8. 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda OD değerinin zamana karşı değişimi.....	74
Şekil 3.9. 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda hücre sayısının OD ve zamana karşı değişimi.....	75
Şekil 3.10. BMP reaktörü.....	78
Şekil 3.11. Biyogaz miktarı ölçüm düzeneği.....	80
Şekil 3.12. Gaz kompozisyonun belirlenmesi.....	81
Şekil 4.1. HP&HAc ön arıtma öncesinde ve sonrasında ölçülen pH değerleri.....	89
Şekil 4.2. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen çİndŞeker değerleri.....	91
Şekil 4.3. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin çİndŞeker değişim sonuçları.....	92
Şekil 4.4. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen ortalama çKOİ değerleri.....	95
Şekil 4.5. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin çKOİ değişim sonuçları.....	96
Şekil 4.6. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen asetik ve laktik asit konsantrasyonları.....	98
Şekil 4.7. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen HMF ve furfural konsantrasyonları.....	99
Şekil 4.8. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen ortalama yapısal karbonhidrat konsantrasyonları	101

Şekil 4.9. Dallı darıdaki toplam şekere göre HP&Ac ön arıtma sonrası sıvı kısımda ölçülen hidrolize edilebilen şeker yüzdesi.....	102
Şekil 4.10. Optimum selüloz ve β -glukozidaz enzim dozlarının belirlenmesi amacıyla yapılan eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon prosesinde ölçülen etanol değerleri.....	104
Şekil 4.11. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı kullanılarak üretilen etanol miktarları.....	106
Şekil 4.12. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin etanol değişim sonuçları.....	107
Şekil 4.13. Farklı HP&Ac ön arıtma proses koşullarında muamele edilen dallı darıdan üretilen L/tonTKM etanol miktarları ve ulaşılan teorik verim miktarları.....	109
Şekil 4.14. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen numuneler ile etanol üretiminden kalan fermantasyon ortamı ortalama BMP testi sonuçları	111
Şekil 4.15. Ham dallı darı numunesine göre farklı koşullarda HP&HAc ön arıtma uygulanan numunelerin BMP değerlerindeki değişimler.....	112
Şekil 4.16. Ölçülen çİndŞeker miktarlarına karşılık tahmin edilen çİndŞeker değerlerinin dağılımı.....	120
Şekil 4.17. çİndŞeker konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG).....	122
Şekil 4.18. Ölçülen çKOİ miktarlarına karşılık tahmin edilen çKOİ değerlerinin dağılımı.....	127
Şekil 4.19. çKOİ konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG).....	128
Şekil 4.20. Ölçülen etanol miktarlarına karşılık tahmin edilen etanol değerlerinin dağılımı.....	134
Şekil 4.21. Etanol konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG).....	136

Şekil 4.22. Ölçülen BMP miktarlarına karşılık tahmin edilen BMP değerlerinin dağılımı.....	142
Şekil 4.23. BMP miktarına ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG).....	143
Şekil 4.24. Ham dallı darı ve HP&AHc ön arıtmaya tabi tutulmuş dallı darı numunelerinin FTIR spektrumları.....	152
Şekil 4.25. TEM görüntüleri: Shawnee çeşidi ham dallı darı numunesi.....	157



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye enerji istatistikleri.....	6
Çizelge 2.2. Otsu ve odunsu lignoselülozik bitkilerdeki kütlece şeker miktarları.....	10
Çizelge 2.3. Farklı lignoselülozik biyokütlelerin selüloz, hemiselüloz ve lignin.....	11
Çizelge 2.4. Dallı darıdan biyoyakıt üretimini konu alan literatürdeki mevcut çalışmalar.....	16
Çizelge 2.5. HAc'nin özellikleri.....	26
Çizelge 2.6. KHP reaksiyonlarına katkı yaptığı bilinen veya katkı yaptığı tahmin edilen kimyasallar.....	29
Çizelge 2.7. KHP sistemlerde seçici reaksiyon türlerinin indirgenme potansiyelleri	29
Çizelge 2.8. Literatürde mevcut HP&HAc ön arıtma çalışmaları.....	31
Çizelge 2.9. Selüloz, hemiselüloz ve lignin'e etki eden enzimler ve enzimleri üreten mikroorganizmalar.....	37
Çizelge 2.10. Ana fermantasyon ürünü olarak etanol üreten bakteri türleri ve etanol üretme verimleri.....	40
Çizelge 2.11. Ana fermantasyon ürünü olarak etanol üreten maya türlerinin fermantasyon koşulları ve etanol üretme verimleri.....	41
Çizelge 2.12. Besin maddelerinin teorik biyogaz potansiyelleri.....	45
Çizelge 2.13. Uçucu yağ asitlerinin oksidasyonunda ve metanojenesiste meydana gelen standart Gibbs serbest enerji değişimi.....	48
Çizelge 2.14. Bazı tarım ürünlerinin biyokütle verimleri ve biyogaz üretim potansiyelleri.....	50
Çizelge 3.1. Yapısal karbonhidratların (Sellobiyoz, Glukoz, Ksiloz, Galaktoz, Arabinoz, Mannoz) ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları.....	59

Çizelge 3.2. Dallı darıya ait karakterizasyon analizlerinin yapılmasında kullanılan ekipmanlar.....	62
Çizelge 3.3. HP&HAc ön arıtma prosesinde kullanılan bağımsız değişkenler ve seviyeleri.....	63
Çizelge 3.4. Design Expert® programı tarafından önerilen cevap yüzey tasarımı deney setleri.....	64
Çizelge 3.5. İnhibitörlerin (HMF, Furfural, Asetik asit ve Laktik asit) ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları.....	67
Çizelge 3.6. Etanol fermantasyonu prosesinde kullanılan proses değişkenlerine ait değerler	70
Çizelge 3.7. Enzim dozlarının tespiti için Design Expert® tarafından önerilen deney setleri.....	76
Çizelge 3.8. Etanolün ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları.....	77
Çizelge 3.9. BMP testi için gerekli makro elementler ve konsantrasyonları....	79
Çizelge 3.10. BMP testi için gerekli mikro elementler ve konsantrasyonları...	80
Çizelge 4.1. Shawnee türü dallı darı karakterizasyon analiz sonuçları.....	84
Çizelge 4.2. Merkezi kompozit tasarım tarafından önerilen HP&HAc ön arıtma deneyleri ve bağımlı değişkenlere ait sonuçlar.....	115
Çizelge 4.3. çİndŞeker modeli ANOVA testi sonuçları.....	117
Çizelge 4.4. çİndŞeker modeli istatistiksel analiz sonuçları.....	118
Çizelge 4.5. çKOİ modeli ANOVA testi sonuçları.....	125
Çizelge 4.6. çKOİ modeli istatistiksel analiz sonuçları.....	125
Çizelge 4.7. Etanol modeli ANOVA testi sonuçları.....	132
Çizelge 4.8. Etanol modeli istatistiksel analiz sonuçları.....	132
Çizelge 4.9. BMP modeli ANOVA testi sonuçları.....	140
Çizelge 4.10. BMP modeli istatistiksel analiz sonuçları.....	140

Çizelge 4.11. Maksimum biyoyakıt üretimi için incelenen optimizasyon koşulları, seçilen optimizasyon koşulları ve çözümleri.....	148
Çizelge 4.12. Maliyet optimizasyonu için incelenen optimizasyon koşulları, seçilen optimizasyon koşulları ve çözümleri.....	149
Çizelge 4.13. Maksimum biyoyakıt üretimi için önerilen optimizasyon koşulunda yapılan validasyon deney sonuçları.....	150
Çizelge 4.14. Minimum maliyetle maksimum biyoyakıt üretimi için önerilen proses optimizasyon koşulunda yapılan validasyon deney sonuçları.....	150
Çizelge 4.17. FTIR spektrumlarında görülen değişimlerin anlamları.....	153
Çizelge 5.1. Bağımlı değişkenlere ait modeller ve modeller için hesaplanan R^2 ve Adj- R^2 değerleri	161
Çizelge 5.2. HP&HAc ön arıtma proses optimizasyonunda öngörülen ve validasyon deneylerinde ölçülen değerler.....	162

1. GİRİŞ

Günümüzde hızla artan Dünya nüfusu ve yüksek nüfuslu ülkelerdeki orta gelir seviyesine yükselen kişi sayısı enerjiye olan ihtiyacımızı da kaçınılmaz bir şekilde artırmaktadır. Ürettiğimiz enerjinin büyük bir bölümünün kaynağı olan fosil yakıtların 80 yıl içinde biteceği düşünülmektedir. Fosil yakıtlarının kullanım alanları incelendiğinde büyük bir payın sanayi ve ulaşım sektörlerine ait olduğu görülmektedir. Fosil yakıtlara bağlı olan sanayi ve teknolojiye, fosil yakıt kullanımından kısa vadede vazgeçilemeyeceği için fosil yakıtların yerine geçebilecek alternatif yakıtlar araştırılmaya başlanmıştır. Fosil yakıtların aksine yenilenebilir enerji kaynaklarının her ülkenin ulaşabileceği enerji kaynağı olması ve enerjinin stratejik olarak büyük önem taşıması yakın zamanda tüm Dünya ülkelerinde yenilenebilir enerji kaynakları konusundaki yatırım ve araştırmaların artacağını göstermektedir.

Son yıllarda teknolojinin ilerleyişi, rüzgâr, güneş, jeotermal, hidrolik gibi yenilenebilir enerji kaynaklarından daha verimli bir şekilde yararlanılmasını sağlamış olsa da bu enerji kaynakları sanayi ve ulaşımında kullanılan fosil yakıtların alternatifi olamamışlardır. Bu alternatif enerji kaynağı arayışında, biyoyakıt üretiminde büyük bir potansiyele sahip olan biyokütle enerjisi öne çıkmaktadır. Özellikle lignoselülozik biyokütlerde bulunan, şekerden oluşan ve dünyada en çok bulunan ilk iki biyopolimer olan selüloz ve hemiselülozun biyoyakıt üretiminde var olan potansiyelini açığa çıkarmak, fosil yakıtlara olan bağımlılığın azaltılmasında alternatif olabilecektir. Lignoselülozik biyokütle üzerinde yapılan araştırmalarda; termokimyasal, kimyasal, fiziksel, biyolojik veya kombine proseslerle fosil yakıtlara alternatif olabilecek yakıtların (biyometanol, biyoetanol, biyobütanol, biyodimetileter, biyometan, biyohidrojen ve sıvı yakıt teknolojisi ürünleri (BTL Ürünleri: Fischer - Tropsch Motorini ve Fischer - Tropsch Benzini) gibi ikinci nesil biyoyakıtlar) üretilebileceği bulunmuştur. Lignoselülozik biyokütlenin yapısını oluşturan hemiselüloz ve selüloz hidrolize edilerek C₅ ve C₆ şekerler elde edilebilmekte ve bu şekerler biyokimyasallara ve biyoyakıtlara dönüştürülebilmektedir. Ayrıca, biyokütleden üretilen yakıtlar sera gazı emisyonlarının azaltılması, geleneksel enerji kaynaklarının yerine geçmesi ve kırsal kesime ekonomik katkı sağlanması konusunda büyük potansiyele de sahiptirler. Biyokütleden enerji üretimi, özellikle Türkiye gibi enerji konusunda dışa bağımlı olan ülkelerin kendi enerjilerini üretmelerine olanak sağlayarak ve stratejik önemi her geçen gün artan enerji konusunda kendi kendilerine yetmelerini sağlayacaktır.

Biyoyakıt üretiminde kullanılacak hammaddenin kolay işlenebilmesi, ucuz olması ve üretim prosesinin ekonomik olması gerekmektedir. Ayrıca, lignoselülozik kökenli enerji bitkilerinin kullanımı durumunda hasadın ardından materyalin uzun süre depolanabilir olması ve depolanma esnasında katı madde ve C₅-C₆ şeker kaybının az olması gerekmektedir. Bu özellikler açısından dallı darı (*Panicum virgatum L.*) enerji bitkileri içerisinde öne çıkmaktadır ve iklim kuşağı açısından ülkemiz coğrafyasında yetiştirilmeye elverişli bir bitkidir. Dallı darı orta - batı Amerika kökenli, dayanıklı, sıcak mevsim bitkisidir. Yüksek adaptasyon kabiliyeti, hasattan sonra bitkiyi tekrar büyüten kök sistemi, çevreye olan faydaları ve yüksek bir verimde yetiştirilebildiği için dallı darı biyoyakıt üretiminde aranan bir lignoselülozik kaynaktır. Çok yıllık bir bitki olan dallı darı her sene şeker yönünden zengin, yüksek miktarda lignoselülozik biyokütle sağladığı için birçok araştırmaya konu olmuş önemli bir enerji bitkisidir. Literatürde, enerji bitkisi

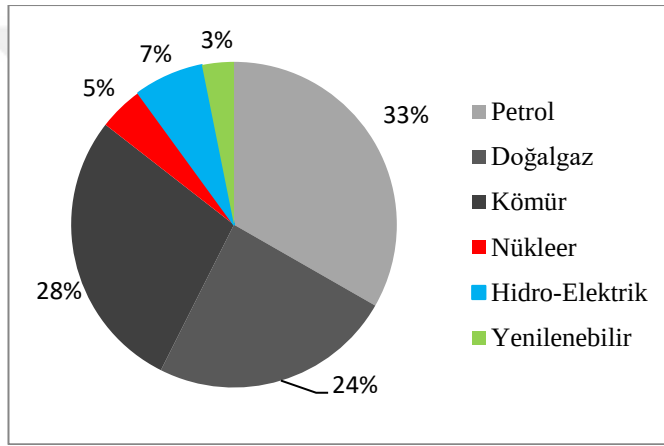
dallı darıdan biyoetanol ve/veya biyometan üretimi konusunda yapılan çalışmalara son yıllarda rastlanılmaya başlanılmıştır. Bu çalışmalar genel olarak, selüloz ve hemiselülozun geri kazanımı için ön arıtma proseslerinin geliştirilmesi ve optimizasyonu ile etanol ve metan fermantasyonu konularına odaklanmıştır. Lignoselülozik materyalden etanol üretimi halen ticari olarak uygulaması sınırlı olmakla birlikte bilimsel çalışmaların desteği ile geliştirilmeye çalışılan procestir. Bununla birlikte, lignoselülozik materyalden metan üretimi ticari olarak uygulanmaktadır.

Bu yüksek lisans tezinin amacı; enerji bitkisi dallı darıdan etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıtın minimum proses maliyeti ile maksimum miktarda üretiminin yapılması için entegre termokimyasal ve fermantasyon proseslerinin geliştirilmesidir. Bu kapsamda yüksek lisans tez çalışmasında öncelikle enerji bitki dallı darı karakterizasyonu yapılmış ve lignoselülozik yapısındaki C5 ve C6 şekerlerin açığa çıkarılabilmesi ve dallı darı'dan etanol ve metan üretim veriminin artırılması amacıyla dallı darıya hidrojen peroksit (H_2O_2) ve asetik asit (CH_3COOH - HAC) (HP&HAC) ön arıtma prosesi uygulanmış ve maksimum biyoyakıt üretimi açısından HP&HAC ön arıtma prosesinin optimizasyonu yapılmıştır. HP&HAC ön arıtma proses optimizasyonunda Cevap yüzey yöntemi (CYY), Merkezi kompozit tasarım (MKT) kullanılmıştır. HP&HAC ön arıtma prosesinin deneysel tasarımı Design Expert 7.1.5 programı ile yapılmıştır. HP&HAC ön arıtma prosesinde H_2O_2 miktarı, HAC miktarı, reaksiyon süresi ve reaksiyon sıcaklığı parametreleri kullanarak program tarafından önerilen ön arıtma koşullarına göre deneyler yapılmış, belirlenen cevap değişkenlerinin analiz sonuçları Design Expert programına aktarılmıştır. MKT deney tasarımında, cevap değişkeninin modellenmesi, önerilen modelin uygunluğunun test edilmesi için ANOVA testi uygulanmıştır. HP&HAC ön arıtma prosesi maksimum etanol ve metan üretimi ve minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi açısından optimize edilmiş ve optimum proses koşulları tespit edilmiştir. HP&HAC ön arıtma prosesi ile muamele edilen numuneler kullanarak eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon prosesi ile etanol üretim prosesi optimize edilmiş ve etanol üretilmiştir. Etanol üretimi sonrasında fermantasyon ortamı da dahil tüm atıklar kullanarak minimum atık stratejisi ile metan fermantasyonu yapılarak ikinci biyoyakıt metan üretimi yapılmıştır. Son olarak HP&HAC ön arıtma deneyleri sonrasında dallı darının yüzey özelliklerindeki değişiminin incelenebilmesi için Taramalı Elektron Mikroskop (TEM) ve bağ karakterizasyonunun değişiminin incelenebilmesi için Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

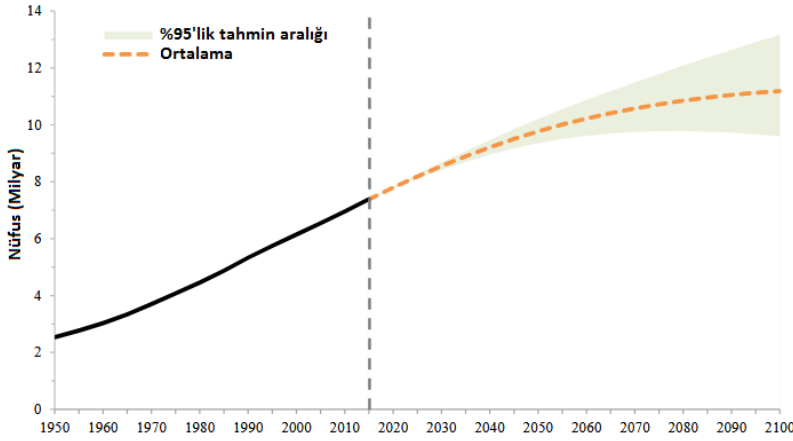
2.1. Dünya Enerji Dengesi ve Projeksiyonu

Günümüzde enerji, büyük ülkelerin dış politikalarını değiştiren, kaynaklara ulaşım için savaşlar çıkartılan ve artan nüfusa bağlı olarak giderek kullanımı artan önemli bir ihtiyaçtır. 2016 yılında Dünya’da 13276,3 milyon ton eşdeğer petrol (Mtep) enerji tüketilmiştir. Bu enerjinin kaynağı olarak ilk sırada 4418,2 Mtep ile petrol, ikinci sırada 3732,0 Mtep ile kömür ve üçüncü sırada 3204,1 Mtep ile doğalgaz kullanılmıştır. Fosil yakıtlar dışında 910,3 Mtep hidro-elektrik, 592,1 Mtep nükleer ve 419,6 Mtep yenilenebilir kaynaklardan enerji üretilmiştir. Şekil 2.1’de Dünya’da kullanılan enerjinin kaynaklara göre dağılımı verilmiştir. Şekil 2.1’den görüleceği üzere 2016 yılı içinde kullanılan enerjinin %85’i fosil yakıt kaynaklarından, %5’i nükleerden ve geri kalan %10’u ise yenilenebilir kaynaklardan üretilmiştir (BP 2017).



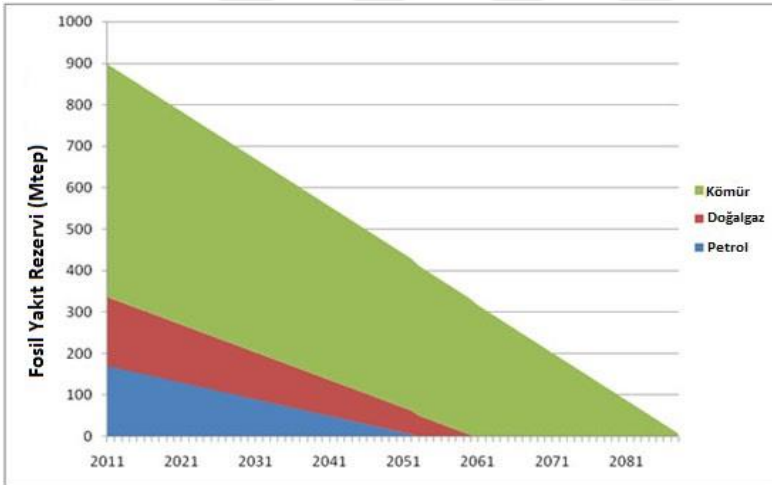
Şekil 2.1. Dünyada kullanılan enerjinin kaynaklara göre dağılımı

2005-2015 yılları arasındaki verilere göre her yıl kullanılan enerji miktarı bir önceki yıla göre %1,8 artmaktadır (BP 2017). Bu artışın başlıca nedenleri Dünya nüfusunun hızla artması ve yüksek nüfuslu ülkelerde düşük gelir düzeyinden orta gelir düzeyine yükselen insan sayısının fazla olmasıdır. Şekil 2.2.’de Dünya nüfus projeksiyonu tahmin eğrisi verilmiştir. 2017 yılında Dünya nüfusu 7550000 iken, bu rakamın 2100 yılında ortalama 11184000 olması beklenmektedir. Yapılan istatistik hesapları ile 2100 yılı itibari ile Dünya nüfusunun 9,6 ile 13,2 milyar arasında olacağı, 2100 sonrasında ise %27 ihtimal ile bu nüfus miktarının sabit kalacağı tahmin edilmektedir (UN-DESA 2017). 2016 yılı itibari ile dünya nüfusunun 3,2 milyarlık kısmı orta gelir düzeyinde yaşamaktadır. Önümüzdeki yıllarda orta gelir düzeyi nüfusunun ilk defa dünya çoğunluğunu oluşturacak şekilde artması beklenmektedir (Kharas 2017). Orta gelir düzeyine geçerek kırsal yaşamdan teknolojiye daha bağlı ve elektrikli cihazları daha çok kullandıkları bir yaşama geçen insanların elektrik ihtiyacına yaptıkları etkinin 2060 yılında iki katına çıkması beklenmektedir (World Energy Council 2016).



Şekil 2.2. Dünya nüfus projeksiyonu

Dünya enerji üretiminin büyük bir kısmı fosil yakıtlara bağlıdır. Bununla birlikte, fosil yakıtlar milyonlarca yılda oluştukları için sürdürülebilir bir enerji kaynağı değildirler. Şekil 2.3.'de dünya fosil yakıt rezerv miktarları verilmiştir. Enerji ihtiyacının %33'ünün karşılandığı petrol rezervlerinin 2052 yılında, %24'ünün karşılandığı doğalgaz rezervlerinin 2060 yılında ve %28'inin karşılandığı kömürün 2088 yılında biteceği öngörülmektedir (CIA 2016). Fosil yakıt kaynakları kullanımının çevreye zarar vermesi ve sürdürülebilir olmaması nedeni ile alternatif enerji kaynakları konusunda yapılan çalışmalar hızlanmıştır. Sürdürülebilirlik ön planda tutularak yapılan enerji kaynağı arayışı yenilenebilir enerji kavramının doğmasına neden olmuştur.



Şekil 2.3. Dünya fosil yakıt rezerv miktarları

Yenilenebilir enerji kaynakları başlıca rüzgâr, güneş, jeotermal, hidrolik, nükleer ve biyokütledir. Nükleer enerji üretimi riskli ve atık üreten bir enerji çeşidi olduğu için çevre koruma bilinci yüksek bir enerji çeşidi değildir. 2016 yılında dünyada yenilenebilir enerjinin 910,3 mtep hidroelektrikten, 592,1 mtep nükleerden ve 419,6 mtep diğer yenilenebilir kaynaklardan üretilmiştir. Son 10 yılda rüzgâr, güneş, jeotermal ve biyokütleden üretilen enerji miktarı %450 artmıştır ve yıllık olarak % 16,1 artmaya

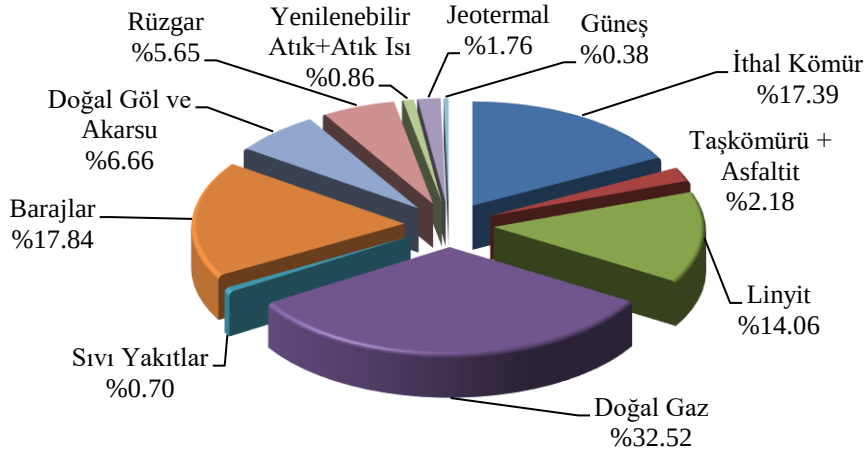
devam etmektedir. 2006 yılında biyokütleden üretilen biyoyakıt miktarı 24 mtep iken, 2016 yılında bu miktar 82 mtep'a yükselmiştir (BP 2017).

Kullanılan enerjinin tamamen yenilenebilir enerjiden karşılanması gerektiği yadsınamaz bir gerçek olduğu için yüksek gelir düzeyine sahip ülkeler politikalarını bu yönde şekillendirmişlerdir. Avrupa Birliği 2020 yılı sonunda enerjisinin tamamının %20'sini yenilenebilir kaynaklarından üretme hedefi koymuştur. Ayrıca, 2020 sonuna kadar ulaşımda kullanılan yakıtların %10'unu biyoyakıtlardan sağlamak da hedefleri arasındadır.

2.2. Türkiye’de Enerji Dengesi ve Projeksiyonu

Türkiye’de son yıllarda artan nüfus ve büyüyen endüstri nedeni ile enerji ihtiyacı yükselmektedir. 2017 yılında 80 milyona ulaşan nüfusun TÜİK’in 2013 yılında Çin Ulusal Nüfus ve Aile Planlama Komisyonu tarafından geliştirilen “PADIS-Int” yazılımı kullanarak yapmış olduğu nüfus projeksiyonuna göre 2050 itibarı ile 93,48 milyon olacağı hesaplanmıştır (TÜİK 2013). Nüfus artış hızı, büyüyen sanayi ve artan orta ve yüksek gelir düzeyine mensup insan sayısı düşünüldüğünde gelecekte Türkiye’nin enerji ihtiyacının da artacak olması kaçınılmazdır.

Kullanılan enerjinin %66,83’ünün fosil yakıtlardan sağlandığı ve petrol, doğalgaz ile kaliteli kömür bakımından fakir bir coğrafyada olduğu için Türkiye enerji konusunda dışarıya bağımlı bir ülkedir. 2016 yılı içerisinde 274407,7 GWh elektrik enerjisi tüketilmiş ve bu enerjinin %50,6’sı ithal kaynaklardan üretilmiştir. Şekil 4.2’de Türkiye’de kullanılan enerjinin üretim kaynakları verilmiştir. Üretilen enerjinin %32,52’si doğalgazdan, %33,63’ü kömürden, %24,5’i hidro-elektrikten, %8,65’i yenilenebilir kaynaklardan ve %0,7’si sıvı yakıtlardan elde edilmiştir. Türkiye enerji üretiminde kullandığı kömürün %17,39’unu ve doğalgazın %98’ini ithal etmektedir. İthal edilen doğalgazın, enerji üretiminin %32,52’sini oluşturması Türkiye için enerji sürekliliği konusunda bir risk ve ekonomik yük oluşturmaktadır (Özcan 2016). Bu sorunu aşmak için Türkiye çevre için riskli bir yol seçerek nükleer enerjiye yönelmiş ve 3 adet nükleer santralin inşaatına başlamıştır.



Şekil 2.4. Türkiye’de kullanılan enerjinin üretim kaynakları

BP'nin Dünya Enerji İstatistikleri 2017 raporuna göre Türkiye, dünyada kullanılan petrolde %0,9, doğalgazda %1,2, kömürde ise %1,0'lık bir paya sahiptir. Petrol kullanımında geçen yıla göre %5,6'lık bir artmış olmuştur ve yıllık ortalama %2,4'lük bir artış söz konusudur. 2016 yılı içerisinde Türkiye'de 272,7 terawatt elektrik tüketilmiş ve son on yılın tüketimi göz önüne alınarak yapılan hesap ile bu tüketimin yıllık ortalama %4,9 arttığı hesaplanmıştır (BP 2017).

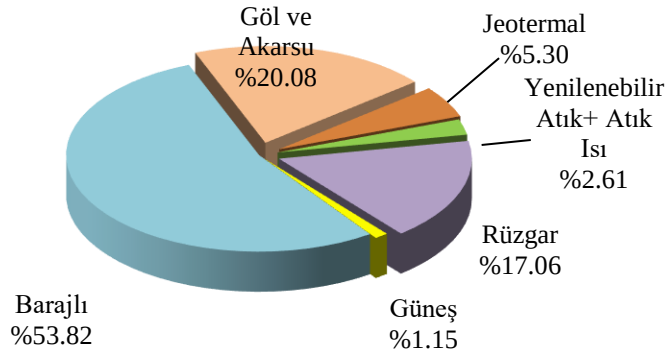
Çizelge 2.1. Türkiye enerji istatistikleri (T.C. Kalkınma Bakanlığı 2013)

	2006	2012	2013	2018
Birincil Enerji İhtiyacı (Mtep)	99,642	119,302	123,600	154,000
Elektrik Enerjisi İhtiyacı (GWh)	174,637	241,949	255,000	341,000
Kişi Başı Enerji İhtiyacı (tep)	1440	1590	1620	1920
Kişi Başı Elektrik Enerjisi İhtiyacı (kWh)	2517	3231	3351	4241
Enerji Üretiminde Doğalgazın Payı (%)	45.8	43.2	43.0	41.0
Enerji Üretiminde Yenilenebilir Enerjinin Payı (%)	25.3	27.0	27.7	29.0
Kurulu Güç (MW)	40,565	57,058	58,500	78,000

Çizelge 2.1.'de T.C. Kalkınma Bakanlığı tarafından hazırlanan Onuncu Kalkınma Raporu'na göre Türkiye enerji istatistikleri verilmiştir. Bu rapora göre, 2018 yılında birincil enerji ihtiyacının 2013 yılına göre %19,74 artacağı öngörülmektedir. Toplam enerji ihtiyacının sadece nüfus artışıyla değil kişi başına düşen tüketim ile de artacağı hesaplanmıştır. 2018 yılında 2013 yılına göre kişi başı enerji ihtiyacının %15,63 ve kişi başı elektrik enerjisi ihtiyacının ise %20,96 artacağı tespit edilmiştir. Enerji üretiminde en büyük paya sahip olan büyük ölçüde dışa bağımlılık yaratan ve ekonomik yük getiren doğalgazın toplam elektrik enerjisi üretimindeki payının 2018'de %41'e inmesi öngörülmüş ancak bu oran 2016 yılı itibarı ile %32,52'ye düşmüştür. 2018 yılında yenilenebilir enerjinin toplam elektrik enerjisindeki payının %29 olacağı öngörülmüş, 2016 itibarı ile bu oran %33,15'e yükselmiştir ve artmaya devam etmektedir. Doğalgaz kullanımının beklenilenden daha az olması ve yenilenebilir enerjinin beklenilenden daha hızlı şekilde fosil yakıtların yerine geçmesi Türkiye'nin enerji üretimi adına atılan adımların doğru olduğunu göstermektedir.

Türkiye 2016 yılında elektrik enerjisinin %33,2'sini yenilenebilir kaynaklardan üretmiştir. Şekil 2.5'de 2016 yılı Türkiye'nin yenilenebilir enerji kaynaklarından elektrik üretimi dağılımı verilmiştir. Bu üretimdeki en büyük pay toplam elektrik enerjisi üretiminin %25'ine karşılık gelen %73.9 ile hidro-elektrik enerji santrallerine aittir. Jeotermal, rüzgâr ve güneş kaynaklı enerji üretimi %23,51 olup toplam elektrik enerjisi üretiminin %7,8'ini karşılamıştır. Atıklardan ve diğer yenilenebilir kaynaklardan üretim ise toplam elektrik enerjisi üretiminin %0,8'dir (TEİAŞ 2017). Türkiye hidroelektrik kapasitesini tam olarak kullanmayı ve mevcut tesisleri daha verimli hale getirmeyi 2023 sonuna kadar gerçekleştirilecek yenilenebilir enerji yatırımlarını planlamıştır. Bu

yatırımlar ile hidro-elektrik enerji üretimi alanında 20000 MW'lık bir artış olacaktır (Özcan 2016).



Şekil 2.5. 2016 yılı Türkiye'nin yenilenebilir enerji kaynaklarından elektrik üretimi dağılımı

Yenilenebilir kaynaklardan enerji üretimi yönünde büyük yatırımlar yapan Türkiye 2016 yılında 10 adet jeotermal enerji santrali açarak 200 MW'lık üretimi devreye sokmuş ve toplam jeotermal enerji üretimini 13,5 GW'a çıkarmıştır. Bu yatırım 2016 yılında jeotermal enerji alanında %44'lük pay ile ülkeler arasında yapılan en büyük ikinci yatırımdır. Son artış ile Türkiye jeotermal ısı enerjisi üretiminde Çin'den sonra ikinci sıraya yerleşmiştir. Rüzgâr enerjisi alanında ise 2016 yılında yapılan en büyük yedinci yatırım 1,4 GW ile Türkiye'dedir (REN21 2017). Yenilenebilir enerji alanındaki hedefin 2023 yılı sonunda %30 olarak belirlendiği Türkiye'de 2017 Haziran ayı sonunda üretilen enerjide yenilenebilir payı %33,9'dur (TEİAŞ 2017). 2023 sonu hedefleri arasında biyokütleden elde edilen enerjinin 1 GW'a, güneşten üretilen enerjinin 5 GW'a ve rüzgârdan elde edilen enerjinin 20 GW'a ulaştırılması da vardır.

Yenilenebilir enerji konusunda Türkiye'nin eksik olduğu alan benzine ve dizele karıştırılacak yerli tarım ürünü kaynaklı biyoyakıt oranı konusunda bir planı olmamasıdır. Enerji Piyasası Düzenleme Kurumu (EPDK) tarafından belirlenen 16.06.2017 tarihli Benzin Türlerine Etanol Harmanlanması Hakkında Tebliğ'de yapılan değişiklikle mevcut durumda benzine %3 oranında biyoetanol eklemek (E3) ve 16.06.2017 tarihinde yayımlanan Motorin Türlerine Biyodizel Harmanlanması Hakkında Tebliğ'de dizele %0,5 oranında biyodizel eklemek (B0,5) zorunlu hale gelmiştir. Bu oranlar diğer gelişmiş ülkelerin belirlediği oranlara göre düşük kalmakta ve gelecekte yapılacak artış oranları için bir plan bulunmamaktadır.

2.3. Yenilenebilir Enerji Kaynakları

2.3.1. Rüzgâr enerjisi

Rüzgâr, güneşten gelen enerjinin havayı ısıtması, ısınan havanın yükselmesi ve yükselen havanın yerine soğuk havanın doldurması sürecince oluşan hava hareketliliğidir. Hava akımının taşıdığı enerji rüzgâr türbinleri ile mekanik enerjiye, mekanik enerji ise jeneratörler ile elektrik enerjisine çevrilmektedir. Rüzgâr enerjisi son yıllarda en hızlı büyüyen yenilenebilir enerji sektörlerinden biridir. Temiz, ucuz ve sürdürülebilir olmasının yanında enerjinin sürekliliğinin sağlanması problemi pil teknolojisinin

gelişmesi çözülmektedir. Rüzgâr enerjisinin dezavantajı türbinlerin gürültülü çalışması ve kuşların türbin kanatlarına çarpması sorunları teknolojinin ilerlemesi ve rüzgâr tarlalarının yerlerinin doğru seçilmesi yoluyla düzeltilmiştir (Makarieva vd. 2013).

2.3.2. Güneş enerjisi

Güneşte meydana gelen radyoaktif reaksiyonların ürünü olan fotonlar rüzgâr, hidrolik ve biyokütle enerjilerinin kaynağı olmakla birlikte çeşitli yollar ile elektrik enerjisine çevrilebilmektedirler. Teorik olarak toplama ve tedarik sistemleri tam kurulu olduğunda güneş enerjisi, tüm dünyanın enerji ihtiyacını karşılama potansiyeline sahiptir (Blaschke vd. 2013). Dünyaya yıllık yaklaşık 4 milyon egzajoule ($EJ = 10^{18} \text{ j}$) güneş enerjisi ulaşmaktadır ve bu enerjinin 50000 EJ'lük kısmının kolaylıkla ulaşılacağı ve toplanabileceği hesaplanmıştır (International Energy Agency 2012).

Güneş enerjisini toplamak için birçok değişik sistem mevcuttur. Bunlardan en yaygınları fotovoltaik paneller ve ev tipi güneş kolektörleridir. Fotovoltaik paneller ile güneş enerjisi elektrik enerjisine dönüştürülebilmektedir. Silikondan yapılan bu panellere çarpan fotonlar elektronları serbest bırakarak bir elektrik akımı oluşturmaktadırlar. Güneş enerjisi kolektörleri ise gelen ışınları kolektörün içinde hapsedmekte ve enerjiyi ısı enerjisi olarak suya aktarmaktadırlar. Solar kule sistemleri ve parabolik ayna sistemleri güneş enerjisini yoğunlaştırarak bir noktaya toplayan aynalar kullanılmaktadırlar. Yoğun güneş enerjisi ile ısıtılan su buharlaşarak jeneratör türbinini çevirmekte ve elektrik enerjisi elde edilmektedir. Güneşten elde edilen enerji termal tuz ünitelerinde depolanabilmektedir (Alghoul vd. 2005).

2.3.3. Jeotermal enerji

Jeotermal enerji, dünyanın çekirdeği ve kabuğu arasındaki sıcaklık farkından dolayı çekirdekten kabuğa doğru sürekli olarak akış halinde olan ısı enerjisidir. Bu enerji çekirdek ve kabuk sınırındaki sıcaklığı 4000°C 'ye kadar yükseltmektedir (Lay ve Buffett 2008). Bu sıcaklıkta eriyen kayalar etraflarındaki kayalardan daha az yoğun hale gelerek yüzeye doğru hareket etmektedirler ve ısı enerjisini yüzeye kadar ulaştırmaktadırlar. Jeotermal enerji, yeraltı suyunun 100°C üzerinde sıcaklığa sahip olduğu yerlerde buhar türbinleri yardımı ile elektrik enerjisine çevrilerek ya da direkt ısı enerjisi olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda gelişen teknoloji ile jeotermal enerji dünyanın birçok yerinde kullanılabilir hale gelmiştir. Doğal olarak jeotermal kapasitesi bulunmayan yerlerde suyun çok derinlere enjekte edilmesi ve geri pompalanması yolu ile jeotermal enerjiye ulaşılabilir (Self vd. 2013).

2.3.4. Hidrolik enerji

Hidrolik enerjiden, dalga enerjisi, gelgit enerjisi ve hidro enerji olarak üç farklı yol ile yenilenebilir ve sürdürülebilir enerji üretilmesi mümkündür. Dalga enerjisi rüzgârın ve diğer doğal olayların okyanuslarda meydana getirdiği dalgaların taşıdığı enerjidir ve özel türbinler yardımı ile elektrik enerjisine dönüştürmektedir. Gelgit enerjisi Ay'ın ve Güneş'in okyanuslarda meydana getirdiği su yükselme ve alçalmalarının taşıdığı enerjidir. Dünya üzerinde az sayıda noktada yararlanılabileceğinden yaygın hale gelmemiştir. Hidro enerji dünyada kullandığımız yenilenebilir enerji kaynakları

arasındaki en büyük paya sahiptir. Bu enerji, küresel su çevriminin su kaynaklarında buharlaşan suyu yüksek karasal bölgelere taşıırken suyun kazandığı potansiyel enerjidir. Barajlar yardımı ile veya direkt akarsu üzerine kurulan türbinler ile elektrik enerjisine çevrilebilmektedir (Awasthi vd. 2014).

2.3.5. Biyokütle enerjisi

Her türlü organik maddenin ve atığın direkt olarak yakılması ile veya termokimyasal ya da biyokimyasal proseslerle dönüştürüldüğü biyoyakıttan elde edilen enerjiye biyokütle enerjisi denilmektedir. Biyokütle enerjisinin kaynağı canlıların enerji kaynağı olan Güneş'tir. Dünyada her yıl yaklaşık $104,9 \times 10^{15}$ gram karbon biyokütle oluştuğu hesaplanmıştır (Field vd. 1998). Biyokütle enerjisinin geleneksel yöntemler ile bir enerji kaynağı olarak kullanılması çok eski tarihlere dayanmaktadır. Günümüzde diğer yenilenebilir enerji türlerinin ulaşımında kullandığımız yakıtların yerini tutamaması, lignoselülozik yapı ve bu yapıdaki şekerlerin açığa çıkarılması ile ilgili çalışmaların yoğunlaşması, biyokütleden yakıt üretirken kullanılan biyokimyasal proseslerin daha iyi anlaşılması ve modellenebilmesi yenilenebilir enerji kaynakları arasında biyokütle enerjisini ön plana çıkarmıştır. Yapılan çalışmalar ile her geçen gün biyokütleden daha verimli biyoyakıtlar üretilebilmektedir.

Lignoselülozik biyokütleden termokimyasal ve biyokimyasal dönüşüm teknolojileri ile elde edilen; biyometanol, biyoetanol, biyobütanol, biyodimetiler, biyometan, biyohidrojen ve sıvı yakıt teknolojisi ürünleri (BTL Ürünleri: Fischer-Tropsch Motorini ve Fischer-Tropsch Benzini) geleceğin yakıtları olarak tanımlanmaktadır (Bartacek vd. 2007; Lynd vd. 2008). Lignoselülozik biyokütlenin yapısını oluşturan hemiselüloz ve selüloz hidrolize edilerek C_5 ve C_6 şekerler elde edilebilmektedir. Elde edilen şekerler ise biyokimyasallara ve biyoyakıtlara dönüştürülebilmektedir (Zhang ve Wu 2014). Biyokütleden üretilen yakıtlar sera gazı emisyonlarının azaltılması, geleneksel enerji kaynaklarının yerine geçmesi ve kırsal kesime ekonomik katkı sağlanması konusunda büyük potansiyele de sahiptirler (Vamvuka vd. 2010). Günümüzde Amerika, Brezilya, Avrupa, Çin ve Kanada'da yakıt olarak kullanmak için yüksek miktarlarda etanol üretilmektedir. 2015 yılında dünyada 97,2 milyon m^3 biyoetanol üretilmiştir (RFA 2016). Ancak, bu üretimin büyük bölümünde şeker kamışı ve mısır gibi gıda amacıyla üretilen ham maddeler kullanılmıştır. Biyoyakıt üretimi için gıda kaynaklarının kullanımı, tarım alanlarının gıda ve biyoyakıt üretimi amacıyla ikiye bölünmesine ve gıda amacıyla yetiştirilen tarım ürünlerinin değiştirilmesi ikilemlerini ve tartışmalarını gündeme getirmiştir (HLPE 2015). Bu tartışmalar biyoyakıt üretiminin yönünü değiştirmiş ve enerji bitkileri kavramının doğmasına neden olmuştur. Enerji bitkileri, insanlar için besin değeri olmayan, yüksek oranda biyokütle sağlama kapasitesine sahip, şeker içeriği yüksek olan ve sadece biyoyakıt üretimi için yetiştirilen tarım ürünleridir.

Biyoyakıtlar üretildikleri biyokütlenin türüne göre birinci, ikinci ve üçüncü nesil olmak üzere sınıflandırılmaktadırlar. Birinci nesil biyoyakıtlar besin değeri olan tarım ürünlerinden üretilen biyoyakıtlardır. Buğday, arpa, mısır, patates veya şeker kamışından üretilen biyoetanol ve biyobütanol, kanola, soya, ayçiçeği, palmiye, hindistan cevizi yağlarından, atık yemeklik yağlardan ve hayvansal yağlardan üretilen biyodizel birinci nesil biyoyakıta örnektir (Rodionova vd. 2017). İkinci nesil biyoyakıtlar ise atıklardan ve

biyoyakıt üretimi için özel yetiştirilen tarım ürünlerinden üretilmektedir. Evsel katı atıktan, park bahçe atıklarından, nişasta, yağ veya şeker yönünden zengin enerji bitkilerinden (Jatropha, sorgum, ketencik, carinata vb.) veya lignoselülozik hammaddeden (Odunsu bitkiler, dallı darı, miscanthus, arundo, vb.) üretilen yakıtlar ikinci nesil biyoyakıtlara örnektir (Naik vd. 2010).

Lignoselülozik materyallerin termokimyasal yöntemler ile biyoyakıtlara dönüştürülmesi kolay ve ekonomik olmasına rağmen biyokimyasal olarak işlenebilmeleri için bir ön arıtma işlemine tabi tutularak yapılarındaki şekerin açığa çıkarılması gerekmektedir. Lignoselülozik materyallerin değişen karbonhidrat içerikleri Çizelge 2.2’de verilmiştir. Çizelge 2.2’den görüleceği üzere odunsu bitkilerde ksiloz ve glikoz yüksekken, otsu bitkilerde mannoz ve galaktoz daha yüksektir.

Çizelge 2.2. Otsu ve odunsu lignoselülozik bitkilerdeki kütlece şeker miktarları (Goldstein 1981)

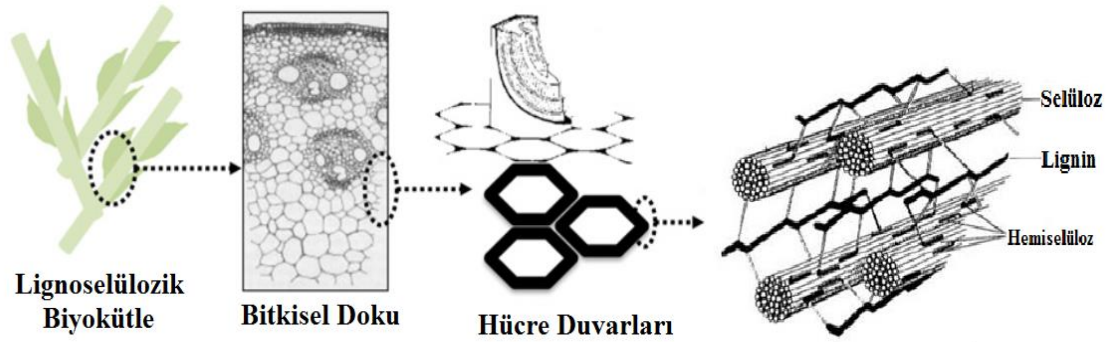
Şeker	Otsu Bitkiler	Odunsu Bitkiler
Glikoz (%)	61-65	55-73
Ksiloz (%)	9-13	20-39
Mannoz (%)	7-16	0.4-4
Galaktoz (%)	6-17	1-4
Arabinoz (%)	<3,5	<1

Biyokütleden üretilen yakıtların fosil yakıtlara göre politik, ekonomik ve çevresel avantajları mevcuttur. Dünya’da her ülkede fosil yakıtlar veya diğer önemli enerji kaynakları bulunmamaktadır. Ancak her ülkenin belirli bir tarım ve sanayi üretimi kapasitesi mevcuttur. Bu kapasitenin bir kısmı biyokütle enerjisine harcanır ise ülkelerin enerji güvenliği ve ekonomisi açısından büyük bir gelişme sağlanarak dışa bağımlılığın azalması söz konusu olabilecektir. Biyoyakıtların yanması sonucu fosil yakıtlara göre daha az sera gazı, CO₂, NO_x ve SO_x emisyonu meydana gelmektedir (Chang vd. 2017). Günümüzde artan nüfustan dolayı büyüyen şehirlerde yüksek miktarda fosil yakıt kullanılmakta ve kötü hava kalitesi insan sağlığını tehdit eder hale gelmektedir. Özellikle ulaşımda kullanılan fosil yakıtlar yerine biyoyakıtların ya da bu iki yakıt çeşidinin en düşük emisyon ürettiği oranda karıştırılarak kullanımı hava kirliliği sorununu azaltmaktadır.

2.4. Lignoselülozik Biyokütle

Kağıt, karton, kereste, tarımsal atıklar veya diğer bitkisel materyallerin oluşturduğu lignoselülozik biyokütle genel olarak çok yaygındır ve bol miktarda bulunmaktadır. Dünyada biyokütlenin %80’ini ormanlarda bulunan lignoselülozik biyokütledir (Demirbaş 2004). Tür, büyüme koşulları, doku ve hücre duvarı olgunluğu faktörlerinin değişimine göre lignoselülozik yapının yaklaşık kütlece %80’i karbonhidratlardan ve ligninden oluşmaktadır (Barakat vd. 2013) Bitki hücresi duvarı, polisakkaritlerin, yapısal proteinlerin ve fenolik bileşiklerin örgüsünden oluşan, dış streslere karşı hücreyi koruyan, hücreye yapısal ve mekanik destek veren bir dokudur. Kimyasal içeriği ve mekanik özelliği hücre zarını sadece kimyasal ve biyoyakıt üretimi için gerekli fermente edilebilen şekerler açısından zengin yapmakla kalmamakta, aynı

zamanda biyopolimer ve endüstriyel uygulamalar açısından da önemli bir kaynak haline getirmektedir (Guerriero vd. 2016).



Şekil 2.6. Lignoselülozik biyokütlenin yapısı ve içeriği

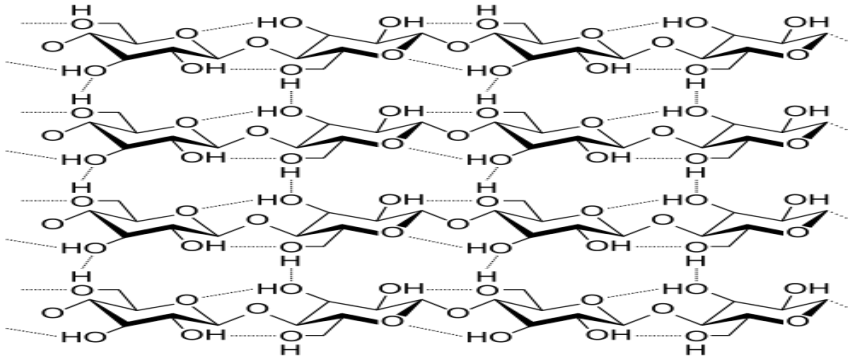
Bitki hücrelerinden meydana gelen biyokütle, hemiselüloz zincirleri tarafından sarılmış selüloz ve lignin matrislerinden oluşmaktadır (Klein vd. 2016). Selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşan bu yapı doğada dışarıdan gelecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilere karşı dayanıklı ve güçlü bir yapıya sahiptir. Bu üç bileşen her türde farklı oranlarda olabilmektedir. Çizelge 2.3'te farklı lignoselülozik biyokütlelerin selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri verilmiştir.

Çizelge 2.3. Farklı lignoselülozik biyokütlelerin selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri

Lignoselülozik Biyokütle	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)	Kaynak
Mısır sapı	34.45	27.55	21.81	(Ma vd. 2011)
Mısır bitkisi	36.3	31.4	17.2	(Saha vd. 2016)
Şeker kamışı küspesi	44	27	24	(de Souza vd. 2013)
Tatlı sorgum küspesi	36.9	17.8	19.5	(Umagiliyage vd. 2015)
Dallı darı	32	19.2	18.8	(Imam vd. 2012)
	33	36	20	(Da Silva Perez vd. 2015)
	31.1	25.2	16.8	(Carpenter vd. 2010)
Buğday samanı	38.7	19	17.3	(Valdez-Vazquez vd. 2015)
Pirinç samanı	35.8	21.5	24.4	(Imman vd. 2015)

2.4.1. Selüloz

Selüloz, $(C_6H_{10}O_5)_n$ formüllü bir polisakkarittir. Sayısı birkaç yüz ile binler arasında değişen D-glikoz moleküllerinin β -(1,4) bağı ile bağlanmasından meydana gelen organik bir bileşiktir (Crawford 1981; Updegraff 1969). Zincirde yan dallanma olmaması, -OH gruplarının van der Waals etkileşimi ve hidrojen bağı kurlmaları ile güçlüce birbirlerine bağlanmalarına olanak vererek uzun glikoz zincirleri sıkıca birleşmekte ve böylece çözünmez kristalin mikrofibriller oluşmaktadır. Selüloz doğada üst üste gelen tabakaların diziliş yapılarına göre I_α ve I_β adı verilen iki farklı kristalin yapıda bulunmaktadır. (Parthasarathi vd. 2011).

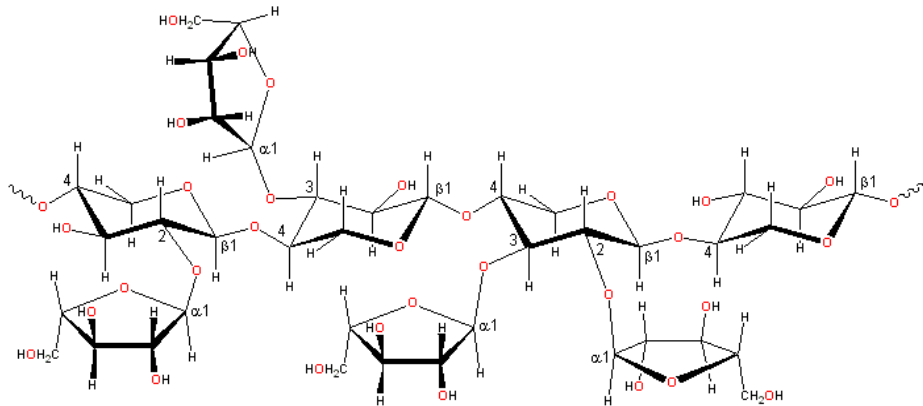


Şekil 2.7. Aralarında hidrojen bağı kuran selüloz zincirlerinin yapısı

Selüloz, hücre duvarına dayanıklılığını veren yapının iskeletini oluşturmaktadır. Yoğunluğu ve kompleks yapısı sayesinde selülozun kimyasal veya mekanik parçalanma dışında hidrolizi oldukça zordur. Yapısındaki glikozların arasındaki bağların kırılarak şekerin kullanılabilmesi için kimyasal veya enzimatik işlem uygulanmalıdır.

2.4.2. Hemiselüloz

Hemiselüloz değişik şeker monomerlerinin meydana getirdiği, kısa ve dallanmış zincirlerden oluşan, tüm bitki hücre duvarlarının yapısında selüloz ve lignin ile birlikte bulunan (Barakat vd. 2013), temel olarak ksiloz, arabinoz, mannoz ve glikoz gibi karbonhidratların değişen oranlarda meydana getirdiği polisakkarittir. Amorf yapısına bağlı olarak selüloza göre daha az dayanıklıdır (Yu vd. 2017). Hemiselüloz lignin ve selüloz lifleri arasında bağlantı elemanı olarak görev yaparak selüloz – hemiselüloz – lignin yapısının bir arada durmasını sağlamaktadır (Watanabe 1989). Hemiselülozun polimerizasyon derecesi, selülozdan çok daha az bir değer olan 50-200 monomer aralığındadır (Li 2014).

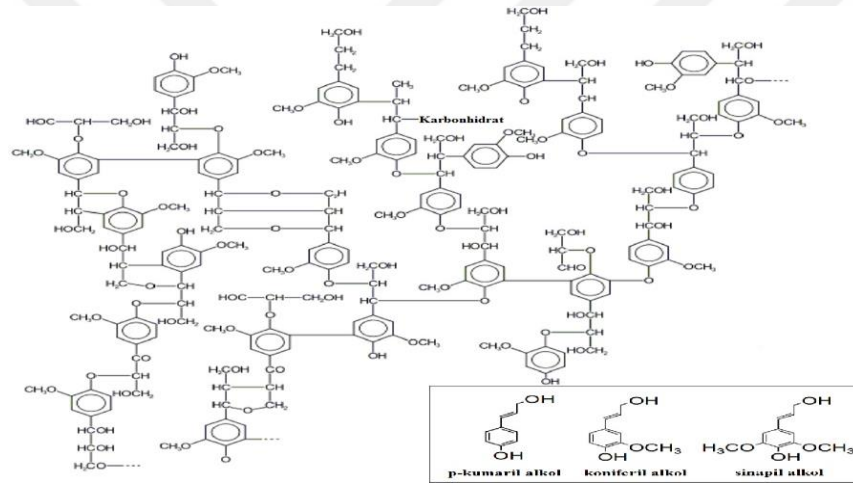


Şekil 2.8. Hemiselüloz yapısı

2.4.3. Lignin

Lignin, p-kumaril, koniferil ve sinapil fenil-propan alkollerinin bağlanması ile oluşan, amorf yapıda bir heteropolimerdir. Selülozdan sonra dünyada en bol bulunan ikinci organik bileşiktir. Ligninin içeriğindeki monomerlerin sayısı türe, dokuya, bitkinin yaşına ve yaşadığı ortama göre değişkenlik göstermektedir. Lignin yapısı Şekil 2.9’da verilmiştir. Lignin hücre duvarında çimento gibi görev yaparak hücrenin etrafını bir kabuk gibi sarmaktadır (Hamelinck vd. 2005).

Lignin kendisinden üretilen yan ürünler açısından önemli bir hammadde olsa da etanol üretimi açısından bakıldığında lignin prosesin önünde engel olarak kabul edilmektedir. Selülozun yapısındaki şekerlerin açığa çıkarılması için kullanılan enzimlerin selüloza ulaşabilmesi için lignini geçmeleri gerekmektedir. Bu yüzden etanol üretiminde hammadde olarak kullanılacak lignoselülozik materyallerin düşük lignin içeriğine sahip olması ya da materyalin delignifikasyon özelliği olan bir ön arıtma işleminden geçirilmesi gerekmektedir.



Şekil 2.9. Lignin yapısı ve bileşimi

2.5. Dalı Darı (*Panicum Virgatum L.*)

Dalı darı, bitkiler aleminden, damarlı, tohumlu, monokotil, buğdaygiller familyası üyesi ve darı cinsi olan *Panicum virgatum L.*'dir. Çok yıllık bir sıcak mevsim bitkisi olan dalı darı Mayıs ayı başlarında büyümeye başlayarak Temmuz ayında büyüme hızlanmakta ve sonbaharda kurumaktadır (Wright 2010). Kanada'da 55. enlemde güneyde Meksika'ya kadar olan bölge içinde, Kuzey Amerika'nın çayırlarında ve doğal otlaklarında baskın olan türlerden biridir. Ayrıca her sene şeker yönünden zengin, yüksek miktarda lignoselülozik biyokütle sağladığı için son on yılda Amerika'da yoğun olarak çalışılmış, dayanıklı, C-4 karbon tutulumu mekanizmasına sahip, sıcak iklimde yetişen potansiyel bir enerji bitkisidir (McLaughlin 2008). Yüksek adaptasyon kabiliyeti, hasattan sonra bitkiyi tekrar büyüten kök sistemi, çevreye olan faydaları ve 3,46 kg/m² gibi yüksek bir verimde yetiştirilebildiği için dalı darı biyoyakıt üretiminde aranan bir lignoselülozik kaynaktır (Keshwani 2009). Şekil 2.10'da doğal ortamda yetişkin bir dalı darı bitkisinin görüntüsü verilmiştir.



Şekil 2.10. Doğal ortamda yetişkin Dallı darı

Dallı darı 2.7 metreye kadar uzayabilen, dayanıklı, derin köklü ve rizom köklü bir bitkidir. Yaprakları orta damarı belirgin ve 30-90 cm boyundadır. C-4 karbon tutulum mekanizması kuraklık ve yüksek sıcaklık durumlarında dallı dariya avantaj sağlamaktadır (Slizer 2007). Çiçekleri genellikle 60 cm boyundadır ve bolca tohum bulunduran tam gelişmiş paniküller içermektedir. Tohumlar 3-6 mm uzunlukta, 1.5 mm genişlikte olup tek çiçekli başaklarda gelişmektedir. Tohumlar olgunlaştıklarında pembe veya donuk mor bir renk almaktadırlar ve sonbaharda bitki yaprakları ile altın kahverengiye dönüşmektedir. Hem çok yıllık hem de kendini tohumlayan bir bitki olduğu için çiftçilerin yıllık hasat zamanı yeni tohum ekmelerine gerek kalmamaktadır. Yetişkin hale gelen bir dallı darı 10 yıldan uzun yaşayabilmektedir (Secter 2006). Dallı darı türünün ova ve yayla olmak üzere belirgin 2 adet sitotipi bulunmaktadır. Sitotipler kloroplast DNA'larının polimorfizmleri incelenerek belirlenmiştir (Hultquist vd. 1996). Ova sitotipi bol su içeren toprakta daha iyi yetişirken, yayla sitotipi orta nem düzeyindeki toprakları tercih etmektedir. Bu iki tür, habitat ve klon boyutları dışında vejetatif organların morfolojisi açısından da değişim göstermektedir (Porter 1966). Ova sitotipindeki dallı darı bitkilerinin yayla sitotipindekilere göre kökleri, yaprakları, dalcikleri, panikülleri daha uzun, geniş ve kabadır (Fransen vd. 2006).

Dallı darı Kuzey Amerika gibi değişik iklimlerin ve koşulların bulunduğu büyük bir alana yayıldığı için Alamo, Blackwell, Brooklyn Bomaster, Caddo, Carthage, Cave-in-Rock, Central Iowa, Dacotah, Durham, Espresso, Forestburg, Hiawatha, High Tide, Grenville, Kanlow, Kansas Native, Long Island, Pathfinder, Shawneé, Shelter, Southlow Michigan, Summer, Sunburst, St. Croix, Stuart, Miami, Nebraska 28, NE Late, Trailblazer, Timber, Tusca ve Wabasso gibi her biri farklı özelliklere ve tolerans değerlerine sahip araştırmalara konu olmuş farklı çeşitleri mevcuttur. Ayrıca, dallı dariya farklı bölgelerde uzun kuşyemi otu, Wobsqua otu, kıvrık siyah, uzun çayırotu, yabani kızılbaş ve çatıotu isimleri de verilmiştir. Dallı darının belirgin bir genotip ve fenotip çeşitliliğine sahip birçok türü olmasının nedeni gen aktarımı, genetik kayma, mutasyon ve doğal seleksiyonun (Eberhart ve Newell 1959) enlem, boylam, toprak çeşidi, yağış miktarı gibi çevresel faktörler ile kombinasyonudur (Casler vd. 2007). Bu fiziksel ve kimyasal çeşitlilik dallı darı türlerinin birçok alanda kullanılabilmesine olanak vermektedir.

Yapılan araştırmalarda dallı darı bitkisinin polihidroksibütirat adı verilen biyobozunur bir plastik üretiminde kullanılabileceği bulunmuştur. Yapılan deneylerde kuru dallı darı yapraklarının ağırlıkça %3.7'sinin bu polimere dönüştürülebildiği kanıtlanmıştır (Somleva vd. 2008).

Dallı darı toprak koruyucu ve geliştirici olarak da tarımsal açıdan çok faydalı bir bitkidir. Dallı darının toprak üzerindeki uzunluğu kadar toprak altında da derin bir kök sistemi mevcuttur. Şekil 2.11.'de dallı darı bitkisinin kök sistemi görülmektedir. Bu derin kökler toprağın tutulmasını ve yüzeydeki organik zenginliğin kökün ulaştığı derinliğe inmesini sağlamaktadır. Kuzey Amerika'da bulunan ve mısır kemeri olarak adlandırılan bölgenin tarımsal verimliliğinin kaynağı dallı darı ve diğer derin kök yapısına sahip otların bu bölgeyi uzun yıllar boyunca zenginleştirmesidir. Dallı darı yetiştiği toprağı zenginleştirirken havadan aldığı karbonu kullanmakta ve bu yolla küresel ısınma etkisini azaltmaktadır. Yapılan bir çalışmada dallı darının toprağın 1 metre derinliğine kadar her yıl 1.1 ton karbon depoladığı bulunmuştur (Gebhart vd. 1994). Derin kök sistemi aynı zamanda dallı darının erozyon ve toprak kaymasını önlemede önemli bir bitki olmasını sağlamıştır.



Şekil 2.11. Dallı darı bitkisinin kök sistemi

Lignoselülozik yapıya sahip olan dallı darı birim alan başına verdiği yüksek biyokütle oranı ve bu biyokütlenin yüksek şeker içeriği hayvan yemi olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bitki tarlada kurutulup balyanarak ya da yeşil halde hasat edilip silajlanarak saklanabilmektedir. Büyükbaş hayvanlar için mükemmel bir yem olan dallı darı atlarda, koyunlarda ve keçilerde toksik etkiler göstermektedir. İçeriğindeki saponin bileşikleri bu hayvanlarda fotosensitiviteye ve karaciğer hasarlarına yol açmaktadır (Stegelmeier vd. 2004). Yem olarak kullanılmasının yanı sıra kuru haldeki dallı darı ahır ve kümes altı malzemesi olarak da kullanılmaktadır.

Enerji bitkileri kavramının doğması ile birlikte dallı darı bitkisi, çevresel etkilerinin yanı sıra yüksek biyokütle üretebilme kapasitesi, çok yıllık olması, iklimsel etkilere ve susuzluğa dayanıklı olması, yüksek adaptasyon kabiliyetine sahip olması, selüloz ve hemiselüloz içeriğinin yüksek olması ile ön plana çıkmıştır. Amerika Birleşik Devletleri Enerji Bakanlığı 1991 yılında dallı darıyı model enerji bitkisi ilan etmiş ve dallı darı için gelecek yıllarda yapılacak bilimsel araştırmaların yol haritasını çizmiştir (Wright ve Turhollow 2010). Model enerji bitkisi olarak seçildikten sonra dallı darı birçok araştırmaya konu olmuş, termo-kimyasal ve biyo-kimyasal olarak işlenebilirliği araştırılmıştır. Literatürdeki çalışmalarda ağırlıklı olarak dallı darıdan biyoetanol üretme potansiyeli araştırılsa da etanolün yanında biyogaz ve hidrojen üretimini ya da termokimyasal yollar ile piroliz yağı ve sentetik gaz üretimini araştıran çalışmalar da mevcuttur. Çizelge 2.4'te literatürde dallı darı kullanılarak biyoyakıt üretilen çalışmaların bazıları özetlenmiştir.

Çizelge 2.4. Dallı darıdan biyoyakıt üretimini konu alan literatürdeki mevcut çalışmalar

Çalışmanın Adı	Üretilen Biyoyakıt	Sonuç	Kaynak
Önarıtılmış Dallı Darı Kompozisyonu Üzerinde Hidrotermoliz Prosesinin Etkileri ve <i>Kluyveromyces marxianus</i> IMB4 Kullanılarak SSF ile Etanol Verimi	Biyoetanol	210°C’de 15 dk. yapılan ön arıtmanın ardından 45°C’de yapılan SSF’ten en yüksek 16.8 g/L etanol üretilmiştir.	Suryawati vd. 2009
Seyreltik Asit ile Önarıtılmış, Dondurularak Kurutulmuş Dallı Darının Sakkarifikasyonu ve Fermantasyonu	Biyoetanol	St6-3F türü dallı darıdan 0.083 g etanol/ham dallı darı verim elde edilmiştir.	Yang vd. 2009
Dallı Darıdan Lignoselülozik Etanol Üretiminde Öncü Olan Ön arıtma Teknolojilerinin Proses ve Teknoekonomik Analizi	Biyoetanol	SO ₂ ön arıtma prosesi teorik etanol veriminin %59.6’sını sağlayarak en verimli proses seçilmiştir. 282,49 L etanol/ton kuru dallı darı verime ulaşılmıştır.	Tao vd. 2011
Doğu Kanada’da Yetiştirilmiş Dallı Darı ve Yem Kanyaşının Metan Verimi	Biyogaz	Maksimum spesifik metan verimi 0.252 LCH ₄ /gUKM ve maksimum metan verimi 1350 m ³ CH ₄ /ha bulunmuştur.	Massé vd. 2011
Termotolerant <i>Kluyveromyces marxianus</i> IMB3 kullanılarak Kanlow Dallı Darının Eş zamanlı Şekerleşme ve Fermantasyonu: Enzim Yükleme ve Sıcaklığın ve Yüksek Katı Madde Yükleme Etkileri	Biyoetanol	En yüksek etanol miktarı fermantasyonun 168. saatinde 45°C’de 22.5 g/L olarak bulunmuştur. Teorik etanol veriminin %86’sına ulaşılmıştır.	Pessani vd. 2011
Dallı Darı ve Odun Talaşı Çeşitlerinin Biyoyakıt Üretimi İçin Atımlı Elektrik Alan ile Önarıtımı	Biyoyakıt	8 ve daha yüksek kV/cm alan kuvveti ile yapılan ön arıtmanın dallı darının porozitesini arttırdığı, enzimatik hidrolize daha açık hale getirdiği bulunmuştur. 2000 atımının optimum olduğu tespit edilmiştir.	Kumar vd. 2011
Mekanik, Kimyasal ve Enzimatik Ön arıtma Proseslerinin Dallı Darının Anaerobik Parçalanmasındaki Metan Verimine Etkisi	Biyogaz	Yaz aylarında hasat edilen dallı darıya pektinaz veya Mn peroksidaz + alkalinyasyon ön arıtma uygulanmıştır. Maksimum spesifik metan verimi 287-298 mLCH ₄ /gUKM bulunmuştur.	Frigon vd. 2012
Tennessee’de Selülozik Kaynaklardan Etanol Üretiminin Ekonomik Rekabeti	Biyoetanol	1 litre dallı darı kaynaklı etanol üretimi için kullanılacak hammadde masrafı 0.14-0.21 \$ olarak hesaplanmıştır. Dallı darıdan etanol üretiminin toplam maliyeti 0.40-0.47 \$/L olarak bulunmuştur.	Bansal vd. 2013

Çizelge 2.4.'ün devamı

Çalışmanın Adı	Üretilen Biyoyakıt	Sonuç	Kaynak
Kömürleştirme ve Yoğunlaştırma ile Önerilmiş Dalı Darının Gazifikasyon Performansı	Sentetik Gaz	En verimli koşul kombine kömürleştirme ve yoğunlaştırma sonrası gazifikasyon ile elde edilmiştir. En iyi koşullarda sentetik gaz içeriği 0.03 kg H ₂ /kg biyokütle, 0.72 kg CO /kg biyokütle olarak bulunmuştur.	Sarkar vd. 2014
Kesikli Anaerobik Parçalanmada Mandıra Kaynaklı Gübre ve Dalı Darının Birlikte Anaerobik Parçalanmasının Metan Üretimine ve Bakteriyel Topluluğa Etkisi	Biyogaz	2:2 oranında gübre ve dalı darı karışımı, %8 katı madde miktarında 158.6 mLCH ₄ /UKM ile en yüksek verim elde edilmiştir.	Zheng vd. 2015
Dalı Darıdan Simultane Biyodizel ve Biyogaz Üretimi	Biyodizel ve Biyoetanol	Dalı darıdan simultane olarak biyodizel ve biyoetanol üreten sistem tasarlanmıştır. Biyodizel üretiminin verimi düşük bulunmuş, etanol üretimi tavsiye edilmiştir.	Martin ve Grossmann 2015
Dalı Darının Termofilik ve Mezofilik Katı Hal Anaerobik Parçalanmasında Sınırlı Miktarla Havaya Maruz Bırakılmanın Etkisi	Biyogaz	Havaya maruz kalmanın anaerobik parçalanmaya belirli bir etkisi bulunamamıştır. En yüksek metan üretimi termofilik koşullarda 102-145 LCH ₄ /kgUKM bulunmuştur.	Sheets vd. 2015
Biyoetanol ve Biyometan Üretiminde Mısır Bitkisine ve Dalı Darıya Uygulanan Ön arıtma Proseslerinin Karşılaştırılması	Biyoetanol ve Biyogaz	1000g Dalı darıdan 85.7 g etanol, 230 dm ³ biyometan üretilmiştir.	Papa vd. 2015
Buharla Patlatma Öncesi Kireçle Muamele Edilmiş Dalı Darıdan Kombine Etanol ve Metan Üretimi	Biyoetanol ve Biyogaz	En iyi koşullarda 33.5 g/L etanol, 226.4 NmL CH ₄ /g UKM, toplamda 8.3 kJ/g TKM biyoyakıt potansiyeli bulunmuştur.	Capecchi vd. 2016
Beyaz kül, Dalı darı ve Mısır Bitkisinin Pirolizinden Elde Edilen Enerji Taşıyıcılarının Karakterizasyonu – Biyokömür, Sentetik Gaz, Biyoyağ	Biyokömür, Sentetik Gaz, Biyoyağ	En yüksek enerji verimi 500°C'de yapılan piroliz işlemi sonucunda elde edilmiştir. Dalı darının %29.34'ü biyokömüre, %27.5'i biyoyağa dönüşmüştür ve 271.3 L gaz açığa çıkmıştır. 31.5 Mj/kg dalı darı enerji elde edilmiştir.	Chen vd. 2016

Çizelge 2.4.'ün devamı

Çalışmanın Adı	Üretilen Biyoyakıt	Sonuç	Kaynak
Metanol ve Biyodizel Üretimi İçin Alg – Dalı Darı Proseslerinin Optimal Entegrasyonu	Metanol ve Biyodizel	Üretilen metanol başına 1.27 kg CO ₂ kullanan ve yıllık 776 milyon litre biyoyakıt üreten tesis tasarlanmıştır.	Martín ve Grossmann 2016
Biyokömür ve Biyoyağ Özelliklerini İyileştirmek İçin Dalı Darıya Mikrodalga Destekli Katalitik Piroliz Uygulaması	Biyokömür ve Biyoyağ	Ham dalı darının yüzey alanı 0.33 m ² /g iken biyokömür dalı darının yüzey alanı 76.3 m ² /g olarak ölçülmüştür. Biyoyağın su oranı %22.7'den %15'e düşürülmüştür.	Mohamed vd. 2016
Enzimatik Hidroliz ile Şeker Eldesinde Hasat Zamanının ve Dalı Darı Türünün Etkisi	Biyoetanol	Hasat geciktikçe yapısal karbonhidrat oranının arttığı bulunmuştur. 500 g/kg olan yapısal karbonhidrat kış sonrası yapılan hasatta 570 g/kg olmuş, 229-372 km ² alandan yıllık 76 milyon litre etanol üretilebileceği hesaplanmıştır.	Serapiglia vd. 2017
Dalı Darının Biyodönüşümü: Verim, Maliyet ve Çevresel Etkiye Göre Öncü Bir Ön arıtma Seçeneğinin Tanımlanması	Biyoetanol	Metanol ile muamele en verimli ön arıtma olarak bulunmuş. En yüksek verim 340 g etanol/kg numune olarak tespit edilmiştir.	Smullen vd. 2017
Çin'deki Tarımsal Değeri Düşük Bölgelerde Dalı Darı Bazlı Biyoetanol Üretimi ve Potansiyel Çevresel Etkileri	Biyoetanol	Çin'de tarımsal değeri düşük 59 milyon hektar alan olduğu hesaplanmıştır. Bu alandan 22 milyon ton etanol üretilebileceği tespit edilmiştir.	Zhang vd. 2017
Dalı Darının Anaerobik Parçalanmasında Silolama ve Silaj Katkılarının Biyogaz Üretimine ve Mikrobiyal Topluluk Dinamiğine Etkileri	Biyogaz	En yüksek verim <i>Lactobacillus brevis</i> ve ksilanaz eklenerek 30 gün silolanan dalı darıdan 178.31 mL CH ₄ /gTKM üretilmesi ile elde edilmiştir.	Zhao vd. 2017
Dalı Darı ve Mikantus'un Subkritik Suda Mikrodalga Ön arıtma İle Çözünabilirliği ve Hidrojen Üretimi İçin Kullanımı	Hidrojen	Ön arıtma H ₂ verimini düşürmüştür. 10.88 cm ³ H ₂ /g ham numune üretilmiştir.	Irmak vd. 2018

2.6. Ön Arıtma Yöntemleri

Ön arıtma uygulamaları, selüloz, hemiselüloz ve lignin matriksinin supramoleküler yapısının değiştirilebilmesinin sağlaması ve lignoselülozik materyalin doğal bağ karakterinin bozulması ile enzimatik ve biyokimyasal uygulamalar için holoselülozları daha ulaşılabilir hale getirmektedir. Bu amaçla birçok ön arıtma prosesi geliştirilmiş ve denenmiştir (Kumar ve Wyman 2009; Mosier vd. 2005; Taherzadeh ve Karimi 2008). Ön arıtma proseslerinin iki ana amacı vardır. Bunlardan ilki lignoselülozik yapıdaki şekerlerin hidrolize edilmesi ve mikroorganizmalar tarafından ulaşılabilir hale gelmesini sağlamaktır. İkincisi ise enzimatik hidroliz uygulamaları öncesinde lignoselülozik materyalin yapısını daha gözenekli bir hale getirerek enzimin etki edeceği alanı artırmak ya da direkt olarak delignifikasyon ile lignini hidrolize ederek enzimin selüloz ve hemiselülozla daha verimli bir şekilde reaksiyona girmesini sağlamaktır (Kumar vd. 2011). Lignoselülozik yapılardaki şekerleri açığa çıkarmak için uygulanan bu prosesler fiziksel, kimyasal, termo – kimyasal ve biyolojik olarak dört ana grupta incelenmektedir.

2.6.1. Fiziksel ön arıtma yöntemleri

2.6.1.1. Mekanik parçalama

Mekanik parçalamanın amacı selüloz kristalinitesini azaltarak ulaşılabilirlik yüzey alanında artış ve polimerizasyon derecesinde azalma sağlamaktır (Sánchez ve Cardona 2008). Tek başına kullanımı verimsiz ve enerji açısından masraflı olduğu için genel olarak diğer ön arıtma proseslerinin öncesinde kullanılmaktadır. Boyutu küçültülen materyale kimyasalların ve enzimlerin ulaşımı kolaylaştığı için hidroliz verimi artmaktadır. Mekanik parçalama özellikle lignoselülozik ürünün kütle yoğunluğu çok düşük olduğu için taşınması öncesinde yapılarak taşıma masrafının düşürülmesi gerekmektedir (Bitra vd. 2009). Lignoselülozik materyalin mekanik parçalanmasında harcanacak enerji miktarı son partikül boyutuna ve tarımsal biyokütlenin karakteristiğine bağlıdır (Cadoche ve López 1989). Mekanik parçalamada delignifikasyon işlemi olmadığı için enzimatik hidroliz öncesinde tek ön arıtma yöntemi olarak kullanılması verimli değildir (Berlin vd. 2006).

2.6.1.2. Ultrases yöntemi (Sonikasyon)

Biyokütleyi de içeren sıvı içerisinden geçirilen yüksek frekanslı ultrases dalgaları aşınmaya yol açarak lignoselülozik yapının bozulmasına yol açmaktadır. Bu aşınmadan karbon – hidrojen arasındaki bağlar etkilenmektedir (Ur Rehman vd. 2012). Ultrases ön arıtma yönteminin lignoselülozik materyal üzerinde etkili olabilmesi için önemli olan proses faktörleri mevcuttur. Bu faktörlerden en etkilisi ultrases uygulama süresidir. Ultrases gücü, frekansı ve genliği ön arıtmadaki materyalin aşınma yoğunluğunu etkileyen diğer önemli faktörlerdir (Kandasamy vd. 2017). Yapılan araştırmalarda ultrases yönteminde 150 W üzerinde uygulanan gücün delignifikasyon verimini artırmadığı görülmüştür. Rehman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada şeker kamışı küspesine 22 kHz frekansta 100 W güçte 55°C’de 5-35 dakika uygulanan ultrases ön arıtma ile hemiselülozun ve ligninin %90 oranında ekstrakte edilebildiği bulunmuştur. (Ur Rehman vd. 2012).

2.6.1.3. Hidrodinamik kavitasyon

Hidrodinamik kavitasyon, sıvı ortamdaki lignoselülozik materyalin bir kesitten geçirilirken hızının ardı ardına azaltılıp yükseltilmesi sonucu azalıp artan sıvı basıncı neticesinde sıvı içerisinde hava baloncukları oluşturulmasına dayanmaktadır (Balasundaram ve Harrison 2006). Oluşan baloncukların yıkılması/patlamaşı o bölgede yüksek sıcaklığa ve basınca ulaşılmasına ve aynı zamanda organik yapının parçalanmasına sebep olan serbest radikallerin oluşmasına neden olmaktadır (Andreottola ve Foladori 2006; Balasundaram ve Harrison 2006). Hidrodinamik kavitasyonun uygulandığı materyal üzerindeki etkisi; sıvının yoğunluğu, akıştaki statik basınç ve sıvının hızı kullanılarak hesaplanan kavitasyon sayısı ile belirlenmektedir. Kavitasyon sayısı 1'den küçük ise hidrodinamik kavitasyonun etkili olduğundan söz edilebilmektedir. Saharan ve arkadaşları gerçekleştirdikleri çalışmada en verimli parçalama için kavitasyon sayısının 0.13-0.18 aralığında olması gerektiğini belirtmişlerdir (Saharan vd. 2013). Hidrodinamik kavitasyonun lignoselülozik materyal üzerindeki etkisi çalışmalarla kanıtlanmış olsa da tek başına kullanıldığında lignoselülozik materyallerin parçalanmasında yetersizdir. Bu nedenle hidrodinamik kavitasyon içeren çalışmalarda kavitasyon, genel olarak başka bir ön arıtma prosesi ile kombine ederek kullanılmaktadır (Şarc vd. 2017).

2.6.1.4. Atımlı elektrik alan

Atımlı elektrik alan termal olmayan, süresi birkaç mikrosaniye ve birkaç milisaniye, atım genliği 300 V/cm ve 20-30 kV/cm arasında değişen, özellikle hücre yapısındaki doku matriksleri üzerinde diğer ön arıtma yöntemleri kadar yıkıcı olmayan fiziksel bir ön arıtma yöntemidir (Weaver vd. 1996). İki elektrot arasına yerleştirilen numunenin elektrik atımları ile gözenekli bir yapıya gelmesi sağlanmaktadır. Bu işleme elektroporasyon adı verilmektedir. Hücre yapısındaki bileşikler daha küçük parçalara dönüştürmediği için bu bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Atımlı elektrik alan ön arıtma yönteminin verimi elektrik alanın gücüne ve toplam spesifik enerji girdisine bağlıdır (Pataro vd. 2014).

2.6.2. Kimyasal ön arıtma yöntemleri

2.6.2.1. Asit hidrolizi

Lignoselülozik materyal üzerinde yapılan kimyasal ön arıtma çalışmalarında en yaygın olarak kullanılan H_2SO_4 ile asit hidrolizi olmuştur (Mosier vd. 2005). Özellikle yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen asit hidrolizinde lignoselülozik yapıdaki hemiselüloz şekerlerinin yaklaşık %80-90'ının hidrolize edilebilmesi bu ön arıtma yönteminin tercih edilmesindeki sebeptir (Saha vd. 2005). Asit hidrolizinde yüksek sıcaklık ve düşük asit konsantrasyonu ile yapılan ön arıtmaya seyreltik asit hidrolizi, düşük sıcaklık ve yüksek asit konsantrasyonunda yapılan ön arıtmaya konsantre asit hidrolizi adı verilmektedir. Düşük sıcaklıkta gerçekleştirilen asit hidrolizi işletme maliyeti konusunda daha avantajlıdır. Bunun nedeni yüksek sıcaklıktaki asidin aşırı koroziv ve tehlikeli olmasından dolayı reaksiyonun gerçekleştirildiği reaktörün metal olmayan özel inşaat malzemesinden veya pahalı alaşımlardan yapılmasının gerekliliğidir. Yüksek verime karşın yatırım ve

işletme maliyetlerinin yüksekliği yüzünden ticari olarak yaygınlaşmamıştır (Sun vd. 2004; Wyman 1996).

2.6.2.2. Alkali hidroliz

Alkali hidroliz, lignoselülozik yapıyı NaOH, Ca(OH)₂ veya amonyak gibi bazik kimyasallar ile muamele ederek yapıdaki şekerleri hidrolize eden veya lignini parçalayarak numuneyi enzimatik hidrolize hazırlayan ön arıtma prosesidir. Alkali hidroliz sakkarifikasyonda keskin bir artış sağlamakla birlikte verimi geniş bir aralıkta olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda alkali ön arıtmanın tarım atıkları üzerinde odunsu biyokütleye göre daha etkili olduğu görülmüştür (Taherzadeh ve Karimi 2008). Asit ve oksidatif kimyasallar ile kıyaslandığında alkali ön arıtma, hemiselüloz polimerlerini parçalamadan lignin, selüloz ve hemiselüloz arasındaki ester bağlarının parçalamasında en etkili procestir (Gáspár vd. 2007). Alkali hidroliz ayrıca biyogaz fermentasyonu öncesinde bir ön arıtma olarak da kullanılmaktadır. Fermentasyon ortamında inhibisyona yol açabilecek kadar yağ veya fenolik bileşik var ise Ca(OH)₂ gibi bazik kimyasallar ile uygulanacak bir ön arıtma bu inhibisyona yol açan bileşiklerin parçalanmasını sağlamaktadır (Taherzadeh ve Karimi 2008).

2.6.2.3. İyonik sıvılar ile ön arıtma

İyonik sıvılar ile ön arıtma yöntemi, lignoselülozik biyokütlenin yüksek miktarda serbest iyon içeren bir sıvı içerisinde iyonlar yardımı ile parçalandığı ön arıtma prosesidir. Suda çözdürülen tuzların anyonlara ve katyonlara ayrılması ile elde edilen iyonik sıvılar ile oda sıcaklığında bile ön arıtma gerçekleştirebilmedir. İyonik sıvıların yüksek termal stabiliteye, yüksek polariteye ve düşük buhar basıncına sahip olması gibi avantajlı özellikleri mevcuttur (Zavrel vd. 2009). “Yeşil solvent” olarak kategorize edilen iyonik sıvıların bu özellikleri iyonik sıvıları kullanan tesis operatörlerinin kimyasalların %99’unu geri kazanabilmesini ve ön arıtma sırasında toksik ürün oluşmamasını sağlamaktadır. Bu özellikler bu solventlerin kimyasının lignoselülozik biyokütle üzerinde kullanılacak şekilde kolayca değiştirilebilmesine olanak vermiştir (Fu ve Mazza 2011). İyonik sıvılar lignini ve hemiselülozun bir kısmını çözerken çözünmeyen selüloz ve hemiselüloz biyoyakıt üretimi için kullanılabilir. Üretilen kimyasala veya biyoyakıta göre kullanılan bazı iyonik sıvılar lignoselülozik yapının tamamını hidrolize edebilecek kapasiteye sahiptirler (Brandt vd. 2013).

2.6.2.4. İnorganik tuzlar ile ön arıtma

İnorganik tuzlar ile ön arıtma, lignoselülozik biyokütlenin sıvı ortamda NaCl, KCl, CaCl₂, ZnCl₂, FeCl₃, MgCl₂, FeSO₄, FeCl₂, Fe₂(SO₄)₃ gibi inorganik tuzların katalizörlüğünde yüksek sıcaklıklarda yapısının bozulması prosesidir. Yapılan çalışmalarda lignoselülozik yapıya özellikle etanol fermentasyonu öncesinde uygulanan iyonik sıvılar ön arıtma prosesinin başarılı olduğunu göstermektedir (Kang vd. 2013). İnorganik tuzlar ile ilgili çalışmaların sonuçları incelendiğinde hidroliz veriminin, selüloz ve hemiselüloz dönüşüm oranlarının arttığı görülmektedir. İnorganik tuzlar, lignoselülozik biyokütle ön arıtma prosesleri arasında inorganik asitlerden daha az korozyif olmaları ve tuzların geri dönüşümü sağlanarak tekrar kullanılabilirliği nedeni ile daha çok tercih edilmektedirler (Liu vd. 2009). Bu ön arıtma yönteminde biyokütle

yapısına göre kullanılan inorganik tuzlar sülfat, fosfat, klorür veya kimyasal kompozisyon üzerinde etki yaratan diğer yapıda bulunabilmektedirler (Yu vd. 2011).

2.6.2.5. Organik solventler ile ön arıtma

Organik solventler ile ön arıtma lignoselülozik yapının etanol, metanol, aseton, etilen glikol veya fenol gibi organik solventler ile muamele edilme prosesidir. Organofilik evre sırasında toplanan lignini çözdükleri için toplu olarak organosolvasyon prosesleri olarak adlandırılmaktadırlar (Mabee vd. 2006). Bu ön arıtma ayırıcı bir proses olup lignoselülozik yapıyı kükürtten arınmış düşük moleküler ağırlıklı lignin fraksiyonu, sıvı formda hemiselüloz fraksiyonu ve yüksek saflıkta selüloz fraksiyonu olarak üç bölüme parçalamaktadır (Pan vd. 2005). Organik solventlerin etkisini artırmak için bu proses yüksek sıcaklıklarda uygulanmaktadır. İşletme sıcaklığını düşürmek veya delignifikasyon işleminin verimini artırmak için katalizör kullanılabilmektedir (Chum vd. 1985). Ön arıtmada kullanılan solventler proses sonunda damıtılarak tekrar kullanılmak üzere ayrıştırılmaktadırlar. Bu ayrıştırma ön arıtma sonrasında gerçekleşecek enzimatik hidroliz, fermentasyon veya parçalanma işlemlerini inhibe edebilecek kimyasalları da uzaklaştırmış olmaktadır (Sun ve Cheng 2002).

2.6.2.6. Oksidatif delignifikasyon

Oksidatif delignifikasyon yüksek güçte oksitleyici etkileri bulunan kimyasalların optimum koşullar oluşturularak lignoselülozik yapıdaki lignini oksitledikleri ön arıtma prosesidir. Araştırmalarda en çok kullanılan kimyasal H_2O_2 , en çok araştırılan koşulu ise alkali koşullardır. Alkali koşullardaki oksidatif ön arıtmaların otsu ve odunsu lignoselülozik biyokütleler üzerinde etkili olduğu yapılan çalışmalar ile ispatlanmıştır (Bhalla vd. 2016). Lignoselülozik biyokütlede H_2O_2 kullanımı ile ilgili son çalışmalarda delignifikasyon işlemi için asidik koşulların da uygun olduğu gözlenmiştir (Wi vd. 2015). H_2O_2 'in yanı sıra oksidatif işlemler için ıslak oksidasyon ve ozon ile oksidasyon prosesleri de araştırılmıştır. Islak oksidasyon biyokütlenin su ve hava (veya oksijen) ile $120^\circ C$ üzerindeki sıcaklıklarda 30 dakika muamele edilmesi prosesidir (Taherzadeh ve Karimi 2008). Bu ön arıtma metodu selülozu hem ligninden hem de hemiselülozdan ayırmak için etkili bir prosestir (Saha 2003).

2.6.3. Termo-kimyasal ön arıtma yöntemleri

2.6.3.1. Buharla patlatma

Bir oto-hidroliz prosesi olarak da adlandırılan buharla patlatma, literatürde lignoselülozun önartılmasında en çok uygulanan teknolojilerden birisidir (Mosier vd. 2005). Buharla patlatmanın amacı selülozu enzimatik hidrolize hazırlamak için hemiselülozu çözünür hale getirirken inhibitör oluşumunu da engellemektir. Proses, $160 - 260^\circ C$ aralığında lignoselülozik biyokütleyi birkaç saniye doygun yüksek basınçlı buhara maruz bırakıp aniden atmosferik basınca getirerek lignoselülozik yapının iç kısımlarına girmiş olan gaz halindeki su moleküllerinin sıvı hale gelmesi ve yapıyı parçalaması prensibi ile çalışmaktadır (Sun ve Cheng 2002). Buharla patlatma, mekanik işlemler ile kıyaslandığında düşük enerji harcaması, optimizasyon ve etkinlik için büyük potansiyele sahip olması, az miktarda kimyasal kullanılması, açığa çıkarılan karbonhidrat

şekerlerinin düşük miktarda seyrelmesi, geri dönüşüm veya herhangi çevresel bir maliyeti olmaması, daha az tehlikeli kimyasallar kullanılmasından dolayı çevresel etkisinin az olması ve değişik yapıdaki malzemelere uygulanabilmesi gibi birçok avantaja sahiptir (Mupondwa vd. 2017). Buharla patlatmanın en büyük dezavantajı ön arıtma uygulanan numune su ile karıştırıldığından numunenin yoğunluğunun azalmasıdır. Ayrıca, hidroliz ve fermentasyon öncesinde inhibisyona yol açmamak için fenolik asitlerin, pentozlardan meydana gelen furfuralın veya heksozlardan meydana gelen hidroksimetilfurfuralın yıkanarak uzaklaştırılması gerekmektedir (Palmqvist ve Hahn-Hägerdal 2000). Buharla patlatma prosesinin etkisini artırmak için H_2SO_4 veya NaOH gibi katalizörler kullanılabilir. Ancak, buharla patlatma koşulları seçilirken selülozun fiziksel ve kimyasal özelliklerini bozmayacak, aşırı parçalanmaya yol açmayacak koşullar seçilmelidir. Sert koşullarda uygulanan ön arıtma sonrasında lignoselülozun enzimatik hidrolizinde verimin azaldığı görülebilmektedir (Taherzadeh ve Karimi 2008).

2.6.3.2. Amonyak lif patlatma (AFEX)

Amonyak lif patlatma, lignoselülozik biyokütlenin periyodik olarak yüksek sıcaklık ve basınçtaki sıvı amonyağa maruz bırakıldıktan sonra hızlı bir şekilde basıncın düşürüldüğü alkali ve termokimyasal bir ön arıtma yöntemidir (Teymouri vd. 2005). AFEX ön arıtma ile yapılan çalışmalarda lignoselülozik biyokütleden yüksek verimle fermente edilebilen şeker eldesi konusunda bu yöntemin verimli ve ekonomik bir biyokütle ön arıtma yöntemi olduğu tespit edilmiştir (Eggeman ve Elander 2005). AFEX prosesindeki parametreler; amonyak yükleme miktarı, sıcaklık, su yükleme miktarı, düşülen basınç, süre ve ön arıtma sayısıdır (Holtzapfel vd. 1991). Bu prosesin sonunda sadece önarıtılmış katı numune elde edilirken buharla patlatma gibi diğer ön arıtma yöntemlerinde katı ve sıvının ayrılması için işlem gerektiren bulamaç haldeki çıktı elde edilmektedir. AFEX prosesinde selüloz ve hemiselüloz etkilenmeden kalırken, ligninin yapısı etkin bir şekilde değiştirilebilmekte ya da parçalanabilmektedir. Optimum koşullarda AFEX kendisinden sonra uygulanacak enzimatik hidrolizin verimini büyük ölçüde artırabilmektedir (Taherzadeh ve Karimi 2008). Ancak, literatürdeki araştırmalara göre AFEX prosesi otsu bitkiler gibi yüksek lignin içeren biyokütleler üzerinde çok etkili değildir (Mabee vd. 2006).

2.6.3.3. Karbondioksit ile patlatma

Buharla patlatma ve amonyak lif patlatma prosesine benzer bir ön arıtma prosesidir. Buharla patlatma metodunda ulaşılan reaksiyon sıcaklıklarının şekerin bir kısmını parçalaması ve yüksek sıcaklıklara ulaşmanın maliyetli olması nedeniyle ve AFEX metodunda kullanılan amonyağın maliyetli olması ve proses sonunda amonyağın tamamının geri dönüşümünün sağlanmasının zor olması nedeniyle bu ön arıtma yöntemlerindeki dezavantajları ortadan kaldıracak bir proses düşünülmüş ve karbondioksit patlatma prosesi önerilmiştir. Bu ön arıtma yöntemi buharla patlatmaya göre daha düşük reaksiyon sıcaklıklarında ve AFEX'e göre daha düşük maliyetli olarak uygulanabilmektedir (Zheng vd. 1995). Süperkritik karbondioksitin düşük maliyetinin yanı sıra toksik olmaması, yanıcı olmaması, karbondioksitin ekstraksiyon işleminden sonra kolayca geri kazanılabilmesi ve çevresel olarak kabul edilebilir olması gibi avantajları da mevcuttur (Zheng 1996). Süperkritik karbondioksit gaz benzeri kütle transfer özellikleri gösterirken sıvı benzeri çözücü etkiye sahiptir (Zheng vd. 1995).

2.6.3.4. Sıvı sıcak su ile ön arıtma

Sıvı sıcak su yöntemi lignoselülozik biyokütlenin yüksek sıcaklık ve basınçtaki suya maruz bırakıldığı hidrotermal bir prosestir. Sıvı sıcak su ön arıtmanın yanı sıra hidrotermal ön arıtma, hidrotermoliz, sıvı fraksinasyon, solvoliz ve aquasolv ön arıtma olarak da isimlendirilmektedir (Mosier vd. 2005). Buharla patlatma ve sıvı sıcak su ön arıtma arasındaki en temel fark proseste kullanılan suyun sıvı veya gaz halinde olmasıdır. Bu proseste 170 – 230°C sıcaklık ve 5 Mpa'dan büyük basınçlar kullanılmaktadır (Sánchez ve Cardona 2008). Yüksek basınç altındaki su biyokütlenin içine girerek selülozu hidrolize etmekte, hemiselülozu ve ligninin bir kısmını ise parçalamaktadır. Bu ön arıtma yönteminin en büyük avantajı kimyasal kullanılmaması ve korozyona karşı dayanıklı hidroliz reaktörü gerektirmemesidir. Lignoselülozik biyokütle ile sanayi ölçeğinde çalışılırken en çok enerji harcayan basamaklardan biri olan boyut küçültmenin sıvı sıcak su ön arıtma öncesinde uygulanması şart değildir. Buna ek olarak lignoselülozik biyokütleyle sıvı sıcak su ön arıtma uygulanması ile elde edilen hidrolizatın nötralizasyonu için daha az kimyasal kullanılmaktadır. Dolayısı ile hidrolizatta daha az nötralizasyon kalıntısı kimyasal bulunmaktadır (Taherzadeh ve Karimi 2008).

2.6.4. Biyolojik ön arıtma yöntemleri

Biyolojik ön arıtma lignoselülozik biyokütlerdeki hücre duvarı yapılarını yıkabilen enzimlere sahip doğal mikroorganizmalar yardımı ile gerçekleştirilmektedir. Bu mikroorganizmalar kahverengi, beyaz, yumuşak çürükçül mantarlardan ve bazı bakterilerden oluşmaktadır (Talebnia vd. 2010). Biyokütlenin hedeflenen bileşenine göre mikrororganizmanın spesifik çalışma modu ve parçalama karakteristiği değişmektedir. Kahverengi çürükçül mantar birincil olarak selülozu hedef alırken, beyaz ve yumuşak çürükçül mantarlar lignin parçalayan enzimleri ile (lignin peroksidazlar, polifenol oksidazlar, manganaza bağlı peroksidazlar ve lakkazlar) lignini ve selülozun bir kısmını parçalamada etkilidirler (Sánchez 2009). Düşük enerji ihtiyacı, kimyasal kullanılmaması ve doğal ortam koşullarında gerçekleşmesi biyolojik ön arıtmanın temel avantajlarındandır. Ancak, biyolojik ön arıtma proseslerin neredeyse tamamı çok uzun zaman dilimlerinde gerçekleştirilebilmektedir (Sun ve Cheng 2002).

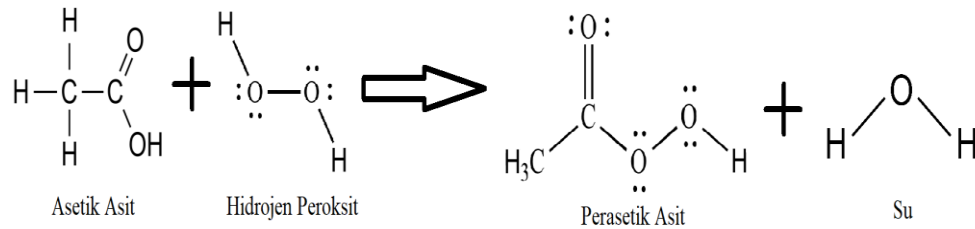
Ön arıtma sırasında maksimum enzim aktivitesine ulaşmak tüm çalışmalarda hedeflenen bir sonuçtur. Ancak enzimlerin birinin veya birçoğunun kısıtlayıcı etkisine bağlı olarak tek tür bakteriden veya mantardan lignoselülotik enzimatik bileşenleri üretmek mümkün değildir. Değişik türlerin aynı kültür ortamında büyümesi kompleks bir süreç olsa da mikrobiyal dünyanın iletişimini, ürettiklerini, adaptasyonlarını ve ön arıtma proseslerine yapabilecekleri faydaları anlamak için çalışmalar yapılmaktadır. Doğada yaygın olarak bulunan bu mikroorganizmaların biyopolimerlerin güçlü bağlarını kırabilme özellikleri tek tür için sınırlı seviyede iken, iki ya da daha fazla türün birlikte çalıştığı karışık kültürde daha verimli yapılabilmektedir (Brenner vd. 2008).

Bakteriler ve mantarların yanı sıra lignoselülozun biyolojik ön arıtımı için böcekler, solucanlar, karından bacaklılar ve geviş getiren hayvanlar gibi lignoselülozu parçalayabilen makroorganizmalar da kullanılabilmektedirler. Bu makroorganizmalar lignoselülozik biyokütleyi parçalarken mekanik, enzimatik, bağırsak florası yöntemlerini veya bunların kombinasyonlarını kullanmaktadırlar (Sharma vd. 2017).

2.7. Hidrojen Peroksit – Asetik Asit Ön arıtma (HP&Ac)

Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve asetik asit (CH_3COOH , HAc) ön arıtma prosesi delignifikasyon odaklı, asetik asidin gücü ile asidik ortamda açığa çıkan H_2O_2 radikallerinin kümülatif etkisini kullanan, yüksek sıcaklıklar ve uzun süreler gerektirmeyen bir lignoselülozik biyokütle ön arıtma prosesidir. HP&HAc ön arıtma yöntemi uzun süredir kağıt hamuru ve kağıt endüstrisinde lignin uzaklaştırma ve bitki liflerini izole etmede kullanılan etkili bir metottur (Franklin 1937). Genel olarak ligninin tamamına yakınının yok edilmesi gereken prosesler öncesinde kullanımı araştırılmıştır. Delignifikasyon etkisi %90'ın üzerinde olduğu için etanol üretimi için enzimatik hidroliz öncesinde kullanımı yüksek verimlidir. Basit olarak belirli oranda karıştırılan H_2O_2 ve CH_3COOH 'ten oluşturulan sıvı ortamda lignoselülozik biyokütlenin bekletilmesi ile lignin bağlarının hidrolizinin gerçekleşmesi prensibine dayanmaktadır (Wi vd. 2015).

Hidrojen peroksit ve asetik asit bir araya geldiğinde reaksiyona girerek yüksek derecede korozif ve oksitleyici olan perasetik asidi (peroksiasetik asit) oluşturmaktadırlar. Şekil 2.12'de hidrojen peroksit ve asetik asit reaksiyon denklemi verilmiştir. Perasetik asidin lignoselülozik biyokütle üzerinde kullanımı çevre dostu olmasının yanı sıra çok etkili bir yöntemdir. Perasetik asit, lignindeki aromatik halkayı oksidatif olarak parçalayarak karboksilik asitlere ve bunların laktonlarına çevirmektedir. Oksidasyon, fenolik kısımlarda mevcut orto veya para pozisyonlarının hidroksilasyonu ile veya para-yapıdaki grupların yer değiştirmesi ile başlamaktadır. Orto-hidroksilasyonu, önce orto-kinonlara dönüştürülen ve daha sonra mukonik asitleri oluşturmak üzere halka bölünmeye tabi tutulan katekolun oluşumuna yol açmaktadır. Para pozisyonlu bileşiklerin dağılması ise ilk olarak para-kinonlara, sonra ise maleik ve fumarik asitlere oksitlenen hidrokinonların oluşumuna yol açmaktadır (Tan vd. 2010).



Şekil 2.12. Hidrojen peroksit ve asetik asit reaksiyon denklemi

Fenolik yapıda olmayan lignin bileşikleri perasetik asite karşı stabildirler. Ancak, fenolik olmayan bu moleküller β -aryl eter bağı içeriyorlar ise perasetik asit bu bağı parçalayarak reaksiyon sonunda yeni fenolik yapıların oluşumuna neden olabilmektedir. Ayrıca, fenolik olmayan lignin birimlerinin demetoksilasyondan yola çıkılarak bulunan yeni fenolik fonksiyon yolu ile parçalanabilmektedir. Buna göre eterifiye olmuş guasil lignin birimlerinde aromatik halkanın C_3 pozisyonunda bulunan metoksil grubu koparak yeni bir fenolik yapı oluşturmakta ve bu kopma C_6 pozisyonunun da hidroksilasyonuna yol açmaktadır. Hidroksile olan ürünler, ileri reaksiyonlarda para-kinonlara dönüşmekte, en sonda ise halka yapı parçalanmaktadır. Eterifiye olmuş siringil lignin birimleri de bu yöntem ile daha yüksek bir verimde parçalanabilmektedir (Tan vd. 2010).

Biyoteknoloji alanındaki yeni araştırmalar, etanol üretiminde fermantasyonda kullanılan şekerin sadece C_6 -glikoz olması engelini ortadan kaldırmış ve C_5 -ksiloz

şekerlerinin kullanımına da olanak sağlamıştır (D'Aquino 2007). Lignin ve alt molekülleri enzimatik hidroliz etkinliğini kısıtladıkları için uygulanan ön arıtma sadece bu kısıtlayan molekülleri ortadan kaldıracak şekilde selektif olmalıdır. Ancak, perasetik asit ön arıtmada güçlü bir mineral asit katalizörlüğünde lignin etkin bir şekilde ortadan kaldırılırken mineral asit özellikle hemiselülozlar olmak üzere diğer karbonhidratların hidrolizini de katalize etmektedir. Hemiselüloz açısından zengin biyokütlelerde HP&HAc ön arıtma sırasında bu fraksiyon da parçalanacağı için proseste C₅ şekerleri açısından kayıp meydana gelecektir (Tan vd. 2010).

2.7.1. Asetik asit ve kimyasal özellikleri

Asetik asit, sistematik adı etanoik asit, kimyasal formülü CH₃COOH olan oda sıcaklığında renksiz bir sıvı halinde bulunan organik bileşiktir. Seyreltilmemiş hali kristal asetik asit olarak da adlandırılmaktadır. Yaygın olarak sirkede %4-12 oranında bulunmakta ve sudan sonra sirkenin içeriğinde en çok bulunan ikinci bileşiktir (Cheung vd. 2000). Asetik asit belirgin ekşi bir tada ve çok keskin bir kokuya sahiptir. Çözeltide kısmen ayrıştığı için zayıf asit olarak sınıflandırılmıştır. Ancak, konsantre haldeki asetik asit koroziftir ve deriyi yakabilecek kadar güçlüdür. Asetik asit formik asitten sonra ikinci en basit karboksilik asittir. Bunun nedeni karboksil grubuna sadece bir metil grubu bağlanması ile oluşmasıdır. Çizelge 2.5'de asetik asitin (HAc) özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.5. HAc'nin özellikleri

Asetik Asidin Özellikleri	
Kimyasal formül	C ₂ H ₄ O ₂
Molar kütle	60.05 g/mol
Yoğunluk	1.049 g cm ⁻³
Erime noktası	16.75°C
Kaynama noktası	117.9°C
Asitlik	4.77 pKa
Bazlık	9.24 pKb
Refraktif indeks	1.371
Viskozite	1.22 mPa s
Dipol momenti	1.74 D
Elektrik iletkenliği	112.0 pS/m

Sıvı haldeki kristal asetik asit kolay saflaştırılabildiği için genel olarak %1'den az su içerir ve saflığı %98'den fazladır. Su dışında saflığı bozan eser miktarda moleküller; asetaldehit, okside olmuş maddeler, demir ve klorürlerdir. Genel olarak asetik asitte renk görünür halde ise bunun nedeni içeriğinde etil asetoasetat olmasıdır. Civa klorürü indirgemesinden dolayı asetat kolaylıkla formik asit ile karıştırılabilmektedir. Kristal asetik asit yüksek derecede hidroskopiktir. Kütlece %0.1'lik su içermesi asetik asidin donma noktasını belirgin bir şekilde düşürmektedir. Bu nedenle donma noktasını ölçmek asetik asidin saflığını değerlendirmekte kullanılabilmektedir. Asetik asit, benzen, piridin ve dioksan gibi yaygın çözücüler ile azeotrop oluşturmakta ve su, etanol, aseton, benzen, eter ve karbon tetraklorür içinde tamamen çözünmektedir (Cheung vd. 2000).

Asetik aside dünya çapında olan talep yıllık 6.5 milyon tondur (Mt/a). Bu talebin yaklaşık 1.5 Mt/a'lık kısmı geri dönüşümden sağlanırken, geri kalanın büyük çoğunluğu metanol karbonilasyonu ile üretilmektedir. Seyreltik bir asetik asit cinsi olan sirke ise fermantasyon yolu ile veya etanolün kademeli oksidasyonu yolu ile elde edilmektedir. Endüstride metanol karbonilasyonu ile asetik asit üretme prosesi olarak 1913'te BASF tarafından bulunan yüksek sıcaklık ve yüksek basınç prosesi, 1960'ların sonunda rodyum iyodür katalizörlüğünde düşük basınçta, kobalt bazlı prosteden daha seçici ve yüksek verimli olan Monsanto prosesi, Monsanto prosesinin modifikasyonu olan 1980'lerde ortaya çıkan, rodyum katalizör sisteminde büyük gelişmeler sağlayan Celanase prosesi kullanılmaktadır (Le Berre vd. 2014).

Asetik asidin üretilmesinde en yaygın kullanılan ikinci proses doymuş hidrokarbonların direkt oksidasyonudur. Alifatik hidrokarbonların sıvı faz oksidasyonu dünya çapında kullanılan bir metot olsa da karboksilasyon teknolojisi daha verimli olduğu için tesisler tarafından sıvı faz oksidasyonu prosesi kullanımı azalmıştır. Proses seçimi mevcut hammaddenin türüne ve miktarına göre değişmektedir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'daki tesisler asetik asit üretirken ve bu prosteste n-bütan kullanırken, İngiltere'de faaliyet gösteren BP tesisi hafif nafta kullanmaktadır (Cheung vd. 2000). Asetik asit ayrıca asetaldehit prosesi ile, etilen prosesi ile, etan prosesi ile ve fermantasyon ile de üretilebilmektedir.

Asetik asit en çok vinil asetat monomeri üretmek için kullanılmaktadır. Bu üretim dünyada sanayi bazında her yıl üretilen asetik asidin %33'ünü kullanmaktadır (Cheung vd. 2000). Proses gaz fazında etilen ve asetik asidin paladyum katalizörlüğünde oksijen ile reaksiyona girmesi ile gerçekleşmektedir. Polivinil asetat endüstride boya ve yapıştırıcı üretiminde kullanılmaktadır (Günter 2012). Üretilen asetik asidin %15-20 kadarı asetik asidin esterlerinin elde edildiği proseslerde kullanılmaktadır (Malveda ve Funada 2003). Bu esterler başlıca metil asetat, etil asetat, propil asetat, bütül asetat, 2-etilhekzil asetat ve isobütül asetatdır. Asetatların uygulama alanları, kaynama noktası ve buharlaşma hızı gibi fiziksel özelliklerine bağlıdır. Bu yüzden, asetatlar özelliklerine göre kaplama, plastik çözücüsü, lak, reçine veya macun yapımında kullanılmaktadırlar (Cheung vd. 2000).

Asetik asidin diğer bir yaygın kullanım alanı ise asetik anhidrit üretimidir. İki molekül asetik asidin birleşmesinden bir su molekülü çıkması ile elde edilmektedir. Dünya çapında sanayi ölçeğinde üretilen asetik asidin yaklaşık %25'i bu prosteste kullanılmaktadır. Proses, asetik asidin 700-750°C'de dehidrasyonu ve ketenleri açığa çıkarmasının ardından bu ketenlerin tekrar asetik asit ile reaksiyona girmesiyle anhidritlerin oluşturulması yolu ile çalışmaktadır. Asetik anhidrit, asetilasyon kimyasalı olmasının yanı sıra selüloz asetat üretiminde, sentetik tekstil üretim prosesinde ve fotoğraf filmleri üretiminde kullanılmaktadır (Held vd. 2003). Kristal asetik asit çok güçlü bir polar protik solventtir. Genel olarak organik bileşiklerin saflaştırılmasında tekrar kristalleştirme işleminde solvent olarak kullanılmaktadır. Asetik asit polietilen terafitalat (PET) eldesinde hammadde olan terafitalik asidin (TPA) üretiminde solvent olarak da kullanılmaktadır. TPA üretimi dünya çapında kullanılan asetik asit miktarının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır (Malveda ve Funada 2003).

2.7.2. Hidrojen peroksit ve kimyasal özellikleri

Hidrojen peroksit, kimyasal formülü H_2O_2 olan, çevreci bir oksidant kabul edilen, kağıt hamuru ve kağıt beyazlatmada, su arıtmada, dezenfeksiyonda, tüketici ürünlerinin endüstriyel sentezinde kullanılan önemli bir organik bileşiktir (Pizzutilo vd. 2017). Genel olarak su ile karışık çözelti halinde bulunmaktadır ve bu çözelti renksizdir. Saf haldeki hidrojen peroksit ise çok açık mavi renklidir. Molar ağırlığı 34.0147 g/mol, %30'luk çözeltisinin yoğunluğu ise 1.11 g/cm³'tür. Erime noktası -0.42°C, kaynama noktası ise 150.2°C'dir (Gustaaf vd. 2012). Hidrojen peroksit genel olarak bir aktivatör veya katalizör ile kombine edilerek kullanılmaktadır. Bu şekilde kombine kullanılan hidrojen peroksit sistemleri katalize hidrojen peroksit (KHP) sistemleri olarak adlandırılmaktadırlar. Çevresel uygulamalarda KHP sistemleri organik kirliliklerin parçalanarak detoksifike edilmesinde kullanılmaktadır. Kullanım alanının ve tüketiminin artması hidrojen peroksit ile kullanılan katalizörlerin araştırılması sürecini hızlandırmış ve 1894'te Fenton prosesi bulunmuştur.

Fenton, Fe(II) tuzlarının katalizörlüğünde seyreltik hidrojen peroksitin hafif asidik koşullarda çok güçlü oksitleyici etkisi olduğunu bulmuştur. Suda çözülebilen Fe(II) tuzları ve hidrojen peroksit 3-5 pH'ta birleştiğinde hidroksil radikalleri açığa çıkarmaktadır. Bu reaksiyon Fenton prosesi olarak adlandırılmaktadır (Fenton 1894).

Hidrojen peroksitin reaksiyona girdiği maddeler üzerinde iki çeşit etki etme yolu vardır. Bunlardan ilki peroksitin direkt olarak reaksiyona girdiği madde ile elektron transferi gerçekleştirmesi yolu ile okside etmesidir. Oksidantı parçalayan bazı enzimler dışında hidrojen peroksit ve organik madde arasındaki bu direkt reaksiyon küçük çaplı gerçekleşmektedir (Petri vd. 2011). Hidrojen peroksitin yüksek düzeyde bir indirgenme potansiyeline sahip olması onu birçok organik bileşiği direkt olarak oksitleyebilen bir kimyasal olarak gösterse de bu reaksiyonların dikkate alınmayacak kadar yavaş oldukları düşünülmektedir. Bu yüzden KHP sistemlerde organik maddenin direkt oksidasyonunun işin temel kısmını yapmadığı görülmektedir (Watts ve Teel 2005).

Hidrojen peroksitin organik maddeleri parçalanmasında rol oynayan ikinci yol ise serbest radikaller ve açığa çıkardığı diğer reaktif kimyasallar vasıtası ile gerçekleşmektedir. Bu aşamada rol alan veya rol aldığı düşünülen birçok radikal ve reaktif kimyasal vardır. Bu radikaller hidrojen peroksit ve bazı katalizörlerin reaksiyonu ile açığa çıkmaktadır. Genel olarak KHP sistemlerindeki bu radikallerin varlığı ve önemi çok kısa ömürlü olduklarından dolayı (yarı ömürleri saniyelerle milisaniyeler arasında değişir) geleneksel direkt analitik metotlar ile miktarları veya varlıkları tespit edilemediği için ölçülememektedir (Petri ve ark. 2011). Çizelge 2.6'da hidrojen peroksitten ortaya çıktığı düşünülen radikallerin ve reaktif araçların bir özeti verilmiştir.

Çizelge 2.6. KHP reaksiyonlarına katkı yaptığı bilinen veya katkı yaptığı tahmin edilen kimyasallar (Petri vd. 2011)

Tür	Türün Formülü	Mevcut Olduğu pH	Rolü
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	pH < 11.6	Güçlü oksidant, zayıf indirgeyici
Hidroksil radikali	OH•	pH < 11.9	Güçlü oksidant
Süperoksit anyonu	O ₂ ^{•-}	pH > 4.8	Zayıf indirgeyici
Perhidroksil radikali	HO ₂ •	pH < 4.8	Güçlü oksidant
Hidroperoksit anyonu	HO ₂ ⁻	pH > 11.6	Zayıf oksidant, zayıf indirgeyici
Ferril iyonu [Fe(IV)]	FeO ²⁺	Bilinmiyor	Güçlü oksidant
Çözünmüş elektronlar	e ⁻ (aq)	pH > 7.85	Güçlü indirgeyici
Tekli oksijen	¹ O ₂	Bilinmiyor	Diel-alder ve ene reaksiyonlarına katılır
Atmosferik (Üçlü) oksijen	O ₂	Tüm pH'lar	Zayıf oksidant

Hidrojen peroksit reaksiyonlarında radikal üretim ve reaksiyon genel olarak pH'a bağlıdır. Örneğin zayıf asit veya zayıf baz olan bazı radikaller hidrojen iyonu kaybederler. Kaybettikleri hidrojen, bu radikallerin oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarının termodinamik özelliklerini belirleyen reaksiyon yollarını, reaksiyon mekanizmalarını ve standart indirgenme potansiyellerini etkilemektedir. Çizelge 2.7'de seçici yarı reaksiyonlar ve standart indirgenme potansiyelleri sunulmuştur (Petri vd. 2011).

Çizelge 2.7. KHP sistemlerde seçici reaksiyon türlerinin indirgenme potansiyelleri

Reaksiyon	Standart İndirgenme Potansiyeli E°	pH Aralığı	Kaynak
H ₂ O ₂ + 2H ⁺ + 2e ⁻ ↔ 2H ₂ O	1.776	Asidik	Lide vd. 2006
HO ₂ ⁻ + H ₂ O + 2e ⁻ ↔ 3OH ⁻	0.878	Bazik	Lide vd. 2006
OH• + H ⁺ + e ⁻ ↔ H ₂ O	2.59	Asidik	Bossmann vd. 1998
OH• + e ⁻ ↔ OH ⁻	1.64	Bazik	Bossmann vd. 1998
HO ₂ • + H ⁺ + e ⁻ ↔ H ₂ O ₂	1.495	Asidik	Lide vd. 2006
O ₂ + e ⁻ ↔ O ₂ ^{•-}	-0.33	Bazik	Afanas'ev 1989

HP&HAc ön arıtma prosesinde ortamdaki asetik asit pH'ı düşürerek H₂O₂'in perhidroksil radikallerini üretmesine neden olmaktadır. Perhidroksil radikali (HO₂•) hidrojen peroksitin 4.8'in altındaki pH değerlerinde H⁺ ve e⁻ vermesi ile oluşmaktadır. Perhidroksil radikali süperoksit anyonunun (O₂^{•-}) hidrojen kaybetmiş halidir. Bu radikal, pH 3'te gerçekleştirilen klasik Fenton sistemlerindeki gibi asidik koşullarda mevcut olan süperoksidin baskın formudur. Ancak nötr ve bazik KHP sistemlerinde süperoksit anyonu istenilen formdur (Petri vd. 2011). Perhidroksil radikali, güçlü oksidant olarak kabul edilmektedir ve hidrojen peroksit içeren zincir reaksiyonlarının önemli bir parçasıdır (Teel ve Watts 2002).

2.7.3. HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen lignoselülozik materyal ile ilgili literatürde mevcut çalışmalar

Literatürde lignoselülozik materyale hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma (HP&HAc) uygulanması ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. HP&HAc arıtma yönteminin yüksek delignifikasyon özelliği bu ön arıtma yöntemini etanol fermantasyonu öncesi enzimatik hidroliz uygulamaları için cazip kılmaktadır. Son yıllarda lignoselülozik kaynaklı etanol üretimi konusuna olan ilginin artması, gelecekte HP&HAc ön arıtma ile ilgili çalışma sayısının artacağını göstermektedir. HP&HAc ön arıtma ile ilgili yapılan literatür araştırması sonuçları Çizelge 2.8’de sunulmuştur.



Çizelge 2.8. Literatürde mevcut HP&HAc ön arıtma çalışmaları

Çalışmanın Amacı	Lignoselülozik Atık Materyal	H₂O₂ – CH₃COOH Ön Arıtma (HP&HAc) Koşulları	Elde Edilen Sonuç	Kaynak
Çam talaşının CH ₃ COOH - H ₂ O ₂ - Su – katalizör ile ön arıtımından sonra mikrodalga radyasyonu ile karboksimetilasyonu	Çam talaşı	5 gr çam talaşı %24,5 CH ₃ COOH, %6,4 H ₂ O ₂ , %2 H ₂ SO ₄ (veya amonyum molibdat) ve mikrodalga ile 1-3 dakika muamele edilmiştir.	En yüksek amonyum molibdat katalizörlüğünde 700 W mikrodalga gücünde %60 lignin giderimi sağlanmıştır.	Markin vd. 2013
Şeker kamışı küspesini enzimatik hidrolize hazırlamak için HP&HAc ön arıtma prosesi ile delignifikasyon	Şeker kamışı küspesi	%50-50 H ₂ O ₂ – CH ₃ COOH eklenmiştir. 5 gr katı numuneye 40 gr kimyasal eklenmiştir.	80°C’de 24 saat yapılan ön arıtmada %96,6 delignifikasyon sağlanmıştır.	Tan vd. 2010
HP&HAc ön arıtma prosesi kullanılarak şeker kamışı küspesinden ksilooligosakkaritlerin üretimi	Şeker kamışı küspesi	8,74 M CH ₃ COOH ile 21,6 M H ₂ O ₂ karıştırılmış ve 1:20 katı sıvı oranında çalışılmıştır.	60°C’de 48 saat gerçekleştirilen ön arıtmada %97,12 lignin giderimi sağlanmıştır.	Bragatto vd. 2013
Biyoetanol üretiminde lignoselülozik kompozisyonun ve yapının etkisi	Değişik türde kavak ağacı dalları	%50-50 H ₂ O ₂ – CH ₃ COOH ile 1:1 numune ve kimyasal oranında 75°C’de 3 saat ön arıtma yapılmıştır.	Numunelere üç farklı ön arıtma prosesi peş peşe uygulandığı için HP&HAc ön arıtma prosesine özel bir sonuç makalede verilmemiştir.	Duan vd. 2013

Çizelge 2.8.'in devamı

Çalışmanın Amacı	Lignoselülozik Atık Materyal	H ₂ O ₂ – CH ₃ COOH Ön Arıtma (HP&HAc) Koşulları	Elde Edilen Sonuç	Kaynak
Çeşitli lignoselülozik materyallerin biyokatalitik hidrolizi	Pirinç samanı Meşe odunu Çam odunu	50 mL CH ₃ COOH ile 50 mL H ₂ O ₂ karıştırılmış, 10 gr numune eklenerek 80°C'de 2 saat ön arıtma gerçekleştirilmiştir. Ön arıtma sonrasında katı ve sıvı ayrılarak katı kısım nötr pH'a gelene kadar yıkanmış ve etanol fermantasyonunda kullanılmıştır.	HP&HAc ön arıtma prosesi ile %97,2 delignifikasyon sağlanmıştır. En yüksek etanol üretimi 412 mL etanol/1 kg çam odunu olarak gerçekleşmiştir.	Wi vd. 2015
Yerelması sapından hidrojen peroksit – asetik asit (HP&HAc) ön arıtma yöntemi kullanılarak selülozik biyoetanol üretimi	Yerelması sapı	%50-50 hidrojen peroksit ve asetik asitten oluşan ortama katı madde %10 olacak şekilde yerelması sapı eklenmiş ve 80°C'de 3 saat ön arıtma gerçekleştirilmiştir. Elde edilen numune enzimatik hidroliz ve etanol fermantasyonunda kullanılmıştır.	HP&HAc ön arıtma sonrasında uygulanan enzimatik hidroliz ve etanol fermantasyonunda maksimum verim 106 g etanol/kg biyokütle olmuştur.	Song vd. 2016
Değişik ön arıtma yöntemleri kullanılarak yerfıstığı kabuğu enzimatik hidrolizatından izopren üretimi	Yerfıstığı kabuğu	10 gram yerfıstığı kabuğu 100 mL 1:1 oranda karıştırılmış asetik asit ve hidrojen peroksit içerisinde 80°C'de 3 saat muamele edilmiştir. Enzimler ile hidrolize edilen numune <i>E. Coli</i> kullanılarak izoprene dönüştürülmüştür.	HP&HAc ön arıtma hidrolizatından 211 mg/L, detoksifikasyon uygulanmış HP&HAc hidrolizatından ise 297.5 mg/L izopren üretilmiştir.	Wang vd. 2016

Markin vd. 2013, çam odununa katalizörlü (%2 sülfürik asit veya amonyum molibdat) hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma ve mikrodalga uyguladıktan sonra çamın karboksimetilasyonunu incelemişlerdir. Ön arıtmada 5 g çam talaşı için %24.5 asetik asit, %6.4 hidrojen peroksit ve %2 sülfürik asit içeren bir sıvı karışım kullanılmıştır. Sonuç olarak deneylerde mikrodalga uygulama süresinin sonuca etkisi istatistiksel olarak anlamsız, katalizör olarak amonyum molibdat kullanıldığında ön arıtma sonunda kalan katı miktarının %56-72 olduğu ve karboksimetil-selüloz'un polimerizasyon derecesi 580-880 aralığında bulunmuştur.

Tan vd. 2010, şeker kamışı küspesine hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtmanın sülfürik asit katalizörlüğünde ve katalizörsüz olarak etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada %30 hidrojen peroksit ve saf asetik asit 1:1 oranda karıştırılmış ve 8:1 sıvı katı oranına uygulanmıştır. Katalizör olarak %98'lik sülfürik asitten hacimce %0.5 kullanılmıştır. Ön arıtmada deney setleri oluşturulmuş ve delignifikasyon sonuçlarına göre regresyon analizi yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda HPAC ön arıtmanın katalizörsüz kullanıldığında 80°C'de 26.5 saatte %97.08 delignifikasyon sağladığı bulunmuştur. Ayrıca, ön arıtmadan sonra 138 FPU/g numune aktivitede egzoglukanaz kullanarak karbonhidratların %93.5'i hidrolize edilmiştir.

Bragatto vd. 2013, şeker küspesinde ikinci en çok bulunan biyopolimer ksilandan hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma ve ardından *Bacillus subtilis*'den elde edilen ksilanaz kullanarak ksilooligosakkaritlerin eldesini incelemişlerdir. Ön arıtma işlemi 8.74 molar asetik asit ile 21.6 molar hidrojen peroksitin 1:1 oranında karıştırılıp içerisine 1:20 katı-sıvı oranında olacak şekilde şeker kamışı küspesi eklenmesi ve 60°C'de 7, 15, 24, 48 saat inkübe edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yüksek lignin giderimi sağladığı vurgulanmıştır. Ön arıtma sonucunda 7, 15, 24 ve 48 saat için sırası ile %89.74, %96.12, %97.41, %97.12 lignin giderimi sağlanmıştır. Ayrıca bu ön arıtmanın uygulandığı materyalde şekerler ve hemiselüloz da azalmaktadır. Enzimatik hidroliz sonrası 7 saatlik ön arıtma için %100 oligomer ve %300 monomer artışı, 15 saatlik ön arıtma için %70 oligomer ve %200 monomer artışı, 24 saatlik ön arıtma için %40 oligomer ve %150 monomer artışı ve 48 saatlik ön arıtma için ise %35 oligomer ve %125 monomer artışı elde edilmiştir.

Duan vd. 2013, 4 farklı tür kavak dallarına NaOH ön arıtma, sülfürik asit katalizörlüğünde HPAC ön arıtma uygulamışlar ve ardından enzimatik hidroliz sonrasında etanol üretimini inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada boyutu küçültülen kavak dalları önce %10 NaOH ile 90°C'de 1.5 saat, 3:1 sıvı katı oranında muamele edilmiştir. NaOH ile ön arıtmanın ardından saf asetik asit, %30 hidrojen peroksit ve %1.5 sülfürik asitten hazırlanan sıvı ile 1:1 katı sıvı oranında, 75°C'de 3 saat ön arıtma uygulanmıştır. Ön arıtmadan ve enzimatik hidrolizden sonra en yüksek glikoz miktarı 18-1 kodlu kavak türünde 350 IU/g enzim miktarında ve 60. saatte 6 g/L olarak ölçülmüştür. En yüksek etanol miktarı ise yine aynı numunede 13 g etanol/kg numune olarak elde edilmiştir.

Wi vd. 2015, pirinç samanı, meşe odunu ve çam odununa hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma uygulayarak bu lignoselülozik materyallerin etanol potansiyellerini inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Boyutu küçültülen materyaller 1:1 oranında karıştırılmış asetik asit ve hidrojen peroksit içerisinde 80°C'de 2 saat bekletilmişlerdir.

Sıvı kısım atılmış ve katı kısım nötr pH'a gelene kadar yıkanmıştır. Eş zamanlı şekerleşme ve fermentasyon yöntemi ile etanol üretimi yapılmıştır. Sonuç olarak 1kg pirinç samanı, 1kg çam odunu ve 1kg meşe odunundan sırası ile 224 mL, 412 mL, 351 mL etanol üretilmiştir.

Song vd. 2016, yerelması sapına hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma uygulaması, enzimatik hidroliz ve etanol fermentasyonunu incelemişlerdir. Bu çalışmada hacimce %10 numune 1:1 oranda olan hidrojen peroksit – asetik asit ile 80°C'de 3 saat muamele edilmiştir. Ön arıtmadan sonra sıvı kısım ayrılmış ve katı kısım kalıntılardan arındırmak için bol su ile yıkanmıştır. Daha sonra katı kısım enzimatik hidroliz ve etanol fermentasyonunda kullanılmıştır. 1 kg numuneden ön arıtmadan sonra 437 g kalmış ve bu miktar için 30 FPU selüloz, 22.5 µg/mg ksilanaz ve 7.5 µg/mg pektinaz ile enzimatik hidroliz gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak 106 g etanol ve 36 g ksiloz elde edilmiştir.

Wang vd. 2016, yerfistığı kabuğuna hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma ve yüksek sıcaklıkta enzim uygulamasından sonra izopren üretimi ile ilgili bir çalışma yayınlamışlardır. HP&HAc ön arıtma için 10 gram yerfistığı kabuğu 100 mL 1:1 oranda karıştırılmış asetik asit ve hidrojen peroksit içerisinde 80°C'de 3 saat muamele edilmiş ve sonrasında nötr pH'a gelene kadar su ile yıkanmıştır. Daha sonra elde edilen ön arıtılmış numune Celluclast (selüloz) ve ksilanaz enzimleri ile hidrolize edilmiştir. Hidrolize edilen numune gerekli besin elementleri ve YJM21 tipi *E. coli* eklenerek 30°C'de 24 saat inkübe edilmiş. HP&HAc ön arıtma sonrası hidrolizatta 0 mg/mL formik asit, 0.01775 mg/mL asetik asit, 4.36×10^{-5} mg/mL hidroksimetilfurfural ve 1.01×10^{-4} mg/mL fufural inhibitör madde konsantrasyonlarına rastlanmıştır. Sonuç olarak HP&HAc ön arıtma hidrolizatından 211 mg/L ve aktif karbon ile detoksifikasyon yapılmış HP&HAc hidrolizatından ise 297.5 mg/L izopren üretilmiştir.

2.8. Önartım Sonrası İnhibitör Madde Giderimi

Ön arıtma prosesine göre hidrolizatta veya katı kısımda inhibitör maddeler oluşabilmektedir. Özellikle mineral asitler ile yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen ön arıtma proseslerinde inhibitör oluşumu gözlenmektedir. Biyokimyasal yöntemler ile biyoyakıt üretimi prosesini başlatmadan önce hidrolizattaki inhibitör miktarını görmek için kromotografik ölçüm gerçekleştirilmesinde fayda vardır. Ön arıtma prosesleri sonunda belirli konsantrasyonlarda oluşan furfural, hidroksimetil furfural, diğer furan bileşikleri, asetik asit ve laktik asit gibi organik asitler mikroorganizmaları inhibe etmektedir. Numunede yüksek miktarda inhibitör madde tespit edilirse katı kısım yıkanarak bu inhibitör maddelerin giderimi sağlanabilmektedir. Sıvı kısımda ise aşırı kireçleme, aktif karbon, iyon değiştirici veya buharlaştırma yöntemleri ile inhibitör giderimi gerçekleştirilebilmektedir (Palmqvist ve Hahn-Hägerdal 2000). Aşırı kireçleme, aktif karbon ile muamele, iyon değiştirici kullanımı ve buharlaştırma yaygın olarak kullanılan inhibitör giderim yöntemleridir.

2.8.1. Aşırı kireçleme

Ön arıtma ile muamele edilen numunelerin pH'larının $\text{Ca}(\text{OH})_2$ kullanılarak 10'a yükseltilmesi ile inhibitör madde giderimi sağlanmaktadır. pH 10'da 1 saat reaksiyon süresince bekletilen numuneler reaksiyon süresi sonunda 7500 rpm'de 25 dk. santrifüjlenmektedir. Fermantasyon için numunelerin pH'sı tekrar H_2SO_4 ile 5.5'a getirilmekte ve kalıntı madde giderimi için tekrar santrifüjlenmektedir (Carvalho vd. 2005).

2.8.2. Aktif karbon

Granüler aktif karbon (25 mm) kullanılarak gerçekleştirilen bir detoksifikasyon yöntemidir. Aktif karbon pH'sı 5.5'a ayarlanmış ön arıtılmış numuneler ile 1:10 (w/v) oranında karıştırılmakta ve oda sıcaklığında 1 saat reaksiyon süresince bekletilmektedir. Detoksifikasyon işlemi sonrasında numune vakum filtreden (Whatman no:1) süzülür ve pH'sı H_2SO_4 veya $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile 5.5'a getirilmektedir (Carvalho vd. 2005).

2.8.3. İyon değiştirici

Inhibitör madde gideriminde zayıf anyon değiştirici reçine (Dowex MWA1, 1meq/mL, 16-50 mesh) ve güçlü katyon değiştirici reçine (IRN-77, 1.8meq/mL, 16-50 mesh) kullanılmaktadır. Ön arıtma ile muamele edilmiş numune ve reçine 5:1 (w/v) oranında birleştirilmekte ve oda sıcaklığında 1 saat karıştırılmaktadır. Detoksifikasyon işlemi sonrasında numune vakum filtreden süzülerek ve pH'sı H_2SO_4 veya $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile 5.5'a getirilmektedir (Carvalho vd. 2005).

2.8.4. Buharlaştırma

Ham ve diğer detoksifikasyon yöntemleri ile muamele edilen numuneler başlangıç ağırlığının %75'i giderilene kadar konsantre edilmektedir. Gerekli olması durumunda numune pH'sı H_2SO_4 veya $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile 5.5'a getirilmektedir (Carvalho vd. 2005).

2.9. Etanol Fermantasyonu ve Mekanizması

Etanol fermantasyonu, biyoteknoloji endüstrisinde kullanılan en eski ve en önemli fermantasyon proseslerinden biridir. Bu proses tarihi 3000 yıl öncesine dayanan alkollü içecek üretiminde ve günümüzde biyoyakıt üretiminde kullanılmaktadır. Ulaşımda yakıt olarak kullanmak amacı ile ABD mısırından tek başına yıllık 17 milyon m^3 etanol üretmektedir (Yang vd. 2007). Bakteri ve mayalar da içeren birçok mikroorganizma karbonhidratları kullanarak ana fermantasyon ürünü olarak etanol üretebilmektedirler (Lin ve Tanaka 2006). *Zymomonas mobilis* bakterisi glikoz ve sakarozdan daha yüksek spesifik etanol üretimi ve verimine sahip olsa da mevcut endüstriyel etanol fermantasyon proseslerinde genel olarak düşük pH'a ve yüksek etanol konsantrasyonuna toleranslı olduğundan dolayı *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılmaktadır. Etanol fermantasyonunda genel olarak glikoz, sakaroz, fruktoz gibi heksoz şekerler kullanılsa da genetik mühendisliği alanında yapılan araştırmalarda mikroorganizmaların genleri değiştirilerek lignoselülozik yapıda glikozdan sonra en çok bulunan şeker olan ksilozun da fermantasyonda kullanımına olanak sağlanmıştır (Zabed vd. 2017).

Lignoselülozik materyalden etanol üretimi genel olarak iki basamaklı olarak yapılmaktadır. İlk basamakta bir ön arıtma işleminden geçen lignoselülozik biyokütleye enzimatik hidroliz uygulanmaktadır. Enzimatik hidrolizin amacı selülozun yapısını parçalamak ve glikozlara etanol fermantasyonunda kullanılan mikroorganizmaların daha kolay ulaşmasını sağlamaktır. İkinci basamakta ise mikroorganizmalar alkol fermantasyonunu gerçekleştirerek kullandıkları şekeri etanole dönüştürmektedirler. Bu iki işlem (enzimatik hidroliz ve etanol fermantasyonu) aynı reaktörde gerçekleştirildiğinde bu proses eş zamanlı şekerleşme ve fermantasyon (SSF) prosesi ve farklı reaktörlerde gerçekleştirildiğinde ise ayrı hidroliz ve fermantasyon (SHF) prosesi olarak tanımlanmaktadır.

2.9.1. Enzimatik hidroliz

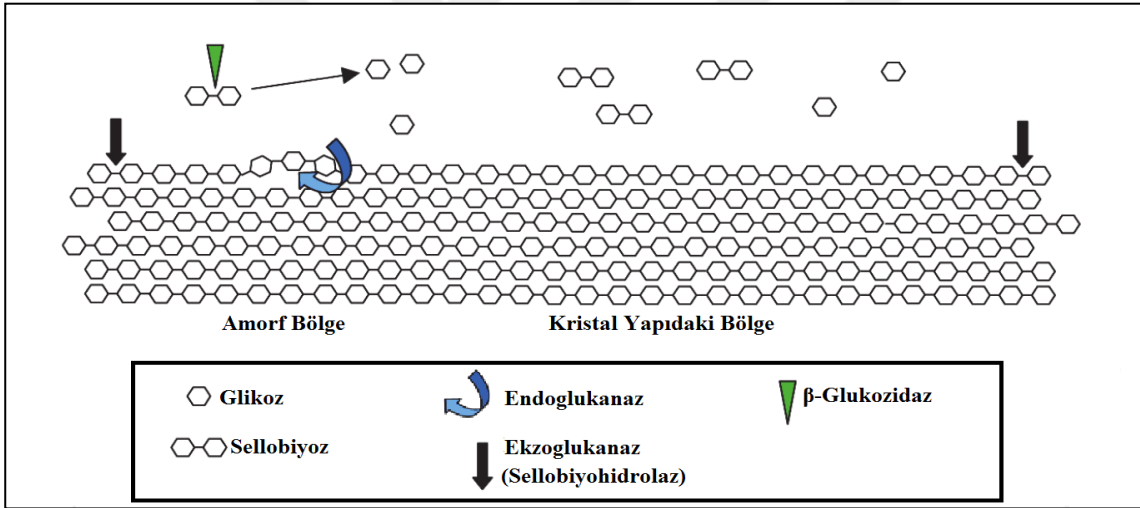
Lignoselülozik biyokütlenin kuru ağırlığının %55-76'sı etanol fermantasyonunda kullanılabilecek beş ve altı karbonlu şekerlerin polimerlerinden oluşmaktadır (C. E. Wyman, 1994). Bu karbonhidrat polimerlerinin mikroorganizmalar tarafından etanole veya diğer bir ürüne çevirilebilmesi için monomerlere parçalanması gerekmektedir. Lignoselülozik biyokütledeki polisakkaritlerin fermente edilebilen şekerlere depolimerizasyonu toplam maliyeti bir hayli arttırırsa da etanol üretimi açısından çok önemli bir işlemdir (Galbe ve Zacchi 2002). Selülozik biyokütle asit ve enzim kullanılarak hidrolize edilebilse de hidroliz, çevre dostu ve ekonomik olarak uygun bir yöntemle gerçekleştirilmelidir (Lynd vd. 2005). Lignoselülozik biyokütle asit hidrolizi uygulaması glikoz veriminin düşük olması, yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmesi ve glikozu furfural, hidroksimetil furfural gibi inhibitör maddelere dönüştürmesi sebebi ile tercih edilmemektedir. Enzimatik hidroliz ise kimyasal işleme göre daha yüksek glikoz verimine sahip, inhibitör yan ürünler meydana getirmeyen, korozyif olmayan işletme koşullarında gerçekleşebilen ve düşük enerji ihtiyacı olan bir prosestir (Bon ve Ferrara 2010).

Enzimler makromoleküler biyolojik katalizörler olup görevleri biyokimyasal reaksiyonları hızlandırmaktır. Enzimatik işlemlerin birçok avantajı olmasına rağmen lignoselülozik yapının enzimatik hidrolizi yüksek derecede kompleks ve birkaç değişik enzimin rol aldığı bir prosestir. Selülozik biyokütlenin enzimatik hidrolizi ile yüksek verimde serbest fermente edilebilir şekerlerin eldesi, selülozun kristalin yapısının sağlamlığından dolayı zorlu bir süreçtir (Waldron 2010). Doğada lignoselülozik yapının bozulması, çeşitli mantarların ve bakterilerin salgıladıkları hidrolitik veya oksidatif etkiye sahip olan enzim gruplarının sinerjistik etkisi ile selülozun, hemiselülozun ve ligninin parçalanması ile meydana gelmektedir (Pérez vd. 2002). Bakteri ve mantarlardan aerobik olarak selülozu parçalayanlar, selülozu parçalama işlemini yüksek miktarda hücre dışı selülaz enzimi salgılayarak gerçekleştirmektedirler (Valaskova ve Baldrian 2006). Anaerobik bakteriler ise birbirleriyle etkileşimde olan ve sinerjistik olarak selülozu parçalayan, birçok alt birim içeren, selülozom adındaki kompleks selülaz sistemleri ile bu işlemi gerçekleştirmektedirler (Bayer vd. 2004). Etki ettiği fraksiyona (selüloz, hemiselüloz ve lignin) göre bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen enzimler Çizelge 2.9'da verilmiştir.

Çizelge 2.9. Selüloz, hemiselüloz ve lignin'e etki eden enzimler ve enzimleri üreten mikroorganizmalar (Sharma vd. 2017)

Selülotik Enzimler (Selülaz)	Enzimi Üreten Bakteriler	Enzimi Üreten Mantarlar
Endoglukanaz β -Glukozidaz Sellobiyohidrolaz veya Egzoglukanaz Glikoziltransferazlar	<i>Clostridium sp.</i> <i>Cellulomonas sp.</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Thermomonospora sp.</i> <i>Streptomyces sp.</i> <i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>Pedobacter sp.</i> <i>Mucilaginibacter sp.</i>	<i>Trichoderma reesei</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium helicum</i> <i>Piptoporus betulinus</i> <i>Aspergillus nidulans</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Magnaporthe grisea</i> <i>Neurospora crassa</i> <i>Fusarium gramineum</i>
Hemiselülotik Enzimler (Hemiselülaz)	Enzimi Üreten Bakteriler	Enzimi Üreten Mantarlar
Ksilanaz Mannaz Endoglukanaz β -Ksilozidaz α -Galaktozidaz Asetil esteraz β -Glukozidaz	<i>Bacillus sp.</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i> <i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Bacteroides succinogenes</i> <i>Pedobacter sp.</i> <i>Mucilaginibacter sp.</i>	<i>Aspergillus niger</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Piptoporus betulinus</i> <i>Aspergillus nidulans</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Magnaporthe grisea</i> <i>Fusarium gramineum</i>
Ligninolitik Enzimler (Lignazlar)	Enzimi Üreten Bakteriler	Enzimi Üreten Mantarlar
Lakkaz Lignin peroksidaz Manganaz peroksidaz Versatil peroksidaz Sellobiyoz dehidrojenaz	<i>Azospirillum lipoferum</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Cupriavidus basilensis</i> <i>Raoultella ornithinolytica</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Prevotella sp.</i> <i>Pseudobutyrvibrio sp.</i>	<i>Dichomitus squalens</i> <i>Ganoderma applanatum</i> <i>Pleurotus sp.</i> <i>Trichoderma reesei</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i> <i>Phanerochaete chrysosporium</i> <i>Merulius tremellosus</i> <i>Ceriporiopsis subvermispora</i> <i>Phellinus pini</i> <i>Phlebia sp.</i> <i>Physisporinus rivulosus</i> <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> <i>Placuna placenta</i>

Etanol üretiminde lignoselülozik biyokütleye uygulanacak enzimatik hidrolizde fermente edilebilen şekerleri açığa çıkarırken genel olarak selülaaz ve β -glukozidaz enzimleri kullanılmaktadır. Şekil 2.13’de enzimlerin selüloz hidrolizindeki görevleri şematize edilmiştir. Selülaaz enzimi endoglukanaz ve ekzoglukanaz (sellobiyohidrolaz) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Endoglukanazlar (EG, endo-1,4- β -D-glukan 4-glukanohidrolaz) selüloz zincirinin içsel amorf bölgelerindeki β -1,4 glikozidik bağları rastgele hidrolize ederek sellobiyohidrolazların üzerinde çalışabileceği uçları açığa çıkarmaktadırlar. Ekzoglukanazlar (1,4- β -D-glukan, sellobiyohidrolaz) selüloz zincirinin indirgen olan ve olmayan uçlarına etki ederek sellobiyoz şekerlerini açığa çıkarmaktadırlar (Martins vd. 2011). β -glukozidazlar (β -glukozid glikozil hidrolaz veya sellobiyaz) ise sellobiyozları veya sello-oligosakkaritleri hidrolize ederek glikoz moleküllerine dönüştürmektedirler. Ayrıca, β -glukozidazlar glikoz çiftlerinin β -glukozidik bağlarının transglikozilasyon reaksiyonlarında görev almaktadırlar (Coughlan ve Ljungdahl 1988). Selülaaz enzim birimi olan endoglukanaz birimi (EGU) dakikada harcanan μ m karboksimetil selüloz üzerinden hesaplanmaktadır (Adlakha vd. 2012). β -glukozidaz uluslararası birim (IU) ise dakikada harcanan μ m 4-nitrofenil- β -D-glukronik asit miktarı ile hesaplanmaktadır (Babujanarthanam ve Kavitha 2014).



Şekil 2.13. Enzimlerin selüloz hidrolizindeki görevleri

Temelde birbirlerinden tamamen farklı olan katalitik mekanizmalar, değişik türdeki enzimlerin birbirleriyle etkileşim içinde ve birbirlerini tamamlayarak çalıştığı bir sistem oluşturmaktadırlar (Waldron 2010). Buna örnek olarak, β -glukozidaz enziminin sellobiyozları glikozlara parçalayarak sellobiyoz birikmesini önlemesi ve böylece yüksek miktardaki sellobiyozun ekzoglukanazları inhibe etmesinin önüne geçmesi verilebilmektedir. Bu özelliği ile β -glukozidaz miktarı enzimatik hidrolizin hız sınırlayıcı faktörü olup, selüloz polimerinin enzimatik parçalanmasındaki en önemli parametrelerden biridir (Leite vd. 2008).

Enzimatik hidrolizin hızını ve verimliliğini etkileyen faktörler; lignoselülozik biyokütlenin karakteri, konsantrasyonu, polimerizasyon derecesi, kristalinitesi, ulaşılabilir yüzey alanı, hemiselüloz ve lignin içeriğidir. Selülozun enzimatik hidrolizinin

zor olmasının nedeni substrata bağlı bu faktörler ve bu faktörlerin reaksiyon süresince değişmesidir (Puri 1984).

Selülotik enzimler sıvı fazda serbest halde veya hücre yüzeyinde olacak şekilde üretilmektedirler. Birkaç anaerobik tür üzerinde yapılan incelemede bu türlerin ölçülebilecek miktarda hücre dışı selülaz salgılamadıkları, salgıladıkları kompleks selülazların ise direkt hücre yüzeyine veya hücre-glikokaliks matriksine bağlı bulunduğu görülmüştür (Lynd vd. 2002).

Lignoselülozik biyokütleden etanol üretimini amaçlayan tüm çalışmalarda selülozun kararlı yapısını zayıflatmak için bir ön arıtma prosesine ihtiyaç vardır. Genel olarak ön arıtma, hemiselülozun monosakkaritlere ve oligosakkaritlere depolimerizasyonu ile lignin engelini ortadan kaldırarak veya selülozun kristalin yapısını bozarak biyokütlenin makroskopik sağlamlığını kırmakta ve enzimatik hidroliz verimini arttırmaktadır (Waldron 2010). Ligninin selüloz ve selülaz arasındaki en büyük engellerden biri olması nedeni ile delignifikasyon özelliği olan ön arıtma prosesleri enzimatik hidroliz verimini yüksek miktarda arttırmaktadır. Hemiselülozun selüloz hidrolizini engellemedeki rolü lignine göre daha azdır ancak yapılan araştırmalarda görülmüştür ki hemiselüloz da selülazların önünde geçişi engelleyen bir bariyer görevi görmektedir (Varga vd. 2004).

2.9.2. Etanol fermantasyonu

Etanol fermantasyonu (alkol fermantasyonu), glikoz, fruktoz ve sakaroz şekerlerinin hücre içi enerji üretiminde kullanılırken yan ürün olarak etanol ve karbondioksit'in üretildiği biyolojik bir prosestir. Etanolün fermantasyon yöntemiyle üretilmesinde kullanılan hammaddeler şekerler, nişastalar ve lignoselülozlar olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Şekerler (şeker kamışı, şeker pancarı, melas, meyveler) herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan etanol fermantasyonunda kullanılabilirler. Nişastalar (mısır, manyok, patates), etanol fermantasyonunda kullanılmadan önce malttan veya küflerden elde edilen enzimler ile fermente edilebilen şekerlere hidrolize edilmelidirler (Lin ve Tanaka 2006). Lignoselülozların (odun, tarımsal atıklar, kâğıt üretimi atıkları, enerji bitkileri) ise bir ön arıtma prosesi ile direkt olarak veya delignifikasyon özelliği olan bir ön arıtmadan sonra enzimatik hidroliz uygulaması ile fermente edilebilen şekerlere hidrolizi gerçekleştirilmektedir.

Etanol fermantasyonu konusunda yapılan araştırmalarda birkaç bakteri türünün, bazı mayaların ve bazı mantarların etanol üretiminde kullanılabileceği bulunmuştur. Biyokimyasal reaksiyonlarında ana ürün olarak etanol üreten bakteriler ile etanol üretim verimleri Çizelge 2.10'da ve mayalar ile etanol üretim verimleri Çizelge 2.11'de verilmiştir.

Çizelge 2.10. Ana fermantasyon ürünü olarak etanol üreten bakteri türleri ve etanol üretme verimleri

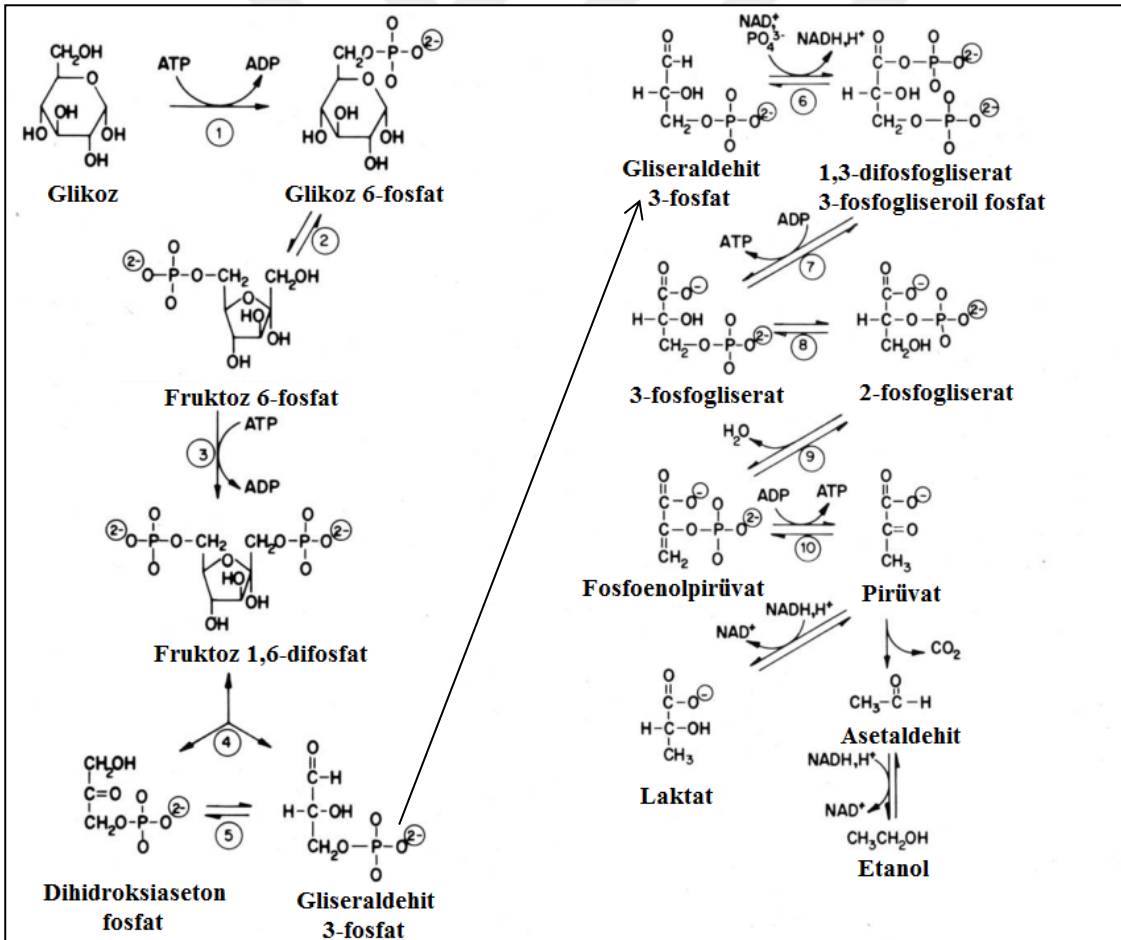
Bakteri Türü	Kullanılan mmol glikoz başına üretilen mmol etanol	Kaynak
<i>Clostridium sporogenes</i>	4.15	Miyamoto 1997
<i>Clostridium indoli</i> (Patojen)	1.96	Miyamoto 1997
<i>Clostridium sphenoides</i>	1.8	Miyamoto 1997
<i>Clostridium sordelli</i> (Patojen)	1.7	Miyamoto 1997
<i>Zymomonas mobilis</i>	1.9	Miyamoto 1997
<i>Zymomonas mobilis</i> subsp. <i>pomaceas</i>	1.7	Miyamoto 1997
<i>Spirochaeta aurantia</i>	1.5	Miyamoto 1997
<i>Spirochaeta stenostrepta</i>	0.84	Miyamoto 1997
<i>Spirochaeta litoralis</i>	1.1	Miyamoto 1997
<i>Erwinia amylovora</i>	1.2	Miyamoto 1997
<i>Escherichia coli</i> KO11	0.7-0.1	Dien vd. 2003 Matthew vd. 2005
<i>Escherichia coli</i> LY01	40-50 g/L	Dien vd. 2003
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1.1	Miyamoto 1997
<i>Streptococcus lactis</i>	1.0	Miyamoto 1997
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0.94-0.98	Matthew vd. 2005
<i>Klebsiella aerogenes</i>	24 g/L	Ingram vd. 1998
<i>Mucor</i> sp. M105	-	Ingram vd. 1998
<i>Fusarium</i> sp. F5	-	Ingram vd. 1998

Çizelge 2.11. Ana fermantasyon ürünü olarak etanol üreten maya türlerinin fermantasyon koşulları ve etanol üretme verimleri

Tür	Sıcaklık (°C)	pH	Şeker Türü ve Miktarı (g/L)	Reaksiyon Süresi (h)	Üretilen Etanol (g/L)	Kaynak
27817- <i>S. cerevisiae</i>	30	5.5	Glikoz (50-200)	18-94	5.1-91.8	Vallet vd. 1996
L-041- <i>S. cerevisiae</i>	30-35	-	Sakaro (100)	24	25-50	Pinal vd. 1997
181- <i>S. cerevisiae</i> (aerobik)	27	6.0	Glikoz (10)	40-160	-	Donev ve Uzunova-Doneva 2002
UO-1- <i>S. cerevisiae</i> (aerobik)	30	5.0	Sakaro (20)	60-96	-	Camacho-Ruiz vd. 2003
V5- <i>S. cerevisiae</i>	24	-	Glikoz (250)	36	-	Ansanay-Galeote vd. 2001
ATCC 24860- <i>S. cerevisiae</i>	30	4.5	Melas (1.6-5.0)	24	5-18.4	Ergun ve Ferda Mutlu 2000
<i>S. cerevisiae</i>	30	4.5	Glikoz (150-300)	192	53	Roukas 1996
<i>S. cerevisiae</i>	28	5.0	Sakaro (220)	96	96.71	Çaylak ve Vardar Sukan 1998
Fiso- <i>S. cerevisiae</i>	30	5.0	Galaktoz (20-150)	60	4.8-40	da Cruz vd. 2003
A3- <i>S. cerevisiae</i>	30	5.0	Galaktoz (20-150)	60	4.8-36.8	da Cruz vd. 2003
L52- <i>S. cerevisiae</i>	30	5.0	Galaktoz (20-150)	60	2.4-32	da Cruz vd. 2003
GCB-K5- <i>S. cerevisiae</i>	30	6.0	Sakaro (30)	72	27	Shafiq vd. 2003
GCA-II- <i>S. cerevisiae</i>	30	6.0	Sakaro (30)	72	42	Shafiq vd. 2003
KR18- <i>S. cerevisiae</i>	30	6.0	Sakaro (30)	72	22.5	Shafiq vd. 2003
CM1237- <i>S. cerevisiae</i>	30	4.5	Glikoz (160)	30	70	Navarro vd. 2000
2.399- <i>S. cerevisiae</i>	30	5.5	Glikoz (31.6)	30	13.7	Yu ve Zhang 2004
24860- <i>S. cerevisiae</i>	-	-	Glikoz (150)	27	48	Najafpour vd. 2004
27774- <i>Kluyveromyces fragilis</i>	30	5.5	Glikoz (20-120)	18-94	48.96	Vallet vd. 1996
30017- <i>K. fragilis</i>	30	5.5	Glikoz (20-120)	18-94	48.96	Vallet vd. 1996
30016- <i>Kluyveromyces marxianus</i>	30	5.5	Glikoz (100)	18-94	44.4	Vallet vd. 1996
30091- <i>Candida utilis</i>	30	5.5	Glikoz (100)	18-94	44.4	Vallet vd. 1996
ATCC-32691 <i>Pachysolen tannophilus</i>	30	4.5	Glikoz (0-25) ve Ksiloz (0-25)	100	7.8	Sanchez vd. 1999

Yapılan araştırma sonuçlarından görüldüğü üzere etanol fermantasyonu için en çok kullanılan mikroorganizma bir maya türü olan *Saccharomyces cerevisiae*'dir. *S. cerevisiae*, fermantasyon ortamında %18'lik alkol konsantrasyonuna dayanıklı olduğu ve yüksek etanol üretme kapasitesine sahip olduğu için etanol fermentasyonunda en çok tercih edilen mikroorganizma olmuştur. Bu maya, besin olarak glikoz basit şekerini ve sakaroz disakkaritini kullanmaktadır. *S. cerevisiae* yaklaşık 4000 yıldır insanlar tarafından ekmek kabartılmasında ve alkollü içecek üretilmesinde kullanılmaktadır. Günümüzde birçok besinin fermantasyonunda ve endüstriyel alanlarda kullanılan bu maya, eşsiz fizyolojisi sayesinde dünya çapındaki biyoteknoloji araştırmalarında öncü bir mikroorganizma olmuştur (Johnson ve Echavarri-Erasun 2011).

Birçok mikroorganizma gibi *Saccharomyces cerevisiae* da glikozu Embden – Meyerhof – Parnas (EMP yolu) yolunu izleyerek metabolize etmektedir (Lin ve Tanaka 2006). Bu metabolik yol glikozu 10 veya 11 enzim katalizörlüğündeki farklı reaksiyonlardan geçirerek bir mol glikozdan net iki mol ATP üretirken iki mol pürivat, laktat veya etanole dönüştürmektedir (Bodner 1986). Şekil 2.14'te *Saccharomyces cerevisiae*'nin glikozdan etanol üretirken gerçekleştirdiği reaksiyonlar şematik olarak verilmiştir.



Şekil 2.14. *Saccharomyces cerevisiae*'nin Embden – Meyerhof – Parnas metabolik yolu

Birinci adımda heksokinaz enzimi katalizörlüğünde glikozun C₆ bölgesinde fosforilasyon işlemi gerçekleşmekte ve fosfat esteri açığa çıkmaktadır. Bu işlem bir mol

ATP harcasa da glikoz molekülüne sonraki basamaklarda çalışan enzimlerin substratlarını tanıyabileceği yüksek yüklü bir fosfat grubunu bağlamaktadır. İkinci basamakta glikoz 6-fosfat bir aldehitten bir ketona fosfoglikoizomeraz enzimi katalizörlüğünde dönüştürülmektedir. Bu reaksiyonda eşitlik sabiti glikoz 6-fosfat yönünde olsa da reaksiyon, glikoz 6-fosfatın hücre içerisinde çok birikmesinden dolayı fruktoz 6-fosfat yönünü tercih etmektedir. Üçüncü basamakta fosfofruktokinaz enzimi katalizörlüğünde fruktoz 6-fosfatın C₁ bölgesinde bir mol ATP harcanarak fosforilasyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Bu reaksiyon doğal olarak ters işlemesi gerekirken harcanan ATP ile reaksiyon tersine çevrilmektedir (Bodner 1986). Dördüncü basamakta fruktoz 1,6-difosfat iki farklı moleküle ayrılmaktadır. Fruktoz bifosfat aldolaz enzimi heksoz halkasını iki adet trioz şekere parçalamaktadır. Bu reaksiyon sonunda dihidroksiasetonfosfat ve gliseraldehit 3-fosfat oluşmaktadır. Beşinci basamakta dihidroksiasetonfosfat bu metabolik yolda daha ileriye gidemeyeceği için triozfosfat izomeraz enzimi tarafından gliseraldehit 3-fosfata dönüştürülmektedir. Bu ilk beş basamakta bir molekül glikoz empirik formülde değişim olmaksızın ve net oksidasyon veya indirgenme reaksiyonsuz olarak iki mol gliseraldehit 3-fosfata dönüştürülmektedir. Bu metabolik yolun amacı ATP elde etmek olsa da ilk 5 basamakta iki mol ATP harcanmaktadır (Bodner 1986).

Altıncı basamakta 2 mol ATP üretilirken enerji üretim ve tüketimi dengeye gelmektedir. Bu basamakta gliseraldehit önce oksitlenmekte, sonra fosforile edilerek 1,3-difosfoglisarat veya 3-fosfoglisarat fosfat olara bilinen bir asil fosfata dönüştürülmektedir. Bu işlemde triozfosfat dehidrojenaz enzimi katalizörlük yapsa da asıl oksitleme işini nikotinamid adenin dinükleotit (NAD⁺) gerçekleştirmektedir. Yedinci basamakta süper yüksek enerjili olan 1,3-difosfoglisarat bir fosfor transfer ederek ADP'yi ATP'ye dönüştürmektedir. Bu işlem fosfoglisarat kinaz enzimi katalizörlüğünde gerçekleşmektedir. 1,3-difosfoglisaratın C₁ bölgesinde bulunan asil fosfat grubundaki elektronların itme kuvvetleri ATP'nin fosfat omurgasındaki elektronların itme kuvvetlerine benzer olduğu için hidrolizasyondan meydana gelen enerjiyi ATP kolaylıkla kendine bağlamaktadır. Bu işlemde bir mol glikoz başına iki mol 1,3-difosfoglisarat girdi olduğu için toplamda 2 mol ATP üretilmektedir. Sekizinci basamakta C₃ bölgesinde bulunan bir fosfat grubu C₂ bölgesine fosfoglisarat kinaz enzimi katalizörlüğünde geçirilmektedir. Bu işlem süper enerji yüklü bir fosfat grubunun meydana getirilmesine hazırlıktır. Dokuzuncu basamakta enolaz enzimi ile 2-fosfoglisaratın bir mol su uzaklaştırılmakta ve süper enerji yüklü fosfat grubuna sahip olan fosfoenolpirüvat elde edilmektedir. Onuncu basamakta pirüvat kinaz enzimi katalizörlüğünde fosfoenolpirüvattan fosfat grubu ayrılarak oluşan enerji ile 1 mol ADP'yi ATP'ye dönüştürmektedir. Sonuç olarak bu basamağa iki mol fosfoenolpirüvat girdiği için 2 mol ATP ve 2 mol pirüvat çıkmaktadır (Bodner 1986).

Altıncı basamakta meydana gelen NADH'ı tekrar NAD⁺ formuna getirmek için aerobik organizmalar oksijeni kullanırlar ve suya indirgerler. Anaerobik organizmalar ise pirüvat iyonunu laktat iyonuna veya etanole çevirerek bu işlemi gerçekleştirmektedirler. *Saccharomyces cerevisia* on birinci basamakta pirüvatı pirüvat dekarboksilaz enzimi ile asetaldehite dönüştürmektedir. On ikinci basamakta ise alkol dehidrojenaz enzimi katalizörlüğünde asetaldehiti etanole, NADH'ı da NAD⁺'e çevirmektedir. Tüm basamaklar gerçekleştiğinde *Saccharomyces cerevisiae* 2 mol ATP üretmiş olmaktadır.

2.9.3. Eş zamanlı şekerleşme ve fermantasyon

Lignoselülozik biyokütleden şeker üretilmesi ve şekerlerin etanole dönüştürülmesi sürecinde ardışık veya eş zamanlı olarak değişik yöntemler uygulanabilmektedir. Ancak uygulanan tüm yöntemlerde ön arıtma basamağının başarısı enzimatik hidrolizin verimini etkileyeceği için birinci derece önem arz etmektedir (Martins vd. 2011). Enzimatik hidroliz ve alkol fermantasyonu prosesleri birbirlerinden ayrı gerçekleştirildiğinde bu işleme Ayırık (veya Ardışık) Hidroliz ve Fermantasyon (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF) ismi verilmektedir. Bu stratejide lignoselülozik maddenin enzimatik hidrolizi ve sonrasında gerçekleşen hekzozların fermantasyonu işlemleri ayrı reaktörlerde gerçekleştirilirken her reaktörün kendi optimum koşulunda çalıştırılabilme avantajı mevcuttur. Ancak SHF'in enzimatik hidroliz reaktöründe glikoz birikmesi ve bu glikozun selüloz enzimini inhibe etmesi, reaksiyon oranlarında ve verimde azalmaya yol açmaktadır. Ayrıca SHF'de bir miktar glikoz, kalıntı katı maddeler tarafından adsorbe edilerek şeker dönüşüm oranını da azaltmaktadır (Soccol vd. 2010).

Glikoz inhibisyonunun önüne geçmek ve şekerin etanole dönüşüm oranını arttırmak için Eş Zamanlı Şekerleşme ve Fermantasyon (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) prosesi kullanılmaktadır. SSF prosesinde, enzimatik hidroliz ve etanol fermantasyonu reaktörleri kombine edilerek hidrolize edilen şekerlerin sürekli etanole dönüşmesi sağlanmaktadır. Böylece glikoz birikmesinin önüne geçilmiş olmaktadır. Reaktörde etanol birikmesi selüloz ve *S. cerevisia*'yı, glikoz birikmesi kadar inhibe etmediği için SSF'te selülozun etanole dönüşme oranı yüksektir. İki reaktörün ardışık olarak kullanıldığı sisteme göre SSF, son ürün inhibisyonunu ortadan kaldırdığı için %40'a kadar etanol üretim veriminde artış sağlamanın yanı sıra iki yerine tek reaktörde, daha ekonomik olarak aynı işi yapmaktadır (Bollók vd. 2000). SSF'in diğer avantajları ise daha kısa reaksiyon süresine sahip olması ve prosesin yüksek sıcaklığı, ortamdaki etanol konsantrasyonu, reaktörün anaerobik olmasından dolayı dış mikroflora kaynaklı kontaminasyon riskinin daha az olmasıdır (Wyman 1994).

Saccharomyces cerevisiae glikozu hızlı bir şekilde etanole çevirmesi ve %18'e kadar ortamdaki etanole dirençli olmasından ötürü eş zamanlı şekerleşme ve fermantasyonda kullanmaya uygun bir mikroorganizmadır. Alfani vd. (2000) buğday samanına buharla patlatma uygulayarak elde ettikleri hidrolizatı *S. cerevisiae* ile etanol fermantasyonuna tabi tutmuşlardır. Sonuç olarak SSF prosesi yaklaşık 30 saatte biterken, SHF prosesinin 96 saat sürdüğünü ve SSF prosesinden $0.837 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$ etanol üretilirken SHF prosesinden ise sadece $0.313 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$ etanol üretilbileceğini tespit etmişlerdir.

2.10. Metan Fermantasyonu ve Mekanizması

Metan fermantasyonu, organik maddelerin anaerobik koşullarda mikroorganizmalar tarafından parçalanması ve sonuç olarak organik maddenin metan ve karbondioksit dönüştürülmesi prosesidir. Doğada zayıf ve inorganik elektron alıcılarının (oksijen, nitrat, sülfat, demir) ortamda limitleyici olarak bulunmadığı katı atık deponi alanları, pirinç tarlaları, hayvan bağırsakları gibi ortamlarda metan fermantasyonu gerçekleşmektedir (Hattori 2008). Anaerobik parçalanma prosesinde fermente eden bakteriler, organik asit oksitleyen bakteriler ve metanojenik arkeler olmak üzere üç ana

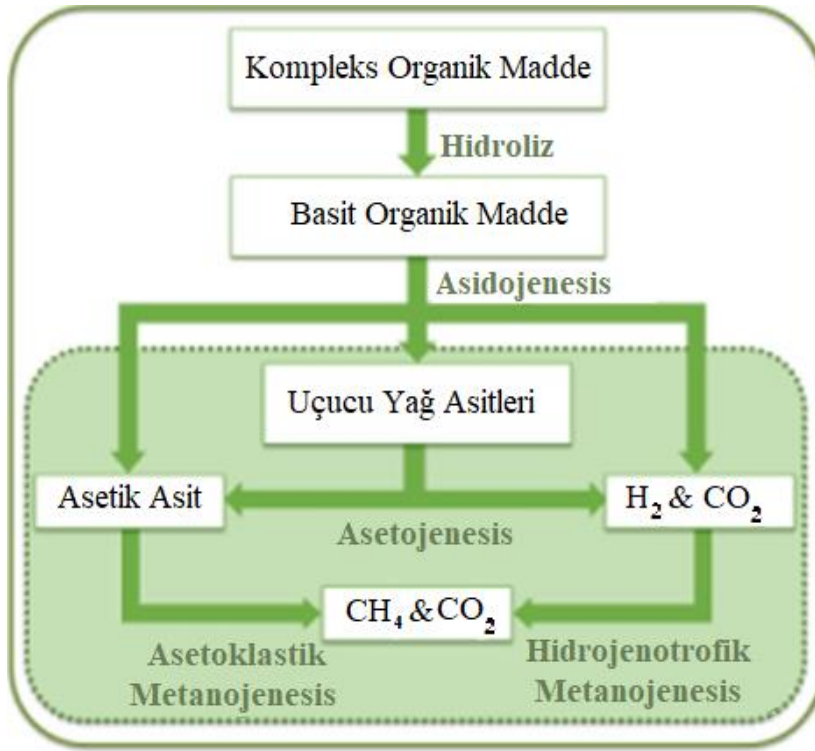
fizyolojide mikroorganizma görev almaktadır. Mikroorganizmalar organik maddeyi biyokimyasal çevrim basamakları halinde parçalayarak metan ve karbondioksit çevirmektedirler. Metan fermantasyonunda, hidrojen üretenler (asetojenler) ile hidrojen tüketenler (homoasetojenler, hidrojenotropik metanojenler) arasındaki sentrofik ilişki proses için kritik öneme sahiptir. Metan fermantasyonu, organik atıklardan enerji üreterek fosil yakıt kullanımını ve CO₂ emisyonlarını azaltacak büyük bir potansiyele sahiptir (Angelidaki vd. 2011). Metan fermantasyonunun doğada birçok ortamda kendiliğinden meydana gelmesi bu prosesin kontrollü metan üretimi için büyük veya küçük ölçekte uygulanabilmesine olanak sağlamaktadır. Metan fermantasyonunun bu özelliği endüstriyel uygulamalarda esnek ve sürdürülebilir enerji çözümleri dizayn edilebilmesini ve gelişmekte olan ülkelerde görüldüğü gibi çiftliklerde ve evlerde bile kullanılabilmesini sağlamaktadır (Lozanovski vd. 2014).

Anaerobik parçalanma ile işlenecek malzemenin her 64 gr'lık KOİ değeri başına teorik olarak 1 mol metan üretilmektedir. Metanın kalorifik değeri 55.14 MJ/kg olduğu için anaerobik parçalanmada kullanılacak 1 kg KOİ başına 13.79 MJ enerji elde edilmektedir (Heidrich vd. 2011). Metan fermantasyonu sonucunda oluşan gazın %99'u CH₄ ve CO₂'ten oluşmaktadır. CH₄ ve CO₂ oranları ise metan fermantasyonunda kullanılan maddeye göre değişmektedir. Çizelge 2.12'de besin maddelerinin teorik biyogaz potansiyelleri verilmiştir. Metan fermantasyonundan üretilen biyogaz direkt olarak yakılarak enerji üretilebilmekte veya saflaştırılıp metan yüzdesi artırıldıktan sonra yakıt olarak başka alanlarda kullanılabilir.

Çizelge 2.12. Besin maddelerinin teorik biyogaz potansiyelleri

Substrat	Biyogaz (Nm ³ /ton TKM)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)
Karbonhidrat	790-800	50	50
Protein	700	70-71	29-30
Yağ	1200-1250	67-68	32-33

Metan fermantasyonu ile monosakkeritleri, amino asitlerini, doymamış yağ asitlerini, gliserolü ve halojene olmuş organik bileşikler kapsayan geniş yelpazedeki materyalleri işlemek mümkündür (Madigan vd. 2008). Anaerobik parçalanma prosesi farklı mikroorganizmaların rol aldığı, hidroliz, asidojenesis, asetojenesis ve metanojenesis olarak adlandırılan dört basamakta gerçekleşmektedir. Şekil 2.15'de anaerobik parçalanma aşamaları verilmiştir. Bu basamaklarda büyük organik makromoleküller küçük organik bileşiklere parçalanmakta ve son olarak metana dönüştürülmektedir.



Şekil 2.15. Anaerobik parçalanma aşamaları

2.10.1. Hidroliz

Kompleks organik maddenin anaerobik parçalanmasında hidroliz, kompleks polimerik organik bileşiklerin çözülmüş monomerlere parçalandığı geniş çaptaki bir depolimerizasyon işlemidir (Angelidaki vd. 2011). Biyokütleyi oluşturan üç ana bileşen olan karbonhidratlar, yağlar ve proteinler bu süreçte monosakkaritlere, uzun zincirli yağ asitlerine, gliserola ve amino asitlere parçalanmaktadır. Hidroliz, biyokütle üzerine salgılanan veya hücre çeperine yapışan hücre dışı enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. Hidroliz hızı parçalanmış polimerik bileşiğin karakterine göre çeşitlilik göstermektedir. Bu basamak biyogaz üretimi için özellikle lignoselülozik atıklar veya arıtma çamuru kullanıldığında hız kısıtlayıcı basamak haline gelmektedir. Hidrolizin lignoselülozik atıklar üzerinde yavaş olmasının sebebi selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşan bitki yapısının mikrobiyal saldırılara karşı sağlam olmasıdır (Schnürer 2016).

Anaerobik parçalanmada en yaygın kullanılan atıklardan biri atıksu arıtma tesislerinde oluşan atık aktif çamurdur. Bu mikrobiyal materyal karışımı parçalanma ürünlerini ve inert maddeleri içermektedir. Bu parçalanma ürünlerinin ve inert maddelerin hidrolizi zor oluşturma için bu maddelerin anaerobik parçalanması sınırlı bir seviyede mümkündür (Ekama vd. 2007).

2.10.2. Asidojenesis

Asidojenesis işlemi, basit organik materyalin sülfat, nitrat veya oksijen gibi inorganik elektron alıcıları yokluğunda gerçekleştirilen anaerobik bir çevrimdir (Angelidaki vd. 2011). Çeşitli hidroliz reaksiyonları sonucu meydana gelen monomerler,

Embden – Meyerhof – Parnas (EMP) veya Enter – Doudoroff (ED) metabolik yolları ile daha ileri okside edilecekleri fermentasyon reaksiyonlarına girmektedirler. Şekerlerin biyokimyasal metabolik yolları çeşitli olsa da genel olarak ana çıktı pirüvattır. Asidojenesiste NADH'ın tekrar oksidasyonu için pirüvat içsel elektron alıcısı olarak kullanılmakta ve bu işlem sonucunda asetat, propiyonat, bütirat, laktat, valerat, kaproat gibi C2-C6 uçucu yağ asitleri üretilmektedir (Schnürer 2016).

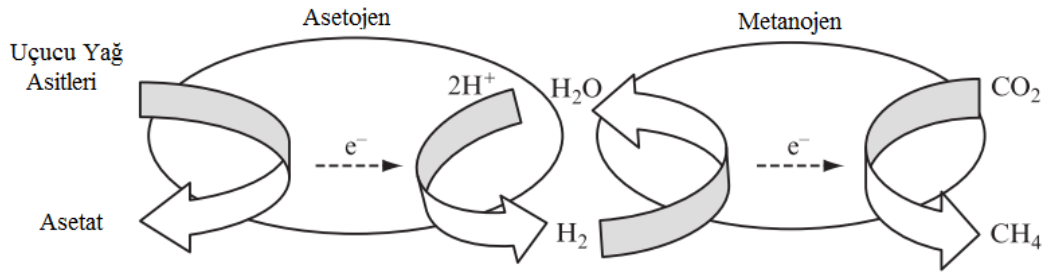
Proteinler, hidrolizde amino asitlere parçalandıktan sonra asidojenesiste Stickland reaksiyonuna girmektedirler. Bu işlemde amino asit çiftleri eşli oksidasyon ve indirgenme reaksiyonları ile parçalanmaktadırlar. Bir amino asit elektron verici, diğer amino asit ise elektron alıcısı olarak görev yapmaktadır. Elektron verici amino asit, orijinal amino asitten bir karbon daha kısa olan uçucu yağ asidine okside edilmektedir. Bu işleme örnek olarak üç karbonlu olan alanin amino asidinin asidojenesiste asetata çevrilmesi verilmektedir. Hidrojenin kısmi basıncının yeterince düşük olduğu koşullarda amino asitlerin fermentasyonu, eşli olmayan oksidasyon ve elektronların hidrojen olarak salınması ile gerçekleşen alternatif bir metabolik yola yönelebilmektedir (Schnürer 2016).

Hidroliz ve asidojenesis basamaklarında trigliserit olarak bulunan yağlar gliserole ve içeriğinde on iki karbondan fazla karbon bulunduran uzun zincirli yağ asitlerine dönüştürülmektedirler (Schnürer 2016).

2.10.3. Asetojenesis

Asetojenesis CO₂ indirgenmesi ve organik asitlerin dönüştürülmesi yolu ile asetat sentezleme işlemidir. Daha önce homo-asetojenler olarak adlandırılan hidrojen kullanan asetojenler, son seviye elektron alıcısı, enerji koruyucu ve CO₂'ten hücre karbonu sentezleme mekanizması olan CO₂'ten asetil-CoA indirgenme sentezi metabolik yolunu kullanan zorunlu anaerob bakterilerdir. Bu bakteriler hidrojen, format ve metanol gibi substratlar için metanojenler ile mücadele halindedirler (Angelidaki vd. 2011).

Wood- Ljungdahl olarak da adlandırılan asetil-CoA metabolik yolunu kullanan asetojenler ototrof veya heterotrof olarak gelişirken, elektron alıcısı ve vericisi olarak çok sayıda karbon kaynağından yararlanmaktadırlar (Schnürer 2016). Hidrojen üreten asetojenler, asidojenesis evresinde üretilen organik asitleri ve alkolleri okside ederek asetata çevirmektedirler. Bu işlem sırasında asitojenler ve metanojenler sintrofik olarak çalışarak kendi aralarında elektron dengesi kurmaktadır. Şekil 2.16'da asidojenlerin ve metanojenlerin elektron alış – verişi dengesi verilmiştir.



Şekil 2.16. Asidojenlerin ve metanojenlerin elektron alışı – veriş dengesi

Bu oksidasyon reaksiyonunda meydana gelen elektronlar önce protonlara (H^+), sonra format üretiminde kullanılmak üzere H_2 ve bikarbonata iletilmektedirler. Bu reaksiyonlar termodinamik olarak tercih edilen reaksiyonlar olmadığı için sınırlı seviyede gerçekleşmektedirler (Worm vd. 2010). Asetojenesis ve metanojenesis reaksiyonlarında metanojenlerin reaksiyonları daha tercih edilebilir olsa da iki grubun reaksiyonları kombine edildiğinde yaşamak için sintrofik olarak yeterli enerji üretmektedirler. Bu reaksiyonların Gibbs serbest enerji verileri Çizelge 2.13.'te sunulmuştur.

Çizelge 2.13. Uçucu yağ asitlerinin oksidasyonunda ve metanojenesisde meydana gelen standart Gibbs serbest enerji değişimi (Worm vd. 2010)

Reaksiyon	ΔG° (kJ/Reaksiyon)
Yağ asidi oksidasyonu	
$Asetat^- + 4H_2O \rightarrow H_2 + 2HCO_3^- + H^+$	+105
$Propiyonat^- + 3H_2O \rightarrow Asetat^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76
$Bütirat^- + 2H_2O \rightarrow 2 Asetat^- + H^+ + 2H_2$	+48
Metanojenesis	
$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-136
$Asetat + H^+ \rightarrow CH_4 + CO_2$	-35
$4Format + 4H^+ \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$	-145
Asetatın sintrofik oksidasyonu	
$Asetat^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	-31

2.10.4. Metanojenesis

Anaerobik besin zincirinin son evresi olan metanojenesisde metanojen arkeler asitojenesis ve asetojenesis evrelerinin ürünlerini katalize ederek metana dönüştürmektedirler. Arkeler bu işlemi gerçekleştirirken asetati, karbondioksiti, hidrojeni, formatı, alkoller ve metile edilmiş C_1 bileşiklerini kullanabilmektedirler (Thauer vd. 2008). Metanojenler metan üretirken kullandıkları substrata göre üç ana fizyolojik kategoriye ayrılmaktadırlar. Bu gruplar hidrojenotrofik metanojenler, metilotrofik metanojenler ve asetoklastik metanojenler olarak adlandırılmaktadırlar.

- Hidrojenotrofik metanojenler, karbondioksiti indirgeyerek metan üretirken elektron kaynağı olarak hidrojeni kullanmaktadırlar. Bazı hidrojenotrofik metanojenler

formatı ve ikincil alkoller de elektron kaynağı olarak kullanabilmektedirler (Holmes ve Smith 2016).

- Metilotrofik metanojenler, karbondioksiti indirgeyerek metan üretmek için metile edilmiş substratları (metanol, metilaminler, metil sülfidler) kullanmaktadırlar (Schnürer 2016).
- Asetoklastik metanojenler, metanı asetat dikarboksilasyonu yolu ile üretmektedirler (Holmes ve Smith 2016).

Metanojenler üzerinde yapılan araştırmalara göre metanojenlerin %77.4'ü hidrojen den elektron alarak karbondioksit indirgemesi gerçekleştirebilmektedir. Bu hidrojenotrofik metanojenlerin %91.66'sı zorunlu hidrojenotroftir. İkinci en yaygın metanojen metabolizması ise %26 oran ile metilotrofik metanojenesistir. Asetoklastik metanojenesis %8 ile en az yaygın metan üretim metabolizmasıdır. *Methanosarcina*'nın birkaç türü her üç metabolik yol ile de metan üretebildiği için fizyolojik olarak en çeşitli türdür. Tüm bu metanojenik metabolik yollar, metil-koenzim M redüktaz (Mcr) tarafından metil-koenzim M'in (metil-CoM) metana dönüştürülmesi ile son bulmaktadır (Holmes ve Smith 2016).

2.10.5. Metan fermantasyonunda kullanılan biyokütle ve atıklar

Temel içerik olarak karbonhidrat, protein, yağ, selüloz veya hemiselüloz içeren tüm biyoküteller metan fermantasyonunda kullanılabilirler. Sadece odun gibi güçlü lifli yapıdaki biyoküteller yavaş anaerobik parçalanmalarından dolayı metan fermantasyonuna uygun değildirler. Tarihsel olarak anaerobik parçalanma hayvan gübresi ve aerobik atıksu arıtmadan çıkan çamurun arıtılmasında kullanılsa da günümüzde sadece arıtma amaçlı değil, enerji üretme amaçlı olarak da gerçekleştirilmektedir (Weiland 2010). Bu enerji üretim proseslerinde tarımsal atıklar, hayvancılık tesislerinin atıkları, organik endüstriyel atıklar, evsel katı atıklar, atıksu arıtma tesislerinden gelen çamurlar ve enerji bitkileri tek olarak fermantasyonda ya da birkaç tanesi birlikte kofermentasyon işleminde kullanılmaktadırlar.

Kofermentasyon işlemi atıklardan ve enerji bitkilerinden elde edilebilecek metan miktarını arttırsa da bu proste kullanılan biyokütellerin makro ve mikro nütrient dengeleri iyi hesaplanmalıdır (Angelidaki vd. 2011). Bazı biyoküteller sadece tek başlarına fermente edilebilirken bazıları da sadece diğer substratlarla karışım halinde fermantasyon işleminde kullanılabilirler. Kofermentasyon işlemi tercih edilen nütrient ve su bakımından artış sağlarken potansiyel inhibitör maddelerin de seyrelmesini sağlamaktadır (Schnürer 2016). Metan fermantasyonunda büyük potansiyele sahip olan ko-substrat enerji bitkileridir. Avrupa'da yapılan araştırmada tüm tarım alanları verimli kullanıldığında, hayvan gübresi ve tarımsal atıklar potansiyel metan fermantasyonu hammaddelerinin %80'den fazlasını oluşturmaktadır (Rohstoffe vd. 2010).

Enerji bitkileri, tarım ürünleri ve tarımsal atıklar da metan fermantasyonunda kullanılmaktadır. Tarım kaynaklı atıkların kolay depo edilebilme ve silajlanabilme avantajları mevcuttur. Silajlanan tarımsal ürünlerde asitojenesis evresinde asitlenme işlemi meydana gelmekte ve pH'ın azalması sonucu tarım ürünü bozulmaya başlamaktadır (Weinberg vd. 2003). Bu işlemde tarımsal atıkların ve enerji bitkilerinin depo halindeyken hidroliz ve asitojenesis evreleri başladığı için metan fermantasyonuna

eklendiklerinde alıkonma süreleri kısa olmaktadır. Çizelge 2.14.'de bazı tarım ürünlerinin ve enerji bitkilerinin hektar başına biyokütle verimleri ve metan potansiyelleri verilmiştir.

Çizelge 2.14. Bazı tarım ürünlerinin biyokütle verimleri ve biyogaz üretim potansiyelleri (Weiland 2010)

Tarım Ürünü	Ürün Verimi (Ton taze materyal/Hektar)	Biyogaz Verimi (Nm ³ /ton VS)	Metan Miktarı(%)
Şeker pancarı	40-70	730-770	53
Yem pancarı	80-120	750-800	53
Mısır	40-60	560-650	52
Mısır koçanı	10-15	660-680	53
Buğday	30-50	650-700	54
Tritikale	28-33	590-620	54
Sorgum	40-80	520-580	55
Çim	22-31	530-600	54
Kırmızı yonca	17-25	530-620	56
Ayçiçeği	31-42	420-540	55
Buğday tanesi	6-10	700-750	53
Çavdar	4-7	560-780	53

2.11. Proses Optimizasyonu

Optimizasyon işlemi eldeki veriler veya kontrollü deney sonuçları ile değişik koşullarda parametrelerin değişimlerinin istatistiksel olarak hesap edilerek seçilen parametrenin optimum değere sahip olduğu koşulların bulunması işlemidir. Modern istatistik teorisi, istatistiksel yöntemlerin geliştirilmesi ve kullanılması için optimizasyon yöntemlerine sıkça başvurmaktadır. Lineer regresyon, varyansların analizi ve deney dizaynlarında en küçük kareler, maksimum olasılık tahmini ve üniform en güçlü test yöntemleri optimizasyon için yoğun olarak kullanılmaktadır (Rustagi 1994). Bu çalışmada ön arıtma proses optimizasyonu için cevap yüzey yöntemi (CYY), merkezi kompozit tasarım yöntemi (MKT) kullanılmıştır.

2.11.1. Cevap yüzey yöntemi (CYY)

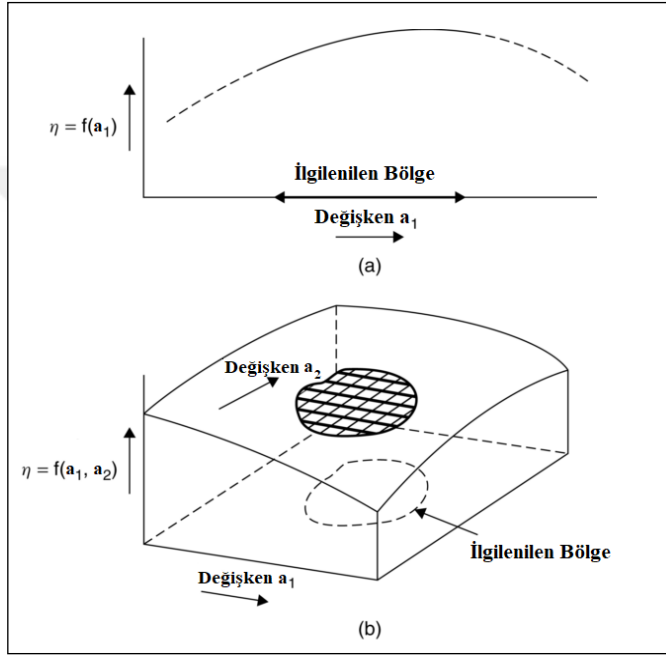
CYY bazı girdi değişkenleri ile bir veya daha çok çıktı değişkeni arasındaki ilişkiyi incelemektedir. İlk olarak George E.P. Box ve K.B. Wilson tarafından 1951 yılında kullanılmıştır (Neto vd. 2005). CYY deneysel dizayn ile ilişki içinde elde edilen deneysel verilere uygun empirik modelleri temel alan bir grup matematiksel ve istatistiksel tekniktir (Bezerra vd. 2008). Bu yöntemde lineer ve polinomial fonksiyonlar kullanılarak üzerinde çalışılan sistem tanımlanmaktadır. CYY, dikkatli bir tasarım ve deney analizi ile bir cevap veya çıktı değişkenini, onu etkileyen bir dizi belirleyici veya girdi değişkeni ile ilişkilendirmeyi amaçlamaktadır. Matematiksel dilde bu yöntemde araştırmacının aradığı öngörülen fonksiyonel ilişkidir (Box ve Draper 2007). Şekil 2.17'de cevap yüzey yönteminde cevap eğrisi ve cevap yüzeyinin değişimi sunulmuştur.

$$\eta = f(a_1, a_2) \dots \dots \dots (2.1)$$

Eşitlik 2.1’de η , a_1 ve a_2 girdi değişkenlerinin fonksiyonu olarak verilmiştir. Bu denklemde iki girdi değişkeni bulunmaktadır. Ancak incelenen sisteme bağlı olarak CYY’de ikiden fazla değişken de bulunabilmektedir. k sayıda değişken olduğu varsayıldığında $a_1, a_2, \dots, a_k$ girdi değişkenleri ile ortalama cevap arasındaki fonksiyonel ilişki ve k girdilerinin seviyeleri Eşitlik 2.2’deki gibi yazılabilmektedir.

$$\eta = f(a_1, a_2) \dots \dots \dots (2.1)$$

$$\eta = f(a_1, a_2, \dots, a_k) \dots \dots \dots (2.2)$$



Şekil 2.17. Cevap yüzey yönteminde (a) Cevap eğrisi (b) Cevap yüzeyi (Box ve Draper 2007)

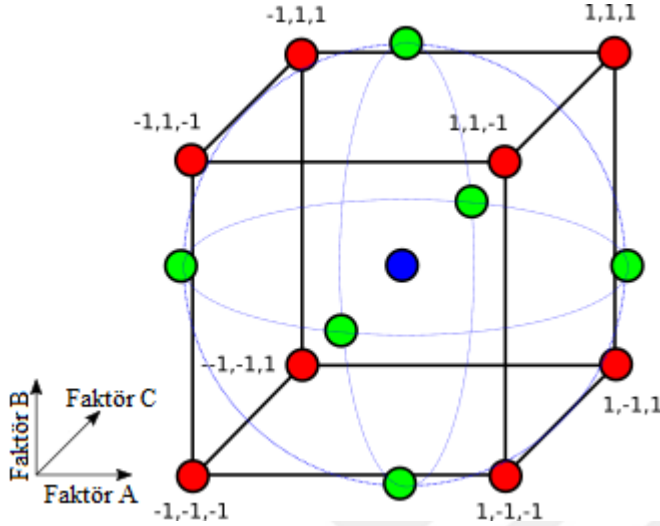
Daha kompakt bir şekilde eğer a değişkeni, $a_1, a_2, \dots, a_k$ elemanları ile birlikte bir kolon vektöre karşılık geldiğinde ortalama cevap fonksiyonu Eşitlik 2.3’teki gibi yazılabilmektedir.

$$\eta = f(a) \dots \dots \dots (2.3)$$

Eğer sadece a_1 girdisi var ise çıktı η ile tek girdi olan a_1 ilişkilendirilerek Şekil 2.17’de gösterildiği gibi bir cevap eğrisi çizilebilmektedir. Eğer a_1 ve a_2 olmak üzere iki girdi var ise ve üç boyutlu uzayda, a_1 ve a_2 ’ye karşı η ’nin bir grafiğini çizilerek Şekil 2.17’de gösterilen gibi bir cevap yüzeyi elde edilmektedir. k değeri 2’den fazla ise $(k+1)$ boyutlu uzayda cevap yüzeyi yine mevcuttur. Ancak görselde sadece üç boyutlu kesitsel gösterim olarak bu yüzeyi görmek mümkündür (Box ve Draper 2007).

2.11.2. Merkezi kompozit tasarım (MKT)

İstatistikte bir deney dizayn yöntemi olan MKT, tüm üç seviyeli faktöriyel deneyleri kullanmaya gerek duymadan cevap değişkeni için ikinci dereceden (kareli) bir model oluşturmak için kullanılmaktadır. Tasarlanan deney gerçekleştirildikten sonra, sonuçların elde edilmesi için genel olarak doğrusal regresyon kullanılmaktadır.



Şekil 2.18. k=3 değişkene için MKT

Merkezi kompozit tasarım, tam faktöriyel veya parçalı faktöriyel dizayndan, genel olarak merkezden α uzaklıkta bulunan deneysel noktaların oluşturduğu yıldız dizaynından ve bir merkez noktasından meydana gelmektedir. Şekil 2.18’de üç değişkenli bir optimizasyon işleminde kullanılan tam merkezi kompozit tasarım verilmiştir (Bezerra vd. 2008).

Merkezi kompozit tasarımda deney sayısı $N=k^2+2k+c_p$ formülünden hesaplanmaktadır. Bu formülde N deney sayısı, k değişken sayısı ve c_p merkez noktanın tekrar sayısıdır. Deneysel noktaların merkeze olan uzaklığı $\alpha=2^{(k-p)/4}$ formülü ile hesaplanmaktadır. α değeri iki, üç ve dört değişken için sırası ile 1.41, 1.68 ve 2.00 olarak hesaplanmaktadır. MKT’da tüm faktörler beş seviyede incelenmektedir ($-\alpha, -1, 0, 1, \alpha$) (Bezerra vd. 2008).

2.12. Tez Çalışmasının Amacı

Bu yüksek lisans tezinin amacı; enerji bitkisi dallı darıdan etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıtın minimum proses maliyeti ile maksimum miktarda üretiminin yapılması için entegre termokimyasal ve fermantasyon proseslerinin geliştirilmesidir. Bu kapsamda yüksek lisans tez çalışmasında öncelikle enerji bitki dallı darı karakterizasyonu yapılmış ve lignoselülozik yapısındaki C5 ve C6 şekerlerin açığa çıkarılabilmesi ve dallı darıdan etanol ve metan üretim veriminin artırılması amacıyla dallı darıya hidrojen peroksit (H_2O_2) ve asetik asit (CH_3COOH - HAc) (HP&HAc) ön arıtma prosesi uygulanmış ve maksimum biyoyakıt üretimi açısından HP&HAc ön arıtma prosesinin optimizasyonu yapılmıştır. HP&HAc ön arıtma proses optimizasyonunda Cevap yüzey

yöntemi (CYY), Merkezi kompozit tasarım (MKT) kullanılmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesinin deneysel tasarımı Design Expert 7.1.5 programı ile yapılmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesinde H_2O_2 miktarı, HAc miktarı, reaksiyon süresi ve reaksiyon sıcaklığı parametreleri kullanılarak program tarafından önerilen ön arıtma koşullarına göre deneyler yapılmış, belirlenen cevap değişkenlerinin analiz sonuçları Design Expert programına aktarılmıştır. MKT deney tasarımında, cevap değişkeninin modellenmesi, önerilen modelin uygunluğunun test edilmesi için ANOVA testi uygulanmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesi maksimum etanol ve metan üretimi ve minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi açısından optimize edilmiş ve optimum proses koşulları tespit edilmiştir. HP&HAc ön arıtma prosesi ile muamele edilen numuneler kullanılarak eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon prosesi ile etanol üretim prosesi optimize edilmiş ve etanol üretilmiştir. Etanol üretimi sonrasında fermantasyon ortamı da dahil tüm atıklar kullanılarak minimum atık stratejisi ile metan fermantasyonu yapılarak ikinci biyoyakıt metan üretimi yapılmıştır. Son olarak HP&HAc ön arıtma deneyleri sonrasında dallı darının yüzey özelliklerindeki değişiminin incelenebilmesi için Taramalı Elektron Mikroskop (TEM) ve bağ karakterizasyonunun değişiminin incelenebilmesi için Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Dallı Darı Enerji Bitkisinin Alınması, Hazırlanması ve Boyut Küçültme

Tez kapsamında kullanılan Shawnee türü dallı darı bitkisi 114O941 numaralı ve “Dallı Darının Adaptasyonu, Adaptasyon Haritalarının Oluşturulması, Mekanizasyon Karakteristiklerinin, Enerji Bilançosunun Belirlenmesi ve Biyoetanol Atıklarından Biyogaz Üretimi” başlıklı TÜBİTAK 1003 projesi kapsamında Konya’da Selçuk Üniversitesi tarafından ekilmiş (Karapınar) ve yetiştirilmiştir. Kasım ayında hasat edilen Shawnee türü dallı darı numuneleri Akdeniz Üniversitesi’ne gönderilmiştir.

Etanol ve metan üretimi öncesinde karakterizasyon ve ön arıtma çalışmaları için yaklaşık 10 kg Shawnee türü dallı darı numunesi Akdeniz Üniversitesi Tarım Makinaları Bölümü’nde bulunan çekiçli değirmen ile öğütülmüş ve 0.5 mm boyuta elenmiştir. Şekil 3.1.’de Shawnee türü Dallı darı numunelerinin öğütme ve eleme çalışmalarının yapılması aşamasında çekilen fotoğraflar sunulmuştur.



Şekil 3.1. Shawnee türü Dallı darının öğütme ve eleme çalışmaları



Şekil 3.1.'in devamı

3.2. Dalı Darının Karakterizasyon Analizleri

Shawnee tipi dalı darının karakterizasyonu için toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ), toplam Kjeldahl azotu (TKN), çözünmüş protein, toplam protein, toplam indirgen şeker (DNS), toplam şeker (Anthrone), ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid), Van Soest fraksiyonları (selüloz, hemiselüloz, lignin, çözünmüş organik madde), asitte çözünen ve çözünmeyen lignin, yapısal karbonhidratlar, toplam karbon (TK), inorganik karbon (IK) ve toplam organik karbon (TOK) analizleri Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü'nde yapılmıştır.

Dalı darı numunesinin elementel kompozisyon (C, H, O, N) ve iz element kompozisyonu (Ca, K, Na, Mg, Al, Fe, Cu, Mn, Sr ve Se) analizleri sırasıyla Orta Doğu Teknik Üniversitesi, AR-GE Eğitim ve Ölçme Merkezi laboratuvarında ve Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi ile Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü laboratuvarlarında hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Ayrıca, ısıl değer analizi Konya Çimento'ya ait İkincil Yakıtlar Girdi Kalite Kontrol Laboratuvarı'nda hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.

3.2.1. Toplam katı madde (TKM) analizi

TKM analizleri Standart Metot 2540-C'ye göre yapılmıştır. TKM, belirli miktarda numunenin 103-105°C'de sabit tartıma gelene kadar etüvde kurutulması sonucunda oluşan ağırlık kaybının belirlenmesi ile ölçülmüştür (APHA 2005).

3.2.2. Uçucu katı madde (UKM) analizi

UKM, TKM'nin organik kısmını temsil etmektedir. UKM analizi Standart Metot 2540-C'ye göre yapılmıştır. UKM, TKM içeriği bilinen numunenin 550°C'de fırında yakılması ve sabit tartıma getirilmesi sonucu gözlenen ağırlık kaybının belirlenmesi ile ölçülmüştür (APHA 2005).

3.2.3. Toplam karbon (TK), inorganik karbon (İK) ve toplam organik karbon (TOK) analizleri

Dallı darı numunesi toplam karbon, inorganik karbon ve toplam organik karbon analizlerinde Shimadzu TOC-L analizörü ve katı örneklerin yakılmasında SSM – 5000 A Solid Sample Module kullanılmıştır. TK ve İK içeriklerinin cihaz ile ölçülmesinin ardından TOK değeri hesaplama ile tespit edilmiştir. TK değerinden İK değerinin çıkartılması numuneye ait TOK içeriğini vermektedir.

3.2.4. Toplam Kjeldahl azotu (TKN) analizi

TKN, organik azot ve amonyum azotunun toplam miktarlarıdır. TKN analizi Standart Metot 4500'e göre tayin edilmiştir (APHA, 2005). TKN analizi; numunede mevcut organik azotun H₂SO₄, kjeldahl katalizörü (CuSO₄) ve sıcaklık uygulanarak ekstraksiyonla amonyum sülfata [(NH₄)₂SO₄] dönüştürülmesi, soda ilavesi ile alkalinizasyondan sonra amonyumun borik asit (H₃BO₃) ile distilasyonunun yapılması ve hidroklorik asit ile titrasyonu prensibine dayanmaktadır. TKN analizi, Standart metotlara göre TKN analizinin katı atıklar için adapte edilmiş formu kullanılarak yapılmıştır (Buffiere vd. 2006).

TKN analizlerinde yakma, distilasyon ve titrasyonu otomatik olarak yapan Büchi Digest Automat K-438, Büchi Auto Kjeldahl Unit K-370 ve Radiometer TitraLab 840 kullanılmıştır. Numunelerin yakılmasında kullanılan sıcaklık programı 195°C - 30 dk, 250°C - 60 dk, 420°C - 200 dk, 50°C - 30 dk. ve soğutmadan oluşmaktadır.

3.2.5. Çözünmüş ve toplam protein analizi

Toplam ve çözünmüş protein konsantrasyonu Lowry metodu kullanılarak analiz edilmiştir (Lowry vd. 1951). Metod peptidik bağların miktarını ölçmektedir. Protein konsantrasyonu mg/L BSA (Bovine serum albimun) eşdeğeri olarak belirlenmiştir. Standart bovine serum albumin çözeltileri (0, 20, 40, 60, 80 ve 100 mg/L) hazırlanarak, standart konsantrasyonlara karşı absorbans değerleri 750 nm'de okunmuş ve kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Tuz ve folin çözeltisi reaksiyonundan sonra, numunelerin absorbansı spektrofotometre yardımıyla 750 nm'de ölçülmüş ve kalibrasyon eğrisi yardımıyla numune içerisindeki protein miktarı belirlenmiştir.

1 g/L konsantrasyonda hazırlanan dallı darı numunesi 30 dakika karıştırılmıştır. Toplam protein analizi dallı darı içeren karışım numunesinden ve çözünmüş protein analizi ise karışım numunesinin 14500 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmesinden sonra elde edilen sıvı numuneden yapılmıştır.

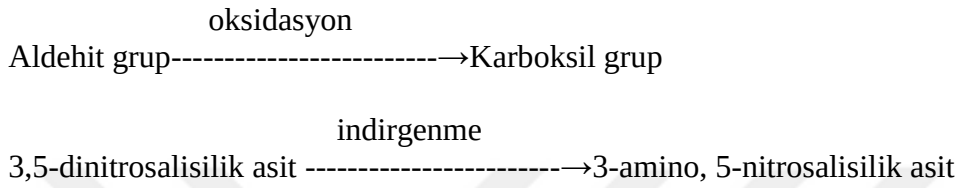
3.2.6. Çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ) analizi

çKOİ analizi Hach-Lange hazır test kitleri kullanılarak yapılmıştır. Analizin prensibi, oksitlenebilen maddelerin, gümüş sülfatın katalizör olarak bulunduğu ortamda 148°C'de 2 saat oksitlenmesi ve sülfürik asit-potasyum dikromat çözeltisi ile reaksiyona girmesi şeklindedir. Numunenin çKOİ (mg/L) değeri spektrofotometrede 605 nm dalga

boyunda okunmuştur. çKOİ analizinde Hach-Lange DR5000 spektrofotometre ve Lange LT200 marka ısıtıcı blok kullanılmıştır.

3.2.7. Toplam indirgen şeker analizi

Toplam indirgen şeker tayini için DNS metodu (Miller 1959) kullanılmıştır. DNS metodu; aldehit grupların oksidasyonu sonucu oluşan ve indirgen şeker olarak bilinen serbest karbonil grupların (C=O), 3,5-dinitrosalisilik asitle indirgenmesi esasına dayanmaktadır. 3,5-dinitrosalisilik asit alkali şartlar altında sırasıyla 3-amino, 5-nitrosalisilik aside indirgenmektedir.



İndirgen şeker miktarı analizinde, glikoz kullanılarak standart glikoz çözeltileri hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0, 200, 400, 600, 800, 1000 mg glukoz/L konsantrasyonları kullanılmıştır. DNS ile muamele sonrası numunelerin absorbansı spektrofotometre yardımıyla 575 nm’de ölçülmüştür.

3.2.8. Toplam şeker analizi

Toplam şeker (glukoz) konsantrasyonunun belirlenmesinde Anthrone metodu kullanılmıştır (Dreywood 1946). Anthrone metodu, karbonil gruplarının (C=O) miktarının ölçülmesi ile karbonhidrat konsantrasyonu belirlenmesi prensibine dayanmaktadır. Yöntem, yüksek sıcaklık ve asit konsantrasyonuna (100°C ve %98’lik H_2SO_4) maruz bırakılan polisakkaritlerin monomerlerine parçalanması sonrasında beş karbonlu (pentoz) ve altı karbonlu (heksoz) şekerlerin sırasıyla furfural ve hidroksimetilfurfurala çevrilmesi ve oluşan bu parçalanma ürünlerinin anthrone ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk değişiminin ölçümü esasına dayanmaktadır.

Şeker miktarı, standart glukoz kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0, 20, 40, 60, 80, 100 mg glukoz/L konsantrasyonları kullanılmıştır. Anthrone ve sülfürik asit reaksiyonundan sonra numunelerin absorbansı spektrofotometre yardımıyla 625 nm’de ölçülmüştür.

3.2.9. Yapısal karbonhidrat analizi

Ham dallı darı numunesi yapısal karbonhidrat analizleri (Sellobiyoz, Glukoz, Ksiloz, Galaktoz, Arabinoz, Mannoz) ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarı tarafından önerilen “*Biyokütlede Yapısal Karbonhidratların ve Ligninin Belirlenmesi (NREL/TP-510-42618 -2012)* (Sluiter vd. 2006) isimli analitik prosedüre göre ve HP&HAc ön arıtma uygulanmış dallı darı numuneleri ile enzim dozlarının belirlenmesi için eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon uygulanan numunelerin yapısal karbonhidrat analizleri (Sellobiyoz, Glukoz, Ksiloz, Galaktoz, Arabinoz, Mannoz) ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarı tarafından önerilen

“*Proses Numunelerinin Sıvı Fazında Şekerlerin, Yan Ürünlerin Ve Parçalanma Ürünlerinin Tespiti (NREL/TP-510-42623)*” (Sluiter vd. 2006) isimli analitik prosedüre göre yapılmıştır. Bu prosedürlerde yapısal karbonhidrat analizlerinin yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılması önerilmektedir.

“*Biyoküttele Yapısal Karbonhidratların ve Ligninin Belirlenmesi (NREL/TP-510-42618 -2012)*” isimli analitik prosedürde numunenin hidroliz edilerek analize hazırlanması önerilmektedir. Hidroliz işlemi için 300 ± 10 mg dallı darı numunesi otoklav şişesine konulmuş ve $3,00 \pm 0,01$ mL %72’lik H_2SO_4 eklenerek karıştırılmıştır. 1 saat $30^\circ C$ ’de asit ile dallı darının reaksiyona girmesi için bekletilmiş, sonrasında asit konsantrasyonu %4 olacak şekilde saf su eklenerek (84 mL) seyreltilmiştir. Elde edilen seyreltik asit ve dallı darı karışımı 1 saat $121^\circ C$ ’de otoklavlanmış ve soğutulmuştur. Otoklavlanarak hidrolize uğramış numuneler, vakum filtre düzeneğinden süzölmüştür. Filtreden geçen sıvı yeni bir cam şişede toplanmıştır. H_2SO_4 ekstraksiyonundan sonra $CaCO_3$ kullanılarak numune pH değeri 5-7 aralığına getirilmiştir. Nötralize edilen numuneler 0,22 μm filtreden süzülerek yapısal karbonhidrat analizi için HPLC viallerine alınmıştır.

Yapısal karbonhidrat analizlerinde Dionex Ultimate 3000 HPLC cihazı kullanılmıştır. Yapısal karbonhidratların (Sellobiyoz, Glukoz, Ksiloz, Galaktoz, Arabinoz, Mannoz) ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Yapısal karbonhidratların (Sellobiyoz, Glukoz, Ksiloz, Galaktoz, Arabinoz, Mannoz) ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları

Kolon	Aminex HPX-87P kolon, 300x7,8 mm
Dedektör	Refraktif İndeks
Kolon Sıcaklığı	$80^\circ C$
Dedektör Sıcaklığı	$50^\circ C$
Mobil Faz	0,2 μm ’den süzölmüş ve gazsızlaştırılmış HPLC derecesinde H_2O
Akış Hızı	0,6 mL/dk
Analiz Süresi	35 dk.
Numune Hacmi	10-50 μL

Yapısal karbonhidratların (Sellobiyoz, Glukoz, Ksiloz, Galaktoz, Arabinoz, Mannoz) analiz edilmesinde kullanılan HPLC cihazı (Dionex Ultimate 3000) ve refraktif indeks dedektörü Şekil 3.2.’de verilmiştir.



Şekil 3.2. HPLC cihazı (Dionex Ultimate 3000) ve refraktif indeks dedektörü

3.2.10. Asitte çözünen ve çözünmeyen lignin analizi

Asitte çözünen ve çözünmeyen lignin analizleri, ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarı tarafından “Biyokütlede Yapısal Karbonhidratların ve Ligninin Belirlenmesi (NREL/TP-510-4261)” (Sluiter vd. 2012) için hazırlanan analitik prosedüre göre yapılmıştır.

Bu kapsamda, 300 ± 10 mg numune darası alınmış ve numaralandırılmış ısıya dayanıklı şişeye konulmuş ve $3,00 \pm 0.01$ mL %72’lik H_2SO_4 eklenerek tamamen karışana kadar yaklaşık 1 dakika karıştırılmıştır. Numune şişeleri $30 \pm 3^\circ C$ su banyosunda karıştırılarak 1 saat inkübe edilmiştir. Numuneler su banyosundan alındıktan sonra $84,00 \pm 0.04$ mL deiyonize su eklenerek %4’lük asite seyreltilmiştir. Numune şişeleri karıştırıldıktan sonra otoklava yerleştirilmiş ve $121^\circ C$ ’de 1 saat bekletilmiştir.

Asitte çözünmeyen lignin analizinde otoklav sonrası, asitte çözünmeyen lignin miktarının belirlenmesi için biyokütle vakum filtre düzeneğinden geçirilerek katı kısım sabit tartıma getirilmiş krozeeye alınmış, sıvı kısım filtrasyon erleninde toplanmıştır. Sıvı kısım asitte çözünmüş lignin analizi için kullanılmıştır. Krozeeye konulan asitte çözünmemiş kalıntı $105 \pm 3^\circ C$ ’de 24 saat kurutulmuş ve ardından desikatörde soğutulup tartılmıştır. Daha sonra kül fırınında $550^\circ C$ ’de 2 saat yakılarak tekrar desikatörde soğutulup tartılmıştır. Asitte çözünmeyen lignin (AIL) ağırlığı % olarak hesaplanmıştır.

Asitte çözünen lignin analizinde ise bir önceki adımda elde edilen sıvı kısmın, UV spektrofotometrede 320 nm dalga boyunda absorbansı ölçülmüş ve asitte çözünen lignin miktarı hesaplanmıştır.

3.2.11. Ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) analizi

Ekstrakte olabilen madde ve yağ analizinde soxhlet metodu kullanılmıştır. Numunelerde mevcut ekstrakte olabilen maddelerin analizi için numune soxhlet kartuşu içinde petrolyum eter ile ekstraksiyona tabi tutularak petrolyum eter ve numune soxhlet balonunda toplanmıştır. Petrolyum eterin uzaklaştırılması amacıyla $70-80^\circ C$ sıcaklıkta

Heidolph 4000 rotary evaporatör cihazı kullanılmıştır. Evapore edilen numunelere 24 saat kurutma (105°C) uygulanmış ve ekstraksiyon balonlarının ağırlıkları ölçülerek mevcut yağ ile ekstrakte olabilen madde miktarı tespit edilmiştir (Bridoux vd. 1994)

3.2.12. Van Soest fraksiyon (Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözünür madde (SOLU)) analizleri

Selüloz, hemiselüloz, lignin ve çözünür fraksiyon analizleri Van Soest metoduna göre yapılmıştır (Van Soest 1963). Gravimetrik analiz metodu olan Van Soest yöntemi, nötral ve asidik deterjanla ardışık ekstraksiyonun ardından selüloz konsantrasyonunun belirlenmesi için güçlü asit ekstraksiyonu temeline dayanmaktadır. Van Soest analiz sonucu dört fraksiyonla ifade edilmektedir. SOLU (çözünür fraksiyon); nötral deterjanla ekstrakte edilen organik madde miktarıdır. HEMI (hemiselüloz fraksiyonu); nötral deterjan ile asit deterjan ekstraksiyonu arasındaki farktır. CELL (selüloz fraksiyonu); %72'lik H₂SO₄ ile ekstraksiyon sonrasında tespit edilmektedir. LIGN (lignin fraksiyonu) ise %72'lik H₂SO₄ ile muamele sonrasında elde edilen UKM miktarıdır (Van Soest vd 1963). Selüloz (CELL), hemiselüloz (HEMI), lignin (LIGN), çözünür madde (SOLU) fraksiyon analizlerinin yapılmasında Gerhardt - FBS6 Van Soest Seti kullanılmıştır.

3.2.13. Elemental analiz

Dallı darı numunesinin elementel kompozisyon (C, H, N ve S) analizleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi, AR-GE Eğitim ve Ölçme Merkezi laboratuvarında hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.

3.2.14. İz element analizi

Dallı darı numunesinin iz elementel (Ca, K, Na, Mg, Al, Fe, Cu, Mn, Sr ve Se) analizleri Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi laboratuvarından ve Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümünden hizmet alımı yolu ile yaptırılmıştır.

3.2.15. Alt ısııl değer analizi

Ham dallı darı numunesi alt ısııl değer analizi Konya Çimento, İkincil Yakıtlar Girdi Kalite Kontrol Laboratuvarı'nda hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.

3.3. Karakterizasyon Analizlerinde Kullanılan Ekipmanlar

Shawnee türü dallı darıya ait numunenin karakterizasyonunun belirlenmesinde kullanılan ekipmanlar ve modelleri Çizelge 3.2'da verilmiştir.

Çizelge 3.2. Dallı dariya ait karakterizasyon analizlerinin yapılmasında kullanılan ekipmanlar

Analiz	Kullanılan Ekipman
TKM Analizi	WTW Binder ED115 Etüv Presica XB 220A ve XT 1220M Terazi
UKM Analizi	Protherm, PLF 120 Kül fırını Presica XB 220A ve XT 1220M Terazi
Toplam Karbon (TK), İnorganik Karbon (IK) ve Toplam Organik Karbon (TOK) Analizleri	Shimadzu TOC -L Shimadzu SSM-5000A
TKN Analizi	Presica XB 220A ve XT 1220M Terazi Buchi K-438 Digester Automat Yakma Ünitesi Buchi Kjelflex K-360 Distilasyon ve Titrasyon Cihazı Radiometer TIM 840 Titrasyon Cihazı Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Toplam Protein Analizi Çözülmüş Protein Analizi	Presica XB 220A ve XT 1220M Terazi HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre VELP Classic Vorteks Karıştırıcı H+P Labortechnik Variomag Power Direct Manyetik Karıştırıcı Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Çözülmüş Kimyasal Oksijen İhtiyacı Analizi	H+P Labortechnik Variomag Power Direct Manyetik Karıştırıcı HACH DRB200 Dijital Reaktör Bloğu HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre
Toplam İndirgen Şeker Analizi Toplam Şeker Analizi	Memmert WNB 14 Su Banyosu HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre VELP Classic Vorteks Karıştırıcı Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Yapısal Karbonhidrat Analizi	Thermo Scientific UltiMate 3000 HPLC
Asitte Çözünmeyen Lignin ve Asitte Çözünen Lignin	Memmert WNB 14 Su Banyosu Hirayama HICLAVE HV-50L Otoklav HACH Lange DR 5000 Spektrofotometre Rocker 300 Vakum Pompası WTW Binder ED115 Etüv Protherm, PLF 120 Kül fırını Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Ekstrakte Olabilen Madde ve Yağ (Lipid) Analizi	Medline MS-E102 Isıtıcı Sepet Heidolph 4000 WB/G1 Rotary Evaporatör WTW Binder ED115 Etüv Presica XB 220A ve XT 1220M Terazi

Çizelge 3.2'nin devamı

Selüloz (CELL), Hemiselüloz (HEMI), Lignin (LIGN), Çözünür Madde (SOLU) Fraksiyon Analizleri	Gerhardt, FBS6 Van Soest Seti WTW Binder, ED115 Etüv Protherm, PLF 120 Kül fırını Presica XB 220A ve XT 1220M Terazi Millipore ELIX® 5 UV Saf Su Cihazı
Taramalı Elektron Mikroskop ile Görüntüleme	Polaron SC7620 Sputter Coater LEO1430 Taramalı Elektron Mikroskobu
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi	Presica XB 220A ve XT 1220M Terazi Bruker Tensor 27 FT-IR
Elementel Kompozisyon (CHNS) Analizi	LECO- CHNS-932
İz Element (Ca, K, Na) Analizleri	ICP – OS – Perkinelmer 7000DV
İz Element (Mg, Al, Fe, Cu, Mn) Analizleri	ICP –MS Perkinelmer Elan drc-e

3.4. MKT Metodu ile Hidrojen Peroksit – Asetik Asit Ön Arıtma (HP&HAc) Deneylerinin Planlanması ve Optimizasyonu

Dallı darının HP&HAc ön arıtma prosesi optimum koşullarının saptanması, HP&HAc ön arıtmanın etanol ve biyogaz üretim verimi üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla istatistiksel deney tasarım metotlarından biri olan merkezi kompozit deney tasarım yöntemi kullanılmıştır. Merkezi kompozit tasarım dört faktörlü ve yüzey merkezli olarak uygulanmıştır. Sistem üzerinde etkisi olduğu düşünülen bağımsız değişkenler; reaksiyon sıcaklığı (°C), reaksiyon süresi (saat), asetik asit konsantrasyonu (%w/v) ve H₂O₂ konsantrasyonu (%w/v) olarak belirlenmiştir. Bağımsız değişkenler ve seviyeleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. HP&HAc ön arıtma prosesinde kullanılan bağımsız değişkenler ve seviyeleri

Bağımsız Değişkenler	Kodlu Değer		
	Düşük Düzey (-1)	Merkez Seviye (0)	Yüksek Düzey (+1)
X ₁ , Reaksiyon Sıcaklığı, (°C)	50	75	100
X ₂ , Reaksiyon Süresi, (Saat)	6	15	24
X ₃ , Asetik Asit Konsantrasyonu, (%w/v)	0	1	2
X ₄ , H ₂ O ₂ Konsantrasyonu, (%w/v)	0	1	2

Bağımsız değişkenlerin sistem üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, bağımlı değişkenler (cevapların) vasıtasıyla yapılmaktadır. Bu nedenle bağımlı değişkenlerin belirlenmesi önem taşımaktadır. Hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtmanın etkinliğinin belirlenmesinde cevap değişkenleri olarak çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ), çözünmüş indirgen şeker (çİndŞeker), etanol potansiyeli ve biyokimyasal metan potansiyeli (BMP) parametreleri kullanılmıştır.

Bağımsız değişkenlerin ön arıtma prosesi üzerindeki etkinliklerinin belirlendiği çalışmada, deneysel tasarım ve optimizasyon için geliştirilmiş Design Expert® istatistiksel paket programının 7.0 sürümü kullanılmıştır. Deney setlerinin

belirlenmesinde bağımsız değişkenler ve seviyeleri ile bağımlı değişken olarak belirlenen parametreler programa aktarılmıştır. Cevap yüzey tasarımı için yapılması gereken deney setleri Design Expert® programı tarafından önerilmiştir. Önerilen deney setleri Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Design Expert® programı tarafından önerilen cevap yüzey tasarımı deney setleri

Deney	Sıcaklık (°C)	Süre (h)	HAc (% w/v)	H ₂ O ₂ (% w/v)
1	100	6	0	0
2	75	15	1	0
3	75	15	2	1
4	50	24	2	0
5	100	6	2	0
6	100	6	0	2
7	100	24	0	0
8	50	15	1	1
9	75	15	1	2
10	100	24	0	2
11	100	24	2	2
12	50	24	0	2
13	75	15	1	1
14	75	15	0	1
15	50	6	2	2
16	50	6	0	2
17	75	6	1	1
18	75	24	1	1
19	100	24	2	0
20	100	15	1	1
21	100	6	2	2
22	50	24	0	0
23	50	6	0	0
24	50	24	2	2
25	50	6	2	0

Program tarafından önerilen deneylerin yapılmasıyla bağımlı değişkenlere ait elde edilen veriler kullanılarak önerilen modelin istatistiksel olarak uygunluğu ANOVA testi ile tespit edilmiştir. Modelin uygunluğu R^2 ile ifade edilmiş ve istatistiksel önemi F testi ile incelenmiştir. Elde edilen model eşitlikleri yardımıyla bağımsız ve bağımlı değişkenler için maksimizasyon ve minimizasyon kriterleri ile önem ağırlıkları belirlenerek optimizasyon yapılmıştır. Optimizasyon işleminden sonra elde edilen model uygunluğu validasyon deneyleri yapılarak değerlendirilmiştir.

3.5. Hidrojen Peroksit – Asetik Asit Ön Arıtma Deney Sistemi ve Ön Arıtma Etkinlik Analizleri

3.5.1. Hidrojen peroksit – asetik asit ön arıtma deney sistemi

Lignoselülozik dallı darı enerji bitkisinden etanol ve biyogaz üretim verimini artırmak için lignoselülozik yapının hidrolize ve delignifiye edilmesi amacı ile dallı darıya asetik asit – hidrojen peroksit ön arıtma uygulanmıştır. Ön arıtma deneylerinde 0.5 mm boyuta getirilmiş dallı darı, reaktör içerisindeki katı madde oranı %6 olacak şekilde kullanılmıştır. MKT yöntemi tarafından önerilen deney setlerine göre hesap edilen HAC ve H_2O_2 reaktöre eklenmiş ve reaktör içeriğinin toplam ağırlığı 200 g olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır. Reaktör içeriğinin başlangıç pH değerleri ölçülmüş ve reaktör deney sistemine yerleştirilerek ön arıtma işlemi yapılmıştır. HP&HAC ön arıtmanın uygulandığı deney sistemi Şekil 3.3’de verilmiştir. Deney sistemi; cam reaktör, ısıtıcı manyetik karıştırıcı, yağ banyosu ve kondenserdan oluşmaktadır. Belirlenen miktarda dallı darı, H_2O_2 ve HAC içeren reaktörler, IKA® C-MAG HS-7 ısıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde bulunan ve sıcaklığı önceden ayarlanmış olan yağ banyosuna yerleştirilmiş, reaktörlerde buharlaşma sonucu sıvı kaybı yaşanmaması için ağızları kondenser ile kapatılmıştır. Kondenserler Lauda RA8 sirkülasyonlu su banyosu yardımı ile 15°C’de tutularak buharlaşan sıvının yoğunlaştırılması sağlanmıştır. Tüm deneylerde manyetik karıştırıcı, reaktör içi karışım 150 rpm olacak şekilde ayarlanmıştır. Belirlenen reaksiyon süresinin tamamlanmasının ardından reaktörlerin ağzı kapatılmış, buzlu su ile hızlıca soğutulmuştur. Tüm deneyler paralelli yapılmıştır.



Şekil 3.3. HP&HAC ön arıtma sistemi

HP&HAC ön arıtma sonrasında reaktör içeriğinin pH değeri ölçülmüştür. Reaktördeki katı – sıvı karışım 4400 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek katı kısım etanol fermantasyonunda kullanılmak üzere ayrılmıştır. Sıvı kısım ise 14500 rpm’de 15 dakika ikinci kez santrifüjlenerek elde edilen sıvı numunelerde indirgen şeker analizi, kimyasal

oksijen ihtiyacı analizi, yapısal karbonhidrat analizi ve inhibitör madde analizi yapılmıştır.

3.5.2. Ön arıtma etkinlik analizleri

3.5.2.1. pH analizi

HP&HAc ön arıtma deneyleri başlangıcında ve sonunda pH değerleri, WTW Inolab pH 720 marka pH metre cihazı ile ölçülmüştür.

3.5.2.2. İndirgen şeker analizi

İndirgen şeker analizi DNS metodu (Miller 1959) ile gerçekleştirilmiştir. DNS metodu Bölüm 3.2.7’de verilmiştir.

3.5.2.3. Kimyasal oksijen ihtiyacı analizi

KOİ analizi Hach-Lange hazır test kitleri ile yapılmıştır. Kimyasal oksijen ihtiyacı ölçüm metodu Bölüm 3.2.6’da verilmiştir.

3.5.2.4. Yapısal karbonhidrat analizi

Yapısal karbonhidrat analizi Dionex Ultimate 3000 HPLC cihazı ile yapılmıştır. Analiz metodu Bölüm 3.2.8’de verilmiştir.

3.5.2.5. İnhibitör madde analizi

Yüksek sıcaklık ile muamele edilen şeker içerikli numunelerde etanol fermantasyonunu ve metan üretimini olumsuz etkileme potansiyeli olan inhibitör maddelerin (HMF, Furfural, Asetik asit ve Laktik asit) açığa çıkması mümkündür. Bu maddeler şekerlerin parçalanma ürünleridir ve numuneye uygulanan işlemin içeriğine ve şiddetine bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda açığa çıkabilmektedir. Özellikle dalı darının yüksek şeker içermesinden ve HP&HAc ön arıtmada hem asit hem de ısı etkisi ile inhibitör madde oluşabileceğinden ön arıtma sonrası sıvı fazda bu inhibitör maddelerin varlığı ve konsantrasyonu ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarı tarafından önerilen “*Proses Numunelerinin Sıvı Fazında Şekerlerin, Yan Ürünlerin Ve Parçalanma Ürünlerinin Tespiti (NREL/TP-510-42623)*” (Sluiter vd. 2006) isimli analitik prosedür ile analiz edilmiştir.

İnhibitör madde analizleri, Dionex Ultimate 3000 HPLC cihazı kullanılarak ve metotta önerilen ölçüm şartları altında gerçekleştirilmiştir. İnhibitörlerin (Hidroksimetilfurfural (HMF), Furfural, Asetik asit ve Laktik asit) ayırımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.5. İnhibitörlerin (HMF, Furfural, Asetik asit ve Laktik asit) ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları

Kolon	Aminex HPX-87H kolon, 300x7,8 mm
Dedektör	Refraktif İndeks
Kolon Sıcaklığı	60°C
Dedektör Sıcaklığı	50°C
Mobil Faz	0,2µm'den süzölmüş ve gazsızlaştırılmış HPLC derecesinde H ₂ O ile hazırlanmış 0,005M H ₂ SO ₄ çözeltisi
Akış Hızı	0,6 mL/dk
Analiz Süresi	50 dk.
Numune Hacmi	10-25 µL

3.6. Etanol Fermantasyonu

HP&HAc ön arıtma prosesi sonrasında dallı darının etanol potansiyelinin tespit edilebilmesi için ön arıtılmış numunelere eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon (simultaneous saccharification and fermentation – SSF) prosesi uygulanmıştır. Fermantasyon ortamında yüksek KM miktarına ulaşılabilmesi ve sıvı fazda inhibitör madde bulunması ihtimali dikkate alınarak ön arıtma prosesi sonrası katı faz kullanılarak etanol fermantasyonu çalışmaları yapılmıştır.

3.6.1. Etanol fermantasyonu için inhibitör madde giderimi

HP&HAc ön arıtma sonrasında elde edilen sıvı fraksiyonda inhibitör maddelerin (HMF, Furfural, Asetik asit ve Laktik asit) analiz edilebilmesi için ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarı tarafından önerilen “*Proses Numunelerinin Sıvı Fazında Şekerlerin, Yan Ürünlerin Ve Parçalanma Ürünlerinin Tespiti (NREL/TP-510-42623)*” (Sluiter vd. 2006) isimli analitik prosedür kullanılmıştır. Kullanılan yöntemin detayları Bölüm 1.5.2.5. “İnhibitör madde analizi” başlığı verilmiştir. Sonuçlarda etanol fermantasyonunu inhibe edecek bir maddeye rastlanmadığı için detoksifikasyon işlemi yapılmasına gerek görülmemiş ve SSF protokolü direkt numunelere uygulanmıştır.

3.6.2. Eş zamanlı şekerleştirme ve etanol fermantasyonu (SSF)

Ön arıtma prosesleri ile lignoselülozik materyallerin yapısı bozulmakla birlikte maya ile fermantasyonun verimli hale gelebilmesi için polimer yapıdaki şekerleri monomerlerine parçalayan enzimatik hidroliz prosesine ihtiyaç duyulmaktadır (Dererie vd. 2011). Bu kapsamda enzimatik hidroliz ve fermantasyonun eş zamanlı gerçekleştiği SSF prosesi lignoselülozik materyalden biyoetanol üretimi için ideal özellikler taşımaktadır (Fernandes vd. 2015). SSF prosesinde kullanılan enzimler HP&HAc ön arıtma sonrası polimer yapıda olan şekerleri maya kullanımına uygun monomerlere yıkarken eş zamanlı olarak maya da ortamdaki monomer şekerleri etanole fermente etmektedir. Bu eş zamanlı mekanizma ile birden fazla reaktöre ihtiyaç duyulmamakta ve mayanın substrat inhibisyonuna uğrama ihtimali ortadan kalkmaktadır.

SSF prosedürünün bir metot olarak tüm uygulama detaylarına yer veren çalışmalara literatürde ulaşılamamıştır. Bununla birlikte, prosesin gerçekleştirilebilmesi için deney ortamına uygun KM miktarında substrat, yeterli hücre sayısına ulaşmış aktif maya kültürü, polimer şekerleri parçalama özelliği olan uygun dozlarda β -glukozidaz ve selüloz enzimleri, eser besin elementleri ve pH değerinin değişmemesi için tampon eklenmesi gerekmektedir. Etanol fermantasyonu prosesinde kullanılan tüm bu proses değişkenlerinin uygulama değerlerinin seçilmesinde yararlanılan literatür Çizelge 3.6'da verilmiştir. Yapılan literatür taraması ile SSF prosedürünün bileşenleri derlenmiş (Çizelge 3.6) ve laboratuvarında uygulama çalışmaları başlatılarak prosedür oturtulmuştur.

Ham dallı darı numunesi ve HP&HAc ön arıtma uygulanmış dallı darı numuneleri kullanılarak 100 mL çalışma hacminde, %5 KM oranında ve $1,4 \times 10^7$ hücre sayısında *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile çalışılmıştır. SSF ortamına eklenecek *Saccharomyces cerevisiae* maya miktarının tespit edilebilmesi için SSF prosesinden önce maya çoğaltma işlemi yapılmıştır. Maya çoğaltma işlemi ile ilgili detaylı bilgi Bölüm 3.6.3'de verilmiştir. Her bir SSF reaktörüne çoğaltılan mayadan 7 mL ($1,4 \times 10^7$ hücre/mL) eklenmiştir. SSF ortamına maya verimini arttırmak için eser besin elementleri 2 g/L KH_2PO_4 , 1 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 g/L MgSO_4 olacak şekilde eklenmiştir. SSF prosedüründe *Saccharomyces cerevisiae*'dan yüksek verim alınabilmesi için reaktör içeriği pH değerinin 4 – 5 aralığında tutulması gerekmektedir. Fermantasyon süresince pH'da olabilecek değişimleri engellemek ve deneyin başında pH değerini istenilen aralıkta tutmak için SSF reaktörlerine pH 4,8 olan 1 molarlık sitrat tamponu eklenmiştir. Sitrat tamponu istenilen pH değerine göre 1 M sodyum sitrat ve 1 M sitrik asitin karıştırılması ile elde edilmiştir. İdeal enzim çalışma sıcaklığı 50°C ve mayalar için ideal fermantasyon sıcaklığı 30°C olarak literatürde verilmektedir. Bununla birlikte enzimatik hidroliz ve fermantasyonun eş zamanlı gerçekleştirilebilmesi için 36°C sıcaklığın uygun olduğu da yine yapılan SSF çalışmalarında belirtilmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon deneyleri 36°C reaksiyon sıcaklığında yapılmıştır. Enzimatik hidrolizi gerçekleştirmek için lignoselülozik materyaldeki temel şeker kaynağı olan selülozu monomerlerine parçalayan selüloz ve β -glukozidaz enzimleri tercih edilmiştir (Singhania vd., 2013). SSF prosesinde kullanılan selüloz ve β -glukozidaz enzim dozları miktarına Bölüm 3.6.4'te detayları verilen enzim miktarı denemeleri ile karar verilmiştir. Belirlenen enzim dozlarının da SSF ortamına eklenmesi ile etanol fermantasyonu başlatılmıştır.

Dallı darı numunesi, maya, enzimler, besin elementleri ve tampon SSF reaktörüne eklendikten sonra reaktör içeriğinin pH değerleri ölçülmüş ve reaktör üzerinde hava kilidi ile numune alma hattı bulunan silikon tıpa ile kapatılmıştır. Etanol üretim reaktörü Şekil 3.4'de verilmiştir. Deney sırasında kullanılan tüm malzemeler otoklavlanmış, alkol ile veya UV ile sterilize edilmiştir. Kapatılan etanol reaktörleri Daihan ThermoStable® IS-30 çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiş ve 144 saat inkübe edilmiştir (Şekil 3.4). SSF prosesi süresince t=0, 12, 24, 48, 72, 96, 120 ve 144. saatlerinde 1'er mL numune alınmış, 0,22 μm 'lik filtrelerden süzölmüş ve etanol ile yapısal karbonhidrat miktarları HPLC'de ölçölmüştür. SSF prosesi sonunda (144. saat) reaktör içeriğinin pH'sı ölçölmüş ve reaktör içerikleri -20°C'de muhafaza edilmiştir.



(a)



(b)

Şekil 3.4. a) Etanol üretim reaktörü; b) Etanol fermentasyonu

Çizelge 3.6. Etanol fermantasyonu prosesinde kullanılan proses değişkenlerine ait değerler

Parametre	SSF İçin Seçilen Değer	Kaynak
Çalışma Hacmi	100 mL	Canabarro vd. 2017 Li vd. 2014.
Katı Madde Oranı	5%	Aita vd. 2011 Babujanarthanam ve Kavitha 2014 Capecchi vd. 2016 Geng vd. 2012
Sitrat Tamponu (pH)	%5 - pH 4.8	Dowe ve Mcmillan 2008 Aita vd. 2011 Babujanarthanam ve Kavitha 2014 Barros-Rios vd. 2016 Duan vd. 2013 Fernandes vd. 2015 Ebrahimi vd. 2017
Besin Elementleri Kaynağı	2 g/L KH_2PO_4 , 1 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g/L MgSO_4	Camesasca vd. 2015 Capecchi vd. 2016 Chapla vd. 2015 Fockink vd. 2015 Keshav vd. 2016 Kuhad vd. 2010
Maya Besiyeri	YPD agar ve YPD sıvı besiyer	Dowe ve Mcmillan 2008 Babujanarthanam ve Kavitha 2014 Fernandes vd. 2015 Geng vd. 2012 Keshav vd. 2016 Kim vd. 2015 Ebrahimi vd. 2017 Li vd. 2014
Maya Miktarı	Reaktörde $1,4 \times 10^7$	Dowe ve Mcmillan 2008 Aita vd. 2011 Camesasca vd. 2015 Fockink vd. 2015 Hsu vd. 2011
İnkübasyon Sıcaklığı	36°C	Dowe ve Mcmillan 2008 Barros-Rios vd. 2016 Camesasca vd. 2015 Chapla vd. 2015 Capecchi vd. 2016 Fockink vd. 2015
Karıştırma Hızı	150 rpm	Fockink vd. 2015 Geng vd. 2012 Hsu vd. 2011 Keshav vd. 2016

3.6.3. SSF için maya çoğaltma

SSF prosedürü ile etanol fermantasyonu sırasında deney ortamında bulunan glukozu etanole fermente etmesi için maya olarak *Saccharomyces cerevisiae* kullanılması tercih edilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* eski çağlardan beri bilinen, ekmek ve alkol üretiminde kullanımı olgunlaşmış, kolayca tedarik edilebilen bir mikroorganizmadır. Çoğaltılması kompleks değildir ve maliyeti düşüktür. Bu çalışmada besiyer olarak maya özütü, pepton ve dekstroza oluşan YPD besiyer kullanılmıştır (Babujanarthanam ve Kavitha, 2014). YPD besiyerin kompozisyonu 10 g/L maya özütü (yeast extract), 20g/L pepton ve 20 g/L D-glukoz (dekstroz) olacak şekildedir. Sıvı olarak hazırlanıp otoklavlanan besiyere Antalya Alkollü İçecekler A.Ş.'den tedarik edilen kuru maya aşısı olarak eklenerek mezofilik koşullarda inkübe edilmesi ile maya çoğaltma sağlanmıştır.

Etanol fermantasyonu süresince ortamdaki glukozu fermente etmeye yetecek sayıda maya hücresi eklenmelidir. Eklenecek maya hücresi sayısının tespit edilebilmesi için öncelikle maya çoğaltma ve maya sayımı çalışmaları yapılmıştır. Bu kapsamda YPD besiyere farklı konsantrasyonlarda kuru maya ekilmiş ve inkübasyon sırasında $t=0, 2, 4, 6, 8, 10, 12$ ve 24. saatlerde numuneler alınmıştır. Alınan numunelerden hücre sayımı için YPD agara ekim yapılmış ve brix ile 600 nm'de optik densite (OD) takip edilmiştir. Brix ölçümü için Atago PAL-1 dijital brix refraktometre ve OD ölçümü için Hach Lange DR 5000 spektrofotometre kullanılmıştır. Kuru maya otoklavlanmış YPD besiyere eklendikten sonra reaktör hava kilidi ve numune alma hattı takılı tıpa ile kapatılmıştır (Şekil 3.5.). Reaktör, deney boyunca inkübasyon koşullarını sağlamak için 36°C'deki çalkalamalı su banyosunda muhafaza edilmiştir. Brix ile mayanın şekeri tüketme hızı takip edilmiş, YPD agara yapılan ekimlerden sayılan koloniler ile de OD ilişkilendirilmiş ve grafikleri çıkartılmıştır.

Uygun büyüme eğrisi ve şeker tüketim hızının belirlenmesi için 0,01 – 0,05 g kuru maya/100 mL YPD olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Steril ortamda sıvı besiyerden alınarak YPD agara yapılan numune ekimlerinde Miles ve Misra metoduna (Miles vd., 1938) göre $0 - 10^8$ arasında seyreltmeler kullanılmıştır. YPD agar 10 g/L maya özütü, 20 g/L pepton, 20 g/L dekstroz ve 20 g/L agardan hazırlanmıştır. YPD agar bulunan petri kaplarına her seyreltme miktarı ve deney süresi için 3'er petri kabı olacak şekilde ekilen 20'şer μ L hacminde maya kültürü 24 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Aşağıda verilen Eşitlik 3.1 kullanılarak sayılan kolonilerden üretilen hücre sayısı hesaplanmıştır.

$$\text{CFU/mL} = \text{koloni sayısı} \times 50 \times \text{seyreltme oranı} \dots\dots\dots (3.1.)$$

CFU/mL = 1 mL'de bulunan koloni oluşturma birimi (hücre sayısı)

Koloni sayısı = Petri kabında 20 μ L ekimden üreyen koloni sayısı

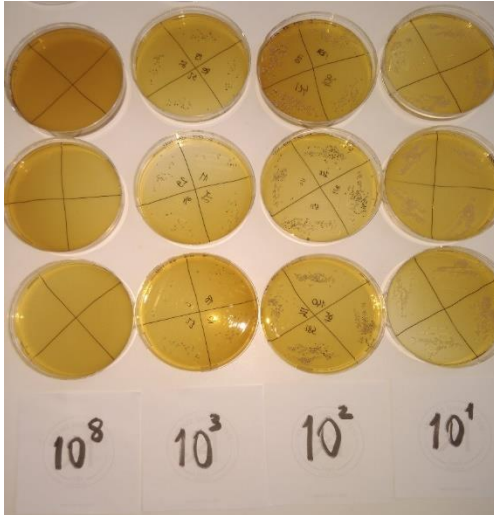
50 = 20 μ L ekim hacmini mL'ye çevirmek için kullanılan katsayı

Seyreltme oranı = 20 μ L numunenin alındığı ortamın seyreltilme oranı



Şekil 3.5. Maya çoğaltma işleminde kullanılan maya reaktörü

Sonuç olarak SSF prosedüründe kullanılacak maya miktarının tespit edilmesi ve maya üretimi için uygun koşulların tespit edilmesi amacıyla *Saccharomyces cerevisiae* 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 ve 0,05 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonlarda olacak şekilde otoklavlanmış YPD besiyere paralel olarak ekilmiş ve 36°C'ta çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon boyunca $t=2, 4, 6, 8, 10, 12$ ve 24. saatlerde numuneler alınmıştır. Alınan numunelerden YPD agara farklı seyreltme oranlarında yapılan maya ekimi ve inkübasyon sonunda gözlenen koloniler Şekil 3.6'da verilmiştir. Aynı zamanda alınan numunelerde brix ölçümü ile şeker tüketimi ve OD ile de bulanıklık takibi yapılmıştır.

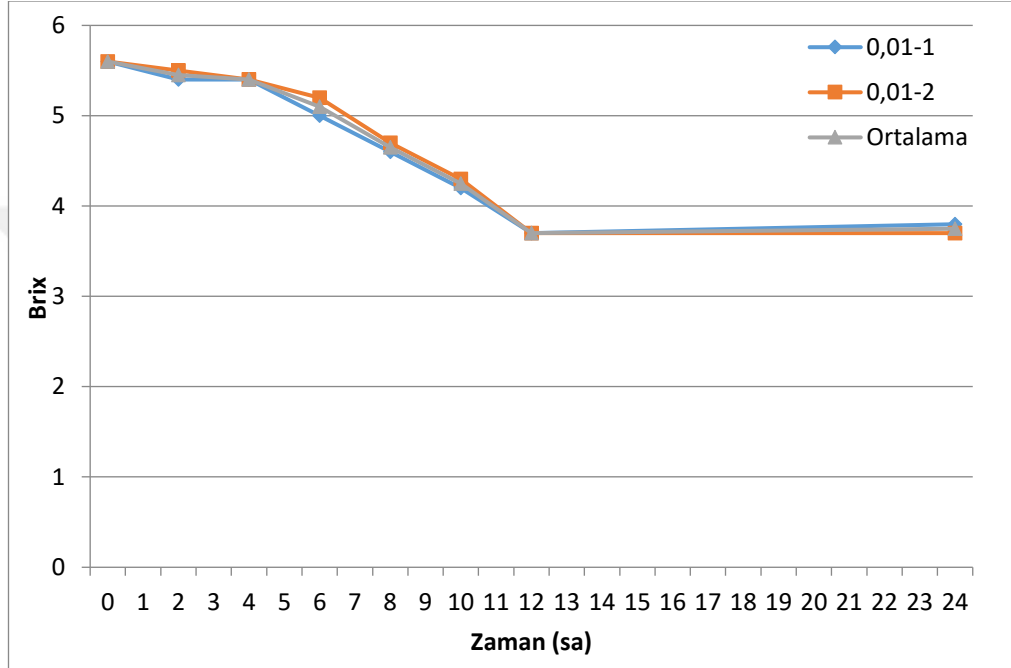


Şekil 3.6. YPD agara farklı seyreltme oranlarında yapılan maya ekimi

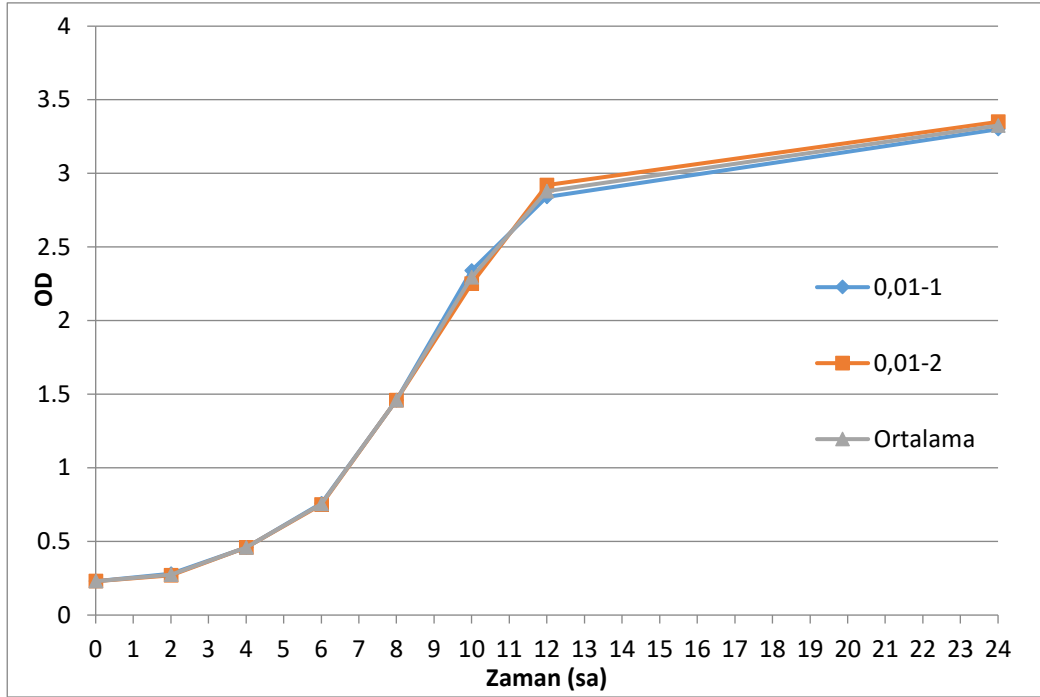
0,02 – 0,05 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyon aralığında brixin çok hızlı azaldığı ve OD'nin çok hızlı arttığı belirlenmiştir. $t=0$ anında 5,5 – 5,7 aralığında başlayan brix değeri 6 – 8 saat aralığında 4'ün altına düşmüş yani ortamda bulunan şeker maya sayısının fazlalığı nedeniyle hızlı tüketilmiştir. Maya çoğaltma çalışmalarında hücre yoğunluğunun takip edilmesinde kullanılan OD değeri 1'e ulaştığında yaklaşık 10^7 adet

hücre sayısına eşdeğerdir. Benzer şekilde OD değeri de 4 – 6 saat aralığında 1'in üzerine çıkmıştır.

Bununla birlikte 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda brix değerlerinde azalma ve OD değerlerinde artış grafiği normal bir büyüme eğrisi ile uyumlu olacak şekilde ortaya çıkmıştır. Şekil 3.7'de 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda zamana karşı brix değerleri ve Şekil 3.8'de OD değerlerindeki değişimleri verilmektedir. Brix değeri 12 saatte 5,6'dan 3,7'ye düşmüş ve 24. saatte değişiklik gözlenmemiştir. OD değeri ise 12 saatte 2,88'e ve 24. saatte 3,33'e ulaşmıştır.

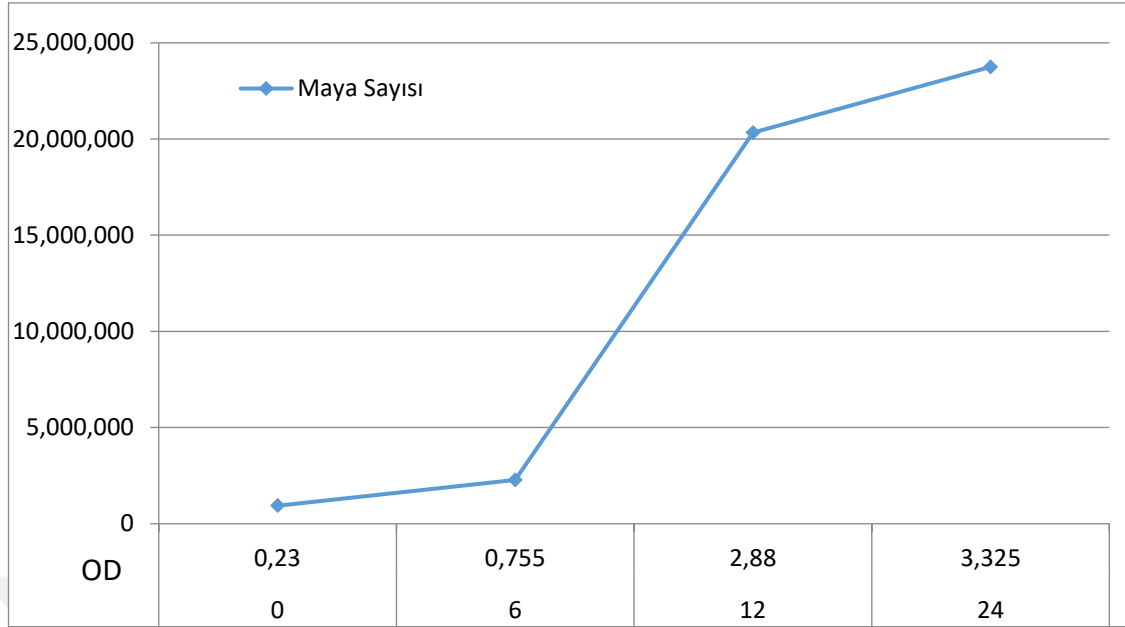


Şekil 3.7. 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda brix değerinin zamana karşı değişimi



Şekil 3.8. 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda OD değerinin zamana karşı değişimi

0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonundan inkübasyonun $t=2, 4, 6, 8, 10, 12$ ve 24. saatlerinde alınan numunelerden YPD agara üç paralel ekim yapılmış ve zamana karşı hücre sayısı artışı gözlenmiştir. Ekimler zamana bağlı olarak artan seyreltme oranlarında gerçekleştirilmiş ve koloni sayımı yapılmıştır. Sayılan koloniler Eşitlik 3.1’de verilen formüle göre hücre sayısına dönüştürülmüştür. Hücre yoğunluğunu temsil eden OD değerleri zamana karşı elde edilen hücre sayıları ile ilişkilendirilerek grafiğe aktarılmış, böylece her maya çoğaltma işlemi sırasında koloni ekimi yapmadan hücre sayısının tespit edilebilmesi sağlanmıştır. OD’ye karşı hücre sayısı Şekil 3.9’da sunulmaktadır. SSF için uygun hücre sayısına ulaşılması için yapılan denemeler sonucunda maya çoğaltma inkübasyonunun $t=12$ anında ulaşıldığı belirlenmiştir. Yaklaşık 12 saatte OD’nin 2.8 olduğu ve bu değerde çoğaltılan mayanın 2×10^7 /mL konsantrasyonda olduğu bulunmuştur.



Şekil 3.9. 0,01 mg kuru maya/100 mL YPD konsantrasyonunda hücre sayısının OD ve zamana karşı değişimi

Literatür araştırmasına göre etanol reaktörlerinde 1.4×10^6 /mL maya konsantrasyonunu sağlanmasının uygun olduğuna karar verilmiş, buna göre fermantasyona başlanırken etanol reaktörlerine 7 mL çoğaltılan mayadan eklenmiştir.

3.6.4. Deneylerde kullanılan enzim dozunun belirlenmesi

Lignoselülozik yapının bileşenlerinden olan selüloz ve hemiselüloz polimer şeker moleküllerinden oluşmaktadır ve etanol fermantasyonunun substratlarını oluşturmaktadırlar. Bununla birlikte polimer yapıda olmaları nedeniyle *Saccharomyces cerevisiae* tarafından kullanılmaya elverişli değildir. HP&HAc ön arıtma prosesi ile düzenli yapısı açılmaya ve ligninden uzaklaştırılmaya çalışılan selüloz ve hemiselülozun fermantasyonda kullanılabilmesi için monomerlerine hidrolize olması gerekmektedir. Anahtar – kilit uyumu ile çalıştığı bilinen enzimler bu hidrolizi gerçekleştirmekte biyolojik temelli bir yöntem olarak tercih edilmektedir.

Diğer lignoselülozik materyallerde olduğu gibi dallı darıda da selüloz önemli bir paya sahiptir ve bitkinin yapısında bulunmaktadır. SSF prosedüründe HP&HAc ön arıtma ile parçalanamayan selülozu kendisini oluşturan glukoz monomerlerine ayırmak için selülaz (Cellulase from *Trichoderma reesei* ATCC 26921 – Sigma) ve β -glukozidaz (Glucosidase from *Aspergillus niger* – Sigma) enzimleri kullanılmıştır. Oluşturulan deney ortamına eklendiğinde en verimli sonuçların elde edilmesini sağlayacak enzim konsantrasyonları kombinasyonunun tespit edilebilmesi için belirli aralıklarda enzim konsantrasyonlarını içeren denemeler gerçekleştirilmiştir. SSF deneylerinde kullanılacak selülaz ve β -glukozidaz enzimlerinin ideal konsantrasyonlarının tespit edilmesi için literatüre ve enzim üreticisi Novozymes firmasının tavsiyelerine uygun aralıklar Design Expert® programında kullanılarak farklı enzim dozlarında SSF denemeleri yapılmıştır. Selülaz için 25 – 75 EGU/gTKM (Novozymes firmasının tavsiye ettiği miktar olan 0.2 g

selülaz/ g selüloz) ve β -glukozidaz için 20 – 80 IU/gTKM enzim dozu (Fernandes vd. 2015, Li vd. 2014) aralıkları seçilerek Design Expert®'e girilmiştir. Bu aralıklara göre yazılım tarafından önerilen deney setleri Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Enzim dozlarının tespiti için Design Expert® tarafından önerilen deney setleri

Deney	Tasarım	
	Selülaz	B-Glukozidaz
	EGU/gr TKM	IU/gr TKM
1	25.00	80.00
2	75.00	80.00
3	50.00	20.00
4	75.00	50.00
5	50.00	50.00
6	25.00	50.00
7	25.00	20.00
8	50.00	80.00
9	75.00	20.00
Enzim Kontrol	0	0

Önerilen deney setleri ve enzim içermeyen kontrol deneyi diğer tüm SSF bileşenleri aynı kalacak şekilde ham Sawnee numunesi kullanılarak uygulanmıştır. SSF deneyleri Daihan ThermoStable® IS-30 çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Paralel olarak Bölüm 3.6.2. “Eş zamanlı şekerleştirme ve etanol fermantasyonu (SSF)”’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen deneylerden t=0, 12, 24, 48, 72, 96, 120 ve 144. saatlerde 1’er mL numune alınarak üretilen etanol miktarı HPLC’de ölçülmüştür. Yapılan analizlere göre maksimum etanol üretim veriminin elde edildiği enzim dozları HP&HAc ön arıtma uygulanmış dallı darı numunelerinin SSF deneylerinde kullanılmıştır.

3.6.5. Etanol miktarının belirlenmesi

HP&HAc uygulanmış dallı darının SSF metodu ile fermente edilmesinin ardından deney ortamında etanol varlığı ve konsantrasyonu ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji (NREL) Laboratuvarı tarafından önerilen “*Proses Numunelerinin Sıvı Fazında Şekerlerin, Yan Ürünlerin Ve Parçalanma Ürünlerinin Tespiti (NREL/TP-510-42623)*” (Sluiter vd. 2008) isimli analitik prosedür ile analiz edilmiştir. Analiz, Dionex Ultimate 3000 HPLC cihazı kullanılarak ve metotta önerilen ölçüm şartları altında gerçekleştirilmiştir. Etanolün ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları Çizelge 3.8’de verilmiştir.

Çizelge 3.8. Etanolün ayrımı için standartta belirtilen (NREL/TP-510-42623) HPLC cihazı çalışma koşulları

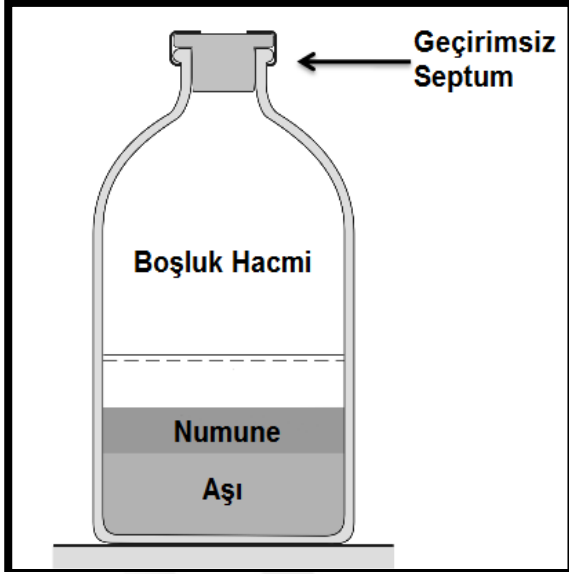
Kolon	Aminex HPX-87H kolon, 300x7,8 mm
Dedektör	Refraktif İndeks
Kolon Sıcaklığı	60°C
Dedektör Sıcaklığı	50°C
Mobil Faz	0,2µm'den süzölmüş ve gazsızlaştırılmış HPLC derecesinde H ₂ O ile hazırlanmış 0,005M H ₂ SO ₄ çözeltisi
Akış Hızı	0,6 mL/dk
Analiz Süresi	50 dk.
Numune Hacmi	10-25 µL

SSF prosesi sonunda ölçülen etanol miktarından t=0 anında maya çoğaltma ortamından gelen etanol miktarı düşölerek normalize edilmiş etanol üretimi sonuçları elde edilmiştir.

3.7. Biyokimyasal Metan Potansiyeli (BMP)

BMP, organik maddenin anaerobik aktif mikroorganizmalarca parçalanması süresince üretilen metan miktarının hesaplanması amacıyla kullanılan prosedürdür. BMP testinde temel amaç standart sıcaklık ve basınçta metan üretim veriminin tespit edilmesidir. Deney süresince üretilen gaz miktarı ve gaza ait kompozisyon ölçümleri yapılarak üretilen metan miktarı hesaplanmaktadır (Us 2010).

Etanol fermentasyonu sonrasında geriye kalan fermentasyon ortamı ve HP&HAc ön arıtma sonrasında ayrılmış olan sıvı faz belirli bir oranda birleştirilip metan potansiyelinin belirlenmesi amacıyla numunelerin BMP testleri Carrère vd. (2009) ile Us ve Perendeci (2012) tarafından uygulanan yöntemle göre yapılmıştır. Önerilen yöntemle göre BMP reaktörü içerisindeki aktif aşı konsantrasyonunun 3-5 gUKM/L ve substrat-aşı oranının ise 0,5 (katı numuneler için gUKM/gUKM, sıvı numuneler için gKOİ/gUKM) olması gerekmektedir. Ayrıca, deney süresince aşı çamur aktivitesinin devam etmesi için BMP reaktörüne uygun miktarda makro ve mikro besinler ve reaktörler içerisinde pH değişiminin tamponlanması amacıyla NaHCO₃ ilave edilmesi gerekmektedir. Numune, aşı ve gerekli besinlerin BMP reaktörüne ilave edilmesinden sonra ortamdaki oksijenin giderilmesi için N₂/CO₂ (%70/%30) gaz karışımının kullanılması önerilmektedir. Oksijenin giderilmesinden sonra BMP reaktörleri sızdırmaz septum kapak ile kapatılarak inkübatöre yerleştirilmiştir. Şekil 3.10'da BMP testinde kullanılan reaktör verilmiştir.



Şekil 3.10. BMP reaktörü

BMP testleri için 500 mL kapasiteli cam reaktörler kullanılmıştır ve çalışma hacmi 400 mL olarak belirlenmiştir. BMP testleri mezofilik (35°C) şartlarda, metan üretimi platoya ulaşmaya kadar devam ettirilmiştir. BMP reaktörlerinde aşı konsantrasyonu 3 gUKM/L olacak şekilde anaerobik aşı çamur eklenmiştir. BMP reaktörlerine eklenen aşı miktarının hesaplanmasında aşağıda verilen Eşitlik 3.2. kullanılmaktadır.

$$V_b = \frac{C_{xe} \cdot V}{C_x} \dots\dots\dots (3.2)$$

Eşitlikte yer alan V_b , BMP reaktörüne ilave edilecek aşı çamur hacmini, C_{xe} , BMP reaktöründe olması istenen aşı çamur konsantrasyonunu (3 g/L), C_x , anaerobik aşı çamur konsantrasyonunu (gUKM/L) ve V ise BMP reaktörünün çalışma hacmini temsil etmektedir.

Her bir BMP reaktörü içerisinde substrat-aşı oranı 0.5 olacak şekilde numune ilave edilmiştir. BMP reaktörüne eklenecek numunenin sıvı ya da katı olma özelliği dikkate alınarak numune miktarı hesaplanmıştır. Katı numuneler için BMP reaktöründe olması gereken numune miktarı Eşitlik 3.3 ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Numune Miktarı (g)} = \frac{(B) \cdot V \cdot C_{xe}}{N_{UKM}} \dots\dots\dots (3.3)$$

Eşitlikte; (B) , BMP reaktörü içerisindeki substrat-aşı oranını (0.5 gUKM_{numune}/gUKM_{aşı}), N_{UKM} ise numunenin uçucu katı madde (g/g) değerini belirtmektedir.

Sıvı numuneler için BMP reaktörüne ilave edilen numune miktarı ise Eşitlik 3.4 ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Numune Miktarı (mL)} = \frac{(B) \cdot 1000 \cdot V \cdot C_{xe}}{N_{KOi}} \dots\dots\dots (3.4)$$

Eşitlikte, N_{KOI} sıvı numunenin KOİ değeridir (gO_2/L).

BMP reaktörüne ilave edilen numune konsantrasyonu katı numuneler için 1,5 gUKM/L ve sıvı numuneler için ise 1,5 gKOİ/L olacak şekilde Eşitlik 3.5 ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Numune konsantrasyonu} = \frac{(B) \cdot Vb \cdot Cx}{V} \dots\dots\dots (3.5)$$

BMP reaktörlerinde aşı aktivitesinin sürekliliğini sağlamak amacıyla mikro ve makro elementleri içeren çözelti ile pH'nın tamponlanması için NaHCO_3 çözeltisi eklenmiştir. İnkübasyon öncesinde her BMP reaktörüne %70 N_2 ve %30 CO_2 içeren gaz karışımı 1 dakika süreyle verilerek başlangıç koşullarının anaerobik olması sağlanmıştır. Deney süresince BMP reaktörlerinden gaz kaçışının engellenmesi için kalın plastik septumlar ve alüminyum kapaklar kullanılmıştır. Etanol fermantasyonu sonrasında kalan fermantasyon ortamı ve HP&HAc ön arıtma sonrasında kalan sıvı faz karışımından elde edilen numunelerden kurulan her bir BMP testi iki tekrarlı olarak yapılmıştır. BMP reaktörleri test süresince inkübatörde 35°C 'de muhafaza edilmiştir. Test boyunca BMP reaktörlerinde oluşan biyogaz miktarı belirli günlerde gaz-su yer değiştirme prensibiyle çalışan gaz ölçüm sistemi kullanılarak ölçülmüştür. Biyogaz kompozisyonu ise gaz kromatografi cihazı ile belirlenmiştir. Aşıdan kaynaklanan metan üretiminin belirlenmesi amacıyla anaerobik aşı çamur şahit olarak kullanılmıştır. Ayrıca saf glikoz standart substrat kaynağı olarak kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.7.1. Makro ve mikro besin elementleri ile tampon çözeltisi

NH_4Cl (26,6 g/L), KH_2PO_4 (10 g/L), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (6 g/L) ve $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3 g/L) içeren stok makro element çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan stok çözeltiden her bir BMP reaktörü içerisine Çizelge 3.9'de verilen konsantrasyonlar sağlanacak şekilde makro element çözeltisi ilave edilmiştir.

Çizelge 3.9. BMP testi için gerekli makro elementler ve konsantrasyonları

Besin	Konsantrasyon (mg/L)
NH_4Cl	172
KH_2PO_4	65
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	39
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	19

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2 g/L), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/L), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/L), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/L), ZnCl_2 (0,05 g/L), H_3BO_3 (0,05 g/L), Na_2SeO_3 (0,05 g/L), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,04 g/L), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01 g/L) içeren stok mikro element çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan stok çözeltiden her bir BMP reaktörü içerisine Çizelge 3.10'da verilen konsantrasyonlar sağlanacak şekilde mikro element çözeltisi ilave edilmiştir.

Çizelge 3.10. BMP testi için gerekli mikro elementler ve konsantrasyonları

Besin	Konsantrasyon (mg/L)
FeCl ₂ . 4H ₂ O	20
CoCl ₂ . 6H ₂ O	5
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1
NiCl ₂ . 6H ₂ O	1
ZnCl ₂	0,5
H ₃ BO ₃	0,5
Na ₂ SeO ₃	0,5
CuCl ₂ . 2H ₂ O	0,4
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,1

BMP testinde aşı inhibisyonunun önlenmesi için numune pH'sının uygun çözelti kullanılarak tamponlanması gerekmektedir. Bunun için 50 g/L NaHCO₃ stok çözeltisi hazırlanmış ve her BMP reaktörü içerisinde NaHCO₃ konsantrasyonu 2,6 g/L olacak şekilde stok NaHCO₃ çözeltisi ilave edilmiştir.

3.7.2. Anaerobik aşı çamuru ve aşı çamuru BMP değeri

BMP testinde kullanılan anaerobik aşı çamur Hurma Atıksu Arıtma Tesisi (AAT), anaerobik çamur çürütme ünitesinden sağlanmıştır. BMP testleri için kullanılan aşı çamurdan üretilen metan miktarı mLCH₄/gUKM cinsinden hesaplanmıştır ve numuneler için normalizasyon işlemi yapılmıştır.

3.7.3. Gaz kompozisyonu ve toplam gaz miktarının belirlenmesi

BMP testinde oluşan gaz miktarının belirlenmesinde gaz-sıvı yer değiştirme metodu temel alınarak hazırlanan deney düzeneği (Şekil 3.11) kullanılmıştır. Deney düzeneği, dereceli silindir, asidik tuz çözelti haznesi ve bir adet pompadan oluşmaktadır. Deney düzeneğinde Masterflex marka peristaltik pompa, asitli tuz çözeltisinin dereceli silindire doldurulup boşaltılabilmesi için kullanılmıştır. Deney düzeneğinde, CO₂ gazının sudaki çözünürlüğünü engellemek için pH 1 olacak şekilde asidik tuz çözeltisi Standart Metot 2720'ye göre hazırlanmıştır (APHA 2005). BMP reaktörlerinde oluşan biyogaz miktarı ölçülerek kayıt edilmiştir.

**Şekil 3.11.** Biyogaz miktarı ölçüm düzeneği

BMP reaktörleri içerisinde oluşan biyogaz bileşenleri ise (CH_4 , CO_2 ve N_2) Varian CP-4900 Mikro gaz kromatografisi (GC) cihazı ile tespit edilmiştir. Kullanılan GC, termal iletkenlik dedektörü (online-TCD) ile donatılmış ve PPQ kolona (10 m) sahiptir (Şekil 3.12). Analiz metodunda kullanılan enjektör ve kolon sıcaklıkları sırasıyla 110°C ve 70°C 'dir. Varian CP 4900 Micro GC'de helyum (25 mL/dk) taşıyıcı gaz olarak kullanılmaktadır.



Şekil 3.12. Gaz kompozisyonunun belirlenmesi

CH_4 , CO_2 ve N_2 gazlarının biyogaz içerisindeki yüzdeleri pik alanlarının hesaplanması ile tespit edilmiştir. Gaz bileşenlerinden CH_4 gazının % miktarının hesaplanmasında Eşitlik 3.66 kullanılmıştır.

$$\% \text{ Metan İçeriği} = \frac{A_1 * (0,995)}{A_2} * 100 \dots \dots \dots (3.6)$$

A_1 , numuneye ait CH_4 gazının pik alanını, A_2 ise %99,5 saf CH_4 gazının pik alanını belirtmektedir.

3.7.4. Metan miktarının hesaplanması

BMP reaktöründe üretilen metan miktarının hesaplanmasında aşağıda verilen Eşitlik 3.7 kullanılmıştır.

$$mL \text{ CH}_4 = \left(\frac{V_h * (P_2 - P_1)}{100} * \frac{273,15}{T_1 + 273,15} \right) + \left(\frac{V_g * (P_2 + P_1) * 0,5}{100} * \frac{273,15}{T_2 + 273,15} \right) \quad (3.7)$$

V_h , BMP reaktöründeki boşluk hacmini, P_1 ve P_2 ard arda ölçüm günlerinde ölçülen metan gazının % değerlerini, T_1 inkübasyon sıcaklığını ($^\circ\text{C}$), T_2 normal şartlar altındaki sıcaklık ($^\circ\text{C}$) değerini, V_g ise ölçülen biyogaz hacmini belirtmektedir.

BMP reaktöründeki boşluk hacminin (V_h) hesaplanmasında ise Eşitlik 3.8 kullanılmıştır.

$$V_h = D_0 - D \dots \dots \dots (3.8)$$

Eşitlikte yer alan D_0 su dolu BMP reaktörünün ağırlığını, D ise BMP reaktörü ile numune, aşı ve çözeltilerin beraber tartılan son ağırlığını temsil etmektedir.

3.8. HP&HAc Ön Arıtma Sonrası Karakterizasyon

HP&HAc ön arıtma sonrasında elde edilen lignoselülozik materyaldeki yüzey özelliklerinin değişimi taramalı elektron mikroskop (TEM) ve bağ karakterizasyonunun değişimi Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiştir.

3.8.1. Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre FTIR analizi

HP&HAc ön arıtmanın lignoselülozik yapının değişimi üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla ham dallı darı numunesinin, HP&HAc ön arıtma uygulanmış numunelerin moleküler bağ karakterizasyonu Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiştir. FTIR analizleri, Attenuated total reflection–Fourier transform infrared spectrophotometer ile yapılmıştır. Ölçümler 500 cm^{-1} ve 4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında, 4 cm^{-1} spektral çözünürlükte ve ortalama 12 tarama sinyali ile yapılmıştır.

3.8.2. Taramalı elektron mikroskobu TEM ile yüzey analizi

HP&HAc ön arıtmanın lignoselülozik yapının yüzeyi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla ham dallı darı numunesinin, HP&HAc ön arıtma uygulanmış numunelerin yüzey özellikleri TEM ile incelenmiştir. TEM incelemesi, Zeiss Leo 1430 marka cihaz ile yapılmıştır. TEM ile inceleme öncesinde numuneler liyofilize edilmiştir. Daha sonra numuneler 18 mA vakum altında 120 saniye altın paladyumla kaplanmıştır. Kaplama işlemi sonrasında numuneler 15 kV voltaj altında TEM ile farklı büyütme ölçeklerinde incelenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Dallı Darı Karakterizasyon Analiz Sonuçları

Shawnee türü dallı darı numunesinin karakterizasyonunun belirlenmesi için kurutulup öğütülmüş ve homojenize edilmiş numune kullanılarak toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), toplam Kjeldahl azotu (TKN), çözünmüş protein, çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ), toplam indirgen şeker (DNS), toplam şeker (Anthrone), toplam yapısal karbonhidratlar, asitte çözünen lignin, asitte çözünmeyen lignin, ekstrakte olabilen madde ve yağ (Lipid), Van Soest fraksiyonları (selüloz, hemiselüloz, lignin, çözünür madde fraksiyonu), toplam karbon (TK), inorganik karbon (İK), toplam organik karbon (TOK) analizleri yapılmıştır. Laboratuvarımızda gerçekleştirilen tüm karakterizasyon analizleri üç paralel olarak çalışılmış ve sonuçlarda ortalama analiz değerleri verilmiştir. Elementel kompozisyon (C, H, N, S) ve iz element analizleri ise hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Shawnee türü dallı darı numunesi tüm karakterizasyon analiz sonuçları Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Shawnee türü dallı darı karakterizasyon analiz sonuçları

Analiz	Birim	Sonuç
Toplam Katı Madde, TKM	(g/kgNumune)	938.12
Uçucu Katı Madde, UKM	(g/kgNumune)	824.31
Total Kjeldahl Azotu, TKN	(mg/gUKM)	5.60
Çözünmüş Protein	(mgçPro/gUKM)	94.26
Çözünmüş İndirgen Şeker, çİndŞeker	(mg/gUKM)	67.99
Toplam Şeker	(mg/gUKM)	164.44
Çözünmüş Kimyasal Oksijen İhtiyacı, çKOİ	(mgKOİ/UKM)	155.59
Ekstrakte olabilen Madde ve Yağ (Lipid)	(%)	1.00
Asitte Çözünen Lignin,ASL	(%)	2.34
Asitte Çözünmeyen Lignin,AİL	(%)	17.20
Van Soest Fraksiyonu		
Çözünür Madde Fraksiyonu	(%)	26.54
Hemiselüloz	(%)	34.76
Selüloz	(%)	33.13
Lignin	(%)	5.57
Toplam Karbon, TK	(%)	37.35
İnorganik Karbon, İK	(%)	0.13
Toplam Organik Karbon, TOK	(%)	37.22
Elementel Analiz		
C	(%)	40.13
H	(%)	5.75
N	(%)	0.87
S	(%)	-
İz Elementler		
Mg	ppm	1236.6
Al	ppm	308.5
Fe	ppm	197.1
Cu	ppm	1.37
Mn	ppm	29.6
Sr	ppm	51.95
Se	ppm	-
Ca	ppm	36.47
Na	ppm	2.789
K	ppm	6.827
Toplam Yapısal Karbonhidratlar	mg/mL	2.1693
Sellobiyoz	mg/mL	0
Glikoz	mg/mL	1.1964
Ksiloz	mg/mL	0.6462
Galaktoz	mg/mL	0.1300
Arabinoz	mg/mL	0.1967
Mannoz	mg/mL	0

Çizelge 4.1.'de verilen Shawnee çeşidi dallı dariya ait TKM ve UKM deney sonuçları sırası ile 938.12 g/kg dallı darı (%93.81), 824.31 g/kg dallı darı (%82.43) olarak bulunmuştur. Bu kuru madde oranına dallı darı bitkisinin tarlada doğal olarak kurutulması yolu ile ulaşılmıştır. Literatürde dallı darı bitkisinin karakterizasyonu yapılan çalışmalarda TKM değeri %91.7 (Fahmi vd. 2007), %97.7 (Motasemi vd. 2014), %91.6 (Imam ve Capareda 2012), %90.9 (Sadaka vd. 2014), %91.62 (Carpenter vd. 2010) ve UKM değeri ise %84.2 (Imam ve Capareda 2012), %73.1 (Sadaka vd. 2014), %76 (Carpenter vd. 2010) olarak bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında kullanılan Shawnee çeşidi dallı darının TKM ve UKM değerleri literatürdeki çalışmaların sonuçları ile uyumludur.

Dallı darı numunesinin toplam Kjeldahl azotu (TKN) miktarı 5.6 mg/gUKM olarak bulunmuştur. Bu değer dallı darıda kütlece %0.68 oranında TKN olduğunu göstermektedir. Literatürde, Agblevor vd. (1994), Twine ve Sleave çeşidi dallı darı üzerine yaptıkları çalışmada bu iki çeşidin TKN miktarını %1.05-1.16 aralığında bulmuşlardır. Grigatti vd. (2004), dallı darı çeşitleri arasındaki karakterizasyon farklarını araştırdıkları çalışmalarında Alamo, Kanlow, Shawnee ve Trailblazer çeşidi dallı darıların TKN miktarlarını sırası ile 8.9 mg/g, 6.6 mg/g, 7.5 mg/g ve 6.4 mg/g olarak bulmuşlardır. Jackowiak vd. (2011), Kanlow çeşidi dallı darı ile gerçekleştirdikleri karakterizasyon analizlerinde TKN miktarını 0,99 mg/gTKM bulmuşlardır. Literatürde mevcut diğer çeşitler ile kıyaslandığında Shawnee çeşidi dallı darı için bu çalışmada bulunan TKN değerinin literatürde tespit edilen miktar aralığında olduğu görülmektedir.

Shawnee çeşidi dallı darının çözünmüş protein değeri 94.26 mgPro/gUKM (%9.43) olarak bulunmuştur. Bals vd. (2007), Alamo çeşidi dallı darının protein miktarını %7.3 olarak bulmuştur. Bu çalışmada Shawnee çeşidi dallı darı protein analizi sonucunun literatür ile tutarlı uyumlu olduğu görülmektedir.

Shawnee çeşidi dallı darı numunesinin çözünmüş indirgen şeker miktarı 67.99 mg/gUKM olarak ölçülmüştür. Butkutė vd. (2013) yaptıkları çalışmada dallı darı bitkisinin çözünmüş indirgen şeker miktarını analiz etmişler ve sonucu 26.6-67.8 mg/gTKM aralığında bulmuşlardır. Adler vd. (2006), Cave in Rock çeşidi dallı darı bitkisinin suda çözülen karbonhidrat fraksiyonlarını detaylı olarak incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonucu olarak dallı darıdan 9.6 mg glikoz/gTKM, 7.4 mg fruktoz/gTKM, 38.2 g sakaroz/gTKM olmak üzere toplam 55.2 mg/gTKM şekerin suya geçtiğini bulmuşlardır. Çözünmüş indirgen şeker analiz sonucu literatür ile karşılaştırıldığında diğer çalışmalarda elde edilen değerlere yakın olduğu görülmektedir.

Shawnee çeşidi dallı darı numunesinin çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı değeri 155.59 mgKOİ/gUKM olarak bulunmuştur. Jackowiak vd. (2011), Kanlow çeşidi dallı darı numunesinin KOİ değerini 350 mg/gTKM olarak ölçmüştür. Jackowiak vd. (2011) tarafından Kanlow çeşidi için ölçülen değer, bu çalışmada Shawnee çeşidi için ölçülen değerden yüksektir. Çalışmada Kanlow çeşidi için ölçülen KOİ değerinin toplam olması nedeni ile bu farkın oluşabileceği düşünülmektedir.

Shawneeé çeşidi dallı darı numunesinin ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) analiz sonucu %1.00 olarak bulunmuştur. Literatürde dallı darı bitkisinin ekstrakte olabilen madde ve yağ (lipid) miktarı konusunda herhangi bir çalışma bulunmadığından bu çalışmada bulunan sonucun literatür ile karşılaştırılması mümkün olmamıştır.

Shanweé çeşidi dallı darının asitte çözünen lignin miktarı %2.34 ve asitte çözünmeyen (Klason) lignin miktarı ise %17.20 olarak bulunmuştur. Literatürde dallı darının asitte çözünen lignin fraksiyonu farklı araştırmacılar tarafından %8.56 (Fahmi vd. (2007), %3.7 (Esteghlalian vd. (1997) ve %1.8 (Samuel vd. (2010) olarak ölçülmüştür. Asitte çözünmeyen (Klason) lignin fraksiyonu ise %20.9 (Samuel vd. (2010), %25.6 (Hu vd. (2011) ve %19.5 Esteghlalian vd. (1997) olarak ölçülmüştür. Bu çalışma kapsamında ölçülen asitte çözünen ve çözünmeyen lignin analiz sonuçları literatür ile karşılaştırıldığında sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir. Sonuçlarda gözlenen küçük farkların kullanılan dallı darı çeşidinin, yetiştirme bölgesinin veya hasat zamanının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Shawneeé çeşidi dallı darı Van Soest fraksiyonları %26.6 çözünür madde, %34.76 hemiselüloz, %33.13 selüloz ve %5.57 lignin olarak bulunmuştur. Literatürde dallı darı ile ilgili gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde Imam vd. (2012) %18.5 ekstrakte olabilen madde, %19.2 hemiselüloz, %32 selüloz ve %18.8 lignin bulurken, Perez vd. (2015) %8.5 ekstrakte olabilen madde, %36 hemiselüloz, %33 selüloz ve %20 lignin bulmuştur. Carpenter vd. (2010) %25.2 hemiselüloz, %31.1 selüloz ile %16.8 lignin ve Adler vd. (2006) %26.5-29.9 hemiselüloz, %28.6-34.8 selüloz ile %13-18.2 lignin sonuçlarını tespit etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında ölçülen selüloz ve hemiselüloz sonuçlarının literatürdeki sonuçlara çok yakın olduğu, ekstrakte edilebilen madde ve lignin sonuçlarının ise literatürdeki sonuçlar ile yaklaşık değerde olduğu görülmektedir. Literatürdeki sonuçların arasında farklardan da anlaşılabileceği gibi Van Soest analizinde aynı numune için ekstrakte edilebilen madde ve lignin yüzdeleri farklı çıkabilmektedir.

Shawneeé çeşidi dallı darı numunesi toplam organik karbon, inorganik karbon ve toplam karbon sonuçları sırası ile %37.22, %0.13 ve %37.35 olarak bulunmuştur. Toplam karbon değeri dallı darının elemental analizi sonucunda elde edilen %40.13 karbon içeriği ile de uyumludur. Literatürde, Jackowiak vd. (2011) Kanlow çeşidi dallı darının toplam organik karbon miktarını 43 ± 6.9 olarak bulmuşlardır. Shawneeé çeşidi dallı darı numunesinin toplam organik karbon analiz sonucunun literatür ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Elemental analiz sonucunda Shawneeé çeşidi dallı darı numunesinin karbon, hidrojen ve azot içerikleri sırasıyla %40.13, %5.75 ve %0.87 olarak ölçülmüştür. Numunede kükürt tespit edilememiştir. Literatürde dallı darının elementel bileşiminin ölçüldüğü çalışmalar incelendiğinde Motasemi vd. (2014) tarafından %47.2 C, %6 H, %0.15 N ve %0.04 S, Imam ve Capareda (2012) tarafından %42 C, %6.1 H, %0.4 N ve %0.1 S, Perez vd. (2015) tarafından %48 C, %5.9 H, %0.6 N ve %0.025 S ve Sadaka vd. (2014) tarafından %43.2 C, %6.2 H, %0.47 N, %0.13 S sonuçlarının elde edildiği gözlenmiştir. Bu çalışmada ölçülen elemental analiz sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

İz element analizi sonucunda Shawneé çeşidi dallı darı numunesinde 1236.6 ppm Mg, 308.5 ppm Al, 197.1 ppm Fe, 1.37 ppm Cu, 29.6 ppm Mn, 51.95 ppm Sr, 0 ppm Se, 36.47 ppm Ca, 2.789 ppm Na ve 6.827 ppm K ölçülmüştür. Hu vd. (2011) Alamo çeşidi dallı darının yapraklarında 9555 ppm K, 3715 ppm Ca, 2635 ppm Mg, 188.1 ppm Mn, 90.2 ppm Na, 53.6 ppm Fe, 19 ppm Cu, 13 ppm Al, 7.6 ppm Sr, gövdesinde ise 6497.1 ppm K, 463.4 ppm Ca, 443.4 ppm Mg, 51.7 ppm Mn, 147.9 ppm Na, 15.2 ppm Fe, 8.7 ppm Cu, 1.6 ppm Al, 2.0 ppm Sr ölçmüşlerdir. Fahmi vd. (2007) dallı darıda 102 ppm Al, 6173 ppm Ca, 2 ppm Cu, 113 ppm Fe, 717 ppm K, 542 ppm Mg, 41 ppm Mn, 0 ppm Mo, 158 ppm Na olduğunu belirlemiştir. Bu çalışmada dallı darının gövde, yapraklar ve çiçek kısmının tamamı kullanıldığı için bazı iz element değerleri literatür ile değişiklik gösterse de genel olarak iz element analiz sonuçları literatür ile tutarlıdır.

Shawneé çeşidi dallı darı numunesinin toplam yapısal karbonhidrat miktarı 2.1693 mg/mL olarak ölçülmüştür. Bu toplam miktar; 1.1965 mg/mL glikoz, 0.6462 mg/mL ksiloz, 0.13 mg/mL galaktoz ve 0.1967 mg/mL arabinozdan oluşmaktadır. Yapılan analizde dallı darının yapısında sellobiyoz ve mannoz şekerlerine rastlanılmamıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Shawneé türü dallı darının yapısındaki karbonhidratların %55.15'i glikoz, %29.79'u ksiloz, %5.99'u galaktoz ve %9.06'sı arabinozdan oluşmaktadır. Literatür incelendiğinde dallı darı bitkisi ile yapılan çalışmalarda dallı darının yapısal karbonhidrat profilini Athmanathan vd. (2015) %35,9±0,3 glikoz, %22,3±0,2 ksiloz, %2,6±0,1 arabinoz; Esteghlalian vd. (1997) %32.2 glikoz, %20.3 ksiloz, %0 galaktoz, %3.7 arabinoz, %0.4 mannoz; Jensen vd. (2008) %47.72 glikoz, %19.06 ksiloz, %4.18 galaktoz, %8.11 arabinoz, %6.3 mannoz; McLaughlin ve Kszos (2008) %45.6 glikoz, %26.1 ksiloz, %1.1 galaktoz, %3.1 arabinoz, %0.5 mannoz; Hu vd. (2012) %33.6 glikoz, %24.7 ksiloz, %1.3 galaktoz, %3.9 arabinoz, %0.1 mannoz olarak bulmuşlardır. Literatürdeki sonuçlar kendi aralarında karşılaştırıldığında dallı darının yapısal karbonhidrat profilinin değişiklik gösterdiği görülmektedir. Bu farklılığın dallı darı çeşidinin ve yetiştirilme koşullarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışma kapsamında elde edilen yapısal karbonhidrat analiz sonuçlarının genel olarak literatür ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

4.2. HP&HAc Ön arıtma Sonuçları

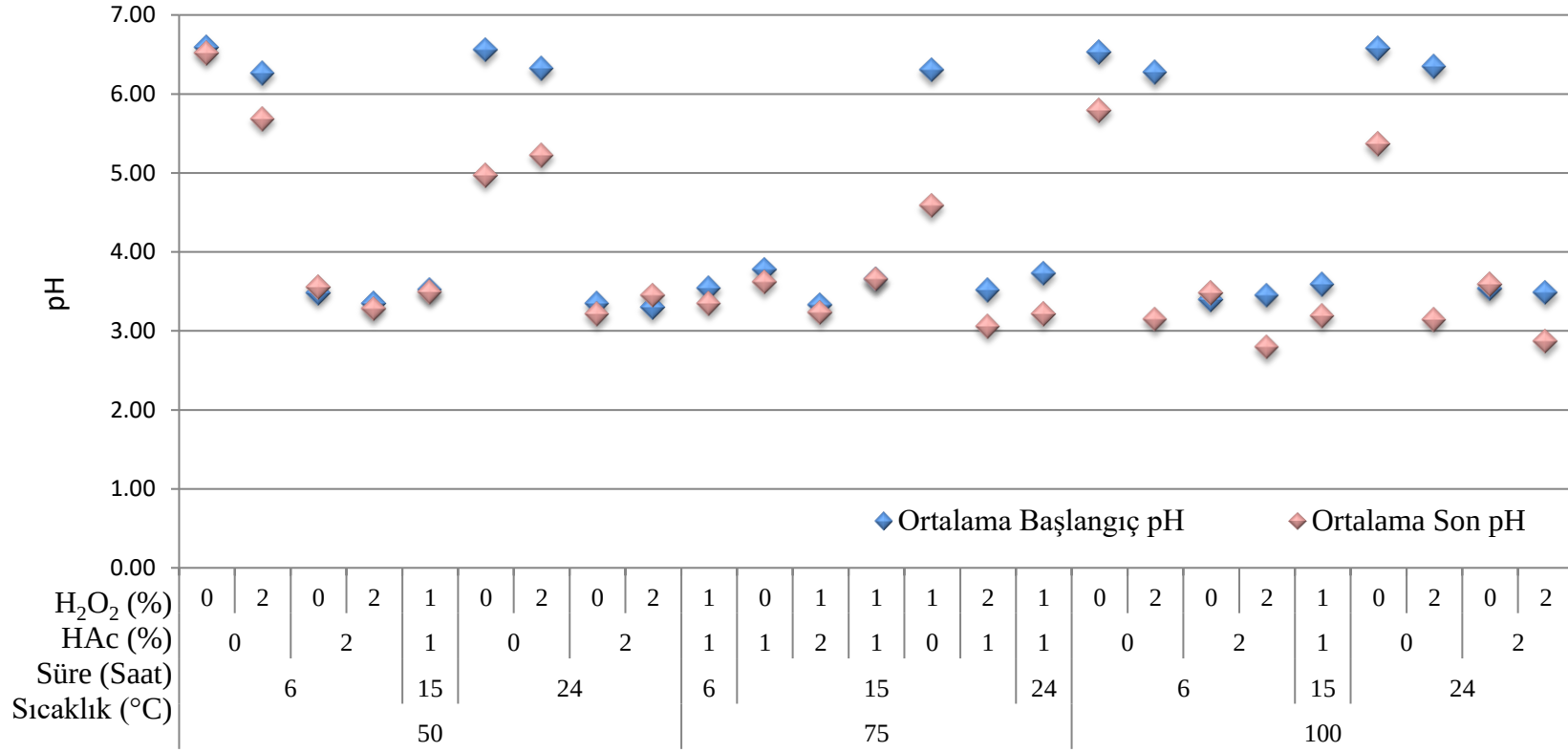
4.2.1. HP&HAc ön arıtmanın pH üzerine etkisi

HP&HAc ön arıtma öncesinde ve sonrasında ölçülen pH değerleri Şekil 4.1'de verilmiştir. Farklı reaksiyon süresi (saat), reaksiyon sıcaklığı (°C), HAc konsantrasyonu (%) ve H₂O₂ konsantrasyonu (%) koşullarında ön arıtmaya maruz bırakılan numunelerin pH değerlerinde genel olarak ön arıtma sonrasında önemli değişimler gözlenmemiştir.

50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu reaksiyon koşullarında yapılan HP&HAc ön arıtma deneyi başlangıcında en yüksek pH değeri 6.59 olarak elde edilmiştir. En düşük pH değeri ise 50°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu ve %2 H₂O₂ konsantrasyonu reaksiyon koşullarında yapılan HP&HAc ön arıtma deneyi başlangıcında 3.30 olarak ölçülmüştür.

Şekil 4.1.'den görüleceği üzere %1 ya da %2 HAc eklenen tüm deneylerin başlangıç pH değeri 3.30-3.78 aralığında ölçülmüştür. HAc'in %1 veya %2 eklenmesi pH'ı neredeyse aynı miktarda düşürmektedir. HP&HAc eklenmeyen ön arıtma deneylerinin başlangıç pH değerleri ise 6.53-6.59 aralığında ve ön arıtma sonrası pH değerleri ise 4.97-5.79 aralığında ölçülmüştür. Ön arıtma sonrasında pH değerlerinde düşme gözlenmiştir. Sadece H₂O₂ ilave edilen ön arıtma deneylerinin başlangıç pH değerleri ise 6.26-6.35 aralığında ölçülmüştür. Bu değerlere göre H₂O₂'in tek başına eklendiği deneylerde H₂O₂'in başlangıç pH'ını az bir miktarda azalttığı görülmüştür.

50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu reaksiyon koşullarında yapılan HP&HAc ön arıtma sonrasında en yüksek pH değeri 6.52 olarak elde edilmiştir. En düşük pH değeri ise 100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu ve %2 H₂O₂ konsantrasyonu reaksiyon koşullarında yapılan HP&HAc ön arıtma sonrasında 2.80 olarak ölçülmüştür. HAc kullanılan deneylerin pH'larının reaksiyon süresince çok değişmediği görülmüş ve ön arıtma reaksiyon süresinin tamamlanmasının sonunda pH değerleri 2.80-3.66 aralığında ölçülmüştür. HP&HAc kullanılmayan ön arıtma deneylerinin sonunda pH değerleri 4.97 - 6.52 aralığında ölçülmüştür.



Şekil 4.1. HP&HAc ön arıtma öncesinde ve sonrasında ölçülen pH değerleri

Şekil 4.1.'de sunulan pH değişimleri genel olarak incelendiğinde %1 ve 2 HAc kullanılan ön arıtma deneylerinde reaksiyon sıcaklığının ve reaksiyon süresinin değiştirilmesinin pH'da bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir. HP&HAc kullanılmayan deneylerde ise reaksiyon sıcaklığı ve süresi arttıkça pH'ın azaldığı gözlenmiştir. H₂O₂ kullanılan tüm deneylerde ise reaksiyon sonunda pH'ın azaldığı gözlenmiştir. H₂O₂'in oksitleme özelliğinin sıcaklık ve süre ile doğru orantılı bir şekilde artmasından dolayı sıcaklık ve süre artınca H₂O₂ ortama daha fazla H⁺ iyonu salarak pH'ın düşmesine neden olmaktadır (Maciel vd. 2014; Sabuncu ve Çulha 2015)

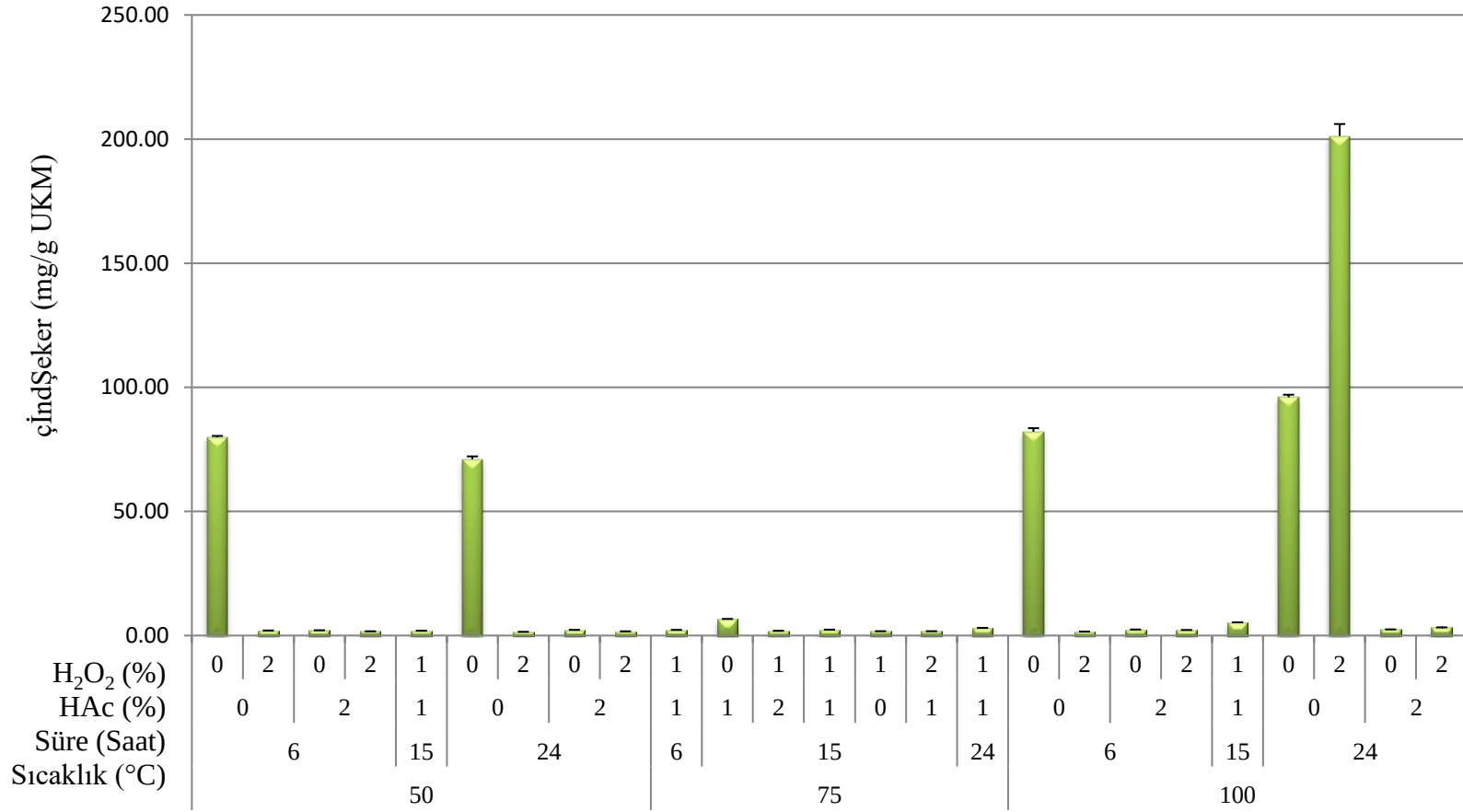
Literatürde enerji bitkisi ya da lignoselülozik atıklar kullanılarak HP&HAc ön arıtma uygulanan çalışmalarda reaksiyon başlangıcında ve sonunda pH ölçümünün yapıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

4.2.2. HP&HAc ön arıtmanın çİndŞeker üzerine etkisi

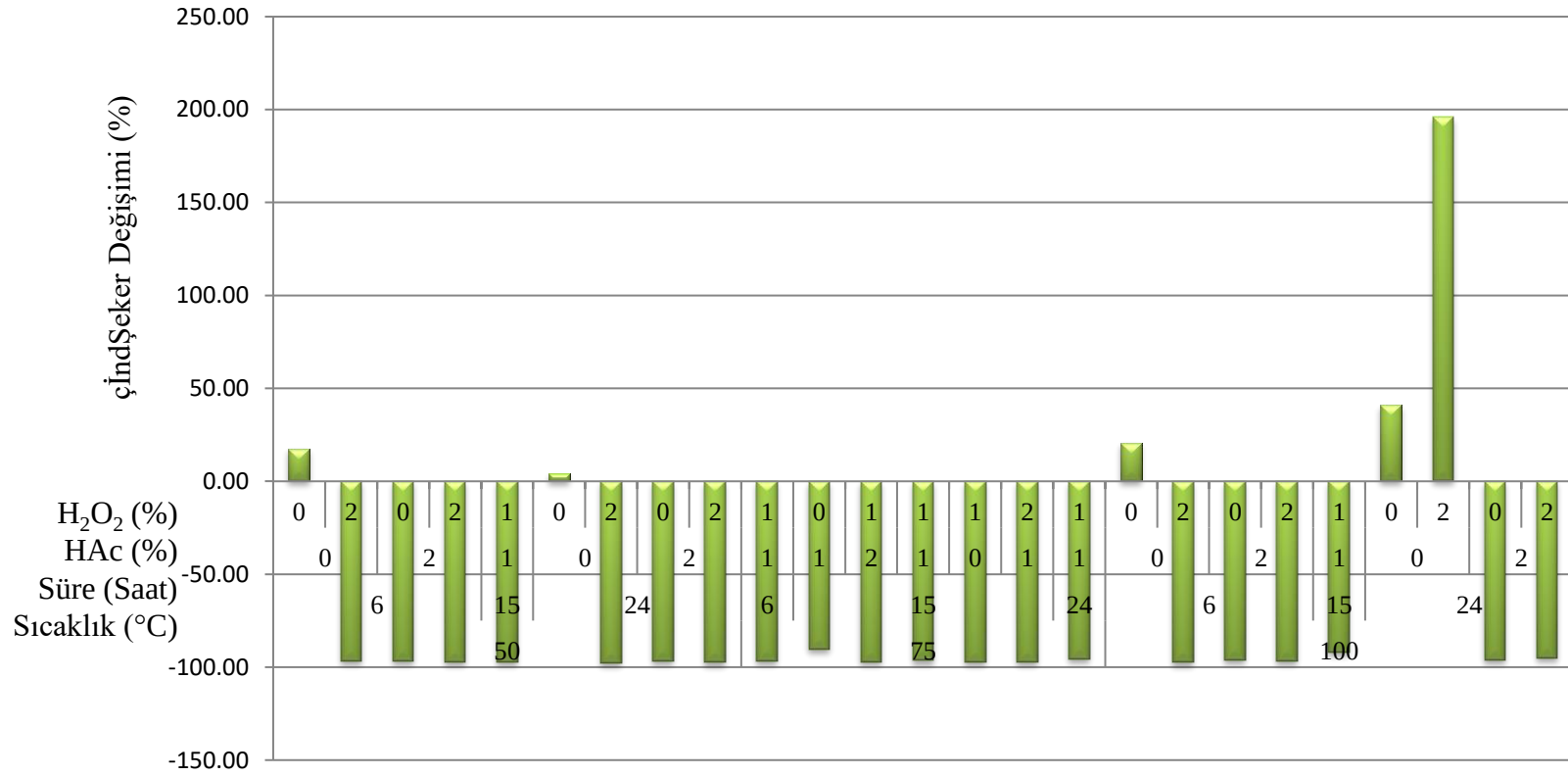
HP&HAc ön arıtma prosesinin çözünmüş indirgen şeker üzerine etkilerini incelemek için HP&HAc ön arıtma prosesi ile muamele edilen dallı darı numunelerinin sıvı fazda çözünmüş indirgen şeker konsantrasyonları ölçülmüştür. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen ortalama çözünmüş indirgen şeker (çİndŞeker) sonuçları Şekil 4.2.'de sunulmuştur. Şekil 4.2.'den görüleceği üzere maksimum çözünmüş indirgen şeker konsantrasyonu 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda 201.25 mgçİndŞeker/gUKM olarak tespit edilmiştir. Minimum çözünmüş indirgen şeker konsantrasyonu ise 50°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda 1,97 mgçİndŞeker/gUKM olarak ölçülmüştür.

Şekil 4.2.'den görüleceği üzere genel olarak HAc eklenen tüm HP&HAc ön arıtma deneylerinde çözünmüş şekerlerin parçalandığı tespit edilmiştir. Şekil 4.2.'den görüleceği üzere H₂O₂ ve HAc eklenmeyen 50°C reaksiyon sıcaklığı ve 6 saat reaksiyon süresi, 50°C reaksiyon sıcaklığı ve 24 saat reaksiyon süresi, 100°C reaksiyon sıcaklığı ve 6 saat reaksiyon süresi, 100°C reaksiyon sıcaklığı ve 24 saat reaksiyon süresi ile 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda HP&HAc ön arıtma deneylerinde çözünmüş indirgen şeker artışı gözlenmiştir.

H₂O₂ ile HAc eklenmeyen ve 50°C reaksiyon sıcaklığında gerçekleştirilen HP&HAc ön arıtma deneylerinde reaksiyon süresinin 6 saatten 24 saate çıkarılmasıyla çözünmüş indirgen şekeri değeri 79.88 mgçİndŞeker/gUKM'den 71 mgçİndŞeker/gUKM'ye düşmüştür. Bununla birlikte, H₂O₂ ile HAc eklenmeyen ve 100°C reaksiyon sıcaklığında gerçekleştirilen HP&HAc ön arıtma deneylerinde reaksiyon süresinin 6 saatten 24 saate çıkarılmasıyla çözünmüş indirgen şeker değeri 82.10 mgçİndŞeker/gUKM'den 95.94 mgçİndŞeker/gUKM'ye artmıştır. H₂O₂ ile HAc eklenmeyen ve 6 saat reaksiyon süresinde gerçekleştirilen HP&HAc ön arıtma deneylerinde reaksiyon sıcaklığının 50°C'den 100°C'ye çıkarılmasıyla çözünmüş indirgen şeker değerlerinin birbirine çok yakın ölçüldüğü tespit edilmiştir. Genel olarak yüksek reaksiyon sıcaklığı ve süresi daha yüksek çözünmüş indirgen şeker değeri ile sonuçlanmıştır.



Şekil 4.2. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen çİndŞeker değerleri



Şekil 4.3. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin çİndŞeker değişim sonuçları

H₂O₂'in tek başına ya da HAc ile birlikte eklendiği tüm HP&HAc ön arıtma deneylerinde neredeyse tüm çözünmüş indirgen şeker parçalanmıştır. Ancak, 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda yapılan HP&HAc ön arıtma deneyi buna bir istisna olmuştur. Bu reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresinde H₂O₂ diğer tüm ön arıtma deneylerinden farklı davranarak başarılı bir şekilde dallı darıdaki şekeri hidrolize etmiştir. Aynı koşullarda 6 saat reaksiyon süresinde veya 50°C reaksiyon sıcaklığında, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda HP&HAc ön arıtma gerçekleştirilen deneyde çözünmüş indirgen şeker artışının görülmemesi reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi kombinasyonunun ön arıtmada etkili olduğunu gözlenmiştir.

HP&HAc ön arıtmanın, dallı darı numunelerinin ÇİndŞeker değerleri üzerine etkilerini tespit edebilmek için ön arıtma prosesi ile muamele edilen numunelerin ham dallı darı numunesine göre ÇİndŞeker değerlerindeki değişimler (artma ve azalma % olarak) hesaplanmıştır. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin ÇİndŞeker değerlerindeki değişim sonuçları Şekil 4.3'de sunulmuştur. Ham dallı darı numunesinin çözünmüş indirgen şeker miktarı 67.99 mgçŞeker/gUKM bulunmuştur. Şekil 4.3.'den görüleceği üzere H₂O₂ ve HAc eklenen HP&HAc ön arıtma deneylerinin genelinde çözünmüş indirgen şeker %90.49-97.81 aralığında azalmıştır. 100°C reaksiyon sıcaklığında, 24 saat reaksiyon süresinde, %0 HAc konsantrasyonu ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda yapılan HP&HAc ön arıtma deneyi sonunda çözünmüş indirgen şeker ham dallı darı numunesine göre %196 artmıştır.

HP&HAc ön arıtmanın çözünmüş indirgen şeker üzerindeki etkisi genel olarak değerlendirildiğinde bu ön arıtma yönteminin istenenin aksine çözünmüş indirgen şekeri parçaladığı gözlenmiştir. Ancak, literatürdeki HP&HAc ön arıtma çalışmalarında ve bu çalışmada amaç lignoselülozik biyokütleyi sadece tek bir ön arıtma işlemi ile hidrolize etmek değil, lignoselülozik yapıyı delignifiye ederek enzimatik hidroliz işlemine hazırlamaktır.

Literatürde mevcut HP&HAc ön arıtma prosenin uygulandığı çalışmalarda tek amaç ligninin %90'ın üzerinde giderilmesi olduğu için hiçbir çalışmada sıvı fazda çözünmüş indirgen şeker ölçümü yapılmamıştır. Capecchi vd. (2016) Alamo çeşidi dallı darı kullandıkları çalışmalarında bazik koşullarda buharla patlatma ön arıtma prosesi uygulamış ve sıvı fazdaki glikoz ve ksiloz miktarlarının dedektör limitlerinin altında olduğunu rapor etmişlerdir. Shao vd. (2010) mısır bitkisinin tamamını kullandıkları ve amonyak lif patlatma ön arıtma yöntemini uyguladıkları çalışmalarında 72 saat reaksiyon süresi sonunda hidrolizatta glikozun 59.3 g/L'den 0 g/L'ye düştüğünü ve ksilozun ise 7.8 g/L'den 1.6 g/L'ye düştüğünü bulmuşlardır. Çözünmüş indirgen şeker kaybına neden olan tüm çalışmaların ortak noktası, katı fazda delignifikasyon sağlayarak ön arıtma sonrasında enzimatik hidroliz ve etanol fermentasyonu verimlerini arttırmasıdır. Katı fazda ligninin ortadan kaldırılması enzimlerin selüloza ve hemiselülozu daha kolay ulaşarak enzimatik hidroliz işleminin verimini arttırmaktadır. Bu çalışmada literatürdeki diğer HP&HAc çalışmalarının aksine atık üretmeden lignoselülozu biyoyakıtlara çevirmek amaçlandığı için sıvı fazdaki çözünmüş indirgen şeker analizleri gerçekleştirilerek biyoyakıt (metan) üretme potansiyelleri belirlenmiştir.

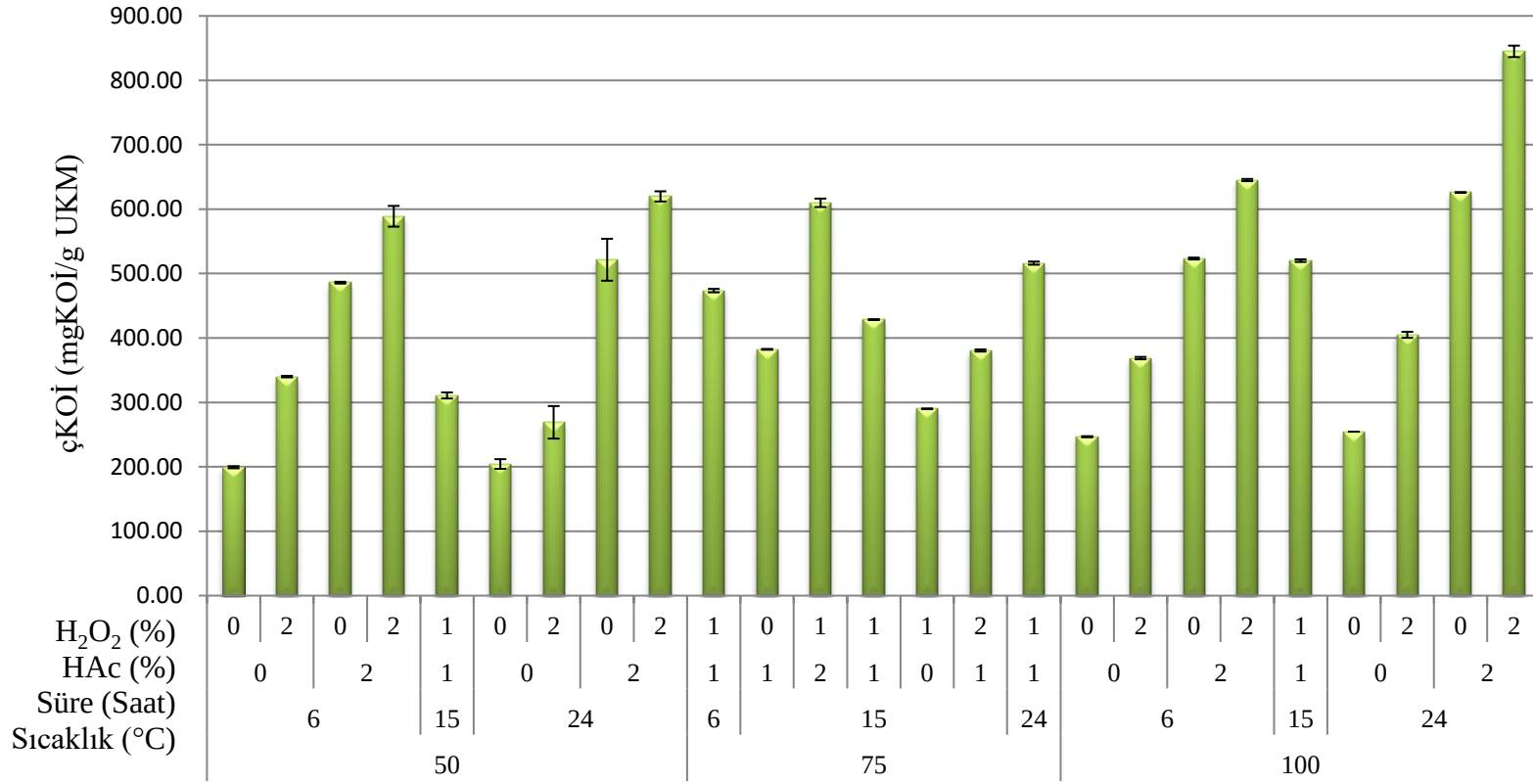
4.2.3. HP&HAc ön arıtmanın çKOİ üzerine etkisi

Shawnee çeşidi dallı darıya uygulanan HP&HAc ön arıtma etkisinin belirlenmesi için ön arıtmaya maruz bırakılan numunelerin katı-sıvı fazları ayrılmış ve sıvı fazda çKOİ konsantrasyonları ölçülmüştür. Ölçülen ortalama çKOİ konsantrasyonları Şekil 4.4'de verilmiştir. Şekil 4.4'den görüleceği üzere maksimum çKOİ konsantrasyonu 844.94 mgçKOİ/gUKM değeriyle 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H_2O_2 konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. Minimum çKOİ konsantrasyonu ise 199.34 mgçKOİ/gUKM değeri 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %0 H_2O_2 konsantrasyonu uygulanan ön arıtma koşullarında tespit edilmiştir.

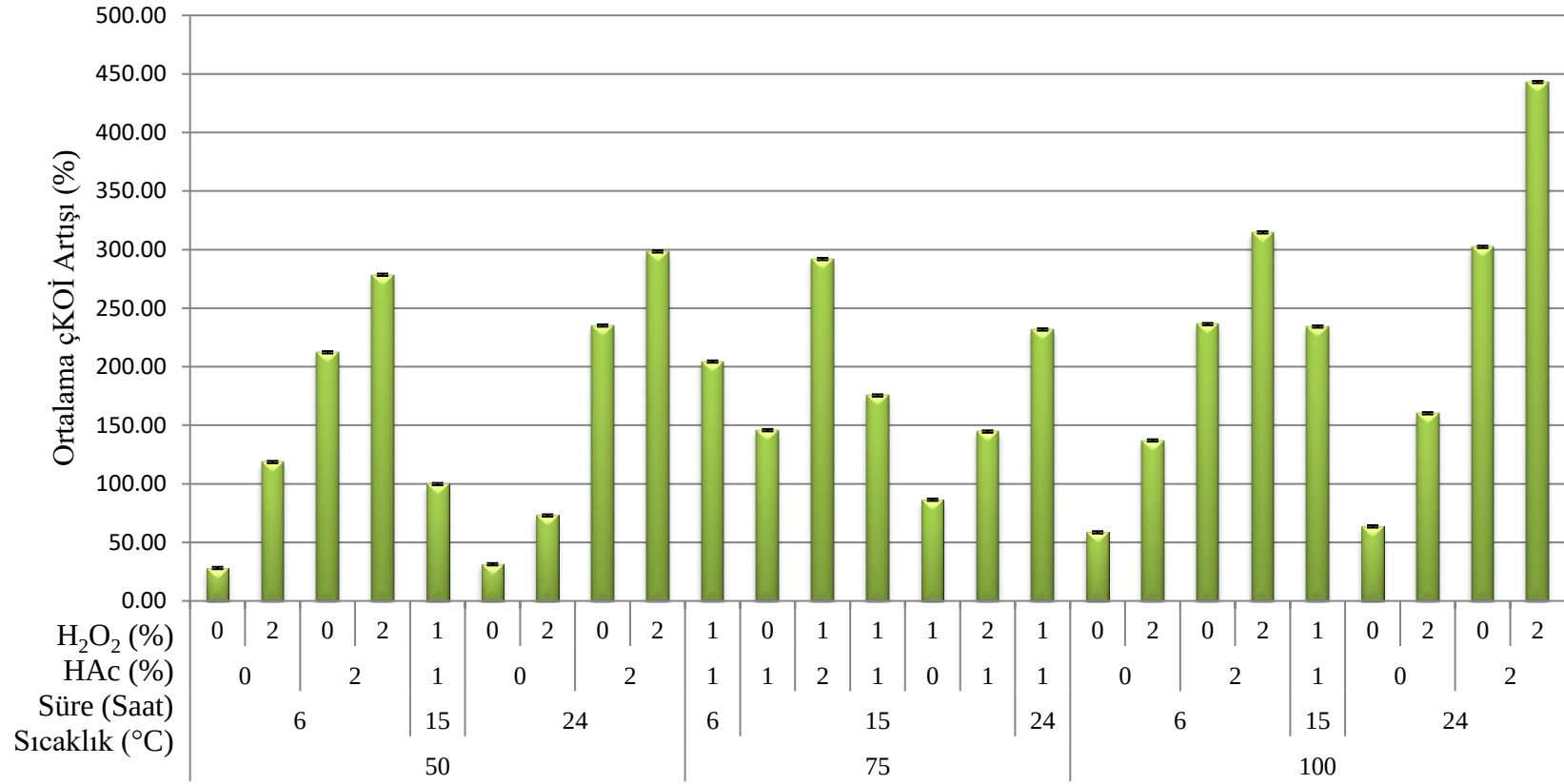
15 saat reaksiyon süresi, %1 H_2O_2 ve %1 HAc konsantrasyonları sabit tutularak reaksiyon sıcaklığının 50°C, 75°C ve 100°C olduğu koşullarda yapılan HP&HAc ön arıtma deneylerinde sırası ile 310.9 mgçKOİ/gUKM , 428,51 mgçKOİ/gUKM ve 520.10 mgçKOİ/gUKM sonuçları elde edilmiştir. Reaksiyon sıcaklığının artırılmasıyla çKOİ miktarının arttığı görülmektedir.

HP&HAc ön arıtmanın, dallı darı numunelerinin çKOİ değerleri üzerine etkilerini tespit edebilmek için ön arıtma prosesi ile muamele edilen numunelerin ham dallı darı numunesine göre çKOİ değerlerindeki değişimler (artma ve azalma % olarak) hesaplanmıştır. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin çKOİ değişim sonuçları Şekil 4.5'de sunulmuştur. Ham dallı darı numunesi çKOİ değeri 155.59 mgçKOİ/gUKM olarak ölçülmüştür. Şekil 4.5'den görüleceği üzere ham dallı darı numunesi çKOİ değeri ile kıyaslandığında HP&HAc ön arıtma deneyleri sonrasında ölçülen tüm çKOİ değerlerinde artış gözlenmiştir. Bu artış genel olarak H_2O_2 ve HAc miktarları, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi ile doğru orantılı olarak gerçekleşmiştir. Sadece H_2O_2 eklenen deneylere göre sadece HAc eklenen ön arıtma deneylerinde daha yüksek çKOİ değerleri elde edilmiştir. İlaveten her iki kimyasalın ilave edildiği ön arıtma deneylerinde ise en yüksek çKOİ artış sonuçları elde edilmiştir.

H_2O_2 ve HAc ilave edilmeyen ön arıtma deneyleri incelendiğinde sabit 50°C reaksiyon sıcaklığında reaksiyon süresinin 6 saatten 24 saate artırılmasıyla çKOİ değeri 199.34 mgçKOİ/gUKM 'den 204.34 mgçKOİ/gUKM değerine yükselmiştir. Aynı şekilde sabit 100°C reaksiyon sıcaklığında, reaksiyon süresinin 6 saatten 24 saate çıkarılmasıyla çKOİ değeri 246.72 mgçKOİ/gUKM 'den 254.57 mgçKOİ/gUKM değerine artmıştır. H_2O_2 ve HAc eklenmeyen deneylerde reaksiyon sıcaklığının 50°C'den 100°C'ye çıkarılmasının çKOİ miktarını yaklaşık %25 arttırdığı, reaksiyon süresinin ise çKOİ üzerinde neredeyse hiçbir etkisinin olmadığı görülmektedir.



Şekil 4.4. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen ortalama çKOİ değerleri



Şekil 4.5. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin çKOİ değişim sonuçları

Şekil 4.5’den görüleceği üzere maksimum çKOİ artışı %443.07 değeri ile 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H_2O_2 konsantrasyonlarında gözlenmiştir. En düşük çKOİ artışı ise %28.2 değeri ile 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi ve H_2O_2 ile HAc kullanılmayan ön arıtma koşullarında elde edilmiştir.

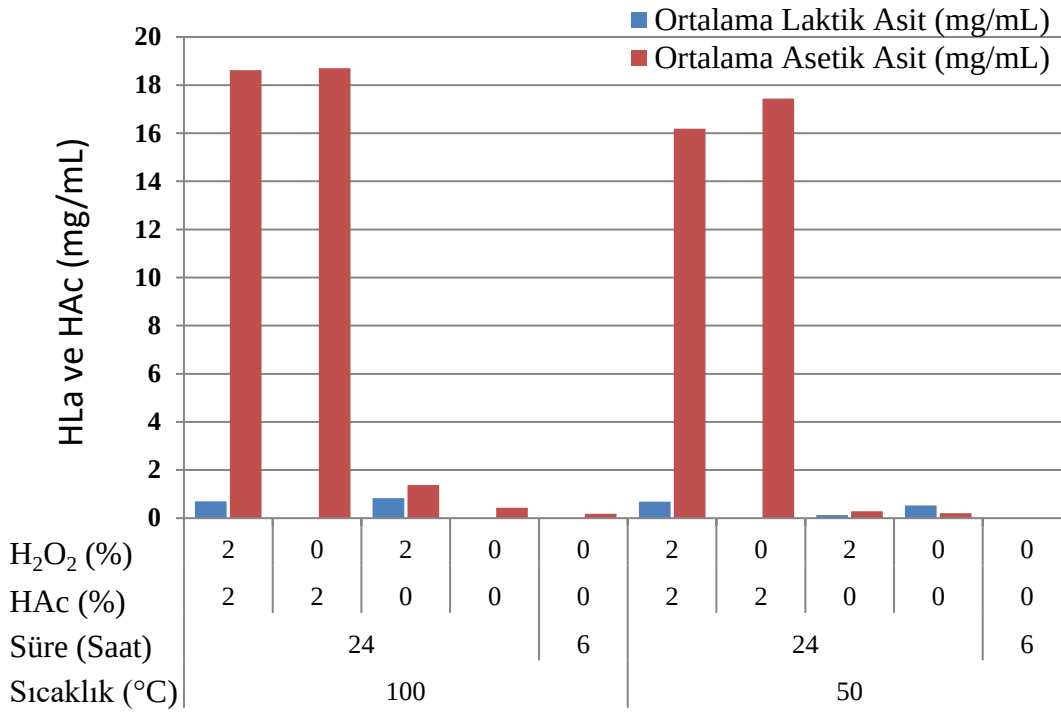
75°C reaksiyon sıcaklığında, %1 H_2O_2 ile %1 HAc konsantrasyonlarında reaksiyon süresinin 6, 15 ve 24 saate artırılması ile %204.37, %175.42 ve %231.76’lık çKOİ artışları sağlanmışlardır. Bu sonuçlara göre reaksiyon süresi 6 saat’ten 15 saate çıkarıldığında çKOİ artışı düşmesine rağmen reaksiyon süresinin 24 saate artırılmasıyla daha yüksek çKOİ artışı gözlenmiştir.

Literatürde lignoselülozik materyale HP&HAc uygulayan çalışmalarda genel amaç katı fraksiyonda delignifikasyonu sağlamak olduğundan hiçbir çalışmada HP&HAc ön arıtmanın sıvı fraksiyonda çKOİ üzerine etkisi incelenmemiştir. Lignoselülozik materyallere HP&HAc dışında ön arıtma prosesi uygulayan çalışmalara bakıldığında ise Kanlow çeşidi dallı darı kullanan Jackowiak vd. (2011) 90-180°C reaksiyon sıcaklığında mikrodalga ön arıtma uygulamış ve dallı darıdan 164-241 mgçKOİ/gTKM elde etmiştir. Bu tez çalışmasında HP&HAc ön arıtma uygulaması ile elde edilen çKOİ değerlerinin literatürde lignoselülozik atıklara uygulanan ön arıtma sonucunda elde edilen çKOİ değerlerinden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yüksek çKOİ değerlerinin dallı darı bitkisinin yüksek yapısal karbonhidrata sahip olması ve HP&HAc ön arıtmada kullanılan H_2O_2 ile HAc’in kümülatif etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.4. HP&HAc ön arıtmanın inhibitör madde üzerine etkisi

Dallı darı numunesine uygulanan HP&HAc ön arıtmanın etkisinin belirlenmesi ve muamele edilen numuneden üretilebilecek biyoyakıt (etanol ve metan) üretimine etki edebilecek inhibisyonun tespit edilebilmesi amacıyla ön arıtmaya maruz bırakılan numunelerin katı-sıvı fazları ayrılmış ve sıvı fazda inhibitör madde miktarları ölçülmüştür. Ön arıtma sonrası enzimatik hidroliz ve etanol fermantasyonu gerçekleştirildiği için ön arıtma sırasında meydana gelebilecek inhibitör maddeler etanol üretimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu nedenle etanol fermantasyonu öncesinde inhibitör madde ölçümü gerçekleştirilmiş ve bu maddelerin giderilmesi için bir işleme ihtiyaç olup olmadığı belirlenmiştir.

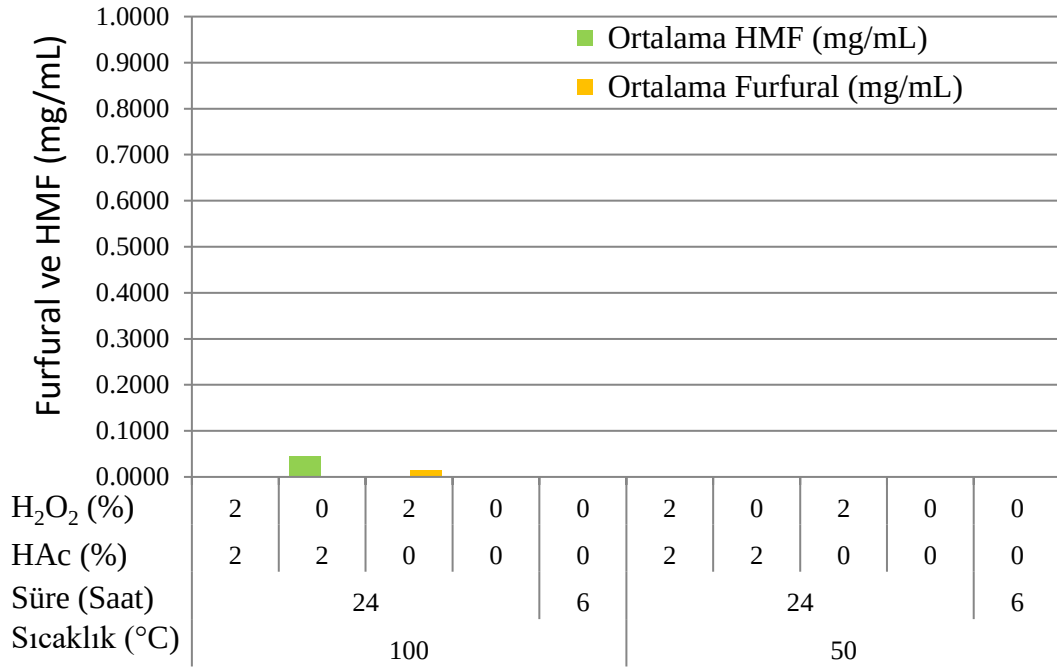
HPLC sistemi ile yapılan inhibitör madde ölçümü pahalı ve zaman alan bir analizdir. Bu nedenle tüm HP&HAc ön arıtma deneylerinde inhibitör madde ölçümü yapmak yerine en yüksek H_2O_2 ile HAc konsantrasyonunda, en yüksek reaksiyon sıcaklığında ve en uzun reaksiyon süresinde yapılan HP&HAc ön arıtma deneyleri ile en düşük H_2O_2 ile HAc konsantrasyonunda, en düşük reaksiyon sıcaklığında ve en kısa reaksiyon süresinde yapılan HP&HAc ön arıtma deneyleri seçilmiştir. Seçilen HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen numunelerde asetik asit (HAc), laktik asit (HLA), hidroksimetil furfural (HMF) ve furfural konsantrasyonları ölçülmüştür. Etanol üretimi açısından inhibitör olabilecek ortalama laktik asit ve asetik asit konsantrasyonları Şekil 4.6’da ve HMF ve furfural konsantrasyonları ise Şekil 4.7’de sunulmuştur.



Şekil 4.6. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen asetik ve laktik asit konsantrasyonları

Şekil 4.6.'dan görüleceği üzere %2 HAc kullanılan tüm HP&HAc ön arıtma deneylerinde HAc konsantrasyonu yaklaşık olarak sisteme eklenen HAc kadar tespit edilmiştir. Bu sonuca göre HAc konsantrasyonunun reaksiyon süresince çok az değiştiği görülmektedir. Bu değişimin reaksiyon sıcaklığı ve sürenin etkisiyle parçalanma, dallı darı ile reaksiyona girme veya H₂O₂ ile birleşerek perasetik asit oluşturma şeklinde gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Şekil 4.6'da görülen dört HP&HAc ön arıtma koşulu dışında önemli derecede yüksek miktarda HAc tespit edilmemiştir.

Şekil 4.6'dan görüleceği üzere HP&HAc ön arıtma deneylerinde bazı koşullarda çok az miktarda HLa olduğu ancak inhibisyona yol açacak kadar yüksek miktarda HLa üretilen deney olmadığı tespit edilmiştir. En yüksek HLa konsantrasyonu 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi ile %2 H₂O₂ ve %2 HAc konsantrasyonlarında yapılan HP&HAc ön arıtma deneyinde 0.83 mg/mL olarak ölçülmüştür. Narendranath vd. (2001) iki tür *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde yaptıkları çalışmada HAc ve HLa'nın başlangıç inhibisyon konsantrasyonlarını sırası ile 6 mg/mL ve 25 mg/mL olarak bulmuşlardır. Casey vd. (2010) ortamda 15 mg/mL konsantrasyondaki HAc'nin mikrobiyal çoğalma, substrat tüketim ve hacimsel etanol üretim hızlarını azalttığını ancak metabolik etanol verimini arttırdığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada; etanol fermantasyonunda HP&HAc ön arıtma sonrasında elde edilen katı kısım kullanılacağı ve etanol fermantasyon ortamı hazırlanırken katı kısımdan gelen HAc seyreleceği için HP&HAc ön arıtmadan gelen HAc ve HLa miktarlarının inhibisyona yol açacak konsantrasyonda olmadığı ve bu sebeple inhibitör giderim işlemi yapılmasına gerek olmadığına karar verilmiştir. Ayrıca, HAc ve HLa'nın etanol fermantasyonu sonrasındaki aşamada üretilen metan verimini arttıracığı tahmin edilmektedir.



Şekil 4.7. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen HMF ve furfural konsantrasyonları

Şekil 4.7.'den görüleceği üzere 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonunda yapılan HP&HAc ön arıtma deneyinde 0.0439 mg/mL HMF tespit edilmiştir. 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda yapılan HP&HAc ön arıtma deneyinde ise 0.0131 mg/mL furfural ölçülmüştür. Şekil 4.7.'den görüleceği üzere yüksek reaksiyon sıcaklığında (100°C) HMF ve furfural oluşumu gözlenmiştir. Taherzadeh vd. (2000), HMF ve furfural'ın *Saccharomyces cerevisiae* üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 2 mg/mL HMF ve 2 mg/mL furfural içeren ortamda mayanın spesifik büyüme hızının 0.45'den 0.01'e düştüğünü bulmuşlardır. Ayrıca, 4 mg/mL HMF veya 4 mg/mL furfural içeren ortamda spesifik etanol üretim hızının inhibitör içermeyen ortama göre yaklaşık %50 azaldığını rapor etmişlerdir. Yine bu çalışmada HMF ve furfural varlığında spesifik etanol üretim hızı azalsa da genel etanol veriminin değişmediği görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında tespit edilen HMF ve furfural konsantrasyonları çok düşük düzeyde olduklarından etanol fermantasyonunda inhibisyon oluşmayacağı öngörülmüştür.

4.2.5. HP&HAc ön arıtmanın yapısal karbonhidratlar üzerine etkisi

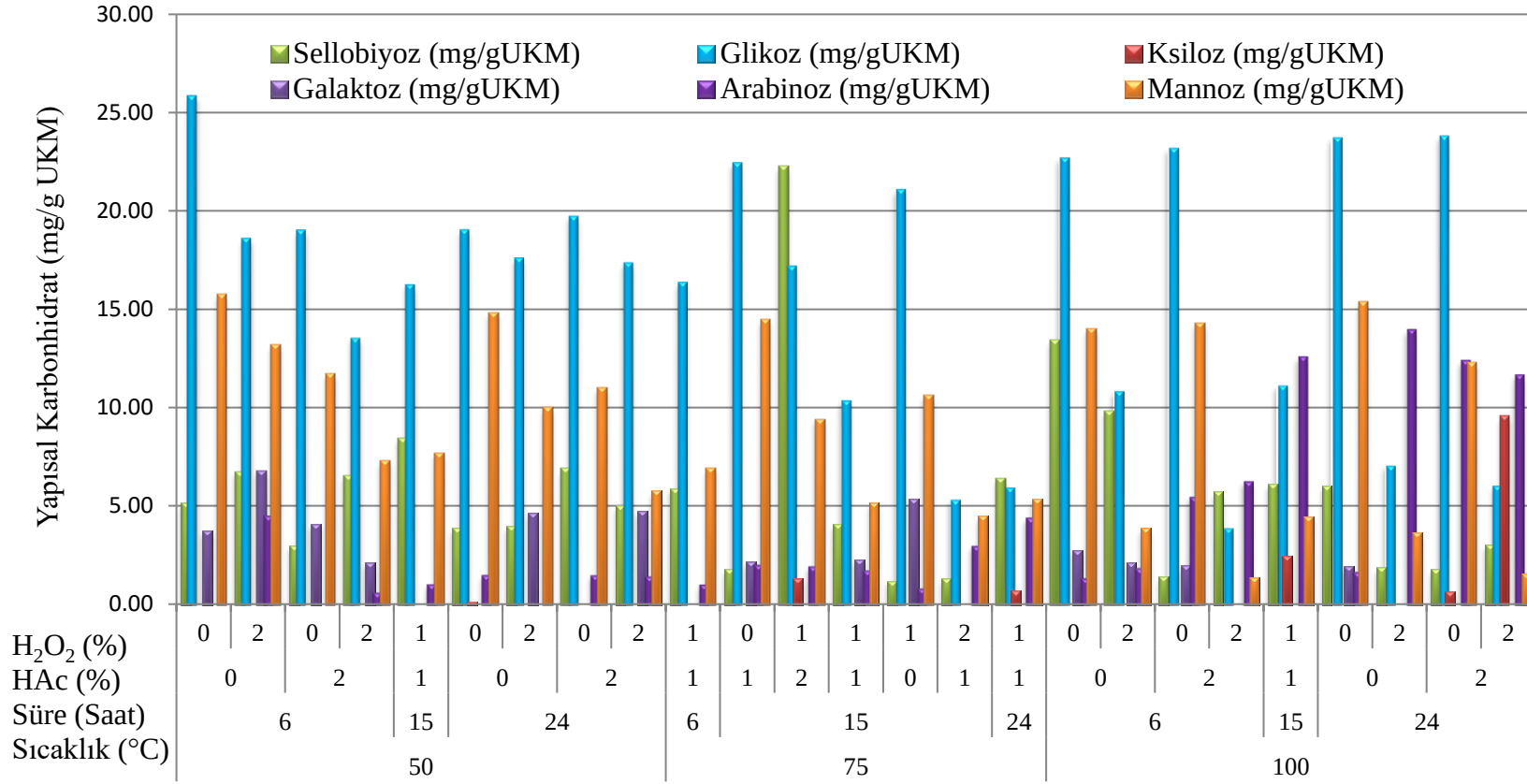
Dallı darı numunesine uygulanan HP&HAc ön arıtmanın etkisinin belirlenmesi ve muamele edilen numuneden sıvı faza geçen yapısal karbonhidratların tespit edilebilmesi amacıyla ön arıtmaya maruz bırakılan numunelerin katı-sıvı fazları ayrılmış ve sıvı fazda yapısal karbonhidrat miktarları ölçülmüştür. Sıvı fazda yapısal karbonhidrat miktarının tespit edilmesi, etanol fermantasyonunda kullanılacak katı fazdan ayrılıp

metan fermentasyonunda kullanılacak olan sıvı faza kazandırılan sellobiyoz, glikoz, ksiloz, galaktoz, arabinoz ve mannoz miktarlarını göstermektedir. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen ortalama yapısal karbonhidrat konsantrasyonları Şekil 4.8’de verilmiştir.

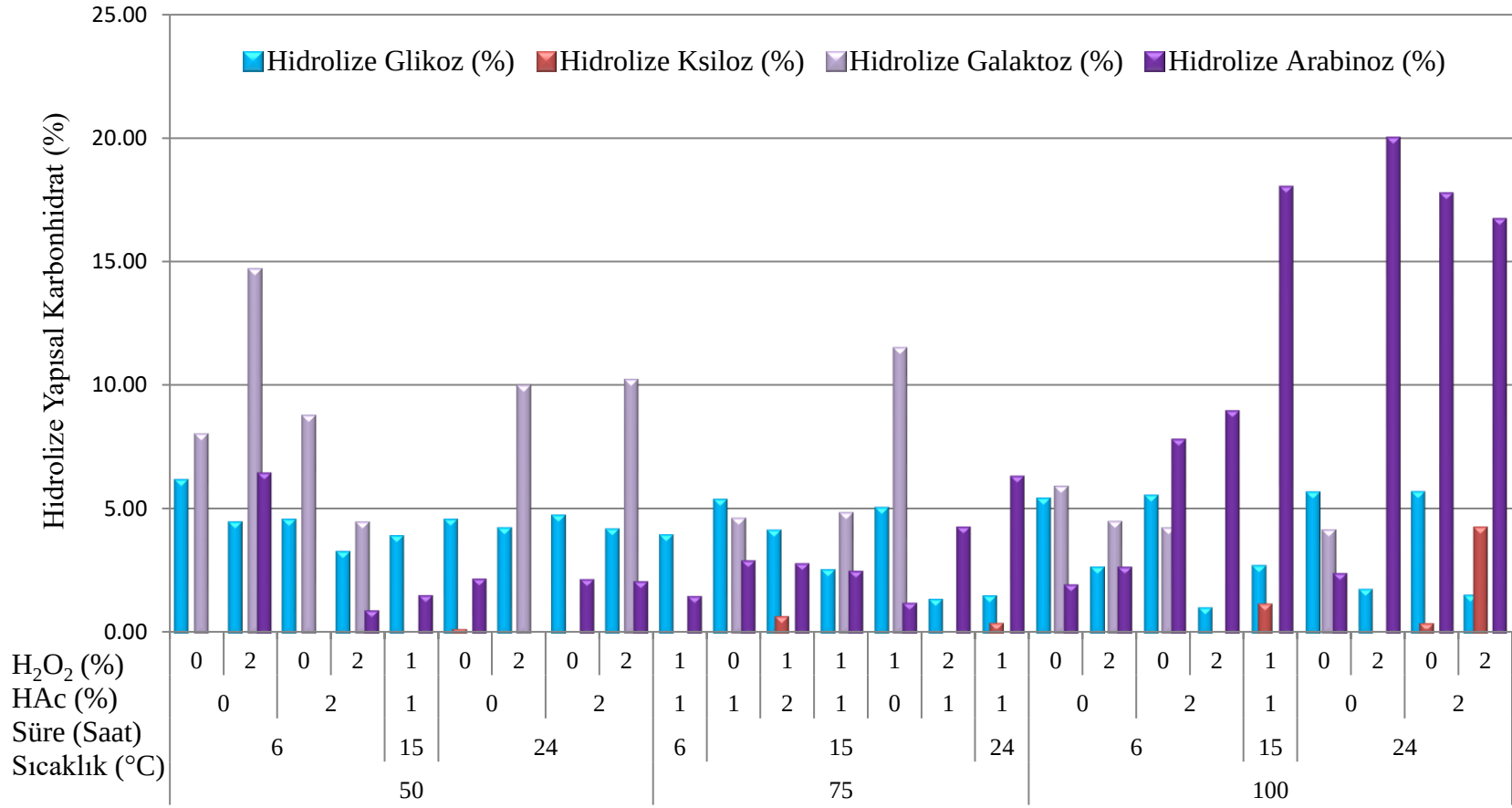
Yapısal karbonhidrat analizi sonucunda en yüksek sellobiyoz miktarı 75°C reaksiyon sıcaklığı, 15 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %1 H₂O₂ konsantrasyonunda 22.24 mg/gUKM, en yüksek glikoz miktarı 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonunda 25.78 mg/gUKM, en yüksek ksiloz miktarı 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda 9.5 mg/gUKM, en yüksek galaktoz miktarı 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda 6.73 mg/gUKM, en yüksek arabinoz miktarı 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda 13.92 mg/gUKM ve en yüksek mannoz miktarı ise 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonunda 15.69 mg/gUKM ölçülmüştür. En yüksek toplam yapısal karbonhidrat miktarı ise 53.95 mg/gUKM değeriyle 100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonunda ölçülmüştür.

Şekil 4.8.’den görüleceği üzere HP&HAc ön arıtma ile tüm koşullarda bir miktar sellobiyoz, glikoz ve mannoz hidrolize edilmiştir. Ayrıca, galaktoz düşük sıcaklıklarda ve arabinoz da yüksek sıcaklıklarda hidrolize olmuştur. Bununla birlikte, ksiloz şekerinin genel olarak hiç hidrolize olmadığı, sadece en güçlü HP&HAc ön arıtma koşullarında (100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda) bir miktar hidrolize edilebildiği bulunmuştur.

HP&HAc ön arıtmanın dallı darı numunelerinde hidrolize edilebildiği şeker veriminin belirlenebilmesi için ön arıtma prosesi ile muamele edilen numunelerin ham dallı darı numunesine göre yapısal karbonhidrat değerlerindeki değişimler (% olarak) hesaplamıştır. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin yapısal karbonhidrat değişim sonuçları Şekil 4.9’da sunulmuştur. Yapısal karbonhidrat analizi sonucunda ham dallı darı numunesinde 424.63 mg/gUKM glikoz, 229.35 mg/gUKM ksiloz, 46.14 mg/gUKM galaktoz ve 69.81 mg/gUKM arabinoz bulunmuştur. H₂SO₄ ekstraksiyonu ile numunedeki tüm şekerler açığa çıkarıldığından ekstraksiyon sonunda elde edilen değerler pratikte ulaşılabilecek maksimum miktarları tespit etmektedir. Ham dallı darı için gerçekleştirilen yapısal karbonhidrat ölçümünde kullanılan asit hidrolizi yöntemi sellobiyoz şekerlerindeki β(1,4) glikozidik bağları kopmasına neden olduğu için selülozdan gelen bu sellobiyoz şekerleri glikoza dönüşmüştür ve sonuçta sellobiyoz tespit edilememiştir. Aynı şekilde asit hidrolizi prosesinin güçlü koşulları mannoz şekerinin de mannoik asite veya C-2 epimeri olan glikoza dönüşmesine neden olmuş ve mannoz şekeri tespit edilememiştir.



Şekil 4.8. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında ölçülen ortalama yapısal karbonhidrat konsantrasyonları



Şekil 4.9. Dalı darıdaki toplam şekere göre HP&Ac ön arıtma sonrası sıvı kısımda ölçülen hidrolize edilebilen şeker yüzdesi

Ham dallı darı yapısal karbonhidrat bileşimine kıyasla HP&HAc ön arıtma prosesi ile farklı koşullarda muamele edilen numunelerin sıvı fazda ölçülen hidrolize edilebilen şeker verimleri incelendiğinde HP&HAc ön arıtmanın hidrolizasyon konusunda güçlü bir ön arıtma yöntemi olmadığı tespit edilmiştir. Hidrolize olan şeker verimleri incelendiğinde en yüksek glikoz hidrolizasyonu 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonunda %5.57, en yüksek ksiloz hidrolizasyonu 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda %4.14, en yüksek galaktoz hidrolizasyonu 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda %14.59 ve en yüksek arabinoz hidrolizasyonu 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda %19.93 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç olarak HP&HAc ön arıtma denemelerinde glikoz hidrolizasyon miktarları %0.90 - 5.57-aralığında tespit edilmiştir ve elde edilen glikoz hidrolizasyon miktarları düşük seviyededir. HP&HAc ön arıtma sonrası sıva fazda ölçülen çözünmüş indirgen şeker miktarları ile tutarlı bir sonuçlar elde edilmiştir. Galaktoz şekerinin 50 ve 75°C reaksiyon sıcaklığında ve arabinoz şekerinin ise 100°C reaksiyon sıcaklığında daha yüksek verimle hidrolize edilebildiği tespit edilmiştir.

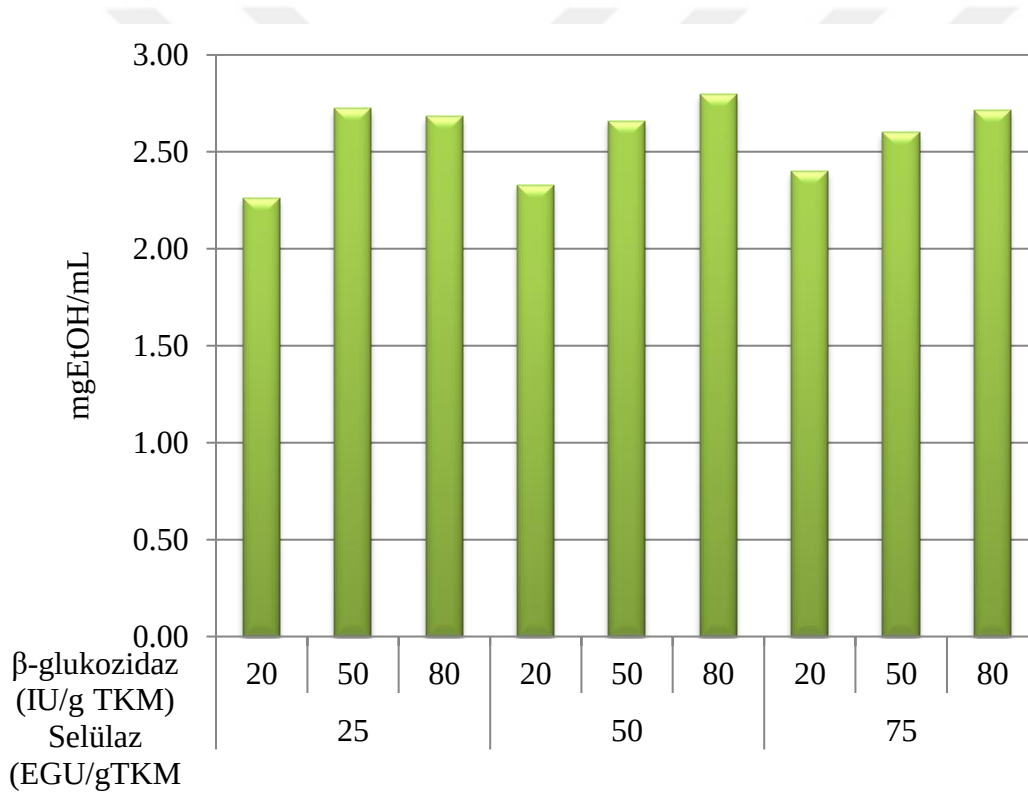
Rosales-calderon vd. (2014) buğday samanı ile yaptıkları çalışmalarında yüksek reaksiyon sıcaklığında NaOH ön arıtmanın hidrolize edebildiği şeker miktarlarını incelemişlerdir. Sonuç olarak 120°C reaksiyon sıcaklığı, 30 dakika reaksiyon süresi ve %6 NaOH konsantrasyonunda elde edilen ön arıtma sıvısında %49.9 glikoz ve %23.6 ksiloz, 150°C reaksiyon sıcaklığı, 60 dakika reaksiyon süresi ve %10 NaOH konsantrasyonunda elde edilen ön arıtma sıvısında ise %55.3 glikoz ve %24.2 ksiloz ölçmüşlerdir. Imman vd. (2015) farklı reaksiyon sıcaklıkları, asit çeşitleri ve konsantrasyonlarının pirinç samanı üzerindeki hidrolizasyon etkisini inceledikleri çalışmalarında glikozun yaklaşık %20'sini ve pentozların ise yaklaşık %70'ini hidrolize etmişlerdir. Klein vd. (2016), *Ficus religiosa* yapraklarına termal işlem uygulamış ve enzimatik hidrolize hazırlık için lignoselülozun yapısını değiştirirken mümkün olduğunca az şekeri hidrolize etmeyi amaçlamışlardır. Sonuç olarak 80, 100, 120°C reaksiyon sıcaklığında sırası ile %1.5, %1.6 ve %3.9 glikozu hidrolize etmişlerdir.

HP&HAc ön arıtma sonrasında hidrolize edilen şeker miktarı literatürdeki hidrolizasyonu amaçlayan ön arıtma yöntemlerine göre düşük kalmaktadır. Ancak, HP&HAc ön arıtmadaki asıl amaç enzimatik hidroliz öncesinde dallı darının fiziksel yapısını daha gözenekli hale getirmek ve enzim ile selüloz arasında engel olan lignini mümkün olduğunca ortadan kaldırmaktır. Bu işlemleri gerçekleştirirken de en az şeker ve kütle kaybı amaçlanmaktadır. Literatürde enzimatik hidrolize hazırlık amaçlı gerçekleştirilen ön arıtma prosesleri sonunda elde edilen hidrolize şeker sonuçlarıyla bu çalışmada elde edilen hidrolize şeker sonuçları tutarlıdır. Bu tür çalışmalarda hedef lignini ortadan kaldırmak olduğundan ve ligninin giderilmesi durumunda şekerler de parçalanacağı için ön arıtma sonrası sıvı fazda ölçülen şekerler fermantasyon öncesi lignoselülozik biyokütleden kayıp olarak görülmektedir. Bu nedenle HP&HAc ön arıtma gibi delignifikasyon odaklı ön arıtmalarda hidrolize şekerin mümkün olduğunca az oluşması istenilmektedir. Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara göre HP&HAc ön arıtma sonrası katı fazda meydana gelen şeker kaybı, başarılı bir enzimatik hidroliz ve etanol fermantasyonuna yetecek kadar az miktardadır.

4.3. Etanol Fermantasyonu ve HP&HAc Ön arıtmanın Etanol Fermantasyonuna Etkisi

4.3.1. Etanol fermantasyonu için optimum enzim miktarının belirlenmesi

Etanol fermantasyonu için eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon prosesinde kullanılacak optimum selüla ve β -glukozidaz enzim dozlarının tespit edilebilmesi amacıyla enzim üreticisi firmanın tavsiye ettiği selüla dozu ve literatürde mevcut çalışmalar incelenerek karar verilen β -glukozidaz dozları dikkate alınarak MKT ile enzim dozu deneme setleri dizayn edilmiştir. Design Expert tarafından önerilen enzim dozlarında ham Shawnee dallı darı kullanılarak eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon deneyleri yapılmıştır. Optimum selüla ve β -glukozidaz enzim dozlarının belirlenmesi amacıyla 96 saat sürdürülen eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon prosesi sonunda ölçülen ortalama etanol değerleri Şekil 4.10.'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Optimum selüla ve β -glukozidaz enzim dozlarının belirlenmesi amacıyla yapılan eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon prosesinde ölçülen etanol değerleri

Şekil 4.10'dan görüleceği üzere en yüksek etanol konsantrasyonu 2.80 mgEtOH/mL olarak 50 EGU/gTKM selüla ve 80 IU/gTKM β -glukozidaz enzim dozunda elde edilmiştir. Bununla birlikte, proses maliyetleri göz önünde bulundurularak Shawnee çeşidi dallı darı için etanol fermantasyonu deneylerinde en yüksek ikinci etanol konsantrasyonu üretimini (2.73 mgEtOH/mL) sağlayan enzim dozlarının 25 EGU/gTKM selüla ve 50 IU/gTKM β -glukozidaz olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

4.3.2. HP&HAc ön arıtmanın etanol fermantasyonuna etkisi

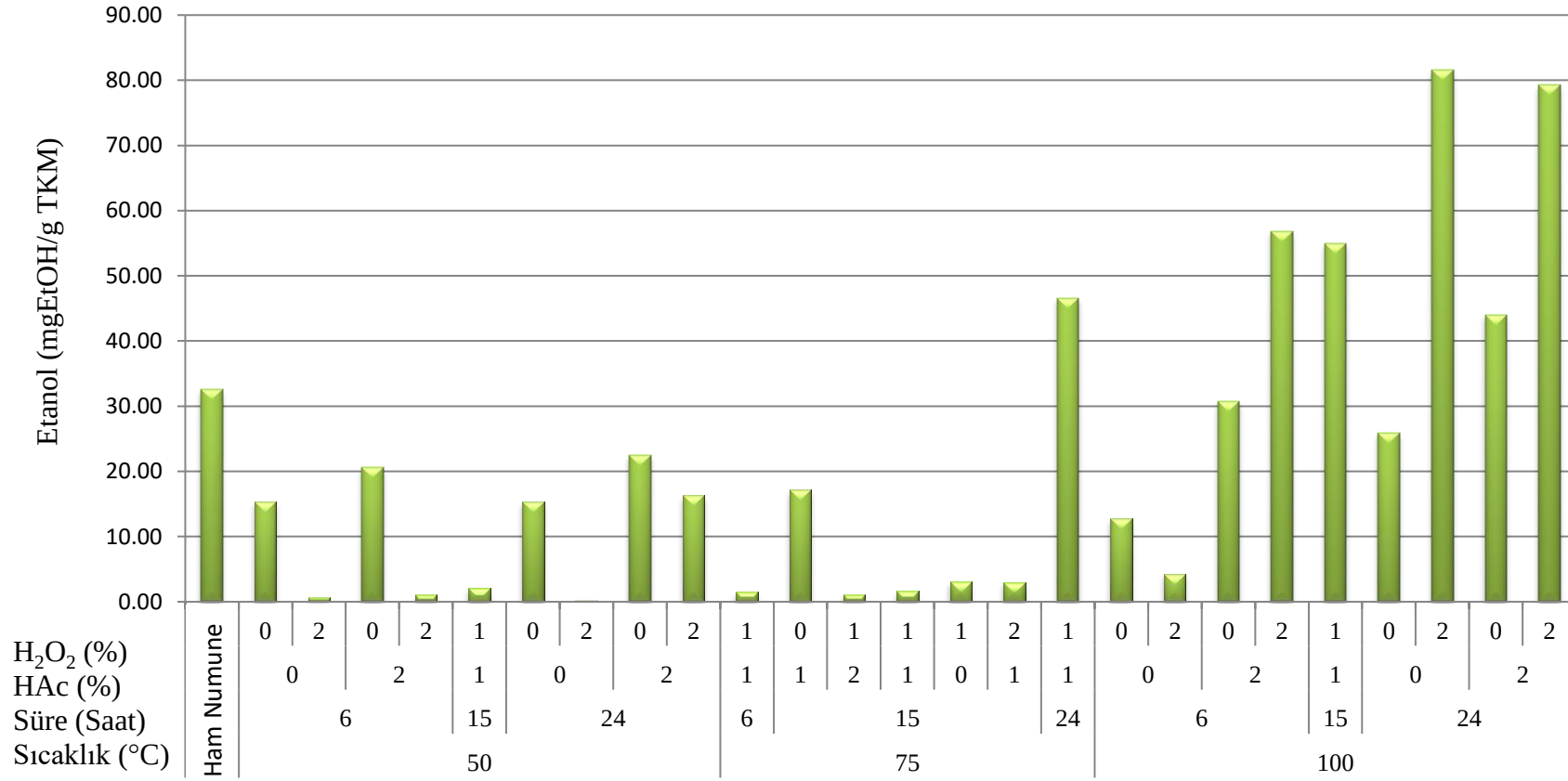
Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen Shawneé çeşidi dallı darı numunelerinin katı fazı kullanılarak eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon deneyleri yapılmıştır. 144 saat sürdürülen etanol fermantasyonu süresince alınan numunelerde etanol miktarı ölçülmüş ve etanol sonuçları mgEtOH/mL cinsinden belirlenmiştir. Ön arıtma etkinliğinin belirlenmesinde kıyaslama yapılabilmesi için ham dallı darı numunesinin de eş zamanlı şekerleşme –fermantasyon deneyi gerçekleştirilmiştir. Bütün numunelerin 144. saat sonundaki etanol miktarları nihai sonuç olarak kabul edilmiş ve birimleri gEtOH/kgTKM cinsine dönüştürülmüştür.

Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen Shawneé çeşidi dallı darı numunelerinden eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon prosesi ile üretilen etanol miktarları Şekil 4.11’de verilmiştir.

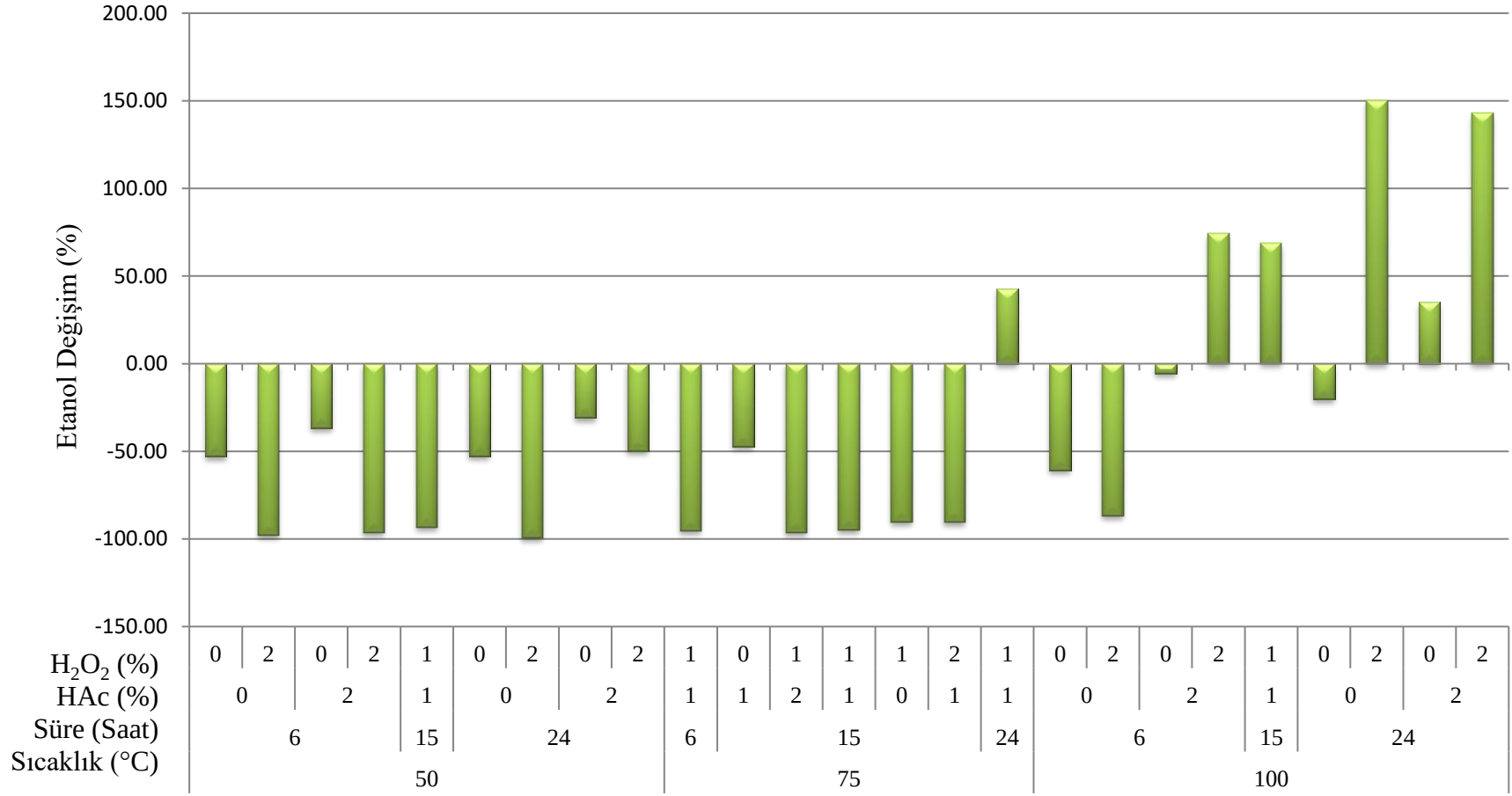
HP&HAc ön arıtmanın, dallı darı numunelerinden üretilen etanol miktarları üzerine etkilerini tespit edebilmek için ön arıtma prosesi ile muamele edilen numunelerin ham dallı darı numunesine göre etanol miktarındaki değişimler (artma ve azalma % olarak) hesaplanmıştır. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin etanol değişim sonuçları ise Şekil 4.12’de verilmiştir.

Şekil 4.11’den 75°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %1 HAc ve %1 H₂O₂ konsantrasyonu koşullarında yapılan HP&HAc ön arıtma deneyi hariç 50 ve 75°C reaksiyon sıcaklıklarında gerçekleştirilen tüm HP&HAc ön arıtma deneylerinin dallı darının yapısı üzerinde enzimatik hidroliz etkinliğini arttıracak kadar önemli bir değişim sağlayamadığı ve bu ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinden üretilen etanol miktarının düşük kaldığı görülmektedir. H₂O₂ ve HAc kullanılmayan ön arıtma deney koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin eş zamanlı şekerleşme – fermantasyon sonuçları incelendiğinde hepsinin ham dallı darı numunesine göre daha az etanol ürettiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresinin tek başlarına etanol üretim verimini artırma özelliği olmadığı gözlenmiştir.

%1 H₂O₂ ile %1 HAc konsantrasyonlarında, 15 saat reaksiyon süresinde ve 50, 75, 100°C reaksiyon sıcaklıkları koşullarında muamele edilen dallı darı numunesinden üretilen etanol miktarları sırası ile 2.14 mgEtOH/gTKM, 1.67 mgEtOH/gTKM ve 54.99 mgEtOH/gTKM olarak bulunmuştur. Şekil 4.11.’den reaksiyon sıcaklığın 50°C’den ve 75°C’ye çıkarılmasının etanol miktarını neredeyse değiştirmediği, ancak reaksiyon sıcaklığının 100°C’ye çıkarıldığı ön arıtma koşullarında muamele edilen numuneden yüksek miktarda etanol üretildiği görülmektedir.



Şekil 4.11. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı kullanılarak üretilen etanol miktarları



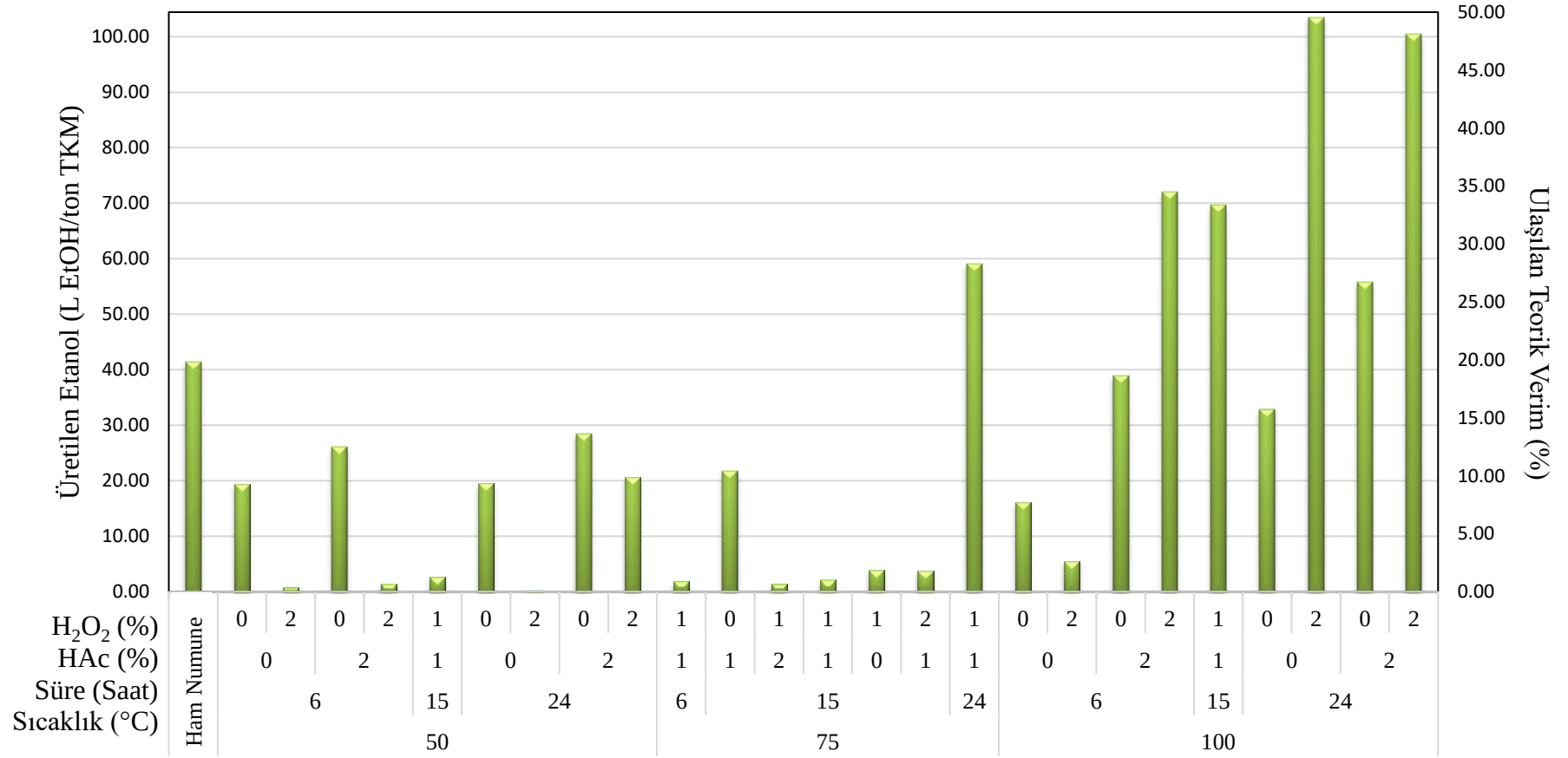
Şekil 4.12. Ham dallı darı numunesine göre farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen dallı darı numunelerinin etanol değişim sonuçları

H₂O₂ ve HAc'in tek başlarına kullanıldıkları deneylerde sadece 100°C reaksiyon sıcaklığı ve 24 saat reaksiyon süresi koşullarında yüksek etanol üretimi sağlanmıştır. Bulgulara göre etanol fermantasyonu öncesinde uygulanacak başarılı bir HP&HAc ön arıtma prosesinde H₂O₂ ile HAc miktarları, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi parametrelerinin yüksek değerlerinde kümülatif etki ortaya çıkmıştır.

Şekil 4.12'den görüleceği üzere ham dallı darı numunesine göre etanol üretiminde maksimum artış 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonlarında ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunesinde %150.36 olarak gözlenmiştir. Etanol üretiminde maksimum azalma ise 50°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonlarında ön arıtma uygulanan dallı darı numunesinden %99.41 olarak elde edilmiştir. Bu iki koşul arasındaki tek fark olan reaksiyon sıcaklığının dallı darının fiziksel yapısını enzimlerin ulaşabileceği şekilde değiştirmede etkili olduğu görülmektedir.

HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunelerinden eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon prosesi ile üretilen etanol miktarlarının ve HP&HAc ön arıtma etkinliğinin daha iyi anlaşılabilmesi için üretilen etanol miktarı L/tonTKM birimine dönüştürülmüştür. Ayrıca, dallı darıdan üretilebilecek teorik etanol verimi hesaplanmış ve HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunelerinden eş zamanlı şekerleştirme – fermantasyon prosesi ile üretilen etanol miktarlarının teorik etanol verimine göre ulaşılan verimleri hesaplanmış ve Şekil 4.13'te sunulmuştur. 938.12 g/kgTKM, 824.31 g/kgUKM ve %33.1 selüloz miktarına sahip Shawneé çeşidi dallı darının teorik etanol verimi 208.85 L/tonTKM olarak hesaplanmıştır. HP&HAc ön arıtma ile muamele edilmeyen Shawneé çeşidi dallı darıdan 41.34 L/ton TKM etanol üretilmiş ve teorik etanol potansiyelinin %19.79'una ulaşılmıştır. En yüksek etanol 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyon koşullarında muamele edilen dallı darı numunesinden 103.49 L/ton TKM olarak üretilmiştir ve teorik verimin %49.55'ine ulaşılmıştır. En düşük etanol ise 50°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyon koşullarında muamele edilen dallı darı numunesinde 0.24 L/ton TKM olarak üretilmiş olup teorik verimin %0.12'sine ulaşılmıştır.

Lignoselülozik materyalden etanol üretimi konusunda yapılan çalışmalar incelendiğinde; Aita vd. 'nin (2011) şeker kamışı küspesinden teorik etanol veriminin %78'ine ulaşarak 291.5 L/ton TKM etanol ürettikleri, Babujanarthanam ve Kavitha'nın (2014) kırmızı algden 36 saat fermantasyon süresinde teorik verimin %91.62'sine ulaşarak 0.546 g/g selüloz etanol ürettikleri, Barros-Rios vd.'nin (2016) mısır bitkisinden 292-358 L/ton TKM aralığında etanol ürettikleri, Camesasca vd.'nin (2015) fil çiminden teorik verimin %52'sine ulaşarak 162 L/ton TKM etanol ürettikleri, Canabarro vd.'nin (2017) pirinç kabuğundan ve kepeğinden 171.1 L/ton TKM etanol ürettikleri, Fockink vd.'nin (2015) çırçır makinası tozundan 232 L/ton TKM ve çırçır makinası atığından ise 129 L/ton TKM etanol ürettikleri, Keshav vd.'nin (2016) pamuk sapından 557.67 L/ton TKM etanol ürettikleri tespit edilmiştir. Papa vd. (2015) dallı darıdan biyogaz ve etanol ürettikleri çalışmalarında dallı dariya iyonik sıvılar ön arıtma uygulayarak en yüksek 85.7 mgEtOH/g TKM üretime ulaşmışlardır. Wu vd. (2018) dallı dariya fosforik asit ile ön arıtma uygulayarak 190.4 mgEtOH/g TKM üretim gerçekleştirmişlerdir. Bu tez kapsamında literatürde mevcut değerlerden düşük miktarda etanol üretimine ulaşılmıştır.



Şekil 4.13. Farklı HP&Ac ön arıtma proses koşullarında muamele edilen dallı darıdan üretilen L/tonTKM etanol miktarları ve ulaşılan teorik verim miktarları

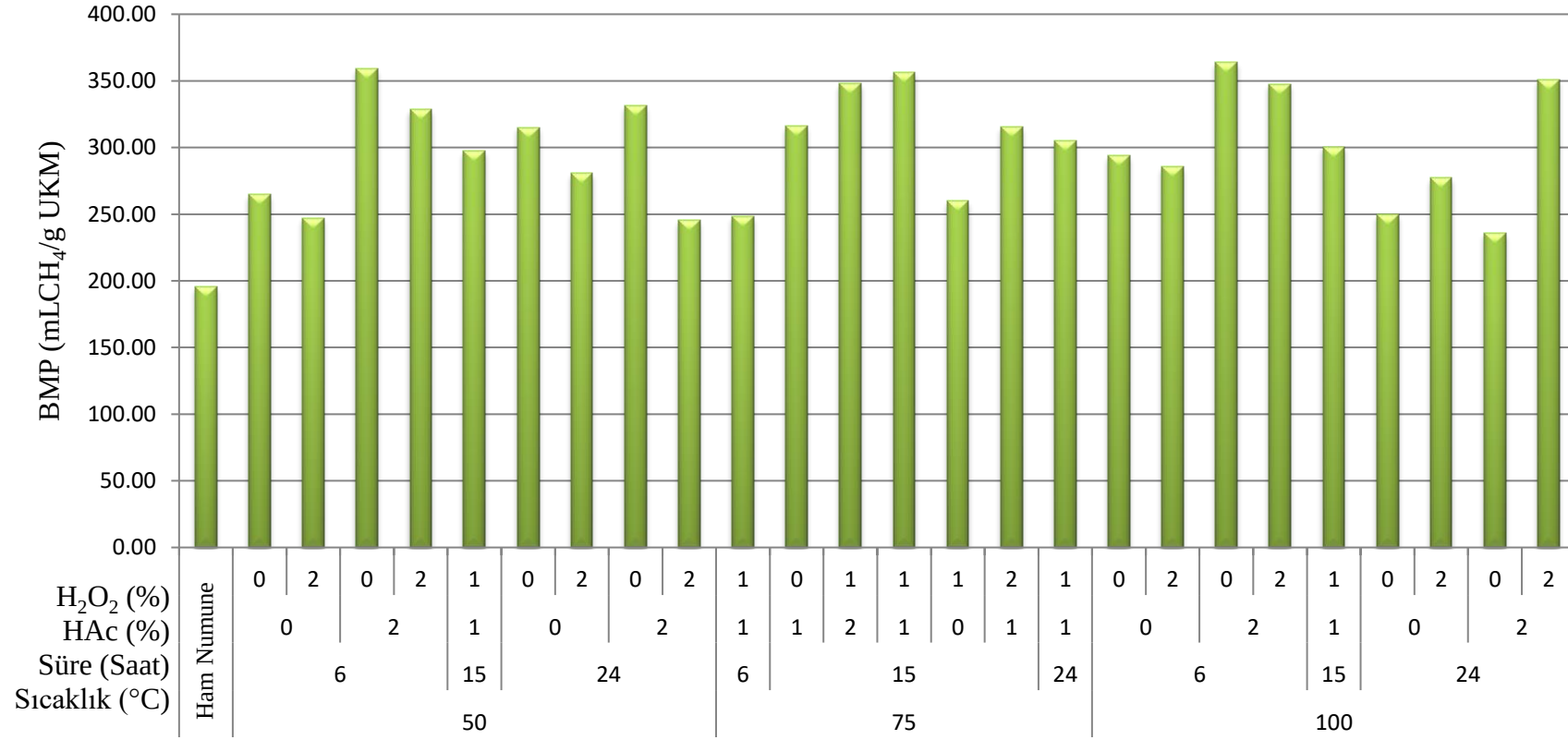
4.4. Metan Fermantasyonu ve HP&HAc Ön arıtmanın Metan Fermantasyonuna Etkisi

Shawnee çeşidi dallı darı numunelerine uygulanan HP&HAc ön arıtma prosesi sonrasında numuneler katı-sıvı faz olarak ikiye ayrılmıştır ve katı faz numuneleri etanol üretim potansiyelinin tespit edilmesinde kullanılmıştır. Etanol üretiminden sonra kalan etanol fermantasyon ortamı ve HP&HAc ön arıtma prosesinden kalan sıvı faz numuneleri birleştirilerek kalan tüm atıktan ikinci biyoyakıt metan üretimi hedeflenmiştir.

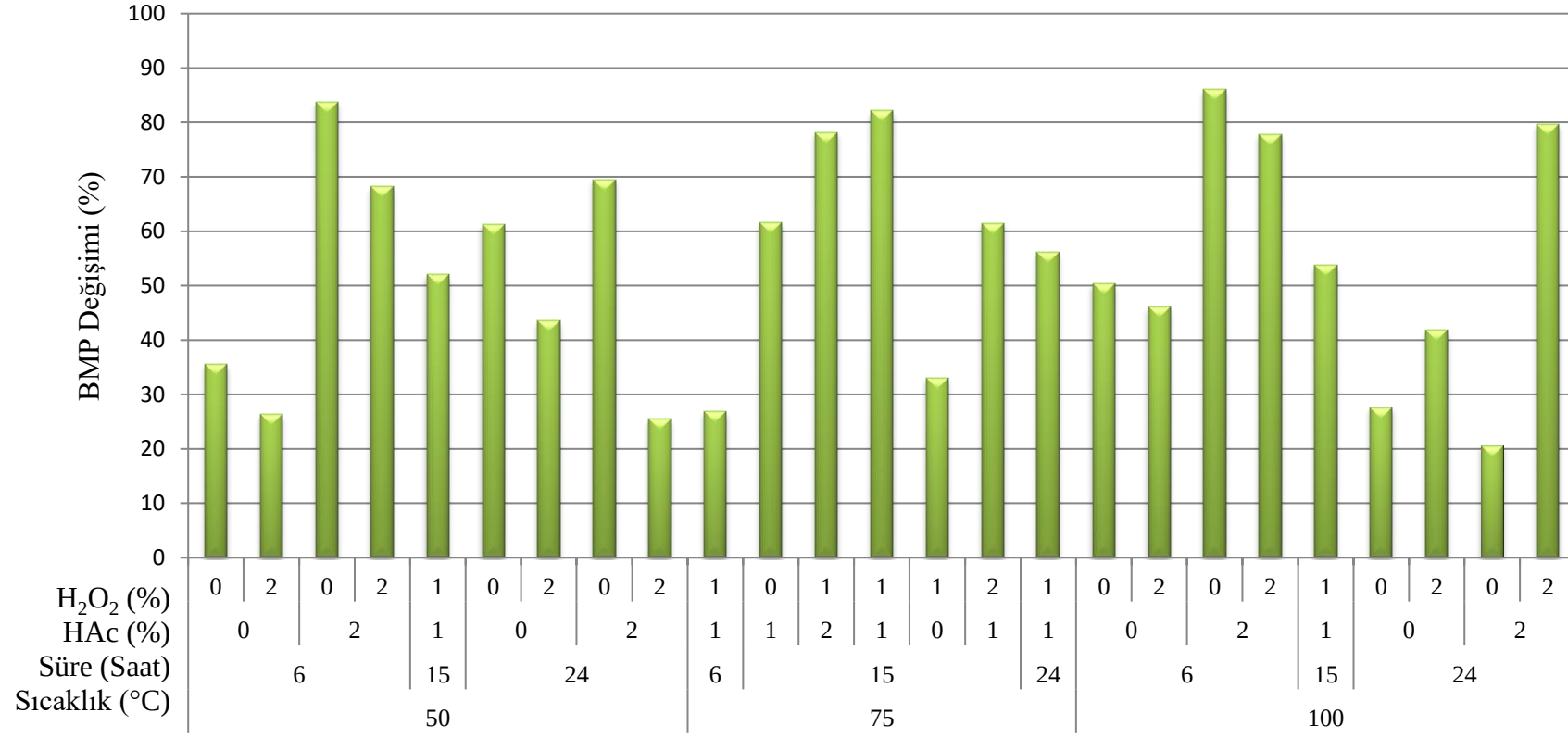
Her bir HP&HAc ön arıtma prosesinde 12 g TKM numune kullanılmış olup, bunun 5 g TKM'si etanol üretimine aktarılmıştır. Etanol üretimi sonrasında 5 g TKM içeren etanol fermantasyon ortamı alınarak HP&HAc ön arıtma prosesinden kalan sıvı fazdan 78.33 mL eklenmiştir (5/12si kadar). Böylece etanol üretim sürecinde oluşacak atıkların tamamının kullanılması sağlanmıştır. Toplam 50 gün devam ettirilen BMP testlerinden elde edilen sonuçlar $\text{mLCH}_4/\text{gUKM}$ olarak hesaplanmıştır. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen numuneler ile etanol üretiminden kalan fermantasyon ortamı ortalama BMP testi sonuçları Şekil 4.14'de verilmiştir.

Şekil 4.14'den görüleceği üzere maksimum metan üretimi $363.82 \text{ mLCH}_4/\text{gUKM}$ değeri ile 100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %0 H_2O_2 konsantrasyonunda ön arıtma uygulanan dallı darı numunesinden elde edilmiştir. Minimum metan üretimi ise $235.84 \text{ mLCH}_4/\text{gUKM}$ değeri ile 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %0 H_2O_2 konsantrasyonunda muamele edilen dallı darı numunesinden üretilmiştir. Bu iki koşul arasındaki tek fark ön arıtmada uygulanan reaksiyon süresidir. İki koşulda da ön arıtma sonrası çŞeker miktarları düşük ve çKOİ miktarları yüksek olmasına rağmen, 24 saat reaksiyon süresinde ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunesinden üretilen etanol potansiyeli 6 saat reaksiyon süresinde ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunesinden daha yüksek sonuç verdiği için metan potansiyeli 6 saat reaksiyon süresi uygulanan ön arıtma deneyinde yüksektir.

BMP sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde tüm koşullarda yüksek miktarda metan üretildiği görülmektedir. Bunun nedeni ön arıtma sonrasında sıvı kısımlarda yüksek çKOİ miktarları elde edilmesi ve etanol fermantasyonunda genel olarak üretimin düşük kalması sonucunda fermente edilebilecek maddelerin BMP testine kalmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, bazı ön arıtma uygulamaları sonunda HAc miktarının azalmaması ve etanol fermantasyonu basamağında β -glukozidaz enziminin çözücüsü olarak kullanılan asetat tamponunun da HAc içermesi BMP miktarının artmasına neden olmuştur.



Şekil 4.14. Farklı HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen numuneler ile etanol üretiminden kalan fermantasyon ortamı ortalama BMP testi sonuçları



Şekil 4.15. Ham dallı darı numunesine göre farklı koşullarda HP&HAc ön arıtma uygulanan numunelerin BMP değerlerindeki değişimler

75°C reaksiyon sıcaklığı, 15 saat reaksiyon süresi, %1 HAc ve %1 H₂O₂ konsantrasyonunda yapılan merkez deneyde en yüksek üçüncü BMP değeri 356.20 mLCH₄/gUKM olarak elde edilmiştir. Merkez nokta ön arıtma koşullarında yüksek BMP değeri elde edilmesi MKT deney tasarımı H₂O₂, HAc, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi proses değişkenlerinin seçilen aralıklarının uygun olduğunu göstermektedir. Merkez noktada 6 ve 24 saat reaksiyon sürelerinde muamele edilen dallı darı numunesinden üretilen BMP miktarları sırasıyla 248.10 mLCH₄/gUKM ve 305.23 mLCH₄/gUKM olarak elde edilmiştir. Merkez noktada H₂O₂ ile HAc konsantrasyonları ve reaksiyon süresi sabit tutularak 50 ve 100°C reaksiyon sıcaklığında yapılan ön arıtma deneylerinde muamele edilen dallı darı numunelerinden sırasıyla 297.22 mLCH₄/gUKM ve 300.61 mLCH₄/gUKM elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre BMP açısından yine 75°C reaksiyon sıcaklığında gerçekleştirilen merkez deneyi koşullarında en yüksek metan potansiyeli sonucuna ulaştığı görülmektedir.

Shawnee çeşidi ham dallı darı numunesinin BMP değeri 195.50 mLCH₄/gUKM olarak ölçülmüştür. Ham dallı darı numunesine göre farklı koşullarda HP&HAc ön arıtma uygulanan numunelerin BMP değerlerindeki değişimler Şekil 4.15’de verilmiştir. Şekil 4.15’den görüleceği üzere tüm koşullarda metan üretiminde artış sağlanmıştır. Maksimum metan artışı 100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu koşullarının uygulandığı dallı darı numunesinden %86.09 olarak ve minimum artış ise 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu kullanılan ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunesinden %20.63 olarak elde edilmiştir.

Literatürde farklı ön arıtma yöntemleri uygulanarak dallı darının metan üretiminin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Capecchi vd. (2016), Alamo çeşidi dallı darıdan etanol ve metan üretimini inceledikleri çalışmalarında 281.8 mLCH₄/gUKM metan elde etmişlerdir. Jackowiak vd. (2011), Kanlow çeşidi dallı darıya mikrodalga ön arıtma uygulamışlar ve 150°C reaksiyon sıcaklığında muamele edilen numuneden en yüksek metan üretimini 320 mLCH₄/gUKM olarak elde etmişlerdir. Papa vd. (2015), dallı darıya basınçlı sıcak su ön arıtma ve enzimatik hidroliz uygulayarak 66.54 L/tonTKM etanol ve 271 mL/gUKM metan, iyonik sıvılar ve enzimatik hidroliz uygulayarak ise 108.61 L/ton TKM etanol ve 230 mL/gUKM metan üretmişlerdir. Frigon vd. (2012), yaz döneminde hasat edilmiş Kanlow çeşidi dallı darı kullanarak ham dallı darıdan 205 mLCH₄/gUKM ve ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunesinden 298 mLCH₄/gUKM üretmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında ham Shawnee çeşidi dallı darı numunesine ait BMP sonucunun literatür ile uyumlu olduğu, ön arıtma sonrası kalan sıvı fraksiyon ve etanol üretimi sonrası kalan fermantasyon atıklarının karıştırılması ile hazırlanan numunelerin BMP değerlerinin ise literatüre göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ön arıtma sonrasında indirgen şeker miktarlarının düşük ancak çKOİ miktarlarının yüksek olarak ölçülmesi, BMP sonuçlarının çKOİ ile orantılı olduğunu göstermektedir. Yüksek BMP sonucu, ön arıtma prosesinin yüksek reaksiyon sıcaklığı ve asit koşullarında yapılmasına rağmen HMF veya furfural gibi inhibisyona yol açabilecek inhibitörlerin oluşmadığını ve metan üretiminin inhibe olmadığını göstermektedir. Ayrıca, ön arıtmadan ve etanol fermantasyonunda β-glukozidaz enziminin çözücüsü olan asetattan kaynaklı asetik asit

konsantrasyonunun da inhibisyona yol açmadığı, tersine BMP testinde besin olarak kullanılarak üretilen metan miktarını arttırdığı görülmüştür.

4.5. Model Verileri

Shawnee çeşidi dallı darıdan üretilebilecek etanol ve metan miktarının artırılması amacıyla cevap yüzey yöntemi, merkezi kompozit tasarım (MKT) ile planlanan HP&HAc ön arıtma deney koşulları ile bağımlı değişkenlere ait sonuçlar (sıvı fazda çİndŞeker ve çKOİ, katı fazdan üretilen etanol ve karışım numunesinden üretilen metan) Çizelge 4.2’de verilmiştir. Dalli darı numunesine HP&HAc ön arıtma prosesinin uygulamasından sonra çİndŞeker, çKOİ, etanol ile metan miktarı optimizasyonu için uygulanan MKT’de HP&HAc cevap değişkenlerinin modellenmesi, modelin uygunluğunun testinin yapılması ve bağımsız değişkenlerle bu değişkenlere ait etkilerin belirlenebilmesi amacıyla ANOVA testi yapılmıştır.



Çizelge 4.2. Merkezi kompozit tasarım tarafından önerilen HP&HAc ön arıtma deneyleri ve bağımlı değişkenlere ait sonuçlar

Deney	Sıcaklık (°C)	Süre (h)	HAc (%w/v)	H ₂ O ₂ (%w/v)	çİndŞeker (mgİndŞeker/gUKM)	çKOİ (mgçKOİ/gUKM)	Etanol (mgEtOH/mL)	BMP (mLCH ₄ /gUKM)
1-1	100	6	0	0	81.08	241.85	1.69	296.72
1-2	100	6	0	0	83.11	251.59	1.66	291.15
2-1	75	15	1	0	6.63	374.94	1.92	312.93
2-2	75	15	1	0	6.30	389.90	1.56	319.09
3-1	75	15	2	1	1.89	596.69	0.8429	353.35
3-2	75	15	2	1	1.91	622.95	0.8914	343.29
4-1	50	24	2	0	2.29	530.95	1.94	339.29
4-2	50	24	2	0	2.22	511.93	1.98	323.48
5-1	100	6	2	0	2.38	513.91	2.41	362.31
5-2	100	6	2	0	2.43	532.74	2.33	365.33
6-1	100	6	0	2	1.60	366.42	1.03	277.16
6-2	100	6	0	2	1.62	371.11	1.03	294.22
7-1	100	24	0	0	95.18	250.97	2.51	251.60
7-2	100	24	0	0	96.71	258.20	2.06	247.37
8-1	50	15	1	1	1.95	315.59	0.8148	302.26
8-2	50	15	1	1	1.91	305.99	0.9135	292.18
9-1	75	15	1	2	1.69	376.77	1.06	311.05
9-2	75	15	1	2	1.74	384.35	1.04	320.34
10-1	100	24	0	2	198.72	408.62	4.93	276.55
10-2	100	24	0	2	206.81	401.16	5.03	278.15
11-1	100	24	2	2	3.29	864.80	4.70	344.95
11-2	100	24	2	2	3.30	825.08	4.96	357.61
12-1	50	24	0	2	1.50	275.48	0.8794	277.89
12-2	50	24	0	2	1.48	262.66	0.8708	283.60
13-1	75	15	1	1	2.28	438.80	0.9439	378.48
13-2	75	15	1	1	2.33	418.56	0.9015	333.91

Çizelge 4.2'nin devamı

Deney	Sıcaklık (°C)	Süre (h)	HAc (%w/v)	H ₂ O ₂ (%w/v)	çİndŞeker (mgçİndŞeker/gUKM)	çKOİ (mgçKOİ/gUKM)	Etanol (mgEtOH/mL)	BMP (mLCH ₄ /gUKM)
14-1	75	15	0	1	1.71	296.91	1.02	273.15
14-2	75	15	0	1	1.75	283.19	0.97	247.26
15-1	50	6	2	2	1.71	592.03	0.90	317.58
15-2	50	6	2	2	1.70	585.82	0.92	339.98
16-1	50	6	0	2	2.03	342.06	0.89	232.08
16-2	50	6	0	2	2.04	338.14	0.91	262.01
17-1	75	6	1	1	2.17	479.89	0.99	239.54
17-2	75	6	1	1	2.27	467.23	1.01	256.66
18-1	75	24	1	1	3.08	525.63	3.30	298.23
18-2	75	24	1	1	3.09	506.71	3.10	312.24
19-1	100	24	2	0	2.45	621.78	3.11	227.14
19-2	100	24	2	0	2.48	630.11	2.97	244.55
20-1	100	15	1	1	5.25	511.18	3.58	280.96
20-2	100	15	1	1	5.32	529.02	3.64	320.25
21-1	100	6	2	2	2.24	659.33	3.69	329.29
21-2	100	6	2	2	2.24	631.09	3.67	366.08
22-1	50	24	0	0	71.83	208.76	1.63	303.52
22-2	50	24	0	0	70.17	199.92	1.61	326.72
23-1	50	6	0	0	79.49	201.47	1.71	257.34
23-2	50	6	0	0	80.26	197.21	1.58	272.83
24-1	50	24	2	2	1.61	608.60	1.64	242.23
24-2	50	24	2	2	1.69	631.05	1.72	248.37
25-1	50	6	2	0	2.12	484.50	1.91	373.68
25-2	50	6	2	0	2.08	487.27	1.85	344.88

4.6. Model Sonuçları

4.6.1. Çözünmüş indirgen şeker (çİndŞeker) model sonuçları

MKT yöntemi ile planlanan 25 farklı HP&HAc ön arıtma koşulunda merkez deneyi triplike, diğer deneyler duplike olacak şekilde yapılmış ve bağımsız değişkenlere ait ölçülen sonuçlar modelde kullanılmak üzere Design Expert® 7 paket programına işlenmiştir. Çözünmüş indirgen şeker için verilerin karekökünün alındığı ve istatistiksel olarak önemsiz olan terimlerin regresyon denkleminde çıkarıldığı modifiye kuadratik bir model kullanılmıştır. çİndŞeker için kullanılan modelin ANOVA testi sonuçları Çizelge 4.3'te ve modele ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. çİndŞeker modeli ANOVA testi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	610.74	20	30.54	47.65	< 0.0001
A-Reaksiyon Sıcaklığı	0.82	1	0.82	1.29	0.2656
B-Reaksiyon Süresi	0.071	1	0.071	0.11	0.7413
C-HAc Konsantrasyonu	4.202E ⁻⁰⁰³	1	4.202E ⁻⁰⁰³	6.557E ⁻⁰⁰³	0.9360
D-H ₂ O ₂ Konsantrasyonu	42.77	1	42.77	66.73	< 0.0001
AB	26.57	1	26.57	41.46	< 0.0001
AC	22.15	1	22.15	34.56	< 0.0001
AD	17.31	1	17.31	27.01	< 0.0001
BC	19.42	1	19.42	30.31	< 0.0001
BD	19.89	1	19.89	31.04	< 0.0001
CD	40.69	1	40.69	63.48	< 0.0001
A ²	6.11	1	6.11	9.53	0.0043
B ²	3.80	1	3.80	5.94	0.0210
D ²	7.10	1	7.10	11.08	0.0023
ABC	24.36	1	24.36	38.01	< 0.0001
ABD	18.45	1	18.45	28.79	< 0.0001
ACD	14.22	1	14.22	22.19	< 0.0001
BCD	18.50	1	18.50	28.86	< 0.0001
A ² B	1.70	1	1.70	2.66	0.1135
A ² C	25.41	1	25.41	39.65	< 0.0001
AB ²	0.85	1	0.85	1.33	0.2584
Kalan	19.23	30	0.64		
Uyum Eksikliği	19.21	4	4.80	6136.91	< 0.0001
Yalın Hata	0.020	26	7.824E ⁻⁰⁰⁴		
Düzeltilmiş Toplam	629.97	50	-	-	-

Çizelge 4.4. ÇİndŞeker modeli istatistiksel analiz sonuçları

Standart Sapma	0.80	R²	0.9695
Ortalama	3.21	Adj R² (Düzeltilmiş R²)	0.9491
Varyasyon Katsayısı (%)	24.91	Pred R² (Tahmin edilen R²)	0.8999
Press	63.06	Adeq Precision (Yeterli Hassasiyet)	24.925

Design Expert® 7 paket programı, elde edilen ve programa işlenen bağımsız değişken çİndŞeker verilerini analiz ederek çİndŞeker için kuadratik model kullanılmasını önermiştir. R² değeri daha yüksek bir model elde etmek için kuadratik model modifiye edilmiş ve bazı regresyon terimleri denklemden çıkartılarak modifiye kuadratik bir model kurulmuştur. Kurulan bu modelin R² değeri 0.9695 olarak hesaplanmıştır. Önerilen model (Eşitlik 4.1) için gerçekleştirilen ANOVA testi sonucunda model için elde edilen düşük p değeri (<0,0001) modelin %99,999 güven aralığında önemli olduğunu belirtmektedir. çİndŞeker modeli üzerinde ön arıtma koşulları belirlenirken kullanılan değişkenlerin direkt etkileri incelendiğinde; reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAC konsantrasyonu ve H₂O₂ konsantrasyonu değişkenlerine ait p değerlerinin sırası ile 0.2656, 0.7413, 0.9360 ve <0.0001 olarak hesaplandığı görülmektedir. Bu değerlere göre reaksiyon sıcaklığının, reaksiyon süresinin ve HAC konsantrasyonunun istatistiksel olarak çİndŞeker miktarına olan etkileri önemsiz bulunmuştur. H₂O₂ konsantrasyonunun çİndŞeker üzerine olan etkisi ise p değerinin 0.05’den küçük olmasından dolayı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

İnteraksiyon etkileri incelendiğinde; reaksiyon sıcaklığı x reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı x HAC konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığı x H₂O₂ konsantrasyonu, reaksiyon süresi x HAC konsantrasyonu, reaksiyon süresi x H₂O₂ konsantrasyonu, HAC konsantrasyonu x H₂O₂ konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığı x reaksiyon süresi x HAC konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığı x reaksiyon süresi x H₂O₂ konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığı x HAC konsantrasyonu x H₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon süresi x HAC konsantrasyonu x H₂O₂ konsantrasyonu ikili ve üçlü interaksiyonlarının p değerleri <0.0001 olarak bulunduğu için çİndŞeker üzerinde istatistiksel olarak etkilidirler. İkinci dereceden etkiler incelendiğinde; reaksiyon sıcaklığının, reaksiyon süresinin ve H₂O₂ konsantrasyonunun ikincil etkilerinin p değerlerinin sırası ile 0.0043, 0.021 ve 0.0023 olduğu ve bu p değerlerinin 0.05’ten küçük olmaları nedeni ile istatistiksel olarak çİndŞeker üzerinde etkili oldukları görülmektedir. Ayrıca, reaksiyon sıcaklığının ikinci derecesi ile HAC konsantrasyonu interaksiyon etkisinin de 0.0001 p değerine sahip olması nedeniyle reaksiyon sıcaklığı² x HAC konsantrasyonu da çİndŞeker üzerinde etkilidir.

Modelin yeterliliği ve geçerliliğinin kabulünde farklı teknikler (hata analizi, hatanın derecelendirilmesi, hata kareler toplamının tahmini ve uyum eksikliği vb.) kullanılmaktadır. R² olarak ifade edilen determinasyon katsayısı açıklanan varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmakta ve modelin tahmin gücünü göstermektedir. Modelde determinasyon katsayısı 0.9695 olarak hesaplanmıştır. Bu modelde hesaplanan R² değeri, modelde kullanılan değişkenlere karşılık elde edilecek çİndŞeker cevaplarının %96.95’inin önerilen bu model ile açıklanabileceği ifade etmektedir. Modelde düzeltilmiş R² değeri 0.9491 olarak bulunmuştur. R² ve düzeltilmiş

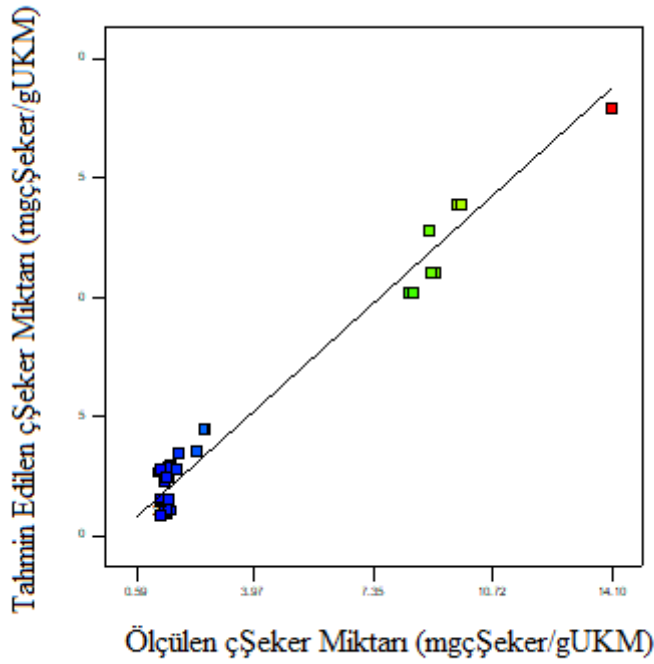
R^2 terimleri arasında büyük bir fark olmaması modeldeki terimlerin yeterli olduğunu göstermektedir.

İstatistiksel olarak uyum eksikliği ölçülen ve tahmin edilen değerlerin ortalama karesinin, aynı koşullarda tekrar edilen deney sonuçlarının ortalama karesine bölümü olarak tanımlanmakta ve uyum eksikliği değerinin $p > 0,1$ olması gerekmektedir. Önemli uyum eksikliği tekrar edilen deneylerin ortalama sonuçları arasındaki değişimin dizayn noktalarının tahmin edilen değerlerinin değişiminden az olması anlamına gelmektedir (Stat Teaser, News from Stat-Ease, Inc. 2004). Ancak, elde edilen model yüksek regresyon katsayısına sahip olmasına rağmen uyum eksikliği önemli olabilmektedir. Bu durumda tekrar edilen deneylerin nasıl yapıldığı sorgulanmalıdır. Eğer, tekrar edilen deneyler (merkez noktada) tekrar edilen doğru ölçümlerse, saf hata tespit edilememekte ve uyum eksikliği yapay olarak küçük olmaktadır. Bu durumda istatistiksel olarak uyum eksikliği geçerli bir test olmamakta ve modelin geçerliğinde diğer istatistiksel kriterler dikkate alınmaktadır. Uyum eksikliği, model transformasyonu yoluyla da ortadan kaldırılabilir. Bununla birlikte, önemli model uyum eksikliği için hiçbir şey yapılamıyorsa, deneysel sonuçların geçerliliğini sağlamak için validasyon deneyi yapılmakta ve model tahmini ile validasyon deneyi sonuçları karşılaştırılabilmektedir (Gökçöl 2016). Bu çalışmada, çİndŞeker modeli için regresyon katsayısı (R^2) 0.9695 bulunmasına rağmen model uyum eksikliği önemli (p -değeri $< 0,0001$) bulunmuştur. Design alanında modele olan güvenin sağlanabilmesi için validasyon deneyi yapılmıştır.

Design Expert® 7 programının çİndŞeker için önerdiği modifiye quadratik modelin kodlu ve gerçek değerli regresyon denklemleri sırası ile Eşitlik 4.1 ve Eşitlik 4.2’de verilmiştir.

$$\sqrt{\text{çŞeker}} = +1.09 + 0.45 \times A + 0.13 \times B + 0.032 \times C - 1.09 \times D + 0.91 \times A \times B - 0.83 \times A \times C + 0.74 \times A \times D - 0.78 \times B \times C + 0.79 \times B \times D + 1.13 \times C \times D + 1.05 \times A^2 + 0.83 \times B^2 + 1.13 \times D^2 - 0.87 \times A \times B \times C + 0.76 \times A \times B \times D - 0.67 \times A \times C \times D - 0.76 \times B \times C \times D + 0.69 \times A^2 \times B - 2.67 \times A^2 \times C + 0.49 \times A \times B^2 \dots 4.1$$

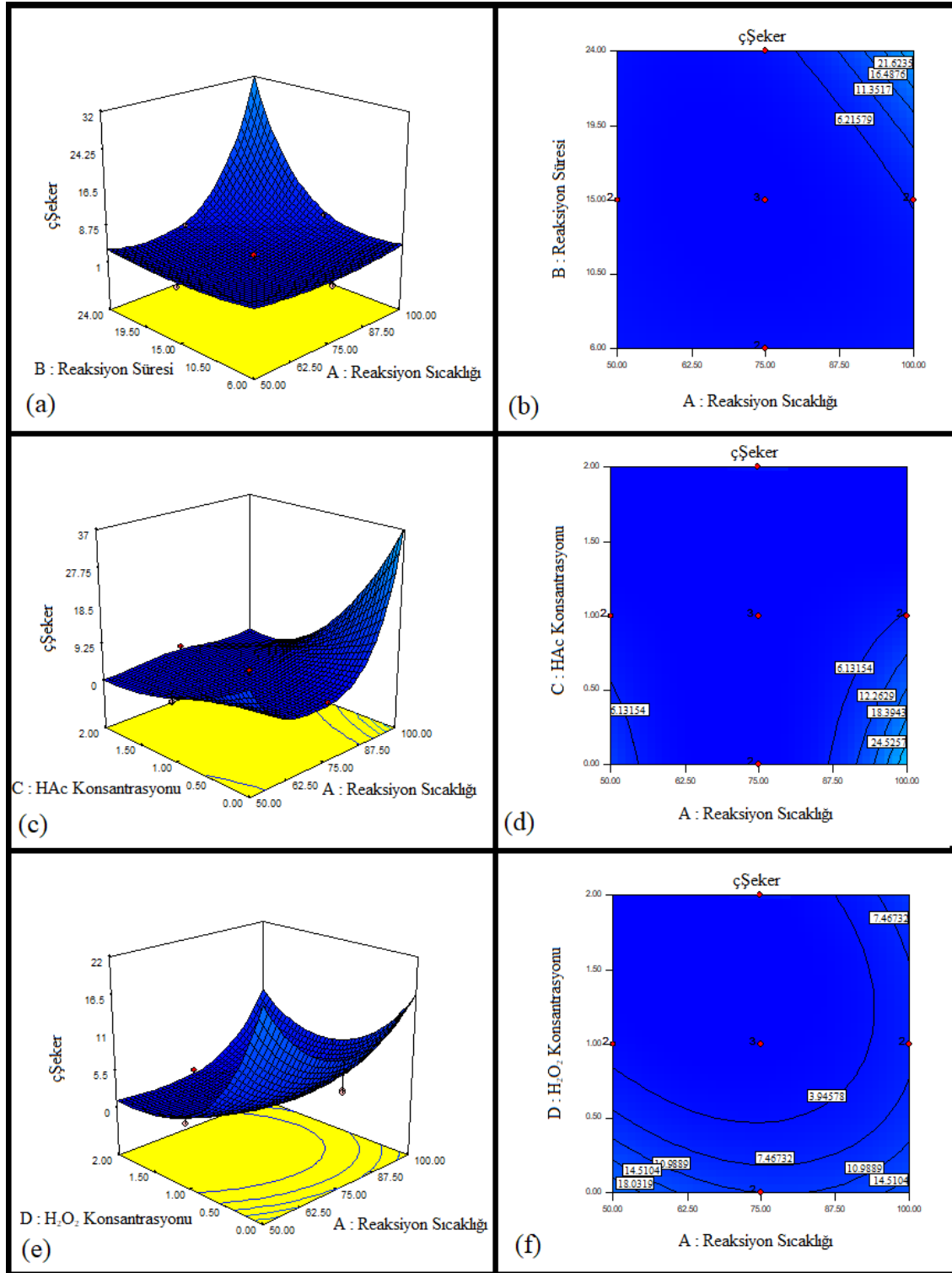
$$\sqrt{\text{çŞeker}} = +32.29617 - 0.63546 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} + 0.51633 \times \text{Reaksiyon Süresi} - 28.98888 \times \text{HAc Konsantrasyonu} - 7.47394 \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} - 0.021149 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon Süresi} + 0.69312 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 5.46566E^{-003} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 0.28873 \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{HAc Konsantrasyonu} - 0.081027 \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{H}_2\text{O}_2 + 4.39472 \times \text{HAc Konsantrasyonu} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 4.11250E^{-003} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 - 7.88012E^{-003} \times \text{Reaksiyon Süresi}^2 + 1.13265 \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu}^2 - 3.87753E^{-003} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 3.37480E^{-003} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} - 0.026667 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{HAc Konsantrasyonu} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} - 0.084477 \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{HAc Konsantrasyonu} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 1.23035E^{-004} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 \times \text{Reaksiyon Süresi} - 4.27712E^{-003} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 2.41558E^{-004} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon Süresi}^2 \dots 4.2$$



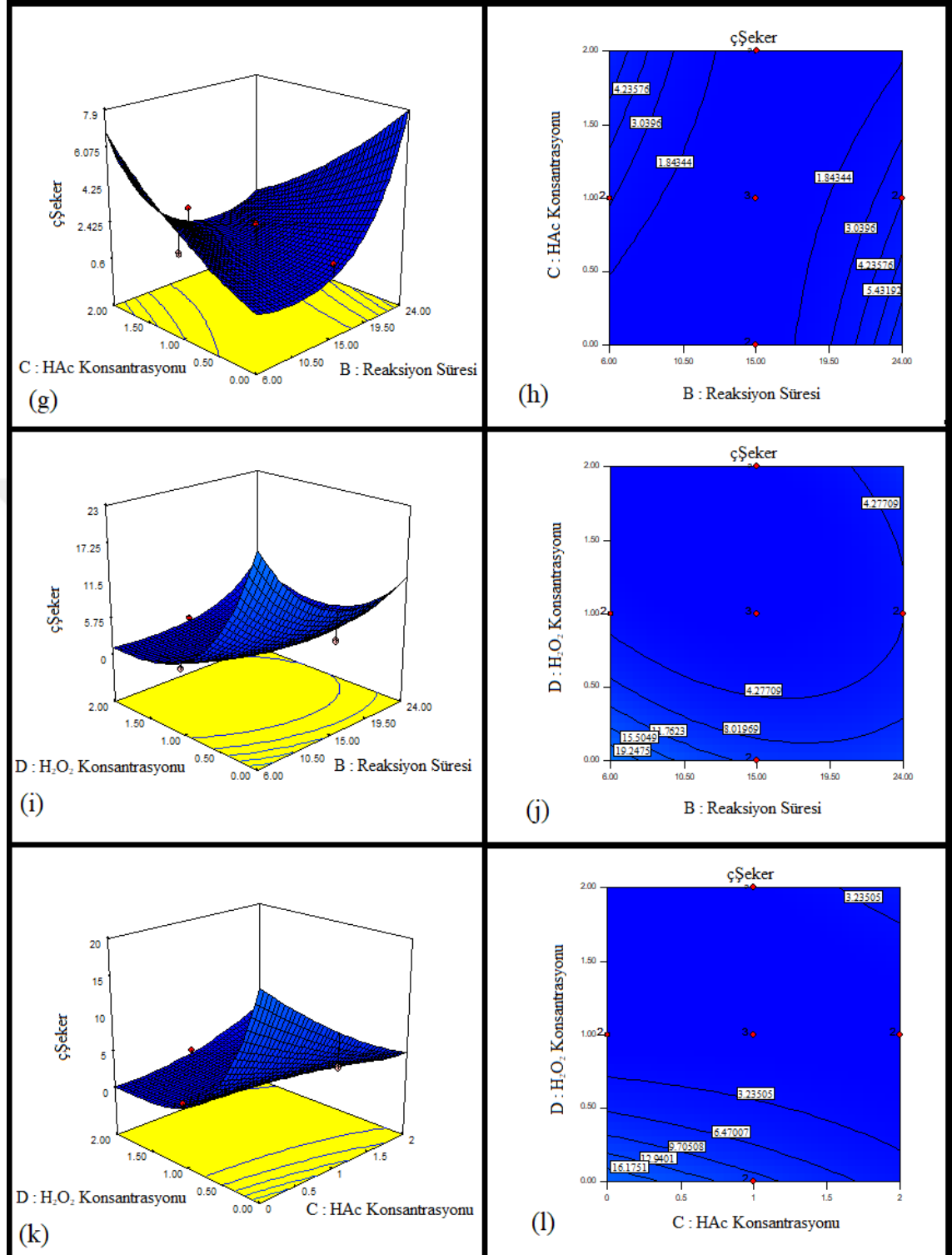
koşullarında 100°C reaksiyon sıcaklığı ve 24 saat reaksiyon süresinde yaklaşık 32 mgçİndŞeker/gUKM olarak elde edilmiştir.

Şekil 4.17 (c)'de cevap değişkeni çİndŞeker konsantrasyonunun HAc konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.17.(b)'den görüleceği üzere HAc konsantrasyonu %0 ve reaksiyon sıcaklığı 55-87.5°C aralığında tutulduğunda çİndŞeker konsantrasyonunun düşük olduğu, reaksiyon sıcaklığı 87.5-100 °C aralığına yükseltildiğinde ise çİndŞeker konsantrasyonunun reaksiyon sıcaklığı artışı ile doğru orantılı bir şekilde arttığı görülmektedir. Reaksiyon sıcaklığı sabit tutulup HAc konsantrasyonunun çİndŞeker üzerindeki etkisi incelendiğinde ise HAc konsantrasyonu ile çİndŞeker konsantrasyonunun ters orantılı olduğu görülmektedir. HAc konsantrasyonu %2 seviyesinde iken çİndŞeker neredeyse her sıcaklıkta 0 mgçİndŞeker/gUKM seviyesindedir. Şekil 4.17 (d)'de verilen kontur grafiği incelendiğinde; modelde en yüksek çİndŞeker konsantrasyonuna 37 mgçŞeker/gUKM olarak %0 HAc konsantrasyonu ve 100°C reaksiyon sıcaklığı koşulunda ulaşılmıştır.

Şekil 4.17 (e)'de cevap değişkeni çİndŞeker konsantrasyonunun H₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.17.(e)'den görüleceği üzere H₂O₂ konsantrasyonu %0 ve reaksiyon sıcaklığı 50 - 75°C aralığında tutulduğunda çİndŞeker konsantrasyonu 10-18 mgçİndŞeker/gUKM seviyesinde ve reaksiyon sıcaklığı 75 - 100°C aralığında tutulduğunda ise çİndŞeker konsantrasyonu 10-14 mgçİndŞeker/gUKM seviyesinde elde edilmektedir. 50°C reaksiyon sıcaklığında H₂O₂ konsantrasyonunun artırılmasının çİndŞeker üzerindeki etkisinin negatif yönde olduğu görülmektedir. Şekil 4.17 (f)'de verilen kontur grafiği incelendiğinde; H₂O₂ konsantrasyonunun ve reaksiyon sıcaklığının çİndŞeker üzerinde interaksiyon etkileri olduğu görülmektedir. Bu etki incelendiğinde tüm reaksiyon sıcaklıkları için H₂O₂ konsantrasyonu %0-1 aralığında çİndŞekerde azalmaya, %1-2 aralığında ise artışa neden olmaktadır. Şekil 7.17. (f) kontur grafiğinden modelin 100°C reaksiyon sıcaklığı ve %2 H₂O₂ konsantrasyonundaki çŞeker tahmini 7.46 mgçİndŞeker/gUKM olmuştur. Model, maksimum çŞeker değerini, 50°C reaksiyon sıcaklığı ve %0 H₂O₂ konsantrasyonunda 18 mgçŞeker/gUKM olarak tahmin edilmiştir.



Şekil 4.17. çİndŞeker konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); a) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı CYG; b) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı KG; c): HAc konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; d) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG; e) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; f) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG.



Şekil 4.17. (devamı) çİndŞeker konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); g) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; h) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; i) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; j) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; k) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu CYG; l) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu KG.

Şekil 4.17 (g)'de cevap değişkeni çİndŞeker konsantrasyonunun HAc konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.17. (g)'den görüleceği üzere %0 HAc konsantrasyonunda çİndŞeker konsantrasyonunun 15 saat reaksiyon süresine kadar çok artmadığı ancak 15 – 24 saat reaksiyon süresi aralığında ise arttığı gözlenmiştir. Reaksiyon süresi 6 saatte sabit tutularak HAc konsantrasyonunun artırılması ile çİndŞeker değerinin arttığı Şekil 4.17. (g)'den görülmektedir. çİndŞeker konsantrasyonu üzerinde reaksiyon süresi ve HAc konsantrasyonunun ters orantılı etki yaptığı Şekil 4.17 (h)'de verilen kontur grafiğinden görülmektedir. 6 saat reaksiyon süresi ve %2 HAc konsantrasyonunda çİndŞeker konsantrasyonu yaklaşık 5.4 mgçŞeker/gUKM iken, 24 saat reaksiyon süresi ve %0 HAc konsantrasyonunda çİndŞeker miktarı 6.6 mgçŞeker/gUKM olarak tahmin edilmiştir.

Şekil 4.17 (i)'de cevap değişkeni çİndŞeker konsantrasyonunun H₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.17. (i)'den görüleceği üzere %0 H₂O₂ konsantrasyonunda reaksiyon süresinin 6 saatten 19 saatte artırılmasıyla çİndŞeker konsantrasyonunun azaldığı, ancak 19-24 saat reaksiyon süresi aralığında ise düşük miktarda bir artış olduğu görülmektedir. 6 saat sabit reaksiyon süresinde H₂O₂ konsantrasyonunun artırılmasıyla çİndŞeker konsantrasyonu azalmaktadır. Modele göre bu iki ön arıtma değişkeni pozitif yönde çİndŞeker artışı sağlamaktadır. Şekil 4.17.(i)'den H₂O₂ konsantrasyonu %2'de sabit tutulup reaksiyon süresi arttırıldığında çİndŞeker konsantrasyonunda meydana gelen bu pozitif değişim görülebilmektedir. Bununla birlikte, Şekil 4.17 (j)'de verilen kontur grafiği incelendiğinde; minimum çİndŞeker konsantrasyonu %1.5 H₂O₂ konsantrasyonu ve 12 saat reaksiyon süresinde ve maksimum çŞeker konsantrasyonu %0 H₂O₂ konsantrasyonu ve 6 saat reaksiyon süresinde 23 mgçŞeker/gUKM olarak tahmin edilmiştir.

Şekil 4.17 (k)'da cevap değişkeni çİndŞeker konsantrasyonunun H₂O₂ konsantrasyonu ve HAc konsantrasyonu ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.17. (k)'dan, %0 H₂O₂ konsantrasyonunda çİndŞeker konsantrasyonunun artan HAc konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı, %0 HAc konsantrasyonunda ise çİndŞeker konsantrasyonunun H₂O₂ konsantrasyonunun artması ile azaldığı görülmektedir. Sabit %0 HAc konsantrasyonunda ve %1-2 H₂O₂ konsantrasyonun aralığında çİndŞekerin neredeyse 0 mgçŞeker/gUKM olduğu Şekil 4.17. (k)'dan görülmektedir. H₂O₂ konsantrasyonunun, HAc konsantrasyonuna göre çİndŞeker üzerindeki negatif yönlü etkisi daha fazladır. Şekil 4.17 (l)'de verilen kontur grafiğinden görüleceği üzere model maksimum çİndŞeker konsantrasyonunu 18.17 mgçŞeker/gUKM olarak %0 H₂O₂ konsantrasyonu ve %0 HAc konsantrasyonu koşulunda tahmin etmektedir.

çİndŞeker için kurulan model sonucunda elde edilen cevap yüzey ve kontur grafikleri genel olarak değerlendirildiğinde reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresinin arttırılmasıyla çİndŞeker konsantrasyonunun arttığı, H₂O₂ ve HAc konsantrasyonlarının artırılmasıyla çİnŞeker konsantrasyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Maksimum çİndŞeker konsantrasyonuna ulaşmak için yüksek reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı ve H₂O₂ konsantrasyonunun interaksiyon etkileri kullanılarak HAc konsantrasyonunun minimum düzeyde tutulması uygun gözükmektedir.

4.6.2. çKOİ model sonuçları

MKT yöntemi ile planlanan 25 farklı HP&HAc ön arıtma koşulunda merkez deneyi triplike, diğer deneyler duplike olacak şekilde yapılmış ve bağımsız değişkenlere ait ölçülen sonuçlar modelde kullanılmak üzere Design Expert® 7 paket programına işlenmiştir. çKOİ için Design Expert® 7 programı tarafından önerilen kuadratik model kullanılmıştır. çKOİ için kullanılan modelin ANOVA testi sonuçları Çizelge 4.5'te ve modele ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.5. çKOİ modeli ANOVA testi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	1,22E ⁺⁰⁹	14	87203.20	74.31	< 0.0001
A-Reaksiyon Sıcaklığı	88955.13	1	88955.13	75.80	< 0.0001
B-Reaksiyon Süresi	16845.23	1	16845.23	14.35	0.0006
C-HAc Konsantrasyonu	9,26E ⁺⁰⁸	1	9,26E ⁺⁰⁸	789.36	< 0.0001
D-H ₂ O ₂ Konsantrasyonu	1,15E ⁺⁰⁸	1	1,15E ⁺⁰⁸	98.17	< 0.0001
AB	14957.21	1	14957.21	12.74	0.0010
AC	3249.30	1	3249.30	2.77	0.1048
AD	5321.10	1	5321.10	4.53	0.0401
BC	19094.55	1	19094.55	16.27	0.0003
BD	249.59	1	249.59	0.21	0.6475
CD	519.54	1	519.54	0.44	0.5101
A ²	1322.14	1	1322.14	1.13	0.2956
B ²	20489.73	1	20489.73	17.46	0.0002
C ²	1730.05	1	1730.05	1.47	0.2326
D ²	12793.65	1	12793.65	10.90	0.0022
Kalan	42249.04	36	1173.58		
Uyum Eksikliği	38894.62	10	3889.46	30.15	< 0.0001
Yalın Hata	3354.42	26	129.02		
Düzeltilmiş Toplam	1,26E ⁺⁰⁹	50			

Çizelge 4.6. çKOİ modeli istatistiksel analiz sonuçları

Standart Sapma	34.26	R ²	0.9666
Ortalama	441.94	Adj R ² (Düzeltilmiş R ²)	0.9535
Varyasyon Katsayısı (%)	7.75	Pred R ² (Tahmin edilen R ²)	0.9338
Press	83563.60	Adeq Precision (Yeterli Hassasiyet)	33.967

Design Expert® 7 paket programı elde edilen ve programa işlenen cevap verilerinin istatistiksel analizini yaparak çKOİ için kuadratik model kullanılmasını önermiştir. çKOİ modeli için R² değeri 0.9666 olarak hesaplanmıştır. Önerilen model

(Eşitlik 4.3.) için yapılan ANOVA testi sonucunda model için elde edilen düşük p değeri (<0.0001) modelin %99.999 güven aralığında istatistiksel olarak önemli olduğu belirtmektedir. Kuadratik modelde yer alan bağımsız değişkenlerden reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc konsantrasyonu ve H_2O_2 konsantrasyonu sahip oldukları düşük p değerleri ($p<0.05$) ile istatistiksel açıdan önemli model terimleri olarak bulunmuşlardır.

Reaksiyon sıcaklığı x reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı x H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon süresi x HAc konsantrasyonu ikili interaksiyonlarının p değerleri <0.0001 olarak bulunduğundan bu etkiler çKOİ modeli için önemli model terimleridir. Reaksiyon sıcaklığı x HAc konsantrasyonu, reaksiyon süresi x H_2O_2 konsantrasyonu ve HAc konsantrasyonu x H_2O_2 konsantrasyonu ikili interaksiyonlarının p değerleri 0.05'ten büyük oldukları için modeldeki etkileri önemsizdir. İkinci dereceden etkiler incelendiğinde ise reaksiyon süresi ve H_2O_2 konsantrasyonunun p değerleri sırasıyla 0.0002 ve 0.0022 olduğundan ve p değerleri 0.05'ten ($p<0.05$) küçük olmaları nedeni ile istatistiksel olarak çKOİ üzerinde etkilidirler.

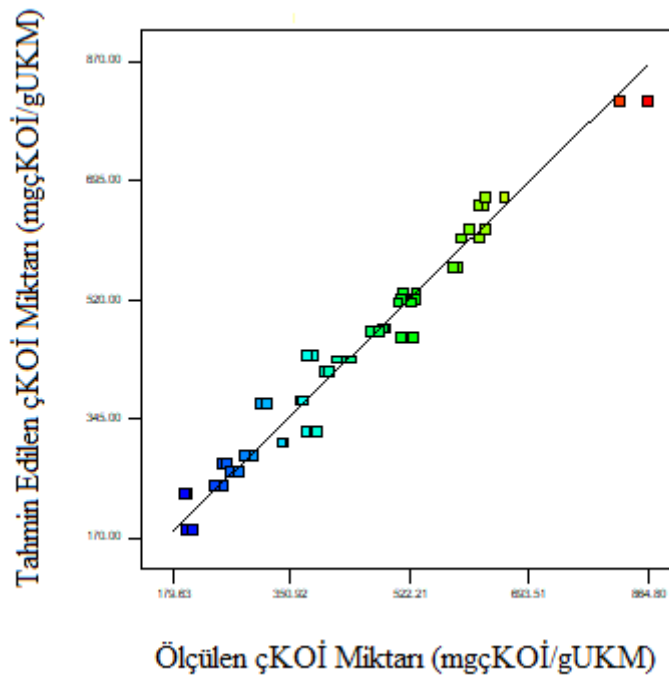
Modelde determinasyon katsayısı (R^2) 0.9666 olarak hesaplanmıştır. R^2 olarak ifade edilen determinasyon katsayısı açıklanan varyasyonun toplam varyasyona oranı yöntemi ile hesaplanmakta ve modelin tahmin gücünü göstermektedir. 0.9666 değeri, modelde kullanılan değişkenlere karşılık elde edilecek çKOİ cevaplarının %96.66'sının bu model ile açıklanabileceğini ifade etmektedir. Modelde düzeltilmiş R^2 değeri 0.9535 olarak bulunmuştur. R^2 ve düzeltilmiş R^2 terimleri arasında büyük bir fark olmaması modeldeki terimlerin yeterli olduğunu göstermektedir.

İstatistiksel olarak uyum eksikliği ölçülen ve tahmin edilen değerlerin ortalama karesinin, aynı koşullarda tekrar edilen deney sonuçlarının ortalama karesine bölümü olarak tanımlanmakta ve uyum eksikliği değerinin $p>0,1$ olması gerekmektedir. Önemli uyum eksikliği tekrar edilen deneylerin ortalama sonuçları arasındaki değişimin dizayn noktalarının tahmin edilen değerlerinin değişiminden az olması anlamına gelmektedir (Stat Teaser, News from Stat-Ease, Inc. 2004). Ancak, elde edilen model yüksek regresyon katsayısına sahip olmasına rağmen uyum eksikliği önemli olabilmektedir. Bu durumda tekrar edilen deneylerin nasıl yapıldığı sorgulanmalıdır. Eğer, tekrar edilen deneyler (merkez noktada) tekrar edilen doğru ölçümlerse, saf hata tespit edilememekte ve uyum eksikliği yapay olarak küçük olmaktadır. Bu durumda modelin geçerliğinde diğer istatistiksel kriterler dikkate alınmaktadır. Uyum eksikliği, model transformasyonu yoluyla da ortadan kaldırılabilir. Bununla birlikte, önemli model uyum eksikliği için hiçbir şey yapılamıyorsa, deneysel sonuçların geçerliliğini sağlamak için validasyon deneyi yapılmakta ve model tahmini ile validasyon deneyi sonuçları karşılaştırılabilir (Gökgöl 2016). Bu çalışmada, çKOİ modeli için regresyon katsayısı (R^2) 0.9666 bulunmasına rağmen model uyum eksikliği önemli (p -değeri $<0,0001$) bulunmuştur. Design alanında modele olan güvenin sağlanabilmesi için validasyon deneyi yapılmıştır.

Design Expert® 7 programı tarafından çKOİ için önerilen kuadratik modelin kodlu ve gerçek değerli denklemleri sırası ile Eşitlik 4.3 ve Eşitlik 4.4'de verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{çKOİ} = & +430.93 + 49.71 \times A + 21.63 \times B + 160.41 \times C + 56.57 \times D + 21.62 \times \\ & A \times B - 10.08 \times A \times C + 12.90 \times A \times D + 24.43 \times B \times C + 2.79 \times B \times D + 4.03 \times C \times D - \\ & 16.09 \times A^2 + 63.33 \times B^2 + 18.40 \times C^2 - 50.04 \times D^2 \dots\dots\dots 4.3 \end{aligned}$$

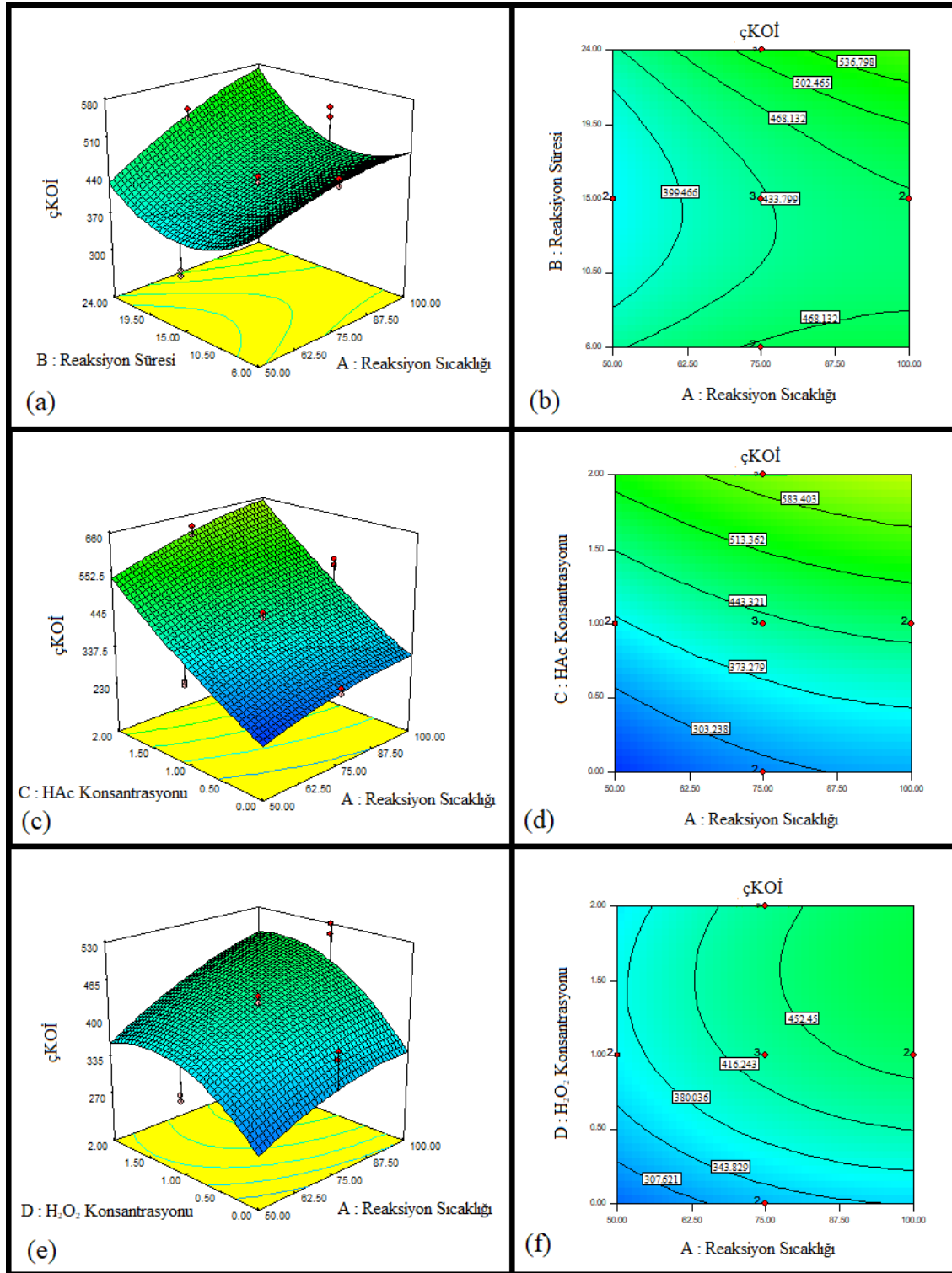
$$\begin{aligned} \text{çKOİ} = & +254.66524 + 3.48904 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} - 31.28282 \times \text{Reaksiyon} \\ & \text{Süresi} + 48.63885 \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 109.28628 \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + \\ & 0.096088 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon Süresi} + 0.40307 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \\ & \text{HAc Konsantrasyonu} + 0.51581 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 2.71417 \\ & \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 0.31031 \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{H}_2\text{O}_2 \\ & \text{Konsantrasyonu} + 4.02934 \times \text{HAc Konsantrasyonu} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} - 0.025739 \times \\ & \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 + 0.78184 \times \text{Reaksiyon Süresi}^2 + 18.40199 \times \text{HAc Konsantrasyonu}^2 \\ & - 50.04182 \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu}^2 \dots\dots\dots 4.4 \end{aligned}$$



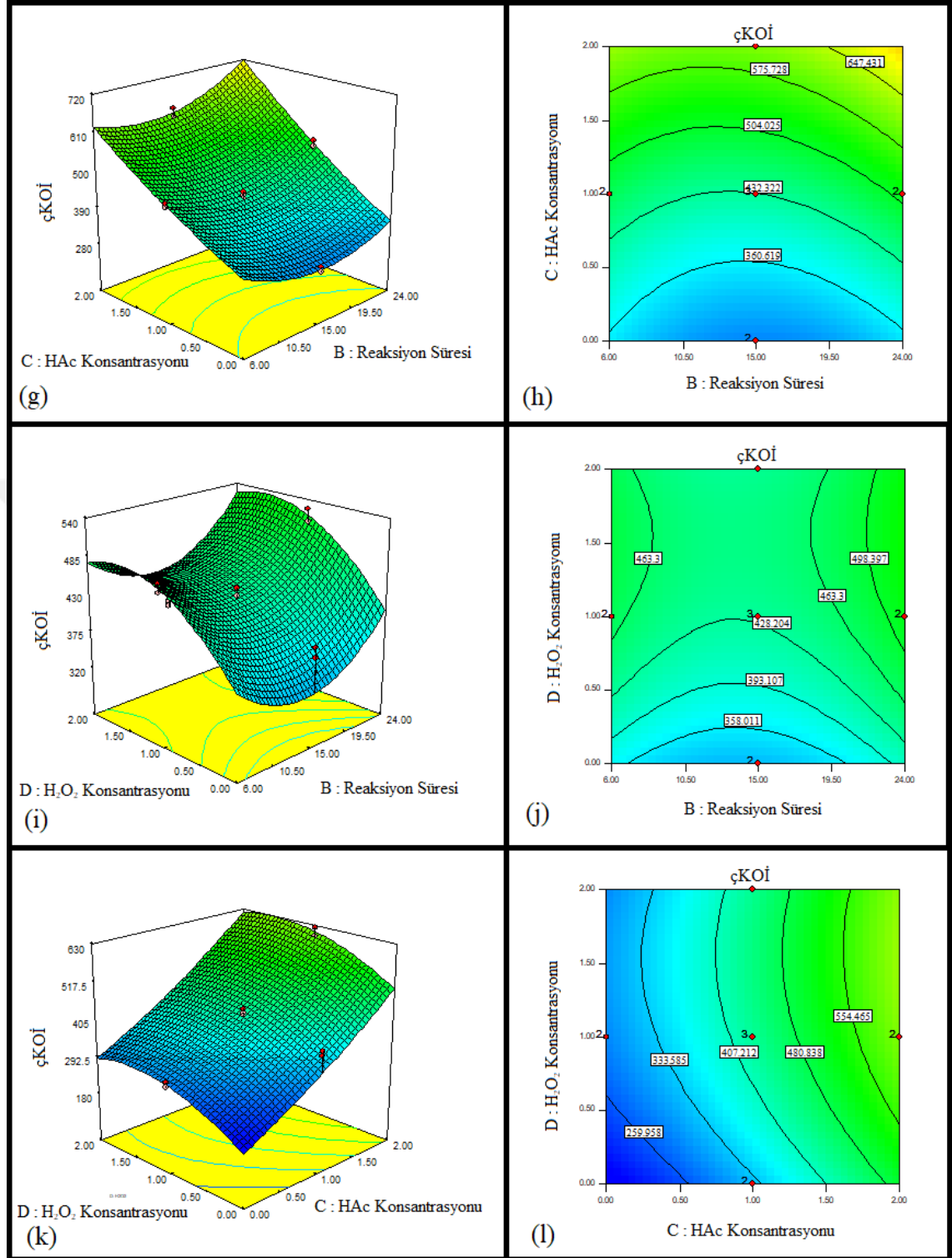
Şekil 4.18. Ölçülen çKOİ miktarlarına karşılık tahmin edilen çKOİ değerlerinin dağılımı

Eşitlik 4.3’de önerilen kuadratik model eşitliği kullanılarak tahmin edilen çKOİ değerlerine karşı ölçülen çKOİ konsantrasyonlarının dağılımı Şekil 4.18’de verilmiştir. Şekil 4.12’den görüleceği üzere çKOİ’nin tahmin edilen ve ölçülen konsantrasyon değerleri linear bir doğrunun etrafında dağılım göstermiştir. Bu dağılım, ölçüm sonucu elde edilen deneysel veriler ile modelden tahmin edilen verilerin birbirleriyle uyumlu olduğu göstermektedir.

Reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc konsantrasyonu ve H₂O₂ konsantrasyonu değişkenlerinin çKOİ konsantrasyonuna olan etkilerini inceleyen cevap yüzey grafikleri ve kontur grafikleri Şekil 4.19’da verilmiştir.



Şekil 4.19. çKOİ konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); a) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı CYG; b) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı KG; c): HAc konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; d) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG; e) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; f) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG.



Şekil 4.19. (devamı) çKOİ konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); g) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; h) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; i) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; j) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; k) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu CYG; l) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu KG.

Şekil 4.19 (a)'da cevap değişkeni çKOİ konsantrasyonunun reaksiyon süresi ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.19. (a)'dan HP&HAc ön arıtmada, reaksiyon sıcaklığı 50°C ' de sabit tutulduğunda ve 6 ya da 24 saat reaksiyon süresi uygulandığında çKOİ konsantrasyonunun yüksek olduğu ve 15saat reaksiyon süresi uygulandığında ise azaldığı görülmektedir. Reaksiyon süresi 6 saatte tutulduğunda, reaksiyon sıcaklığının artırılması ile çKOİ konsantrasyonu artmaktadır. Şekil 4.19. (a)'dan reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresinin interaktif etkisi ile çKOİ konsantrasyonunun arttığı görülmektedir. Maksimum çKOİ konsantrasyonu 570 mgçKOİ/gUKM değeri ile 100°C reaksiyon sıcaklığı ve 24 saat reaksiyon koşullarında elde edilmiştir.

Şekil 4.19 (c)'de cevap değişkeni çKOİ konsantrasyonunun HAc konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY verilmiştir. Şekil 4.19. (c)'den, %0 HAc konsantrasyonunda reaksiyon sıcaklığının artırılması ile çKOİ konsantrasyonunda düşük düzeyde artış gözlenirken, reaksiyon sıcaklığı sabit tutulup HAc konsantrasyonunun artırılmasıyla çKOİ konsantrasyonunun yüksek düzeyde arttığı görülmektedir. HAc konsantrasyonunun, çKOİ konsantrasyonu artışı üzerinde etkisi oldukça güçlüdür. Bu durum HAc'nin yüksek KOİ 'ye sahip olması ve ön arıtma reaksiyonlarında parçalanmamasından kaynaklanmaktadır. HAc konsantrasyonu ile reaksiyon sıcaklığının çKOİ üzerindeki interaksiyon etkisine incelendiğinde bu iki ön arıtma değişkeninin arttırılmaları ile çKOİ konsantrasyonunun da arttığı tespit edilmiştir. Şekil 4.19 (d)'den modelin maksimum çKOİ konsantrasyonunu 100°C reaksiyon sıcaklığı ve %2 HAc konsantrasyonunda 650 mgçKOİ/gUKM olarak tahmin ettiği görülmektedir.

Şekil 4.19 (e)'de cevap değişkeni çKOİ konsantrasyonunun H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY verilmiştir. Şekil 4.19. (e)'den görüleceği üzere %0 H_2O_2 konsantrasyonunda reaksiyon sıcaklığının artırılması ile çKOİ konsantrasyonu artmaktadır. 50°C reaksiyon sıcaklığında H_2O_2 konsantrasyonunun artırılmasıyla çKOİ konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiştir. H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığının çKOİ üzerinde interaksiyon etkisi önemlidir. Model, $90-100^{\circ}\text{C}$ reaksiyon sıcaklığı ve %1.5- 2 H_2O_2 konsantrasyonu aralığında maksimum çKOİ konsantrasyonunu yaklaşık 484 mgçKOİ/gUKM olarak tahmin etmektedir.

Şekil 4.19 (g)'de cevap değişkeni çKOİ konsantrasyonunun HAc konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY verilmiştir. Şekil 4.19. (g)'den %0 HAc konsantrasyonunda 6-15 saat reaksiyon süresi aralığında çKOİ konsantrasyonunda azalma ve 15-24 saat reaksiyon süresi aralığında az miktarda artış gözlenmiştir. 6 saat sabit reaksiyon süresinde artan HAc konsantrasyonu çKOİ konsantrasyonunu önemli miktarda arttırmaktadır. HAc konsantrasyonu ve reaksiyon süresinin çKOİ konsantrasyonu üzerinde önemli interaksiyon etkisi mevcuttur. 6 saat reaksiyon süresi ve %2 HAc konsantrasyonunda çKOİ konsantrasyonu yaklaşık 620 mgçKOİ/gUKM iken 24 saatte reaksiyon süresi ve %2 HAc konsantrasyonunda çKOİ miktarı maksimum 720 mgçKOİ/gUKM değerine ulaşmıştır.

Şekil 4.19 (i)'de cevap değişkeni çKOİ konsantrasyonunun H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY verilmiştir. Şekil 4.19. (i)'den %0 H_2O_2 konsantrasyonunda ve 6-15 saat reaksiyon süresi aralığında çKOİ konsantrasyonunun

azaldığı ve 15-24 saat reaksiyon süresi aralığında ise düşük miktarda bir artış olduğu görülmektedir. 6 saat reaksiyon süresinde H_2O_2 konsantrasyonunun artırılmasıyla $\dot{C}KOI$ konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. Maksimum reaksiyon süresi ve maksimum H_2O_2 konsantrasyonunda yüksek $\dot{C}KOI$ konsantrasyonu elde edilmiştir. Şekil 4.19 (j)'de verilen kontur grafiğinden görüleceği üzere minimum $\dot{C}KOI$ konsantrasyonu %0 H_2O_2 konsantrasyonu ve 15 saat reaksiyon süresinde 324 mg $\dot{C}KOI$ /gUKM ve maksimum $\dot{C}KOI$ konsantrasyonu %1.5 H_2O_2 konsantrasyonu ve 24 saat reaksiyon süresinde 525 mg $\dot{C}KOI$ /gUKM olarak elde edilmiştir.

Şekil 4.19 (k)'da cevap değişkeni $\dot{C}KOI$ konsantrasyonunun H_2O_2 konsantrasyonu ve HAc konsantrasyonu ile değişimini inceleyen CY verilmiştir. Şekil 4.19. (k)'dan %0 H_2O_2 konsantrasyonunda $\dot{C}KOI$ konsantrasyonunun HAc konsantrasyonu artışına bağlı olarak arttığı, bununla birlikte %0 HAc konsantrasyonunda $\dot{C}KOI$ konsantrasyonunun H_2O_2 konsantrasyonunun %0-1.5 aralığında az miktarda arttığı ve %1.5-2 aralığında ise değişim göstermediği tespit edilmiştir. Genel olarak HAc konsantrasyonunun artışı $\dot{C}KOI$ konsantrasyonunu önemli ölçüde arttırmakta, ancak H_2O_2 konsantrasyonu ise $\dot{C}KOI$ konsantrasyonu üzerinde neredeyse etkisiz gözükmemektedir. Sonuç olarak H_2O_2 konsantrasyonu, HAc konsantrasyonuna göre $\dot{C}KOI$ üzerinde çok daha az etkilidir. Şekil 4.19 (l)'den görüleceği üzere maksimum $\dot{C}KOI$ konsantrasyonunun 630 mg $\dot{C}KOI$ /gUKM değeri ile %1.5 H_2O_2 konsantrasyonu ve %2 HAc konsantrasyonu koşulunda elde edileceği tahmin edilmektedir.

$\dot{C}KOI$ modeli genel olarak değerlendirildiğinde reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi ve H_2O_2 konsantrasyonu parametrelerinin tekil etkilerinin $\dot{C}KOI$ konsantrasyonu üzerinde önemli bir etkisi olmadığı, bununla birlikte HAc konsantrasyonundaki artışın $\dot{C}KOI$ konsantrasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Maksimum $\dot{C}KOI$ konsantrasyonuna ulaşmak için yüksek reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı ve HAc konsantrasyonunun bütünleşik etkilerinin kullanılması gerekmektedir.

4.6.3. Etanol model sonuçları

MKT yöntemi ile planlanan 25 farklı HP&HAc ön arıtma koşulunda merkez deneyi triplike, diğer deneyler duplike olacak şekilde yapılmış ve bağımsız değişkenlere ait ölçülen sonuçlar modelde kullanılmak üzere Design Expert® 7 paket programına işlenmiştir. Etanol için Design Expert® 7 programı tarafından önerilen kuadratik model kullanılmıştır. Etanol için kullanılan modelin ANOVA testi sonuçları Çizelge 4.7’de ve modele ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Etanol modeli ANOVA testi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	25720.90	14	1837.21	16.48	< 0.0001
A-Reaksiyon Sıcaklığı	9756.70	1	9756.70	87.52	< 0.0001
B-Reaksiyon Süresi	3933.30	1	3933.30	35.28	< 0.0001
C-HAc Konsantrasyonu	1422.90	1	1422.90	12.76	0.0010
D-H ₂ O ₂ Konsantrasyonu	168.13	1	168.13	1.51	0.2274
AB	1498.32	1	1498.32	13.44	0.0008
AC	411.17	1	411.17	3.69	0.0627
AD	3363.11	1	3363.11	30.17	< 0.0001
BC	175.21	1	175.21	1.57	0.2180
BD	927.15	1	927.15	8.32	0.0066
CD	41.37	1	41.37	0.37	0.5462
A ²	1417.36	1	1417.36	12.71	0.0010
B ²	751.85	1	751.85	6.74	0.0135
C ²	496.06	1	496.06	4.45	0.0419
D ²	17.45	1	17.45	0.16	0.6947
Kalan	4013.06	36	111.47		
Uyum Eksikliği	3925.43	10	392.54	116.47	< 0.0001
Yalın Hata	87.63	26	3.37		
Düzeltilmiş Toplam	29733.96	50			

Çizelge 4.8. Etanol modeli istatistiksel analiz sonuçları

Standart Sapma	10.56	R ²	0.8650
Ortalama	21.95	Adj R ² (Düzeltilmiş R ²)	0.8125
Varyasyon Katsayısı (%)	48.10	Pred R ² (Tahmin edilen R ²)	0.7282
Press	8081.96	Adeq Precision (Yeterli Hassasiyet)	17.455

Design Expert® 7 paket programı elde edilen ve programa işlenen cevap verilerinin istatistiksel analizini yaparak etanol için kuadratik model kullanılmasını önermiştir. Etanol modeli için R² değeri 0.8650 olarak hesaplanmıştır. Önerilen model

(Eşitlik 4.5) için yapılan ANOVA testi sonucunda mode için elde edilen düşük p değeri (<0.0001) modelin %99.999 güven aralığında istatistiksel olarak önemli olduğu belirtmektedir. Kuadratik modelde yer alan bağımsız değişkenlerden reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc konsantrasyonu sahip oldukları düşük p değerleri ($p<0.05$) ile istatistiksel açıdan önemli model terimleri olarak bulunmuşlardır. Bununla birlikte, H_2O_2 konsantrasyonuna ait p değeri 0.05'ten büyük olduğu ($p<0.05$) için etanol modeli için H_2O_2 konsantrasyonunun etkisi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

İnteraksiyon etkileri incelendiğinde; reaksiyon sıcaklığı x reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı x H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon süresi x H_2O_2 konsantrasyonu p değerleri küçük ($p<0.0001$) bulunduğu için etanol modeli üzerinde istatistiksel olarak etkilidirler. Reaksiyon sıcaklığı x HAc konsantrasyonu, reaksiyon süresi x HAc konsantrasyonu ve HAc konsantrasyonu x H_2O_2 konsantrasyonu interaksiyonlarına ait p değerleri 0.05'ten büyük oldukları ($p<0.05$) için istatistiksel olarak model üzerindeki etkileri önemsizdir. İkinci dereceden etkiler incelendiğinde ise reaksiyon sıcaklığının, reaksiyon süresinin ve HAc konsantrasyonunun ikincil etkilerinin p değerlerinin sırası ile 0.0010, 0.0135 ve 0.0419 olduğu ve bu p değerlerinin 0.05'ten küçük olmaları nedeni ile istatistiksel olarak etanol üretimi üzerinde etkili oldukları görülmektedir.

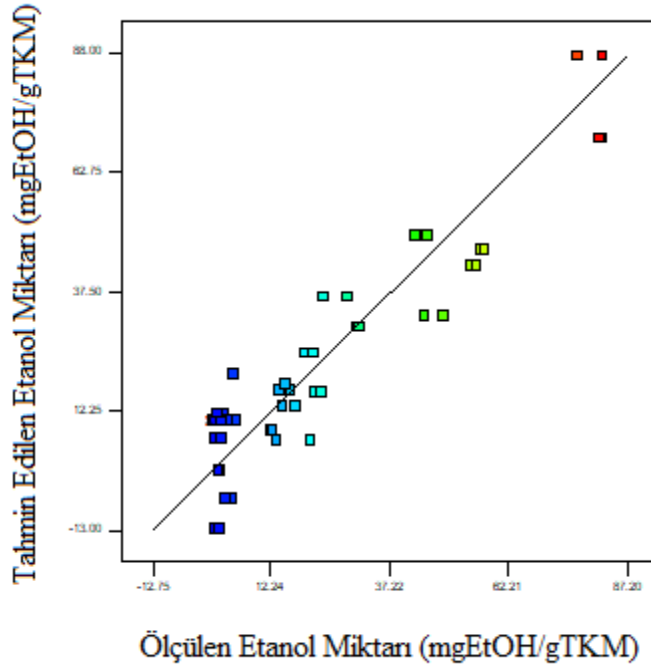
Modelde determinasyon katsayısı (R^2) 0.8650 olarak hesaplanmıştır. R^2 olarak ifade edilen determinasyon katsayısı açıklanan varyasyonun toplam varyasyona oranı yöntemi ile hesaplanmakta ve yüzde cinsinden modelin tahmin gücünü göstermektedir. 0.8650 değeri, modelde kullanılan değişkenlere karşılık elde edilecek etanol cevaplarının %86.50'sinin bu model ile açıklanabileceği göstermektedir. Modelde düzeltilmiş R^2 değeri 0.8125 olarak bulunmuştur. R^2 ve düzeltilmiş R^2 terimleri arasında büyük bir fark olmaması modeldeki terimlerin yeterli olduğunu göstermektedir.

İstatistiksel olarak uyum eksikliği ölçülen ve tahmin edilen değerlerin ortalama karesinin, aynı koşullarda tekrar edilen deney sonuçlarının ortalama karesine bölümü olarak tanımlanmakta ve uyum eksikliği değerinin $p>0,1$ olması gerekmektedir. Önemli uyum eksikliği tekrar edilen deneylerin ortalama sonuçları arasındaki değişimin dizayn noktalarının tahmin edilen değerlerinin değişiminden az olması anlamına gelmektedir (Stat Teaser, News from Stat-Ease, Inc. 2004). Ancak, elde edilen model yüksek regresyon katsayısına sahip olmasına rağmen uyum eksikliği önemli olabilmektedir. Bu durumda tekrar edilen deneylerin nasıl yapıldığı sorgulanmalıdır. Eğer, tekrar edilen deneyler (merkez noktada) tekrar edilen doğru ölçümlerse, saf hata tespit edilememekte ve uyum eksikliği yapay olarak küçük olmaktadır. Bu durumda modelin geçerliğinde diğer istatistiksel kriterler dikkate alınmaktadır. Uyum eksikliği, model transformasyonu yoluyla da ortadan kaldırılabilir. Bununla birlikte, önemli model uyum eksikliği için hiçbir şey yapılmıyorsa, deneysel sonuçların geçerliliğini sağlamak için validasyon deneyi yapılmakta ve model tahmini ile validasyon deneyi sonuçları karşılaştırılabilir (Gökgöl 2016). Bu çalışmada, etanol modeli için regresyon katsayısı (R^2) 0.8650 bulunmasına rağmen model uyum eksikliği önemli (p -değeri $<0,0001$) bulunmuştur. Design alanında modele olan güvenin sağlanabilmesi için validasyon deneyi yapılmıştır.

Design Expert® 7 programı tarafından etanol için önerilen kuadratik modelin kodlu ve gerçek değerli regresyon denklemleri sırası ile Eşitlik 4.5 ve Eşitlik 4.6'de verilmiştir.

$$\text{Etanol} = +9.89 + 16.46 \times A + 10.45 \times B + 6.29 \times C + 2.16 \times D + 6.84 \times A \times B + 3.58 \times A \times C + 10.25 \times A \times D - 2.34 \times B \times C + 5.38 \times B \times D + 1.14 \times C \times D + 16.66 \times A^2 + 12.13 \times B^2 - 9.85 \times C^2 - 1.85 \times D^2 \dots\dots\dots 4.5$$

$$\begin{aligned} \text{Etanol} = & +188.46345 - 4.34860 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} - 5.95060 \times \text{Reaksiyon Süresi} + 18.00369 \times \text{HAc Konsantrasyonu} - 35.00556 \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + \\ & 0.030412 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon Süresi} + 0.14338 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 0.41007 \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} - 0.25999 \\ & \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 0.59808 \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 1.13706 \times \text{HAc Konsantrasyonu} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 0.026650 \\ & \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 + 0.14977 \times \text{Reaksiyon Süresi}^2 - 9.85383 \times \text{HAc Konsantrasyonu}^2 - 1.84833 \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu}^2 \dots\dots\dots 4.6 \end{aligned}$$



Şekil 4.20. Ölçülen etanol miktarlarına karşılık tahmin edilen etanol değerlerinin dağılımı

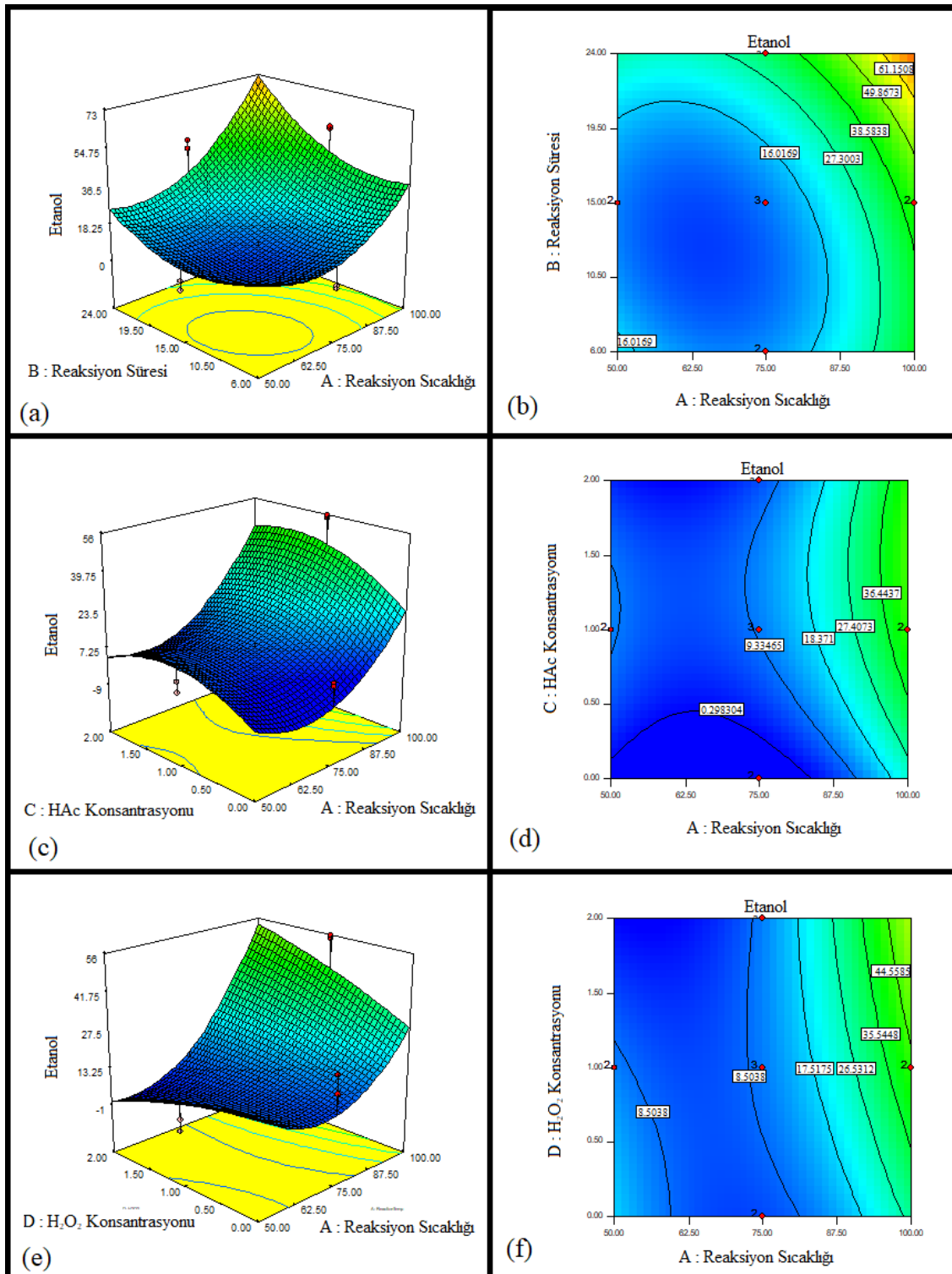
Eşitlik 4.5'de önerilen kuadratik model eşitliği kullanılarak tahmin edilen etanol değerlerine karşı ölçülen etanol konsantrasyonlarının dağılımı Şekil 4.20'de verilmiştir. Şekil 4.20'den görüleceği üzere etanolün tahmin edilen ve ölçülen konsantrasyon değerleri lineer bir doğrunun etrafında dağılım göstermiştir. Bu dağılım, ölçüm sonucu elde edilen deneysel veriler ile modelden tahmin edilen verilerin özellikle 12-62 mgEtOH/gTKM aralığında birbirleriyle uyumlu olduğu göstermektedir.

Reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc konsantrasyonu ve H_2O_2 konsantrasyonu değişkenlerinin etanol miktarına olan etkilerini inceleyen cevap yüzey ve kontur grafikleri Şekil 4.21’de verilmiştir.

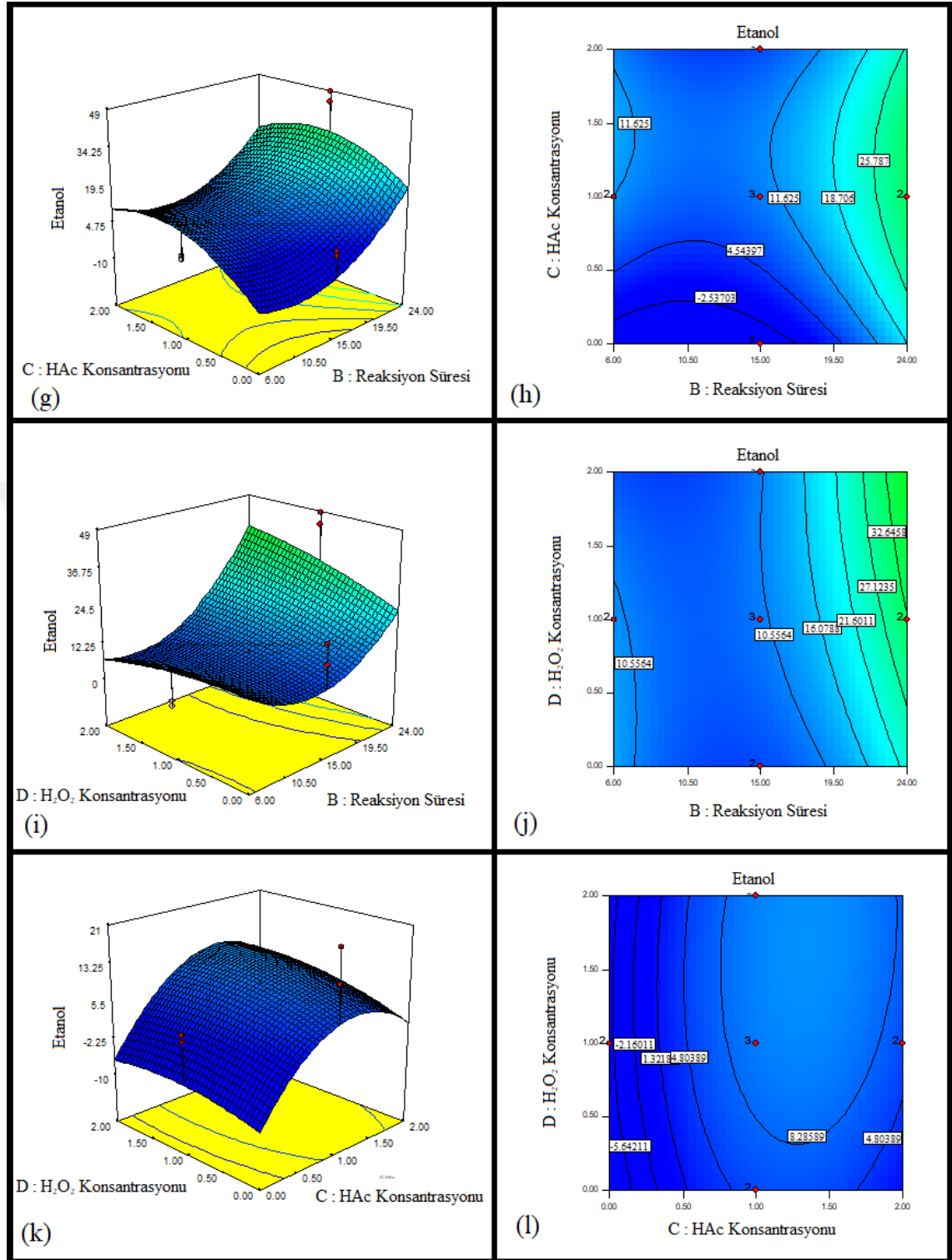
Şekil 4.21 (a)’da cevap değişkeni etanol konsantrasyonunun reaksiyon süresi ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.21.(a)’dan 6 saat sabit reaksiyon süresinde, reaksiyon sıcaklığı $50-62.5^{\circ}C$ aralığında tutulduğunda etanol miktarının değişmediği, reaksiyon sıcaklığı $62.5-100^{\circ}C$ aralığına yükseltildiğinde ise etanol miktarının arttığı görülmektedir. Benzer bir şekilde $50^{\circ}C$ sabit reaksiyon sıcaklığında 6-10.5 saat reaksiyon süresi aralığında etanol üretim miktarının biraz azaldığı ve 10.5-24 saat reaksiyon süresi aralığında ise etanol üretim miktarının arttığı görülmektedir. Reaksiyon süresinin tek başına 24 saate çıkarılmasının veya reaksiyon sıcaklığının tek başına $100^{\circ}C$ ’ye çıkarılmasının etanol üretim miktarı üzerinde çok büyük etkileri olmamasına rağmen bu iki değişkenin kümülatif etkileri ile etanol üretim miktarı büyük oranda artmaktadır. Şekil 4.21 (b)’de verilen kontur grafiği incelendiğinde; minimum etanol miktarının 4.7 mgEtOH/gTKM değeriyle 12 saat reaksiyon süresi ve $64^{\circ}C$ reaksiyon sıcaklığı koşulunda üretilebileceği, maksimum etanol miktarının ise 70 mgEtOH/gTKM değeriyle 24 saat reaksiyon süresi ve $100^{\circ}C$ reaksiyon sıcaklığı koşulunda üretilebileceği görülmektedir.

Şekil 4.21 (c)’de cevap değişkeni etanol konsantrasyonunun HAc konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Sabit reaksiyon sıcaklığında HAc konsantrasyonu %0-1 aralığında uygulandığında etanol üretim miktarının az miktarda arttığı ve %1-2 aralığında uygulandığında ise az miktarda azaldığı görülmektedir. Etanol üretimi genel olarak reaksiyon sıcaklığının artışı ile atmıştır. HAc konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığının etanol üretimi üzerinde interaksiyon etkisi HAc konsantrasyonu %0-1 aralığında olduğunda düşük, %2 HAc konsantrasyonunda yüksektir. Model tarafından maksimum etanol üretiminin yaklaşık 43 mgEtOH/gTKM değeriyle %1.5 HAc konsantrasyonu, ve $100^{\circ}C$ reaksiyon sıcaklığı koşulunda üretilebileceği tahmin edilmektedir.

Şekil 4.21 (e)’de cevap değişkeni etanol konsantrasyonunun H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.21.(e)’den görüleceği üzere %0 H_2O_2 konsantrasyonunda $50-70^{\circ}C$ reaksiyon sıcaklığı aralığında etanol konsantrasyonunda azalma, $70-100^{\circ}C$ reaksiyon sıcaklığı aralığında artış tespit edilmiştir. H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığının birlikte artırılması ile etanol üretimi artmıştır. Şekil 4.21.(f)’den görüleceği üzere model, maksimum etanol değerini $100^{\circ}C$ reaksiyon sıcaklığı ve %2 H_2O_2 konsantrasyonunda 52 mgEtOH/gTKM olarak tahmin etmektedir.



Şekil 4.21. Etanol konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); a) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı CYG; b) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı KG; c): HAc konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; d) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG; e) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; f) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG.



Şekil 4.21. (devamı) Etanol konsantrasyonuna ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); g) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; h) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; i) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; j) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; k) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu CYG; l) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu KG.

Şekil 4.21 (g)'de cevap değişkeni etanol konsantrasyonunun HAc konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.21. (g)'den HAc konsantrasyonu %0 iken 6-18 reaksiyon süresinin aralığında etanol üretiminin olmayacağı, 18-24 saat reaksiyon süresi aralığında ise etanol üretiminin artacağı görülmektedir. 6 saat sabit reaksiyon süresinde %0-0.25 HAc konsantrasyonu aralığında etanol üretimi olmadığı, %0.25-1.5 HAc konsantrasyonu aralığında etanol üretiminin arttığı, %1.5-2 HAc konsantrasyonu aralığında ise etanol üretiminin azaldığı görülmektedir. Şekil 4.21.(h)'dan görüleceği üzere 24 saat reaksiyon süresi ve %1.2 HAc konsantrasyonunda maksimum etanol üretiminin yaklaşık 30 mgEtOH/gTKM olarak üretilebileceği model tarafından tahmin edilmektedir.

Şekil 4.21 (i)'de cevap değişkeni etanol konsantrasyonunun H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.21.(i)'den %0 H_2O_2 konsantrasyonu ve 6-13 saat reaksiyon süresi aralığında etanol konsantrasyonunun azaldığı ve 13-24 saat reaksiyon süresi aralığında ise arttığı görülmektedir. Reaksiyon süresi 6 saatte uygulandığında H_2O_2 konsantrasyonunun artırılması ile etanol konsantrasyonunun değişmediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte H_2O_2 konsantrasyonu ve reaksiyon süresinin birlikte artırılması ile etanol konsantrasyonu da artmıştır. Şekil 4.21 (j)'de verilen kontur grafiği incelendiğinde model yaklaşık 37 mgEtOH/gTKM değeri ile maksimum etanol konsantrasyonuna %2 H_2O_2 konsantrasyonu ve 24 saat reaksiyon süresi uygulandığında ulaşılabilirliğini tahmin etmektedir.

Şekil 4.21 (k)'de cevap değişkeni etanol konsantrasyonunun H_2O_2 konsantrasyonu ve HAc konsantrasyonu ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.21. (k)'dan %0 H_2O_2 konsantrasyonunda, %0-1.25 HAc konsantrasyonu aralığında etanol miktarının arttığı ve %1.25-2 HAc konsantrasyonu aralığında ise azaldığı görülmektedir. %0 HAc konsantrasyonunda ise tüm H_2O_2 konsantrasyonlarında etanol miktarı 0 mgEtOH/gTKM'dır. H_2O_2 konsantrasyonunun etanol üretimi üzerinde neredeyse hiç etkili olmadığı ve HAc konsantrasyonunun belirleyici olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.21. (l)'de verilen kontur grafiğinden görüleceği üzere maksimum etanol üretiminin 11.76 mgEtOH/gTKM değeri ile %1.75 H_2O_2 ve %1.4 HAc konsantrasyonlarında üretilebildiği model tarafından tahmin edilmektedir.

Etanol modeli genel olarak değerlendirildiğinde reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresinin artırılmasının ise etanol konsantrasyonunu arttırdığı, H_2O_2 ve HAc konsantrasyonlarının artırılmasının etanol konsantrasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Maksimum etanol konsantrasyonuna ulaşmak için uzun reaksiyon süresi ve yüksek reaksiyon sıcaklığının birlikte kullanılmasının uygun olduğu gözlenmiştir.

4.6.4. Biyokimyasal metan potansiyeli model sonuçları

MKT yöntemi ile dizayn edilen 25 farklı ön arıtma koşulu merkez deneyi triplike, geri kalan deneyler duplike olacak şekilde gerçekleştirilmiş, elde edilen sonuçlar modelde cevap verisi olarak kullanılmak üzere Design Expert® 7 paket programına işlenmiştir. Biyokimyasal metan potansiyeli için verilerin tersi alınarak istatistiksel olarak önemsiz olan terimlerin regresyon denkleminde çıkarıldığı modifiye bir model kullanılmıştır. BMP için kullanılan modelin ANOVA testi sonuçları Çizelge 4.9’da, modele ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.10’da verilmiştir.

Design Expert® 7 paket programı elde edilen ve programa işlenen cevap verilerini analiz ederek BMP için kuadratik model kullanılmasını önermiştir. R^2 değeri daha yüksek bir model elde etmek için kuadratik model modifiye edilmiş ve bazı regresyon terimleri denklemden çıkarılarak kurulan modelde R^2 değeri 0.8508 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen modelde p değeri <0.0001 olarak bulunmasından dolayı %99.999 güven aralığında modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir. Modelde BMP üzerinde, ön arıtma koşulları belirlenirken kullanılan değişkenlerin direkt etkileri incelendiğinde; reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, asetik asit konsantrasyonu ve H_2O_2 konsantrasyonu değişkenlerine ait p değerlerinin sırası ile 0.6826, 0.0025, 0.0002 ve 0.5433 olarak hesaplandığı görülmektedir. Bu değerlere göre reaksiyon sıcaklığının ve H_2O_2 konsantrasyonunun istatistiksel olarak BMP’ye olan etkileri önemsiz bulunmuştur. Reaksiyon süresinin ve asetik asit konsantrasyonunun BMP üzerine olan etkisi ise; p değerinin 0.05’den küçük olmasından dolayı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.9. BMP modeli ANOVA testi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	9.734E ⁻⁰⁰⁶	18	5.408E ⁻⁰⁰⁷	10.14	< 0.0001
A-Reaksiyon Sıcaklığı	9.088E ⁻⁰⁰⁹	1	9.088E ⁻⁰⁰⁹	0.17	0.6826
B-Reaksiyon Süresi	5.738E ⁻⁰⁰⁷	1	5.738E ⁻⁰⁰⁷	10.75	0.0025
C-HAc Konsantrasyonu	9.626E ⁻⁰⁰⁷	1	9.626E ⁻⁰⁰⁷	18.04	0.0002
D-H ₂ O ₂ Konsantrasyonu	2.014E ⁻⁰⁰⁸	1	2.014E ⁻⁰⁰⁸	0.38	0.5433
AB	5.018E ⁻⁰⁰⁷	1	5.018E ⁻⁰⁰⁷	9.40	0.0044
AC	2.614E ⁻⁰⁰⁹	1	2.614E ⁻⁰⁰⁹	0.049	0.8262
AD	1.577E ⁻⁰⁰⁶	1	1.577E ⁻⁰⁰⁶	29.55	< 0.0001
BC	1.212E ⁻⁰⁰⁶	1	1.212E ⁻⁰⁰⁶	22.72	< 0.0001
BD	1.624E ⁻⁰⁰⁷	1	1.624E ⁻⁰⁰⁷	3.04	0.0907
CD	1.258E ⁻⁰⁰⁸	1	1.258E ⁻⁰⁰⁸	0.24	0.6305
A ²	4.530E ⁻⁰⁰⁹	1	4.530E ⁻⁰⁰⁹	0.085	0.7726
B ²	6.104E ⁻⁰⁰⁷	1	6.104E ⁻⁰⁰⁷	11.44	0.0019
D ²	1.382E ⁻⁰⁰⁷	1	1.382E ⁻⁰⁰⁷	2.59	0.1174
ABC	3.239E ⁻⁰⁰⁷	1	3.239E ⁻⁰⁰⁷	6.07	0.0193
ABD	1.077E ⁻⁰⁰⁶	1	1.077E ⁻⁰⁰⁶	20.19	< 0.0001
ACD	3.216E ⁻⁰⁰⁷	1	3.216E ⁻⁰⁰⁷	6.03	0.0197
A ² B	9.788E ⁻⁰⁰⁷	1	9.788E ⁻⁰⁰⁷	18.34	0.0002
A ² C	2.697E ⁻⁰⁰⁷	1	2.697E ⁻⁰⁰⁷	5.05	0.0316
Kalan	1.707E ⁻⁰⁰⁶	32	5.336E ⁻⁰⁰⁸		
Uyum Eksikliği	1.107E ⁻⁰⁰⁶	6	1.845E ⁻⁰⁰⁷	7.99	< 0.0001
Yalın Hata	6.003E ⁻⁰⁰⁷	26	2.309E ⁻⁰⁰⁸		
Düzeltilmiş Toplam	1.144E ⁻⁰⁰⁵	50			

Çizelge 4.10. BMP modeli istatistiksel analiz sonuçları

Standart Sapma	1.386E ⁻⁰⁰⁴	R ²	0.8508
Ortalama	2.025E ⁻⁰⁰³	Adj R ² (Düzeltilmiş R ²)	0.7668
Varyasyon Katsayısı (%)	6.85	Pred R ² (Tahmin edilen R ²)	0.6601
Press	1.400E ⁻⁰⁰⁶	Adeq Precision (Yeterli Hassasiyet)	10.201

İnteraksiyon etkileri incelendiğinde; reaksiyon sıcaklığıxreaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığıxH₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon süresix HAc konsantrasyonu ikili interaksiyonlarının, reaksiyon sıcaklığıxreaksiyon süresixHAc konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığıxreaksiyon süresixH₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığıxHAc konsantrasyonuxH₂O₂ konsantrasyonu üçlü interaksiyonlarının p değerleri <0.0001 olarak bulunduğu için etanol üretimi üzerinde istatistiksel olarak etkilidirler. İkinci dereceden etkiler incelendiğinde; reaksiyon sıcaklığının, reaksiyon süresinin ve H₂O₂ konsantrasyonunun ikincil etkilerinin p değerlerinin sırası ile 0.7726, 0.019 ve 0.1174

olduğu ve sadece reaksiyon süresine ait p değeri 0.05'ten küçük olduğu için istatistiksel olarak BMP üzerinde reaksiyon süresinin ikinci dereceden etkili olduğu görülmektedir. Ayrıca reaksiyon sıcaklığının ikinci derecesi ile reaksiyon süresinin ve reaksiyon sıcaklığının ikinci derecesi ile HAc konsantrasyonunun interaksiyon etkilerinin de sırası ile 0.0002, 0.0316 p değerlerine sahip olduklarından dolayı, BMP üzerinde etkili oldukları görülmektedir.

Modelde determinasyon katsayısı 0.8508 olarak hesaplanmıştır. R^2 olarak ifade edilen determinasyon katsayısı açıklanan varyasyonun toplam varyasyona oranı yöntemi ile hesaplanmakta ve yüzde cinsinden modelin tahmin gücünü göstermektedir. Bu modelde hesaplanan R^2 değerine göre; modelde kullanılan değişkenlere karşılık elde edilecek BMP cevaplarının %85.08'inin bu model ile açıklanabileceği görülmektedir. Modelde düzeltilmiş R^2 değeri 0.7668 olarak bulunmuştur. R^2 ve düzeltilmiş R^2 terimleri arasında büyük bir fark olmaması modeldeki terimlerin yeterli olduğunu göstermektedir.

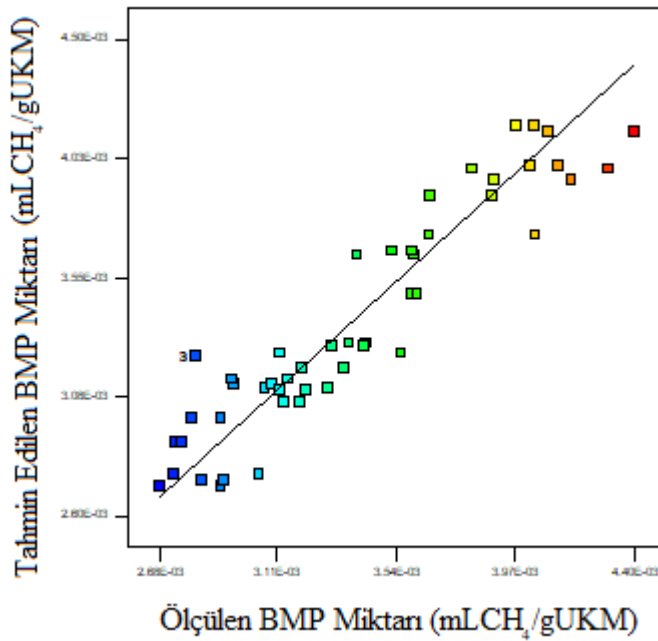
Uyum eksikliği, hesaplanan uyum eksikliğinin ortalamasının karesinin yalın hatanın ortalamasının karesine oranı şeklinde hesaplanır ve modelin verileri temsil edip etmediğini kontrol eder. Modelde uyum eksikliğine ait p değeri <0.0001 olarak hesaplandığı ve bu değer 0.05'ten küçük olması modelde uyum eksikliği olduğunu göstermektedir. Uyum eksikliğinin önemli olması, modelin gözlenen tekrarlayan varyasyondaki verilere uymadığını göstermektedir (Stat-Ease, 2017).

İstatistiksel olarak uyum eksikliği ölçülen ve tahmin edilen değerlerin ortalama karesinin, aynı koşullarda tekrar edilen deney sonuçlarının ortalama karesine bölümü olarak tanımlanmakta ve uyum eksikliği değerinin $p > 0,1$ olması gerekmektedir. Önemli uyum eksikliği tekrar edilen deneylerin ortalama sonuçları arasındaki değişimin dizayn noktalarının tahmin edilen değerlerinin değişiminden az olması anlamına gelmektedir (Stat Teaser, News from Stat-Ease, Inc. 2004). Ancak, elde edilen model yüksek regresyon katsayısına sahip olmasına rağmen uyum eksikliği önemli olabilmektedir. Eğer, tekrar edilen deneyler (merkez noktada) tekrar edilen doğru ölçümlerse, saf hata tespit edilememekte ve uyum eksikliği yapay olarak küçük olmaktadır. Bu durumda modelin geçerliğinde diğer istatistiksel kriterler dikkate alınmaktadır. Uyum eksikliği, model transformasyonu yoluyla da ortadan kaldırılabilir. Bununla birlikte, önemli model uyum eksikliği için hiçbir şey yapılamıyorsa, deneysel sonuçların geçerliliğini sağlamak için validasyon deneyi yapılmakta ve model tahmini ile validasyon deneyi sonuçları karşılaştırılabilir (Gökgöl 2016).

Design Expert® 7 programının BMP için oluşturduğu modifiye kuadratik modelin kodlu ve gerçek değerli regresyon denklemleri, sırası ile eşitlik 4.7 ve eşitlik 4.8'de verilmiştir.

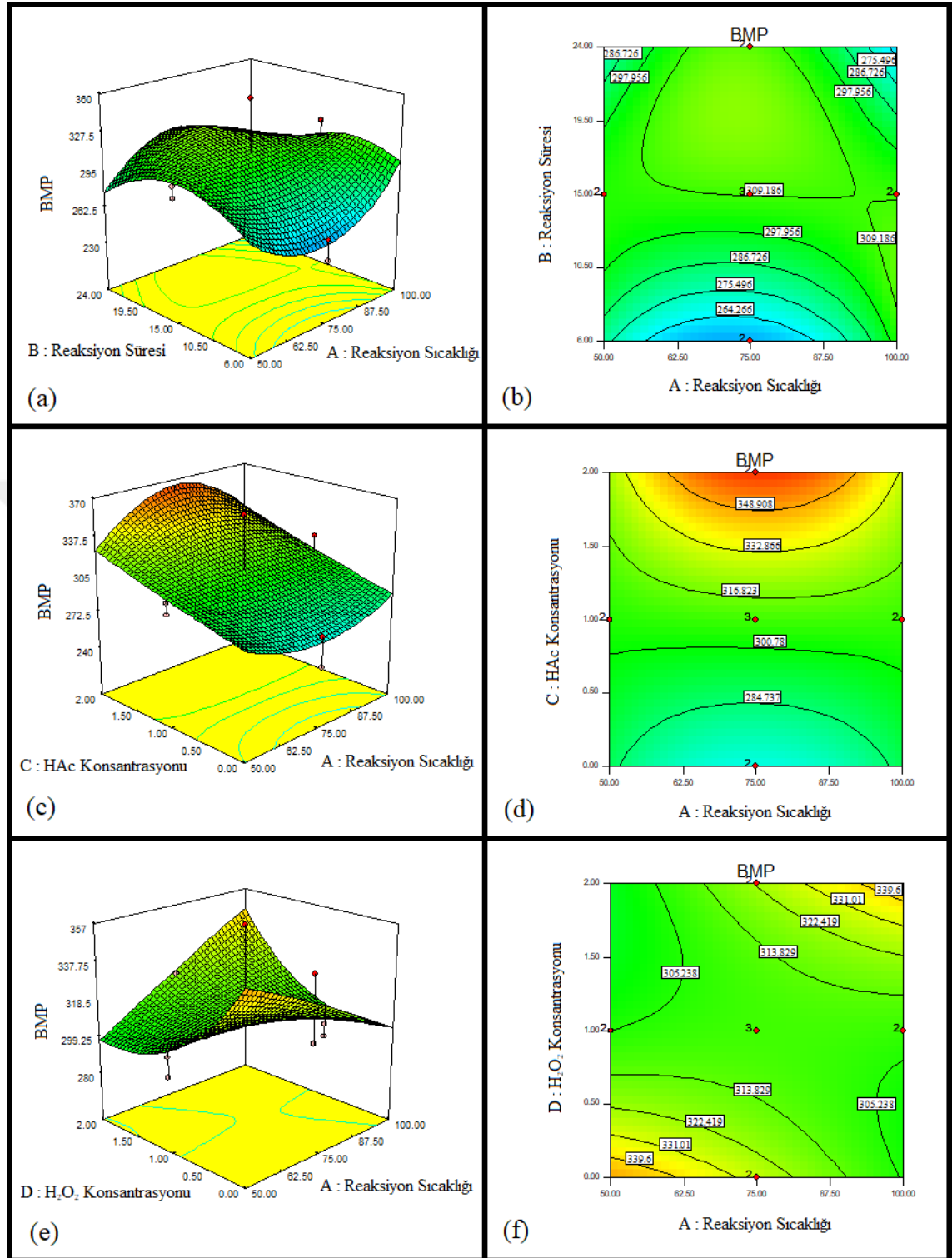
$$\begin{aligned} 1/BMP = & + 3.231E^{-003} - 1.589E^{-005} \times A - 3.788E^{-004} \times B - 4.906E^{-004} \times C + 2.365E^{-005} \times D \\ & + 1.252E^{-004} \times A \times B - 9.038E^{-006} \times A \times C - 2.220E^{-004} \times A \times D + 1.946E^{-004} \times B \times C \\ & - 7.123E^{-005} \times B \times D - 1.983E^{-005} \times C \times D + 2.861E^{-005} \times A^2 + 3.321E^{-004} \times B^2 - 1.580E^{-004} \times D^2 \\ & - 1.006E^{-004} \times A \times B \times C - 1.835E^{-004} \times A \times B \times D - 1.003E^{-004} \times A \times C \times D + 5.247E^{-004} \times A^2 \times B \\ & + 2.754E^{-004} \times A^2 \times C \dots\dots\dots 4.7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
1/\text{BMP} = & -3.10949\text{E}^{-003} + 2.46403\text{E}^{-004} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} + 2.09432\text{E}^{-004} \times \\
& \text{Reaksiyon Süresi} + 9.06836\text{E}^{-004} \times \text{HAc Konsantrasyonu} - 7.40488\text{E}^{-005} \times \text{H}_2\text{O}_2 \\
& \text{Konsantrasyonu} - 1.21719\text{E}^{-005} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon Süresi} - 5.57410\text{E}^{-005} \times \\
& \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 7.36401\text{E}^{-006} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{H}_2\text{O}_2 \\
& \text{Konsantrasyonu} + 5.51600\text{E}^{-005} \times \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{HAc Konsantrasyonu} + 5.32479\text{E}^{-005} \times \\
& \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 2.80935\text{E}^{-004} \times \text{HAc Konsantrasyonu} \times \\
& \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} - 1.79397\text{E}^{-006} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 + 4.09999\text{E}^{-006} \times \text{Reaksiyon} \\
& \text{Süresi}^2 - 1.58025\text{E}^{-004} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu}^2 - 4.47112\text{E}^{-007} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \\
& \text{Reaksiyon Süresi} \times \text{HAc Konsantrasyonu} - 8.15497\text{E}^{-007} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{Reaksiyon} \\
& \text{Süresi} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} - 4.01021\text{E}^{-006} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı} \times \text{HAc} \\
& \text{Konsantrasyonu} \times \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Konsantrasyonu} + 9.32738\text{E}^{-008} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 \times \text{Reaksiyon} \\
& \text{Süresi} + 4.40643\text{E}^{-007} \times \text{Reaksiyon Sıcaklığı}^2 \times \text{HAc Konsantrasyonu} \dots \dots \dots 4.8
\end{aligned}$$

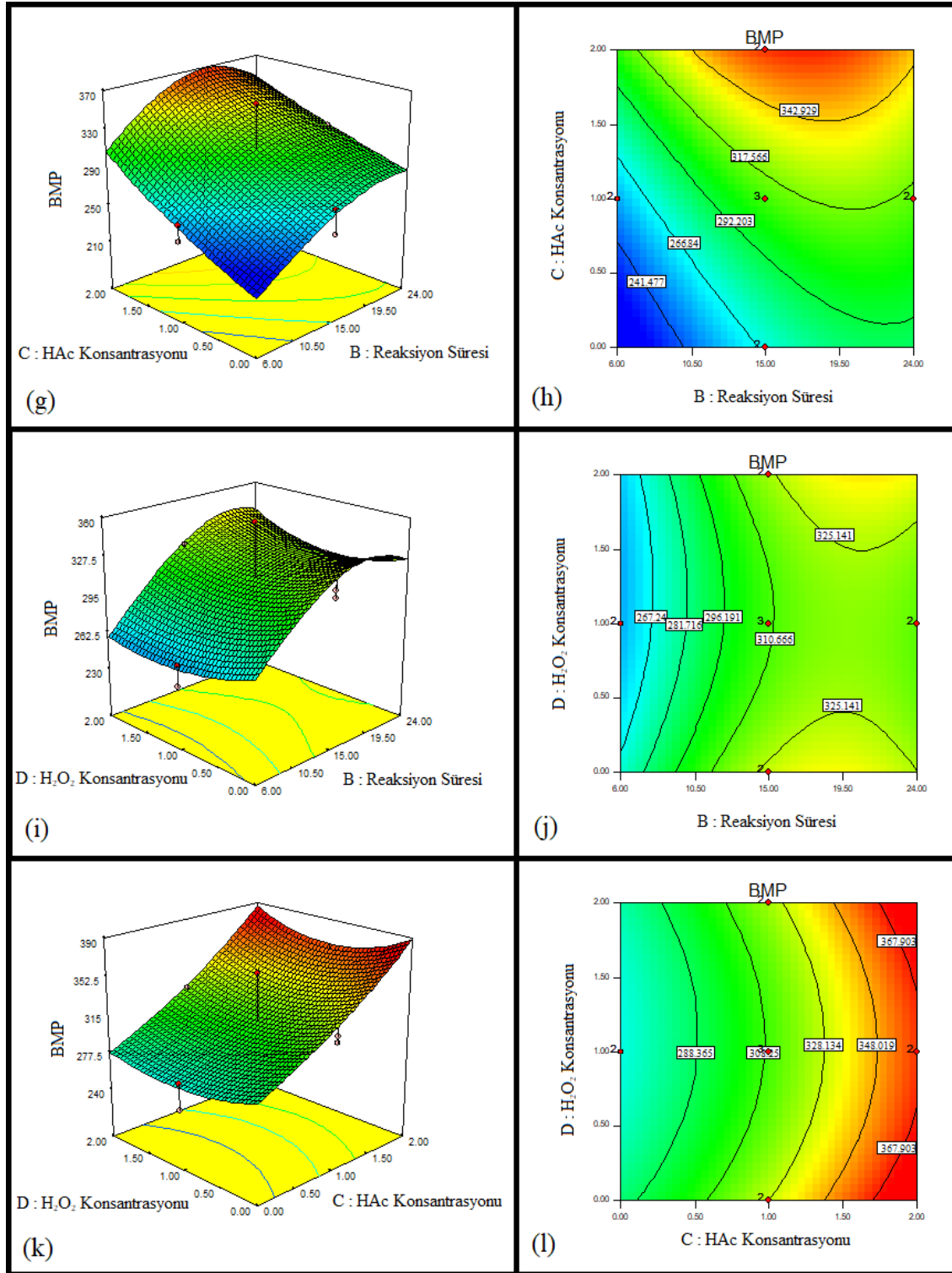


Şekil 4.22. Ölçülen BMP miktarlarına karşılık tahmin edilen BMP değerlerinin dağılımı

Model tarafından hesaplanan regresyon denklemi ile elde edilen teorik sonuçların elde edilen deneysel sonuçlara karşılık gelen dağılım grafiği Şekil 4.22’de verilmiştir. Tahmin edilen değerler lineer doğrusu etrafında gösterilen noktalar deneyler sonucunda elde edilen verileridir. Bu noktaların tahmin edilen doğrudan uzaklıklarının az olmasından dolayı modelin veriler ile uyumlu olduğu görülmektedir. Modelin, değişken değerleri olan reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc konsantrasyonu ve H₂O₂ konsantrasyonu parametrelerinin ikili olarak BMP miktarına olan etkilerini ifade ettiği cevap yüzey ve kontur grafikleri Şekil 4.23’te verilmiştir.



Şekil 4.23. BMP miktarına ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); a) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı CYG; b) Reaksiyon süresi x Reaksiyon sıcaklığı KG; c) HAc konsantasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; d) HAc konsantasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG; e) H₂O₂ konsantasyonu x Reaksiyon sıcaklığı CYG; f) H₂O₂ konsantasyonu x Reaksiyon sıcaklığı KG.



Şekil 4.23. (devamı) BMP miktarına ait cevap yüzey grafikleri (CYG) ve kontur grafikleri (KG); g) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; h) HAc konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; i): H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi CYG; j) H₂O₂ konsantrasyonu x Reaksiyon süresi KG; k) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu CYG; l) H₂O₂ konsantrasyonu x HAc konsantrasyonu KG.

Şekil 4.23 (a)'da cevap değişkeni BMP miktarının reaksiyon süresi ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.23. (a)'dan görüleceği üzere 6 saat sabit reaksiyon süresinde ve 50-75°C reaksiyon sıcaklığı aralığında BMP'nin azaldığı ve 75-100°C reaksiyon sıcaklığı aralığında BMP'nin arttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde 50°C sabit reaksiyon sıcaklığında 6-15 saat reaksiyon süresi aralığında BMP değerinin arttığı ve 15-24 saat reaksiyon süresi aralığında ise azaldığı görülmektedir. Model tarafından maksimum BMP değerinin 320 mLCH₄/gUKM olarak 75°C reaksiyon sıcaklığı ve 20 saat reaksiyon süresi koşullarında üretileceği tahmin edilmektedir.

Şekil 4.23 (c)'de cevap değişkeni BMP miktarının HAc konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.23.(c)'den %0 HAc konsantrasyonunda 50-75°C reaksiyon sıcaklığı aralığında BMP değerinin azaldığı ve 75-100°C reaksiyon sıcaklığı aralığında ise BMP değerinin arttığı görülmektedir. Sabit reaksiyon sıcaklığında HAc konsantrasyonunun artırılması ile BMP değerinin doğru orantılı olarak arttığı görülmektedir. %2 HAc konsantrasyonunda maksimum BMP değerlerine ulaşılacağı model tarafından tahmin edilmiştir. Şekil 4.23 (d)'de verilen kontur grafiği incelendiğinde; model tarafından maksimum BMP değeri %2 HAc konsantrasyonu ve 75°C reaksiyon sıcaklığı koşulunda 360 mLCH₄/gUKM olarak tahmin edilmiştir. Minimum BMP değerinin ise %0 HAc konsantrasyonu ve 75°C reaksiyon sıcaklığında 269 mLCH₄/gUKM olarak model tarafından tahmin edilmiştir.

Şekil 4.23 (e)'de cevap değişkeni BMP miktarının H₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığı ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.23. (e)'den %0 H₂O₂ konsantrasyonunda reaksiyon sıcaklığının artması ile BMP miktarının azaldığı ve 50°C reaksiyon sıcaklığında ise H₂O₂ konsantrasyonunun artması ile BMP miktarının yine azaldığı görülmektedir. H₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığının BMP üzerinde pozitif interaksiyon etkisi gözlenmiştir. 50°C reaksiyon sıcaklığı ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu ile 100°C reaksiyon sıcaklığı ve %2 H₂O₂ konsantrasyonunda yüksek BMP değerlerine ulaşılmıştır. Model, 50°C reaksiyon sıcaklığı ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu ile 100°C reaksiyon sıcaklığı ve %2 H₂O₂ konsantrasyonu olmak üzere iki noktada maksimum BMP değerine ulaşabileceğini tahmin etmektedir. Şekil 4.23. (f)'de verilen kontur grafiğinden maksimum BMP değerinin 340 mLCH₄/gUKM olarak bu noktalarda elde edildiği görülmektedir.

Şekil 4.23 (g)'de cevap değişkeni BMP miktarının HAc konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.23.(g)'den %0 HAc konsantrasyonunda reaksiyon süresinin artırılması ile BMP miktarının arttığı ve 6 saat sabit reaksiyon süresinde HAc konsantrasyonunun artışına bağlı olarak BMP miktarının arttığı görülmektedir. Cevap yüzey grafiği genel olarak incelendiğinde HAc konsantrasyonu ve reaksiyon süresinin birlikte artırılması ile BMP'nin arttığı görülmektedir. Şekil 4.23 (h)'de verilen kontur grafiğinden BMP'nin 1.5- %2 HAc konsantrasyonu ve 15-24 saat reaksiyon süresinde maksimum değerine yaklaşık 366 mLCH₄/gUKM ulaşacağı tahmin edilmiştir.

Şekil 4.23 (i)'de cevap değişkeni BMP miktarının H₂O₂ konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.23.(i)'den %0 H₂O₂ konsantrasyonunda 6-19.5 saat reaksiyon süresi aralığında BMP miktarının arttığı

ve 19.5-24 saat reaksiyon süresi aralığında ise düşük miktarda azaldığı görülmektedir. 6 saat sabit reaksiyon süresinde ise H_2O_2 konsantrasyonunun değişiminden BMP miktarının çok etkilenmediği ve yaklaşık aynı miktarda kaldığı görülmektedir. Model, minimum BMP miktarını %1.25 H_2O_2 konsantrasyonu ve 6 saat reaksiyon süresi koşullarında, maksimum BMP miktarını ise 338 mLCH₄/gUKM değeri ile %1.5-2 H_2O_2 konsantrasyonu ve 15-24 saat reaksiyon süresi koşullarında tahmin etmektedir.

Şekil 4.23 (k)'de cevap değişkeni BMP miktarının H_2O_2 konsantrasyonu ve HAc konsantrasyonu ile değişimini inceleyen CY grafiği verilmiştir. Şekil 4.23. (k)'dan görüleceği üzere %0 H_2O_2 konsantrasyonunda HAc konsantrasyonu artışına bağlı olarak BMP miktarı artmaktadır. %0 HAc konsantrasyonunda ise BMP miktarının H_2O_2 konsantrasyonu değişiminden çok etkilenmediği görülmektedir. HAc konsantrasyonunun BMP üzerindeki etkisi büyük, H_2O_2 konsantrasyonunun ise azdır. Şekil 4.23 (l)'de verilen kontur grafiğinde 380 mLCH₄/gUKM değeri ile maksimum BMP miktarına %0-2 H_2O_2 ve %2 HAc konsantrasyonlarında ulaşılabilceği görülmektedir.

BMP modeli genel olarak değerlendirildiğinde reaksiyon süresi ve HAc konsantrasyonunun artırılması ile BMP miktarı artmaktadır. Özellikle HAc konsantrasyonu BMP miktarını önemli miktarda arttırmaktadır. Maksimum BMP miktarına ulaşmak için yüksek reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı ve HAc konsantrasyonu ile düşük H_2O_2 konsantrasyonu sağlanması gerektiği tespit edilmiştir.

4.7. HP&HAc Ön arıtma Prosesinin Etanol ve Metan Üretimi için Optimizasyonu ve Validasyonu

Shawnee çeşidi dallı darı bitkisine uygulanan HP&HAc ön arıtma prosesinin optimizasyonunda elde edilen modeller kullanılmış ve optimizasyon Design Expert® 7 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Optimizasyonda amaç deneysel veriler sonucunda elde edilen model eşitlikleri yardımıyla bağımsız değişkenlerin istenilen cevap şartları doğrultusunda optimum değerlerine ulaşmaktır. HP&HAc ön arıtma prosesinde etkili olduğu düşünülen reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc konsantrasyonu ve H_2O_2 konsantrasyonu bağımsız değişkenlerinin çİndŞeker, çKOİ, etanol potansiyeli ve BMP bağımlı değişken miktarlarını değerlendiren farklı optimizasyonlar yapılmıştır. Optimizasyon işlemi gerçekleştirilirken Design Expert® 7 programında bağımlı ve bağımsız değişkenler için “Aralıkta Bırak”, “Maksimize Et” veya “Minimize Et” komutlarından birisi kullanılmıştır. “Aralıkta Bırak” komutu için program, modele işlenmiş olan bağımlı ve bağımsız değişken verilerinin maksimum ve minimum değerleri aralığında herhangi bir değer kullanılabileceğini algılamaktadır. Ayrıca “Maksimize Et” ve “Minimize Et” komutları için programda mevcut olan 1-5 aralığında değişen önem seviyesi de optimizasyon işleminde kullanılmıştır. Programda bağımlı ve bağımsız değişkenler için değişik komutlar ve önem seviyeleri denenerek en yüksek tercih oranına (desirability) sahip optimize koşullar arasından seçim yapılmıştır.

Etanol ve BMP olmak üzere iki biyoyakıt bağımsız değişkeninin optimizasyon işlemi gerçekleştirilirken maksimum biyoyakıt üretimi ve minimum maliyet olmak üzere iki farklı yaklaşım kullanılmıştır. Maksimum etanol ve metan üretimi yaklaşımında bağımsız değişkenlerden reaksiyon sıcaklığı maksimize edilmiş, reaksiyon süresi, HAc ve H_2O_2 konsantrasyonları kullanılan değer aralığında bırakılmıştır. Maksimum biyoyakıt

üretimi için optimum koşulun bulunması amacıyla yapılan optimizasyon denemeleri ve maksimum biyoyakıt üretimi için seçilen optimizasyon koşulları ve çözümleri Çizelge 4.11’de verilmiştir.

İkinci yaklaşımda dallı darı bitkisinden HP&HAc ön arıtma ile biyoyakıt üretiminde maliyetin en düşük seviyede tutulması hedeflenmiş ve maliyet optimizasyonu yapılmıştır. Maliyet optimizasyonunda amaç; minimum maliyetli ön arıtma koşullarında, maksimum biyoyakıt üretilen optimum koşulun saptanmasıdır. Buna göre, bağımsız değişkenlerden reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı, HAc konsantrasyonu ve H_2O_2 konsantrasyonu ön arıtma koşullarının hepsi maliyeti arttırdıkları için bu bağımsız değişkenlerin optimizasyon işleminde minimum seviyede tutulmaları gerekmektedir. Maliyet optimizasyonu için optimum koşulun bulunması amacıyla yapılan optimizasyon denemeleri ve minimum maliyet ile maksimum biyoyakıt üretimi için seçilen optimizasyon koşulları ve çözümleri Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Maksimum biyoyakıt üretimi için incelenen optimizasyon koşulları, seçilen optimizasyon koşulları ve çözümleri

Bağımsız Değişkenler					Bağımlı Değişkenler				Optimizasyon Koşulları				
Sıra	Reaksiyon Sıcaklığı	Reaksiyon Süresi	HAc Kons.	H ₂ O ₂ Kons.	çİndŞeker	çKOİ	Etanol	BMP	Reaksiyon Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon Süresi (h)	HAc Kons (%)	H ₂ O ₂ Kons (%)	Tercih Oranı
1	Max (+++)	Max (+++)	Max (+++)	Max (+++)	Max (+++++)	Max (+++++)	Max (+++++)	Max (+++++)	99.98	24	1.22	2	0.749
2	Max (+++++)	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	Max (+++++)	100	22.9	2	2	0.955
3	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	Aralık	Aralık	Max (+++++)	Max (+++++)	100	22.89	1.99	2	0.955
4	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	Max (+)	99.7	22.91	1.92	2	0.977
5	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+)	Max (+++++)	99.74	19.4	1.98	2	0.967

Seçilen Optimizasyon Koşulları ve Çözümleri									
Reaksiyon Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon Süresi (Saat)	HAc Kons. (%)	H ₂ O ₂ Kons. (%)	çİndŞeker (mgçŞeker/g UKM)	çKOİ (mgçKOİ/gUKM)	Etanol (mgEtOH/gTKM)	BMP (mLCH ₄ /gUKM)	Tercih Oranı	
100	22.9	2	2	4.59	787.29	81.915	345.127	0.955	

Çizelge 4.12. Maliyet optimizasyonu için incelenen optimizasyon koşulları, seçilen optimizasyon koşulları ve çözümleri

Bağımsız Değişkenler					Bağımlı Değişkenler				Optimizasyon Koşulları				
Sıra	Reaksiyon Sıcaklığı	Reaksiyon Süresi	HAc Kons.	H ₂ O ₂ Kons	çİndŞeker	çKOİ	Etanol	BMP	Reaksiyon Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon Süresi (h)	HAc Kons (%)	H ₂ O ₂ Kons (%)	Tercih Oranı
1	Min (++)	Min (++)	Aralık	Min (++)	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	50	6	1.87	0	0.976
2	Min (++)	Min (++)	Aralık	Min (++)	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	50.01	6.12	1.87	0	0.976
3	Min (++)	Min (++)	Aralık	Min (++)	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	50	6.42	1.87	0	0.976
4	Min (+++++)	Min (+++++)	Min (+++++)	Min (+++++)	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	50	9.84	0.18	0	0.838
5	Min (+++++)	Min (+++++)	Min (+++++)	Min (+++++)	Aralık	Aralık	Aralık	Max (+++++)	50	6.89	0.77	0	0.813

Seçilen Optimizasyon Koşulları ve Çözümleri									
Reaksiyon Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon Süresi (Saat)	HAc Kon. (%)	H ₂ O ₂ Kon. (%)	çİndŞeker (mgçŞeker/gUKM)	çKOİ (mgçKOİ/gUKM)	Etanol (mgEtOH/gTKM)	BMP (mLCH ₄ /gUKM)	Tercih Oranı	
50	6	1.87	0	1.48	457.74	26.15	358.41	0.976	

Elde edilen maksimum biyoyakıt ve maliyet optimizasyon koşullarının güvenilirliklerinin tespiti için validasyon deneyleri yapılmıştır. Maksimum biyoyakıt üretimi için önerilen optimizasyon koşulunda yapılan validasyon deney sonuçları Çizelge 4.13'te ve minimum maliyetle maksimum biyoyakıt üretimi için proses optimizasyonu koşulunda yapılan validasyon deney sonuçları ise Çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Maksimum biyoyakıt üretimi için önerilen optimizasyon koşulunda yapılan validasyon deney sonuçları

	çİndŞeker (mgçŞeker/gUKM)	çKOİ (mgçKOİ/gUKM)	Etanol (mgEtOH/gTKM)	BMP (mLCH₄/gUKM)
Maksimum Biyoyakıt Üretimi için Önerilen Koşullarda Tahmin Edilen Değerler	4.59	787.29	81.92	345.13
Validasyon Deneyi Sonunda Ölçülen Değerler	4.36	934.95	80.41	355.32

Maksimum biyoyakıt üretimi için Design Expert paket programı tarafından 100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu ve %2 H₂O₂ konsantrasyonu optimum koşullar olarak önerilmiştir. Kurulan modeller tarafından bu koşullarda 4.59 mgçİndŞeker/gUKM, 787.29 mgçKOİ/gUKM, 81.92 mgEtOH/gTKM ve 345.13 mLCH₄/gUKM sonuçlarının elde edileceğini tahmin edilmiştir. Yapılan validasyon deneyinde 4.36 mgçİndŞeker/gUKM, 934.95 mgçKOİ/gUKM, 80.41 mg EtOH/gTKM ve 355.32 mLCH₄/gUKM sonuçları elde edilmiştir. Maksimum biyoyakıt üretimi için tahmin edilen ve ölçülen değerler arasındaki hata yüzdesi çİndŞeker, çKOİ, etanol ve BMP için sırası ile %5.27, %15.79, %1.83 ve %2.95 olarak hesaplanmıştır. çİndŞeker, etanol ve BMP'ye ait validasyon sonuçları ile modelin tahminleri arasındaki farkın az olması modelin güvenilirliğinin yüksek olduğu göstermektedir.

Çizelge 4.14. Minimum maliyetle maksimum biyoyakıt üretimi için önerilen proses optimizasyon koşulunda yapılan validasyon deney sonuçları

	çİndŞeker (mgçŞeker/gUKM)	çKOİ (mgçKOİ/gUKM)	Etanol (mgEtOH/gTKM)	BMP (mLCH₄/gUKM)
Minimum Proses Maliyetinde Maksimum Biyoyakıt Üretimi için Önerilen Koşullarda Tahmin Edilen Değerler	1.48	457.74	26.15	358.41
Validasyon Deneyi Sonunda Ölçülen Değerler	2.57	618.17	25.62	342.63

Minimum maliyetle maksimum biyoyakıt üretimi için Design Expert paket programı tarafından 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc konsantrasyonu ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu optimum koşullar olarak önerilmiştir.

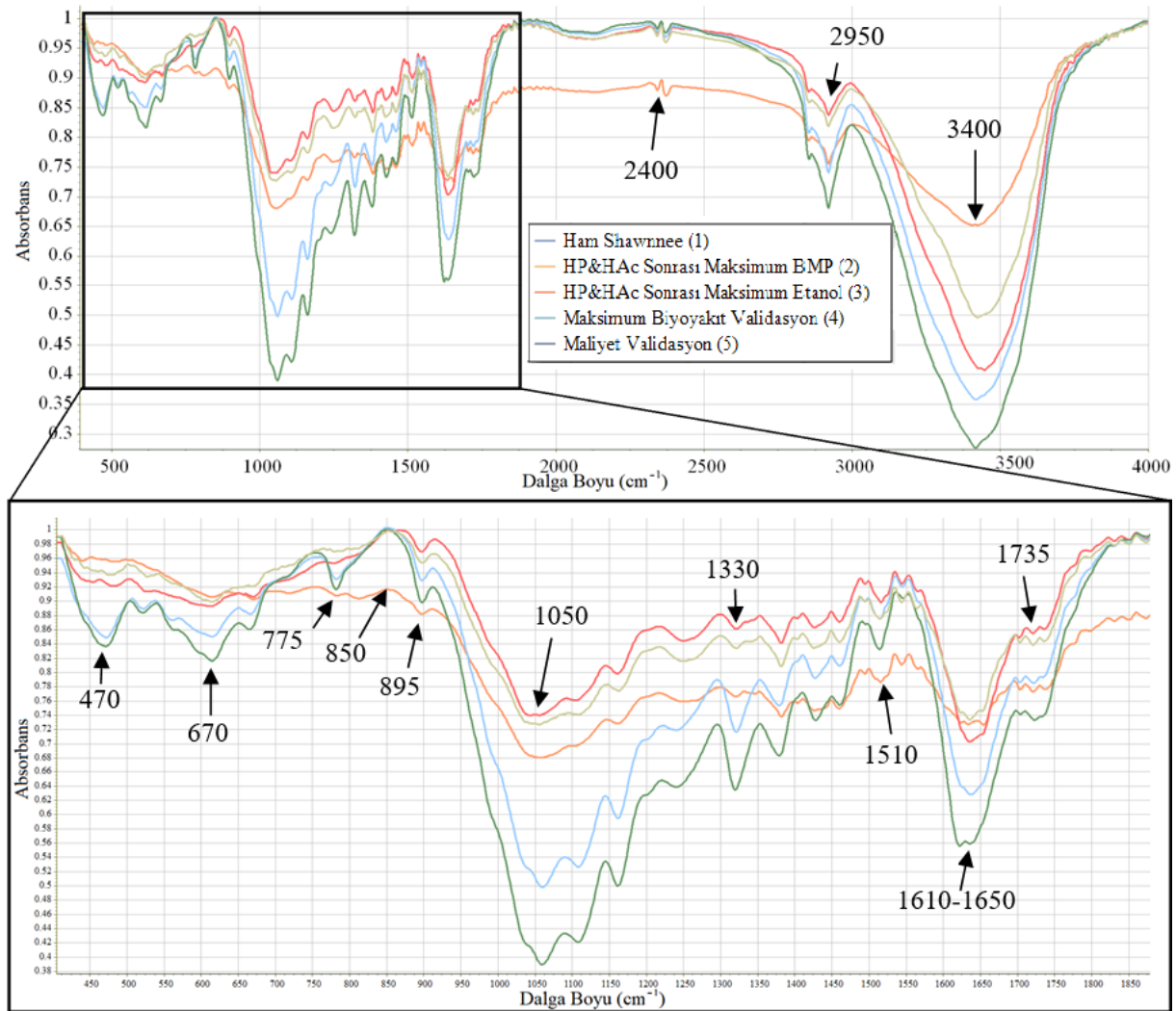
Kurulan modeller tarafından bu koşullarda 1.48 mgçİndŞeker/gUKM, 457.74 mgçKOİ/gUKM, 26.15 mgEtOH/gTKM ve 258.41 mLCH₄/gUKM sonuçlarının elde edileceğini tahmin edilmiştir. Yapılan validasyon deneyinde 2.57 mgçİndŞeker/gUKM, 618.17 mgçKOİ/gUKM, 25.62 mgEtOH/gTKM ve 342.63 mLCH₄/gUKM sonuçları elde edilmiştir. Minumum proses maliyetinde maksimum biyoyakıt üretimi için tahmin edilen ve ölçülen değerler arasındaki hata yüzdesi çİndŞeker, çKOİ, etanol ve BMP için sırası ile %42.55, %25.95, %2.04 ve %4.4 olarak hesaplanmıştır. çİndŞeker ve çKOİ için hata miktarı yüksek ve etanol ve BMP için ise düşük tespit edilmiştir. Etanol ve BMP için elde edilen validasyon sonuçları ile modelin tahminleri arasındaki farkın az olması modelin güvenilirliğinin yüksek olduğu göstermektedir.

4.8. HP&Ac Ön arıtmanın Dallı Darıya Etkisinin Belirlenmesi

Ham Shawneeé çeşidi dallı darı numunesi, HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen numuneler ve optimum HP&HAc proses koşullarında muamele edilen numunelerin yüzey özelliklerinin değişimi taramalı elektron mikroskobu (TEM) ve moleküller arası bağ karakterizasyonunun değişimleri Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiştir.

4.8.1. HP&HAc ön arıtma sonrası elde edilen katı faz FTIR sonuçları

HP&HAc ön arıtmanın Shawneeé çeşidi dallı darının yüzeyi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla ham numune ve HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen numunelerin bağ karakterizasyonunun değişimi FTIR ile incelenmiştir. FTIR analizinde, Shawneeé çeşidi ham dallı darı numunesi **(1)**, HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum BMP üretilen numune **(2)**, HP&HAc ön arıtma (100 °C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numune **(3)**, Maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune **(4)** ve minimum maliyet ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune **(5)** kullanılmıştır. FTIR analizi Bruker Tensor 27 cihazında yapılmış olup her numune için cihaz 16 tekrar ile numuneleri analize etmiştir. Elde edilen spektrumlar Şekil 4.24'te verilmiştir.



Şekil 4.24. Ham dallı darı ve HP&AHc ön arıtmaya tabi tutulmuş dallı darı numunelerinin FTIR spektrumları

FTIR analizi sonucu elde edilen spektrumlar incelendiğinde 400-1700 cm^{-1} dalga boyu aralığında genel olarak 3 ve 4 numaralı numunelerin ham dallı darıdan daha farklı kimyasal bağlara sahip oldukları, 2 ve 5 numaralı numunelerin ise kısmen ham dallı darıya daha yakın bağ özellikleri taşıdıkları görülmektedir. 400-1850 cm^{-1} dalga boyu aralığı dikkatli incelendiğinde 470 cm^{-1} , 670 cm^{-1} , 775 cm^{-1} , 850 cm^{-1} , 895 cm^{-1} , 1050 cm^{-1} , 1245 cm^{-1} , 1510 cm^{-1} , 1735 cm^{-1} , 2400 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} , 3400 cm^{-1} dalga boylarında ve 1590-1650 cm^{-1} dalga boyu aralığında önemli değişiklikler olduğu görülmektedir. Bu dalga boylarında gözlenen değişiklerin hangi moleküller ve bağ yapıları ile ilgili oldukları Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. FTIR spektrumlarında görülen değişimlerin anlamları

Dalga Boyu (cm ⁻¹)	Etkilenen Kimyasal Bağ ve Etki	Kaynak
470	Si-O-Si ve (PO ₄) ³⁻ bağlarında titreşim	Saikia ve Parthasarathy 2010, Uysal vd. 2013
620	C-O, C=O bağlarında titreşim	Litescu vd. 2012
775	NH ₂ bağlarında titreşim	Sumayya vd. 2008
850	=C-H bağlarında eğilme	Sahoo vd. 2012
895	β-glukozidik bağlarda titreşim, kristalin ve amorf selüloz oranı için gösterge	Chandrasekaran vd. 2012, Sun vd. 2015, Fu vd. 2015
1050	Selüloz, hemiselüloz ve lignindeki C-O bağlarında gerilme titreşimi	Ang vd. 2012; Fu vd. 2015
1245	Hemiselülozdaki asetil gruplarının C-O bağlarının adsorpsiyonu	Fu vd. 2015
1510	Lignindeki aromatik halkaların titreşimi	Sun vd. 2015
1590-1650	Delignifikasyona bağlı aromatik halkaların gerilmesi	Fu vd. 2015
1735	Ketonlar ve ester karbonil gruplardaki bağların titreşimi	Gokulakumar ve Narayanaswamy 2008
2400	Karbondioksit kaynaklı C=O bağlarının gerilmesi	Gerakines vd. 1995
2900-3400	Selülozdaki C-H bağlarının titreşimi ve O-H bağlarının gerilmesi	Ang vd. 2012, Fu vd. 2015, Hsu vd. 2010

FTIR spektrumu incelendiğinde; maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numunenin 470 cm⁻¹ dalga boyunda Si-O-Si ve (PO₄)³⁻ bağlarının ham numuneye göre belirgin bir şekilde değiştiği gözlenmiştir.

620 cm⁻¹ dalga boyunda, C-O ve C=O bağlarında meydana gelen titreşimlerde en yüksek absorbans değerinden en düşüğe sıralama yapıldığında; ham dallı darı numunesi **(1)**, minimum maliyet ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune **(5)**, HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum BMP üretilen numune **(2)**, HP&HAc ön arıtma (100 °C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numune **(3)** ve maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune **(4)** olduğu gözlenmiştir. Ön arıtma koşulları sertleştikçe C-O ve C=O bağlarında azalma olduğu net bir şekilde Şekil 4.24.'den görülmektedir.

775 cm^{-1} dalga boyu NH_2 bağlarındaki titreşimi ifade etmektedir. Ham dallı darı numunesine göre HP&HAc ön arıtma (100 °C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numunede (3) ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunede (4) farklılaşma ve bağlarda bozulma gözlenmiştir.

C-H bağlarında eğilmeye karşılık gelen 850 cm^{-1} dalga boyunda tüm numuneler ham numuneden yüksek adsorbans değeri vermişlerdir ve ham dallı darı numunesi dışında HP&HAc ile muamele edilen numunelerin tamamında C-H bağlarında benzer düzeyde eğilme gözlenmiştir.

895 cm^{-1} dalga boyu β -glukozidik bağlardaki titreşimi ifade etmektedir. Ham dallı darı numunesi dışında HP&HAc ile muamele edilen numunelerde 895 cm^{-1} dalga boyunda β -glukozidik bağ yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir. Bunun nedeni ön arıtmada ligninin giderilmesi sonucu β -glukozidik bağlı monosakkaritlerin biyokütlede daha yoğun hale gelmesidir (Chandrasekaran vd. 2012). Numuneler kendi aralarında karşılaştırıldığında; ön arıtma koşulları güçlendikçe β -glukozidik bağlarda azalma olduğu görülmektedir.

1050 cm^{-1} dalga boyu, selüloz, hemiselüloz ve ligninin C-O bağlarındaki gerilmeyi ifade etmektedir. FTIR spektrumları incelendiğinde en düşük absorbans maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için yapılan optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunede (4) ve HP&HAc ön arıtma (100 °C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numunede (3) gözlenmiştir. Bu durum bu iki koşulda ham numuneye göre selüloz, hemiselüloz ve lignin toplamında azalma olduğunu ifade etmektedir.

Hemiselülozdaki asetil gruplarının C-O bağlarının adsorpsiyonunu temsil eden 1245 cm^{-1} dalga boyundaki pikler incelendiğinde; ham dallı darı numunesine göre maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunede (4) ve HP&HAc ön arıtma (100 °C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numunede (3) hemiselülozun azaldığı görülmektedir. Lignin aromatik halkalarının titreşimini ifade eden 1510 cm^{-1} dalga boyunda, dört numunenin de absorbans değerlerinin ham numuneden yüksek olduğu görülmektedir. Numuneler kendi aralarında incelendiğinde en az lignin aromatik halka titreşiminin maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunede (4) ve en çok aromatik halka titreşiminin ise HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %0 H_2O_2 konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum BMP üretilen numunede (2) tespit edilmiştir.

FTIR spektrumları incelendiğinde $1590-1650\text{ cm}^{-1}$ aralığında belirgin bir değişim görülmektedir. Bu dalga boyu aralığında elde edilen absorbanstaki lignin miktarı ile doğrudan orantılıdır (Fu vd. 2015). Spektrumlar incelendiğinde en yüksek delignifikasyonun maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunede (4) gerçekleştiği görülmektedir. HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numune (3) ve HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %0 H_2O_2 konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum BMP üretilen numunede (2) ham numuneye göre azalma mevcuttur. Minimum maliyet ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc konsantrasyonu, %0 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunenin (5) absorbanstaki değeri ise ham dallı darı numunesinden yüksektir. Bu, minimum maliyet ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda ön arıtmanın delignifikasyon konusunda başarısız olduğunu ifade etmektedir.

1735 cm^{-1} dalga boyu, ketonların ve ester karbonil gruplarının bağlarındaki titreşimi göstermektedir. Bu dalga boyunda azalma ham dallı darı numunesine göre sadece maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunede (4) gözlenmiştir. Diğer koşullarda ise ham numuneye göre artış gözlenmiştir.

2400 cm^{-1} dalga boyundaki spektrumda meydana gelen dalgalanma FTIR ölçümünün yapıldığı ortamdaki CO_2 'ten kaynaklanmaktadır. Bu yüzden bu dalga boyundaki piklerin numunelerle herhangi bir bağlantısı yoktur (Gerakines vd. 1995).

2900 ve 3400 cm^{-1} dalga boylarındaki pikler selülozdaki C-H bağlarının titreşimi ve O-H bağlarının gerilmesi ile bağlantılıdır. Dalli darının lignoselülozik yapıda bir biyokütle olmasından dolayı bu dalga boylarında değişimler net olarak görülebilmektedir. Her iki dalga boyunda da maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) muamele edilen numunede (4) ve HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H_2O_2 konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numunede (3) ham numuneden daha düşük adsorbans değerleri gözlenmiştir. Buna göre güçlü ön arıtma koşulları olan bu iki koşulda selülozun kristalin yapısına hasar verilebilmiştir (Fu vd. 2015).

4.8.2. HP&HAc ön arıtma sonrasında elde edilen katı faz TEM sonuçları

HP&HAc ön arıtmanın Shawnee çeşidi dallı darının yüzey özellikleri üzerinde meydana getirdiği değişimlerin belirlenmesi için TEM ile görüntüleme yapılmıştır. TEM ile görüntüleme, Shawnee çeşidi ham dallı darı numunesi (1), HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %0 H_2O_2

konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum BMP üretilen numune **(2)**, HP&HAc ön arıtma (100 °C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numune **(3)**, Maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune **(4)** ve minimum maliyet ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune **(5)** kullanılmıştır. TEM ile görüntüleme Zeiss Leo 1430 cihazı ile yapılmıştır ve elde edilen TEM görüntüleri Şekil 4.25'te verilmiştir.

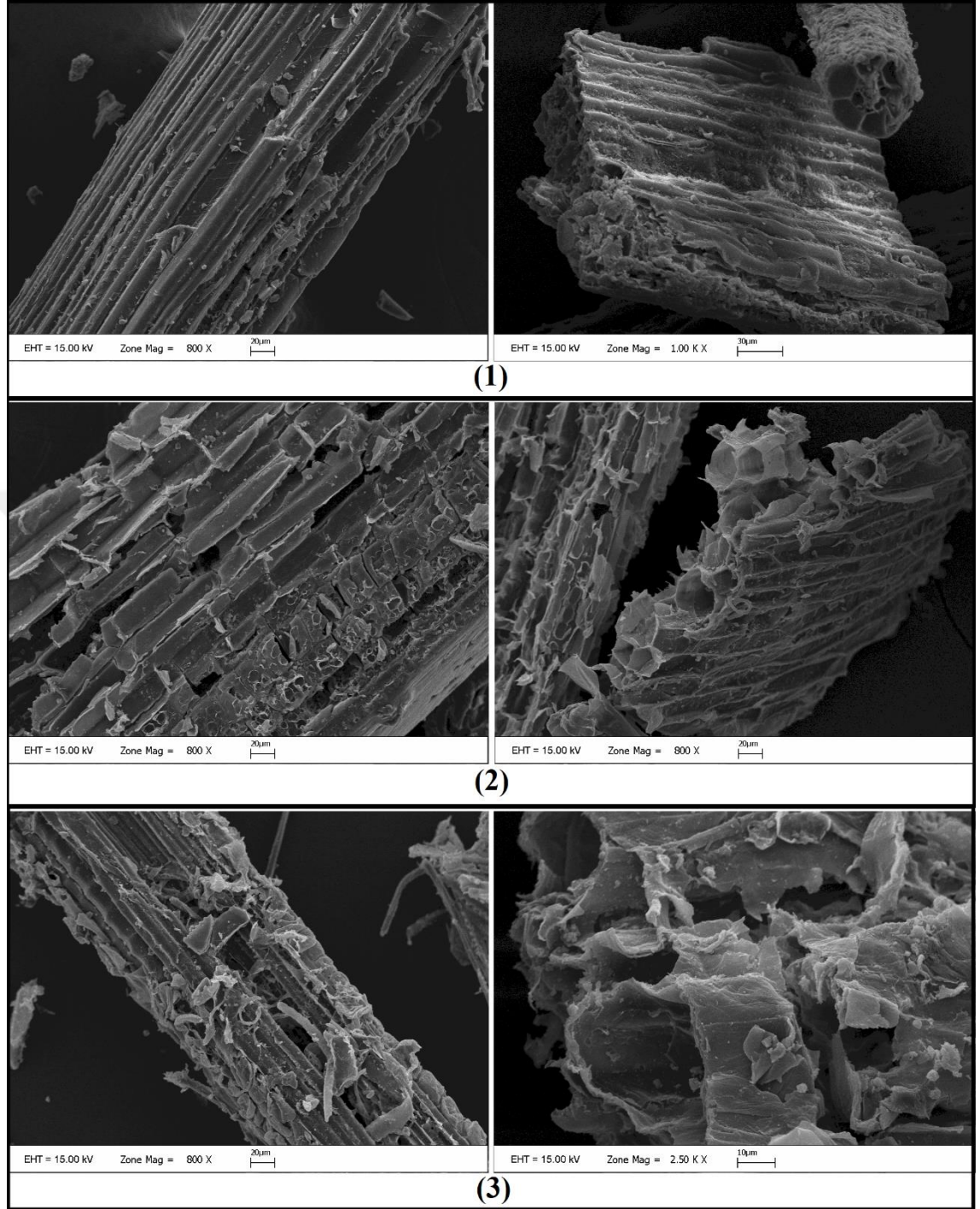
Ham dallı darıya **(1)** ait TEM görüntüleri incelendiğinde; ham dallı darının yüzeyinin pürüssüz olduğu ve düzgün geometrik şekillerden oluştuğu görülmektedir. Yapının dış kısımları düzgün liflerden ve kabuktan oluşurken iç kısımlardaki kanalların dolu olduğu gözükmemektedir.

Şekil 4.25 **(2)**'deki TEM görüntüleri incelendiğinde; 100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu ve %0 H₂O₂ konsantrasyonu HP&HAc ön arıtma koşulunda muamele edilen ve maksimum BMP üretilen numune yüzeyinin parçaladığı, bazı bölümlerde kabuğun tamamen soyulduğu ve yapının içindeki kanalların boşaldığı görülmektedir. Ayrıca yüzeyde bazı bölümlerde kabarmalar gözlenmiştir.

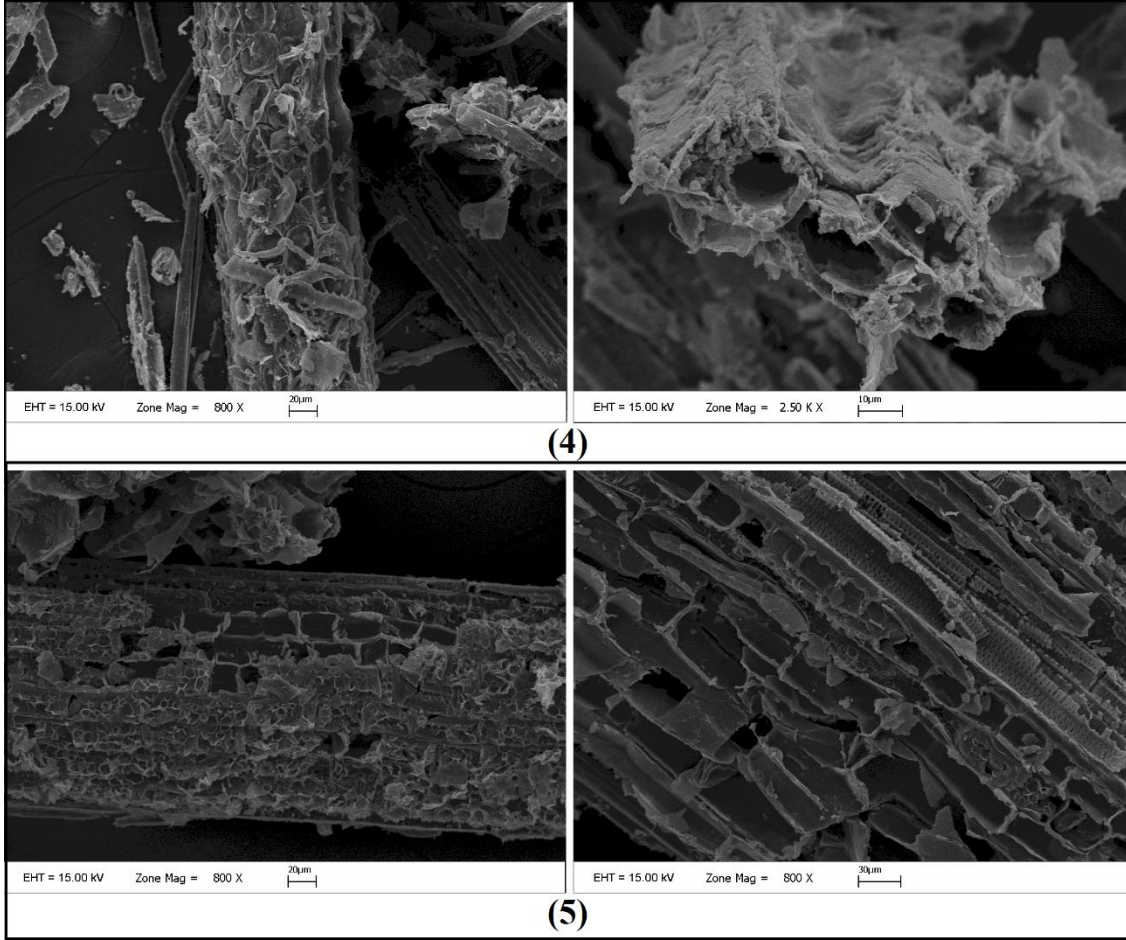
100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu HP&HAc ön arıtma koşulunda muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numuneye **(3)** ait TEM görüntülerinden reaksiyon sıcaklığı ve H₂O₂'in etkileri net bir şekilde görülmektedir. Görüntülerde yapının yüzeyinin tamamen parçalandığı, yüzey alanının ve gözenekliliğin arttığı, enzimatik hidrolize elverişli hale geldiği görülmektedir. Bu ön arıtma bölgesel olarak tam parçalanma sağlamış olsa da dallı darı parçalarında sağlam kalan lifler olduğu da görülmektedir.

Maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numunenin **(4)** TEM görüntüleri incelendiğinde ön arıtmanın oldukça etkili olduğu, dallı darı numunesi kabuğunun tamamen parçalandığı ve yüzeyde geometrik bir şekil seçilemediği görülmektedir. Ayrıca, ham numunede içi dolu olan kanalların ön arıtmada boşaldığı görülmektedir. Bu durum, ön arıtmada yüzey alanının ve gözenekliliğin artması ile enzimatik hidroliz verimini arttırarak yüksek etanol üretimine imkân sağlamıştır.

Minimum maliyet ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numuneye **(5)** ait TEM görüntüleri incelendiğinde; HAc'nın numunenin dış katmanında pullanmalara ve kabarmalara yol açtığı görülmektedir. Yüzeyde bölgesel olarak kabuğun açıldığı ve yine bölgesel olarak dallı darının içindeki gözenekli yapının açığa çıktığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.25. TEM görüntüleri: Shawnee çeşidi ham dallı darı numunesi **(1)**, HP&HAc ön arıtma (100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum BMP üretilen numune **(2)**, HP&HAc ön arıtma (100 °C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) ile muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numune **(3)**



Şekil 4.25 (devamı). Maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune (4) ve minimum maliyet ile maksimum etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulunda (50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc konsantrasyonu, %0 H₂O₂ konsantrasyonu) muamele edilen numune (5)

Literatürde, dallı darı numunesine ön arıtma uygulaması sonrasında ön arıtma ile muamele edilen numunelerin yüzey özelliklerinin incelendiği çalışmalarda; Irmak vd. 2018 dallı darıya mikrodalga ön arıtma uygulamış, 120 °C 800W koşulunda dallı darının dış kabuğundaki balmumu benzeri yapının değişmediğini, ancak 120 °C 1600W ön arıtma koşulunda bu yapının parçalandığını görmüşlerdir. Dougherty vd. 2014 çeşitli ön arıtmaların dallı darının yapısı üzerinde meydana getirdiği değişimleri inceledikleri çalışmalarında, TEM görüntülerinde amonyak lif patlatma (AFEX) ve seyreltik asit ön arıtmalarının dallı darının yüzeyi üzerinde etkisiz kaldıklarını, iyonik sıvılar ön arıtmanın ise yüzeyde baloncuk benzeri şekiller meydana gelmesini sağladığını rapor etmişlerdir.

5. SONUÇLAR

Türkiye, enerji üretiminde yaklaşık olarak %50 oranında üretici ülkelerin kaynaklarına (dış kaynaklar) ve %66.83 oranında ise fosil yakıtlara bağımlı bir ülkedir. Özellikle ulaşım sektöründe kullanılan sıvı ve gaz yakıtlar Türkiye için uzun vadede üretici ülkelerden sağlanmaya devam edecektir. Bununla birlikte, petrol kaynakları sınırlı olan ülkemizde enerji talebine katkı sağlayarak enerji bitkilerinden sıvı ve gaz yakıtları üretebilecek tarımsal altyapı ve teknoloji mevcuttur. Türkiye’de özellikle dallı darı gibi birçok iklimde yetişebilen, biyokütle üretme hızı ve karbonhidrat içeriği yüksek lignoselülozik bitkiler konusundaki araştırmalar ve yatırımlar artırıldığı taktirde artan enerji talebine destekleyici üretim yapılarak enerji güvenliğinin sağlanması ve ekonomik avantaj elde edilmesi mümkün olacaktır.

Bu yüksek lisans tezinin amacı; enerji bitkisi dallı darıdan etanol ve metan olmak üzere iki biyoyakıtın minimum proses maliyeti ile maksimum miktarda üretiminin yapılması için entegre termokimyasal ve fermantasyon proseslerinin geliştirilmesidir. Bu kapsamda yüksek lisans tez çalışmasında öncelikle enerji bitki dallı darı karakterizasyonu yapılmış ve lignoselülozik yapısındaki C5 ve C6 şekerlerin açığa çıkarılabilmesi ve dallı darı’dan etanol ve metan üretim veriminin artırılması amacıyla dallı darıya hidrojen peroksit (H_2O_2) ve asetik asit (CH_3COOH - HAC) (HP&HAc) ön arıtma prosesi uygulanmış ve maksimum biyoyakıt üretimi açısından HP&HAc ön arıtma prosesinin optimizasyonu yapılmıştır. HP&HAc ön arıtma proses optimizasyonunda Cevap yüzey yöntemi (CYY), Merkezi kompozit tasarım (MKT) kullanılmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesinin deneysel tasarımı Design Expert 7.1.5 programı ile yapılmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesinde H_2O_2 miktarı, HAC miktarı, reaksiyon süresi ve reaksiyon sıcaklığı parametreleri kullanılarak program tarafından önerilen ön arıtma koşullarına göre deneyler yapılmış, belirlenen cevap değişkenlerinin analiz sonuçları Design Expert programına aktarılmıştır. MKT deney tasarımında, cevap değişkeninin modellenmesi, önerilen modelin uygunluğunun test edilmesi için ANOVA testi uygulanmıştır. HP&HAc ön arıtma prosesi maksimum etanol ve metan üretimi ve minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi açısından optimize edilmiş ve optimum proses koşulları tespit edilmiştir. HP&HAc ön arıtma prosesi ile muamele edilen numuneler kullanılarak eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon prosesi ile etanol üretim prosesi optimize edilmiş ve etanol üretilmiştir. Etanol üretimi sonrasında fermantasyon ortamı da dahil tüm atıklar kullanılarak minimum atık stratejisi ile metan fermantasyonu yapılarak ikinci biyoyakıt metan üretimi yapılmıştır. Son olarak HP&HAc ön arıtma deneyleri sonrasında dallı darının yüzey özelliklerindeki değişiminin incelenebilmesi için Taramalı Elektron Mikroskop (TEM) ve bağ karakterizasyonunun değişiminin incelenebilmesi için Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır.

Bu tezde kullanılan enerji bitkisi Shawnee çeşidi dallı darı Konya Karapınar’dan temin edilmiştir. Biyoyakıt üretiminde kullanılan dallı darının karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Bu kapsamında toplam katı madde (TKM), uçucu katı madde (UKM), toplam Kjeldahl azotu (TKN), çözünmüş protein, çözünmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (çKOİ), toplam indirgen şeker (DNS), toplam şeker (Anthrone), toplam yapısal karbonhidrat, asitte çözünen lignin, asitte çözünmeyen lignin, ekstrakte olabilen madde ve yağ (Lipid), Van Soest fraksiyonları (selüloz, hemiselüloz, lignin, çözünür madde fraksiyonu), toplam karbon (TK), inorganik karbon (İK), toplam organik karbon (TOK) analizleri yapılmıştır.

Ayrıca elementel kompozisyon (CHNS) ve iz element analizleri (Ca, K, Na, Mg, Al, Fe, Cu, Mn, Sr ve Se) yapılmıştır. Karakterizasyon analizleri sonucunda dallı darı numunesinin karbon (C) içeriği %40,13 olarak tespit edilmiştir. Selüloz ve hemiselüloz miktarları ise %33.13 ve %34.76 olarak ölçülmüştür. Yüksek karbon içeriği, dikkati çeken miktarda selüloz ile hemiseloz miktarı (%67.89) ve yapısal karbonhidrat içeriği (2.17 mg/mL) dallı darının enerji üretiminde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

HP&HAc ön arıtma prosesinde 50-100°C reaksiyon sıcaklığı, 6-24 saat reaksiyon süresi, %0-2 HAc konsantrasyonu ve %0-2 H₂O₂ konsantrasyonu bağımsız değişkenleri seçilerek MKT yöntemi ile ön arıtma deneyleri planlanmıştır. HP&HAc ön arıtma deneyleri yapılarak elde edilen numunelerde çİndşeker, çKOİ, eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon prosesi ile üretilen etanol ve BMP testi sonrasında üretilen metan miktarları bağımlı cevap değişken verileri olarak kullanılmış ve HP&HAc ön arıtma prosesinin etkinliği değerlendirilmiştir.

HP&HAc ön arıtma deneyleri sonucunda 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonlarında maksimum çİndşeker değeri 201.25 mgçİndşeker/gUKM olarak elde edilmiştir. Ham dallı darı numunesi çİndşeker değeri ise 67.99 mgçİndşeker/gUKM olarak ölçülmüştür ve HP&HAc ön arıtma ile sıvı fazda ham dallı darı numunesine göre %196 çİndşeker artışı sağlamıştır. 844.94 mgçKOİ/gUKM olarak maksimum çKOİ değeri ise 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. Ham dallı darı numunesi çKOİ değeri ise 155.59 mgçKOİ/gUKM olarak elde edilmiş ve HP&HAc ön arıtma ile sıvı fazda ham dallı darı numunesine göre %443.06 artış sağlanmıştır.

Eş zamanlı şekerleştirme ve fermantasyon prosesi sonucunda maksimum etanol, maksimum çİndşeker konsantrasyonunun elde edildiği HP&HAc ön arıtma koşulunda (100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc ve %2 H₂O₂ konsantrasyonlarında) üretilmiştir. Bu HP&HAc ön arıtma koşulunda muamele edilen dallı darı numunesinden 81.65 mgEtOH/gTKM etanol üretilmiştir. Ham dallı darı numunesinden ise 32.62 mgEtOH/gTKM etanol üretilmiştir. HP&HAc ön arıtma uygulaması ile üretilen etanol miktarı, ham dallı darı numunesinden üretilen etanol miktarından %150.36 daha fazla gerçekleşmiş ve teorik etanol veriminin %49.55'ine ulaşılmıştır. Etanol üretimi sonrasında üretilen etanol distilasyon yolu ile buharlaştırılmış, fermantasyon ortamı ve ön arıtmadan kalan sıvı faz birleştirilerek tüm atıklardan metan üretimi amacıyla biyokimyasal metan potansiyeli testi (BMP) yapılmıştır. Maksimum metan üretimi 100°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %0 H₂O₂ konsantrasyonları uygulanan dallı darı numunesinden 363.82 mLCH₄/gUKM olarak elde edilmiştir. Shawnee çeşidi ham dallı darı numunesinin BMP değeri ise 195.50 mLCH₄/gUKM olarak ölçülmüştür. HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen numuneden üretilen metan ham dallı darı numunesinden üretilen metana göre %86.09 artmıştır. Bu artış, HP&HAc ön arıtmanın etkisi ile sıvı faza geçen çözünür organik maddelerden ve etanol fermantasyon ortamında kalan organik maddelerden kaynaklanmaktadır.

Reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc konsantrasyonu ve H₂O₂ konsantrasyonu bağımsız değişkenlerine karşılık HP&HAc ön arıtma sonrasında ölçülen

çİndŞeker, çKOİ, etanol ve BMP bağımlı değişkenleri Design Expert® 7 programına işlenmiş, her bir bağımlı değişken için modelleme yapılmış ve model denklemleri elde edilmiştir. Modeller için gerçekleştirilen ANOVA testleri sonucunda modellerin istatistiksel analizleri yapılmış, elde edilen düşük p değerleri ile modellerin istatistiksel açıdan önemli oldukları belirlenmiş ve en yüksek R^2 değerine sahip olacak şekilde seçilmişlerdir. Bağımlı değişkenlere ait dönüşümler, kullanılan modeller, modellere ait p, R^2 ve Adj- R^2 değerleri Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Bağımlı değişkenlere ait modeller ve modeller için hesaplanan R^2 ve Adj- R^2 değerleri

Bağımlı Değişken	Dönüşüm	Model	p-değeri	R^2	Adj- R^2
çİndŞeker	Karekök	Modifiye Kuadratik (Backward)	<0.0001	0.9695	0.9491
çKOİ	-	Kuadratik	<0.0001	0.9666	0.9535
Etanol	-	Kuadratik	<0.0001	0.8650	0.8125
BMP	Ters	Modifiye Kuadratik (Backward)	<0.0001	0.8508	0.7668

Dalı darı numunesine HP&HAc ön arıtma uygulanmasının ardından etanol ve metan bağımsız değişkeninin optimizasyonunda iki farklı yaklaşım kullanılmıştır. Birinci yaklaşımda; maksimum etanol ve metan üretilmesi için bağımsız değişkenlerden reaksiyon sıcaklığı maksimize edilmiş, reaksiyon süresi, HAc ve H_2O_2 konsantrasyonları kullanılan değer aralığında bırakılmıştır. İkinci yaklaşımda ise minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi göz önünde bulundurularak bağımsız değişkenlerden reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, HAc ve H_2O_2 konsantrasyonları minimize edilmiştir. Her iki yaklaşımda etanol ve metan üretiminin maksimum olması tercih edilmiş ve maksimize edilmiştir. Maksimum biyoyakıt üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulları 100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc ve %2 H_2O_2 konsantrasyonları olarak bulunmuş ve bu koşulda yapılacak ön arıtma deneyinden 4.59 mgçİndŞeker/gUKM, 787.293 mgçKOİ/gUKM, 81.915 mgEtOH/gTKM ve 345.127 mLCH₄/gUKM sonuçlarının elde edileceği modeller tarafından öngörülmüştür. Minimum proses maliyetinde maksimum etanol ve metan üretimi için optimum HP&HAc ön arıtma koşulları ise 50°C reaksiyon sıcaklığı, 6 saat reaksiyon süresi, %1.87 HAc ve %0 H_2O_2 konsantrasyonları olarak önerilmiş ve bu koşulda modeller tarafından 1.48 mgçİndŞeker/gUKM, 457.74 mgçKOİ/gUKM, 26.15 mgEtOH/gTKM ve 358.41 mLCH₄/gUKM sonuçlarının elde edileceği tahmin edilmiştir.

Program tarafından önerilen optimum HP&HAc ön arıtma koşullarında modellerin güvenilirliğini test etmek için validasyon deneyleri yapılmıştır. HP&HAc ön arıtma proses optimizasyonlarında etanol ve BMP modellerinin öngördüğü ve validasyon deneylerinde ölçülen etanol ve BMP sonuçları Çizelge 5.2’de verilmiştir. Maksimum biyoyakıt üretimi için modelin tahmin ettiği değerler ile validasyon deneyi sonucu elde edilen değerler kıyaslandığında etanol ve metan için hata yüzdeleri sırasıyla %1.83 ve %2.95 olarak hesaplanmıştır. Minimum proses maliyetinde maksimum biyoyakıt üretimi için modelin tahmin ettiği değerler ile validasyon deneyi sonucu elde edilen değerler kıyaslandığında ise etanol ve metan için hata yüzdeleri sırasıyla %2.04 ve %4.4 olarak

hesaplanmıştır. Hata miktarlarının düşük olması, elde edilen modellerin güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. Etanol ve BMP validasyon sonuçları incelendiğinde modelin tahminlerine oldukça yakın değerler elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 5.2. HP&HAc ön arıtma proses optimizasyonunda öngörülen ve validasyon deneylerinde ölçülen değerler

Optimizasyon	Maksimum Biyoyakıt Üretimi		Minimum Proses Maliyetinde Maksimum Biyoyakıt Üretimi	
Bağımlı Değişken	Etanol (mgEtOH/gTKM)	BMP (mLCH ₄ /gUKM)	Etanol (mgEtOH/gTKM)	BMP (mLCH ₄ /gUKM)
Modeller Tarafından Tahmin Edilen Değerler	81.92	345.13	26.15	358.41
Validasyon Deneyi Sonunda Ölçülen Değerler	80.41	355.32	25.62	342,63
Hata (%)	1.83	2.95	2.04	4,4

HP&HAc ön arıtmanın dallı darı yüzeyinde meydana getirdiği fiziksel değişimlerin belirlenmesi için TEM ile görüntüleme yapılmıştır. Ham dallı darı numunesinin liflerden oluştuğu ve belirgin geometrik şekillere sahip bir yapıda olduğu görülmüştür. Nispeten zayıf koşullarda uygulanan HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunesinin yüzeyinde pullanma, gözeneklenme ve kabarmalar gözlenmiş ancak yapı çok etkilememiştir. Güçlü koşullarda uygulanan HP&HAc ön arıtma ile muamele edilen dallı darı numunesi yüzeyinin ise tamamen parçalandığı, iç kanalların boşaldığı ve iç kısımlardan dışa doğru hareketlenmeler olduğu gözlenmiştir.

Ham dallı darı ve HP&HAc ön arıtma prosesi ile muamele edilen numunelerin bağ karakterizasyonu Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiştir. FTIR spektrum sonuçlarına göre 100°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %0 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu HP&HAc ön arıtma koşullarında muamele edilen ve maksimum etanol üretilen numune ile 100°C reaksiyon sıcaklığı, 22.9 saat reaksiyon süresi, %2 HAc konsantrasyonu, %2 H₂O₂ konsantrasyonu HP&HAc ön arıtma koşulunda muamele edilen ve maksimum etanol ile metan olmak üzere iki biyoyakıt üretilen numune bağ karakterizasyonunun maksimum deformasyona uğradığı gözlenmiştir. FTIR ile inceleme sonunda elde edilen spektrumlarda HP&HAc ön arıtmanın güçlü koşullarında selüloz, hemiselüloz ve lignini indike eden dalga boylarında ham numuneye göre daha az absorbans değeri elde edilmiştir.

Literatürde enerji bitkisi dallı darı kullanılarak HP&HAc ön arıtma prosesi ile kombine etanol ve metan üretim proseslerinin incelendiği, etanol ve metan üretimi için optimum proses koşullarının belirlendiği ve atık üretilmeden iki biyoyakıt üretiminin incelendiği herhangi bir çalışma bulunmadığından, bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar yapılacak olan sonraki çalışmalarda referans noktası olarak kullanılabilecek değerdedir. Bu tez kapsamında, lignoselülozik biyokütleler için verimli bir proses olan HP&HAc ön arıtmaya yeni bir bakış açısı getirilmiş ve birden fazla biyoyakıtın kombine prosesler ile verimli bir biçimde üretilebileceği gösterilmiştir. Ayrıca önemli bir enerji bitkisi olan dallı darının

karakterizasyonu, etanol potansiyeli ve metan potansiyeli konularında literatüre katkıda bulunulmuştur. Son olarak bu tez kapsamında enerji konusunda dışa bağımlı olan ülkemiz için alternatif bir çıkış yolu olan enerji bitkilerinden biyoyakıt üretimi konusunda teknik ve akademik bilgi sağlanmıştır.



6. KAYNAKLAR

- Adlakha, N., Sawant, S., Anil, A., Lali, A., & Yazdani, S. S. 2012. Specific fusion of β -1,4-endoglucanase and β -1,4-glucosidase enhances cellulolytic activity and helps in channeling of intermediates. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(20), 7447–7454.
- Adler, P. R., Sanderson, M. A., Boateng, A. A., Weimer, P. J. and Jung, H. J. G. 2006. Biomass yield and biofuel quality of switchgrass harvested in fall or spring. *Agronomy Journal*, 98(6), 1518–1525.
- Afanas'ev, I. B. (1989). Superoxide Ion: Chemistry and Biological Implications (Vol. 1). *CRC Press*. 296 p.
- Aghblevor, F. A., Evans, R. J. and Johnson, K. D. 1994. Molecular-beam mass-spectrometric analysis of lignocellulosic materials I . Herbaceous biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 30, 125–144.
- Aita, G. A., Salvi, D. A. and Walker, M. S. 2011. Enzyme hydrolysis and ethanol fermentation of dilute ammonia pretreated energy cane. *Bioresource Technology*, 102(6), 4444–4448.
- Alfani, F., Gallifuoco, A., Saporosi, A., Spera, A. and Cantarella, M. 2000. Comparison of SHF and SSF processes for the bioconversion of steam-explode wheat straw. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 25(4), 184–192.
- Alghoul, M. A., Sulaiman, M. Y., Azmi, B. Z. and Wahab, M. Abd. 2005. Review of materials for solar thermal collectors. *Anti-Corrosion Methods and Materials*, 52(4), 199–206.
- Aandreottola, G. and Foladori, P. 2006. A Review and assessment of emerging technologies for the minimization of excess sludge production in wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 41(9), 1853–1872.
- Ang, T. N., Ngoh, G. C., Seak, A., Chua, M. and Lee, M. G. 2012. Elucidation of the effect of ionic liquid pretreatment on rice husk via structural analyses Elucidation of the effect of ionic liquid pretreatment on rice husk via structural analyses. *Biotechnology for Biofuels*, 5(September), 1–10.
- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M. and Stams, A. J. M. 2011. Biomethanation and Its Potential. In *Methods in Methane Metabolism, Part A* (1st ed., Vol. 494, pp. 327–351). Elsevier Inc.
- Ansanay-galeote, V., Blondin, B., Dequin, S. and Sablayrolles, J. 2001. Stress effect of ethanol on fermentation kinetics by stationary-phase cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Lett.*, 23, 677–681.
- APHA. (2005). Standard Methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC.

- Athmanathan, A., Emery, I. R., Kuczek, T. and Mosier, N. S. 2015. Impact of Temperature, Moisture, and Storage Duration on the Chemical Composition of Switchgrass, Corn Stover, and Sweet Sorghum Bagasse. *Bioenergy Research*, 8(2), 843–856.
- Awasthi, S. R., Prasad, V. and Rangnekar, S. 2014. Enhancement in Power Generation in Hydroelectric Power Plants with Water Conservation- A Case Study, 4(1), 112–120.
- Babujanarthanam, R. and Kavitha, P. 2014. Simultaneous saccharification and fermentation of dilute acid pretreated red algae (*Gelidiella acerosa*) for bioethanol production. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 36(12), 1305–1314.
- Balasundaram, B. and Harrison, S. T. L. 2006. Study of Physical and Biological Factors Involved in the Disruption of *E. coli* by Hydrodynamic Cavitation. *Biotechnology Progress*, 22(3), 907–913.
- Bals, B., Teachworth, L., Dale, B. and Balan, V. 2007. Extraction of proteins from switchgrass using aqueous ammonia within an integrated biorefinery. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 143(2), 187–198.
- Bansal, A., Illukpitiya, P., Singh, S. P. and Tegegne, F. 2013. Economic competitiveness of ethanol production from cellulosic feedstock in tennessee. *Renewable Energy*, 59, 53–57.
- Barakat, A., de Vries, H. and Rouau, X. 2013. Dry fractionation process as an important step in current and future lignocellulose biorefineries: A review. *Bioresource Technology*, 134, 362–373.
- Barros-Rios, J., Romani, A., Peleteiro, S., Garrote, G. and Ordas, B. 2016. Second-generation bioethanol of hydrothermally pretreated stover biomass from maize genotypes. *Biomass and Bioenergy*, 90, 42–49.
- Bartacek, J., Zabranska, J. and Lens, P. N. L. 2007. Developments and constraints in fermentative hydrogen production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 1(3), 201–214.
- Bayer, E. A., Belaich, J.-P., Shoham, Y. and Lamed, R. 2004. The Cellulosomes: Multienzyme Machines for Degradation of Plant Cell Wall Polysaccharides. *Annual Review of Microbiology*, 58(1), 521–554.
- Berlin, A., Balakshin, M., Gilkes, N., Kadla, J., Maximenko, V., Kubo, S. and Saddler, J. 2006. Inhibition of cellulase, xylanase and β -glucosidase activities by softwood lignin preparations. *Journal of Biotechnology*, 125(2), 198–209.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S. and Escaleira, L. A. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977.
- Bhalla, A., Bansal, N., Stoklosa, R. J., Fountain, M., Ralph, J., Hodge, D. B. and Hegg, E. L. 2016. Effective alkaline metal-catalyzed oxidative delignification of hybrid poplar. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 1–10.

- Bitra, V. S. P., Womac, A. R., Igathinathane, C., Miu, P. I., Yang, Y. T., Smith, D. R., Chevanan, N. and Sokhansanj, S. 2009. Direct measures of mechanical energy for knife mill size reduction of switchgrass, wheat straw, and corn stover. *Bioresource Technology*, 100(24), 6578–6585.
- Blaschke, T., Biberacher, M., Gadocha, S. and Schardinger, I. 2013. 'Energy landscapes': Meeting energy demands and human aspirations. *Biomass and Bioenergy*, 55, 3–16.
- Bodner, G. M. 1986. Metabolism Part I: Glycolysis for the Embden-Meyerhoff pathway. *Journal of Chemical Education*, 63(7), 566.
- Bollók, M., Réczey, K. and Zacchi, G. 2000. Simultaneous Saccharification and Fermentation of Steam-Pretreated Spruce to Ethanol. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 84–86(1–9), 69–80.
- Bon, E. P. S. and Ferrara, M. A. 2010. Bioethanol Production via Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Biomass. *Biotechnology*, (October 2007), 1–11.
- Bossmann, S. H., Oliveros, E., Göb, S., Siegwart, S., Dahlen, E. P., Payawan, L. and Braun, A. M. 1998. New evidence against hydroxyl radicals as reactive intermediates in the thermal and photochemically enhanced fenton reactions. *Journal of Physical Chemistry A*, 102(28), 5542–5550.
- Box, E. P. G. and Draper, N. N. 2007. *Response Surfaces, Mixtures and Ridge Analyses: Response Surfaces, Mixtures and Ridge Analyses*. *Technometrics* (Vol. 49).
- BP. 2017. BP Statistical Review of World Energy 2017. *British Petroleum*, (66), 1–52.
- Bragatto, J., Segato, F. and Squina, F. M. 2013. Production of xylooligosaccharides (XOS) from delignified sugarcane bagasse by peroxide-HAc process using recombinant xylanase from *Bacillus subtilis*. *Industrial Crops and Products*, 51, 123–129.
- Brandt, A., Gräsvik, J., Halletta, J. P. and Welton, T. 2013. Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *Green Chemistry*, 9262(15), 550–583.
- Brenner, K., You, L. and Arnold, F. H. 2008. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. *Trends in Biotechnology*, 26(9), 483–489.
- Bridoux, G., Dhulster, P. and Manem, J. 1994. Analyse des graisses dans les stations d'épuration. In *Techniques Sciences et Méthodes 5* (pp. 257–262).
- Buffiere, P., Loisel, D., Bernet, N. and Delgenes, J. P. 2006. Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties. *Water Science and Technology*, 53(8), 233–241.
- Butkutė, B., Lemežienė, N., Cesevičienė, J., Liatukas, Ž. and Dabkevičienė, G. 2013. Carbohydrate and lignin partitioning in switchgrass *Panicum virgatum* biomass as a bioenergy feedstock. *Zemdirbyste-Agriculture*, 100(3), 251–260.
- Cadoche, L. and López, G. D. 1989. Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes. *Biological Wastes*, 30(2), 153–157.

- Camacho-Ruiz, L., Pérez-Rosés, R. and Pérez, N. 2003. Factors Affecting the Growth of *Saccharomyces Cerevisiae* in Batch Culture and in Solid Sate Fermentation. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2(5), 531–542.
- Camesasca, L., Ramírez, M. B., Guigou, M., Ferrari, M. D. and Lareo, C. 2015. Evaluation of dilute acid and alkaline pretreatments, enzymatic hydrolysis and fermentation of napiergrass for fuel ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 74, 193–201.
- Canabarro, N. I., Alessio, C., Foletto, E. L., Kuhn, R. C., Priamo, W. L. and Mazutti, M. A. 2017. Ethanol production by solid-state saccharification and fermentation in a packed-bed bioreactor. *Renewable Energy*, 102, 9–14.
- Capecchi, L., Galbe, M., Wallberg, O., Mattarelli, P. and Barbanti, L. 2016. Combined ethanol and methane production from switchgrass (*Panicum virgatum* L.) impregnated with lime prior to steam explosion. *Biomass and Bioenergy*, 90, 22–31.
- Carpenter, D. L., Bain, R. L., Davis, R. E., Dutta, A., Feik, C. J., Gaston, K. R., Jablonski, W., Philips, S.D. and Nimlos, M. R. 2010. Pilot-scale gasification of corn stover, switchgrass, wheat straw, and wood: 1. Parametric study and comparison with literature. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49(4), 1859–1871.
- Carrère, H., Sialve, B. and Bernet, N. 2009. Improving pig manure conversion into biogas by thermal and thermo-chemical pretreatments. *Bioresource Technology*, 100(15), 3690–3694.
- Carvalho, F., Duarte, L. C., Lopes, S., Parajó, J. C. and Pereira, H. 2005. Evaluation of the detoxification of brewery 's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* CCM 941, 40, 1215–1223.
- Casey, E., Sedlak, M., Ho, N. W. Y. and Mosier, N. S. 2010. Effect of acetic acid and pH on the cofermentation of glucose and xylose to ethanol by a genetically engineered strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 10(4), 385–393.
- Casler, M. D., Vogel, K. P., Taliaferro, C. M., Ehlke, N. J., Berdahl, J. D., Brummer, E. C., Kallenbach, E.C., West, C.P. and Mitchell, R. B. 2007. Latitudinal and longitudinal adaptation of switchgrass populations. *Crop Science*, 47(6), 2249–2260.
- Çaylak, B. and Vardar Sukan, F. 1998. Comparison of Different Production Processes for Bioethanol. *Turk J Chem*, 22, 351–359.
- Chandrasekaran, S. R., Hopke, P. K., Rector, L., Allen, G. and Lin, L. 2012. Chemical composition of wood chips and wood pellets. *Energy and Fuels*, 26(8), 4932–4937.
- Chang, W. R., Hwang, J. J. and Wu, W. 2017. Environmental impact and sustainability study on biofuels for transportation applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 67, 277–288.

- Chapla, D., Parikh, B. S., Liu, L. Z., Cotta, M. A. and Kumar, A. K. 2015. Enhanced cellulosic ethanol production from mild-alkali pretreated rice straw in SSF using *Clavispora NRRL Y-50464*. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 9(4), 381–388.
- Chen, T., Liu, R. and Scott, N. R. 2016. Characterization of energy carriers obtained from the pyrolysis of white ash, switchgrass and corn stover - Biochar, syngas and bio-oil. *Fuel Processing Technology*, 142, 124–134.
- Cheung, H., Tanke, R. S. and Torrence, G. P. 2000. Acetic Acid. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 1–30.
- Chum, H. L., Douglas, L. J., Feinberg, D. A. and Schroeder, H. A. 1985. Evaluation of pretreatments of biomass for enzymatic hydrolysis of cellulose. *Google Patents*, 1–64.
- CIA. (2016). The CIA World Factbook.
- Coughlan, M. P. and Ljungdahl, L. G. 1988. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems. *Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation*, 11–30.
- Crawford, R. L. 1981. Lignin biodegradation and transformation. John Wiley & Sons, New York.
- D'Aquino, R. 2007. Cellulosic ethanol - Tomorrow's sustainable energy source. *Chemical Engineering Progress*, 103(3), 8–10.
- da Cruz, H. S., Batistote, M. and Ernandes, J. R. 2003. Effect of Sugar Catabolite Repression in Correlation with the Structural Complexity of the Nitrogen Source on Yeast Growth and Fermentation. *Journal Of The Institute Of Brewing*, 109(4), 349–355.
- Da Silva Perez, D., Dupont, C., Guillemain, A., Jacob, S., Labalette, F., Briand, S., ... Commandre, J. M. 2015. Characterisation of the most representative agricultural and forestry biomasses in france for gasification. *Waste and Biomass Valorization*, 6(4), 515–526.
- de Souza, A. P., Leite, D. C. C., Pattathil, S., Hahn, M. G. and Buckeridge, M. S. 2013. Composition and Structure of Sugarcane Cell Wall Polysaccharides: Implications for Second-Generation Bioethanol Production. *Bioenergy Research*, 6(2), 564–579.
- Demirbaş, A. 2004. Ethanol from Cellulosic Biomass Resources. *International Journal of Green Energy*, 1(1), 79–87.
- Dien, B. S., Cotta, M. A. and Jeffries, T. W. 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production: Current status. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(3), 258–266.
- Donev, T. and Uzunova-Doneva, T. 2002. Influence of the growth conditions on the resistance of *saccharomyces cerevisiae*, strain nbimcc 181, by freeze-drying. *Journal of Culture Collections*, 3, 72–77.

- Dougherty, M. J., Tran, H. M., Stavila, V., Knierim, B., George, A., Auer, M., ... Hadi, M. Z. 2014. Cellulosic biomass pretreatment and sugar yields as a function of biomass particle size. *PLoS ONE*, 9(6).
- Dowe, N. and Mcmillan, J. 2008. SSF Experimental Protocols — Lignocellulosic Biomass Hydrolysis and Fermentation Laboratory Analytical Procedure (LAP) SSF Experimental Protocols — Lignocellulosic Biomass Hydrolysis and Fermentation Laboratory Analytical Pro. *Renewable Energy*, (10/30/2001), 19.
- Dreywood, R. 1946. Qualitative test for carbohydrate material. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 18, p. 199.
- Duan, X., Zhang, C., Ju, X., Li, Q., Chen, S., Wang, J. and Liu, Z. 2013. Effect of lignocellulosic composition and structure on the bioethanol production from different poplar lines. *Bioresource Technology*, 140, 363–367.
- Eberhart, S. a. and Newell, L. C. 1959. Variation in Domestic Collections of Switchgrass, *Panicum virgatum* L1. *Agronomy Journal*, 51(10), 613.
- Ebrahimi, M., Caparanga, A. R., Ordone, E. E. and Villaflores, O. B. 2017. Evaluation of organosolv pretreatment on the enzymatic digestibility of coconut coir fibers and bioethanol production via simultaneous saccharification and fermentation. *Renewable Energy*, 109, 41–48.
- Eggeman, T. and Elander, R. T. 2005. Process and economic analysis of pretreatment technologies. *Bioresource Technology*, 96(18 SPEC. ISS.), 2019–2025.
- Ekama, G. A., Sötemann, S. W. and Wentzel, M. C. 2007. Biodegradability of activated sludge organics under anaerobic conditions. *Water Research*, 41(1), 244–252.
- Ergun, M. and Ferda Mutlu, S. 2000. Application of a statistical technique to the production of ethanol from sugar beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*, 73(3), 251–255.
- Esteghlalian, A., Hashimoto, A. G., Fenske, J. J. and Penner, M. H. 1997. Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. *Bioresource Technology*, 59(2–3), 129–136.
- Fahmi, R., Bridgwater, A. V., Darvell, L. I., Jones, J. M., Yates, N., Thain, S. and Donnison, I. S. 2007. The effect of alkali metals on combustion and pyrolysis of *Lolium* and *Festuca* grasses, switchgrass and willow. *Fuel*, 86(10–11), 1560–1569.
- Fenton, H. J. H. 1894. Oxidation of Tartric acid in presence of Iron. *J. Chem. Soc. Trans.*, 65, 899–910.
- Fernandes, M. C., Ferro, M. D., Paulino, A. F. C., Mendes, J. A. S., Gravitis, J., Evtuguin, D. V. and Xavier, A. M. R. B. 2015. Enzymatic saccharification and bioethanol production from *Cynara cardunculus* pretreated by steam explosion. *Bioresource Technology*, 186, 309–315.
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T. and Falkowski, P. 1998. Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281(5374), 237–240.

- Fockink, D. H., Maceno, M. A. C. and Ramos, L. P. 2015. Production of cellulosic ethanol from cotton processing residues after pretreatment with dilute sodium hydroxide and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 187, 91–96.
- Franklin, G. L. 1937. Permanent preparations of macerated wood fibers. *Tropical Woods*, 49, 21–22.
- Fransen, S. C., Collins, H. P. and Boydston, R. A. 2006. Perennial warm-season grasses for biofuels. *Sciences-New York*, University of California, America.
- Frigon, J. C., Mehta, P. and Guiot, S. R. 2012. Impact of mechanical, chemical and enzymatic pre-treatments on the methane yield from the anaerobic digestion of switchgrass. *Biomass and Bioenergy*, 36, 1–11.
- Fu, D. and Mazza, G. 2011. Optimization of processing conditions for the pretreatment of wheat straw using aqueous ionic liquid. *Bioresource Technology*, 102(17), 8003–8010.
- Fu, S. F., Wang, F., Yuan, X. Z., Yang, Z. M., Luo, S. J., Wang, C. S. and Guo, R. B. 2015. The thermophilic (55°C) microaerobic pretreatment of corn straw for anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 175, 203–208.
- Galbe, M. and Zacchi, G. 2002. A review of the production of ethanol from softwood. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(6), 618–628.
- Gáspár, M., Kálmán, G. and Réczey, K. 2007. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production. *Process Biochemistry*, 42(7), 1135–1139.
- Gebhart, D. L., Johnson, H. B., Mayeux, H. S. and Polley, H. W. 1994. The CRP increases soil organic carbon. *Journal of Soil and Water Conservation*, 49(5), 488–492.
- Geng, A., Xin, F. and Ip, J. yu. 2012. Ethanol production from horticultural waste treated by a modified organosolv method. *Bioresource Technology*, 104, 715–721.
- Gerakines, P. A., Schutte, W. A., Greenberg, J. M. and van Dishoeck, E. F. 1995. The infrared band strengths of H₂O, CO and CO₂ in laboratory simulations of astrophysical ice mixtures. *Astronomy & Astrophysics*, 296, 810–818.
- Gökgöl, S. 2016. Sera atıklarından metan üretim veriminin artırılması için alkali hidrojen peroksit (AHP) ön arıtma prosesinin optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya.
- Gokulakumar, B. and Narayanaswamy, R. 2008. Fourier Transform – Infrared Spectra (FT-IR) Analysis of Root Rot Disease in Sesame (*Sesamum Indicum*). *Romanian Journal of Biophysics*, 18(3), 217–223.
- Goldstein, I. S. and Carolina, N. 1981. Organic chemicals from biomass. *Acta Biotechnologica*, 2(2), 162–162.
- Grigatti, M., Barbanti, L., Pritoni, G. and Venturi, G. 2004. Comparison of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) genotypes as potential energy crop. *2nd World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection*, Rome, Italy.
- Guerriero, G., Hausman, J. F., Strauss, J., Ertan, H. and Siddiqui, K. S. 2016. Lignocellulosic biomass: Biosynthesis, degradation, and industrial utilization. *Engineering in Life Sciences*, 16(1), 1–16.

- Günter, R. 2012. Vinyl Esters. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 37, 119–126.
- Gustaaf, G., Jürgen, G. and Sylvia, J. 2012. Hydrogen Peroxide. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 18, 393–427.
- Hamelinck, C. N., Van Hooijdonk, G. and Faaij, A. P. C. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass and Bioenergy*, 28(4), 384–410.
- Hattori, S. 2008. Syntrophic Acetate-Oxidizing Microbes in Methanogenic Environments. *Microbes and Environments*, 23(2), 118–127.
- Heidrich, E. S., Curtis, T. P. and Dolfing, J. 2011. Determination of the internal chemical energy of wastewater. *Environmental Science and Technology*, 45(2), 827–832.
- Held, H., Rengstl, A. and Mayer, D. 2003. Acetic Anhydride and Mixed Fatty Acid Anhydrides. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 8(1938), 255–271.
- HLPE. (2015). HLPE Report #9 - Water for food security and nutrition, (May).
- Holmes, D. E. and Smith, J. A. 2016. Biologically Produced Methane as a Renewable Energy Source. In *Advances in Applied Microbiology*, Vol. 97, pp. 1–61.
- Holtzapple, M. T., Jun, J. H., Ashok, G., Patibandla, S. L. and Dale, B. E. 1991. The ammonia freeze explosion (AFEX) process - A practical lignocellulose pretreatment. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 28–29(1), 59–74.
- Hsu, C. L., Chang, K. S., Lai, M. Z., Chang, T. C., Chang, Y. H. and Jang, H. Der. 2011. Pretreatment and hydrolysis of cellulosic agricultural wastes with a cellulase-producing *Streptomyces* for bioethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 1878–1884.
- Hsu, T. C., Guo, G. L., Chen, W. H. and Hwang, W. S. 2010. Effect of dilute acid pretreatment of rice straw on structural properties and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 101(13), 4907–4913.
- Hu, G., Cateto, C., Pu, Y., Samuel, R. and Ragauskas, A. J. 2012. Structural characterization of switchgrass lignin after ethanol organosolv pretreatment. *Energy and Fuels*, 26(1), 740–745.
- Hu, Z., Foston, M. B. and Ragauskas, A. J. 2011. Biomass characterization of morphological portions of alamo switchgrass. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7765–7772.
- Hultquist, S. J., Vogel, K. P., Lee, D. J., Arumuganathan, K. and Kaeppler, S. 1996. Chloroplast DNA and nuclear DNA content variations among cultivars of switchgrass, *Panicum virgatum* L. *Crop Science*, 36, 1049–1052.
- Imam, T. and Capareda, S. 2012. Characterization of bio-oil, syn-gas and bio-char from switchgrass pyrolysis at various temperatures. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 93, 170–177.
- Imman, S., Arnthong, J., Burapatana, V., Champreda, V. and Laosiripojana, N. 2015. Fractionation of rice straw by a single-step solvothermal process: Effects of solvents, acid promoters, and microwave treatment. *Renewable Energy*, 83, 663–673.

- Ingram, L. O., Gomez, P. F., Lai, X., Moniruzzaman, M., Wood, B. E., Yomano, L. P. and York, S. W. 1998. Metabolic engineering of bacteria for ethanol production. *Biotechnology and Bioengineering*, 58(2–3), 204–214.
- International Energy Agency. 2012. World Energy Outlook 2012.
- Irmak, S., Meryemoglu, B., Sandip, A., Subbiah, J., Mitchell, R. B. and Sarath, G. 2018. Microwave pretreatment effects on switchgrass and miscanthus solubilization in subcritical water and hydrolysate utilization for hydrogen production. *Biomass and Bioenergy*, 108(October 2017), 48–54.
- Jackowiak, D., Frigon, J. C., Ribeiro, T., Pauss, A. and Guiot, S. 2011. Enhancing solubilisation and methane production kinetic of switchgrass by microwave pretreatment. *Bioresource Technology*, 102(3), 3535–3540.
- Jensen, J., Morinelly, J., Aglan, A., Mix, A. and Shonnard, D. R. 2008. Kinetic characterization of biomass dilute sulfuric acid hydrolysis: Mixtures of hardwoods, softwood, and switchgrass. *AIChE Journal*, 54(6), 1637–1645.
- Johnson, E. A. and Echavarri-Erasun, C. 2011. *Yeast biotechnology. The Yeasts* (Vol. 1). Elsevier B.V.
- Kandasamy, M., Hamawand, I., Bowtell, L., Seneweera, S., Chakrabarty, S., Yusaf, T., Shakoore, Z., Algayyim, S. and Eberhard, F. 2017. Investigation of ethanol production potential from lignocellulosic material without enzymatic hydrolysis using the ultrasound technique. *Energies*, 10(1).
- Kang, K. E., Park, D. H. and Jeong, G. T. 2013. Effects of inorganic salts on pretreatment of Miscanthus straw. *Bioresource Technology*, 132, 160–165.
- Keshav, P. K., Naseeruddin, S. and Rao, L. V. 2016. Improved enzymatic saccharification of steam exploded cotton stalk using alkaline extraction and fermentation of cellulosic sugars into ethanol. *Bioresource Technology*, 214, 363–370.
- Keshwani, D. R. and Cheng, J. J. 2009. Switchgrass for bioethanol and other value-added applications: A review. *Bioresource Technology*.
- Kharas, H. 2017. Whe Unprecedented Expansion of the Global Middle Class An Update, (February), 1–2.
- Kim, S. M., Guo, J., Kwak, S., Jin, Y. S., Lee, D. K. and Singh, V. 2015. Effects of genetic variation and growing condition of prairie cordgrass on feedstock composition and ethanol yield. *Bioresource Technology*, 183, 70–77.
- Klein, M., Griess, O., Pulidindi, I. N., Perkasi, N. and Gedanken, A. 2016. Bioethanol production from Ficus religiosa leaves using microwave irradiation. *Journal of Environmental Management*, 177, 20–25.
- Kuhad, R. C., Gupta, R., Khara, Y. P. and Singh, A. 2010. Bioethanol production from Lantana camara (red sage): Pretreatment, saccharification and fermentation. *Bioresource Technology*, 101(21), 8348–8354.
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J. and Stroeve, P. 2011. Pulsed electric field pretreatment of switchgrass and wood chip species for biofuel production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 50(19), 10996–11001.

- Kumar, R. and Wyman, C. E. 2009. Does change in accessibility with conversion depend on both the substrate and pretreatment technology? *Bioresource Technology*, 100(18), 4193–4202.
- Lay, T. and Buffett, B. 2008. Core – mantle boundary heat flow. *Nature Geoscience*, 1, 13–15.
- Le Berre, C., Serp, P., Kalck, P. and Torrence, G. P. 2014. Acetic Acid. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 1–34.
- Leite, R. S. R., Alves-Prado, H. F., Cabral, H., Pagnocca, F. C., Gomes, E. and Da-Silva, R. 2008. Production and characteristics comparison of crude β -glucosidases produced by microorganisms *Thermoascus aurantiacus* e *Aureobasidium pullulans* in agricultural wastes. *Enzyme and Microbial Technology*, 43(6), 391–395.
- Li, J., Lin, J., Zhou, P., Wu, K., Liu, H., Xiong, C., Gong, Y., Xiao, W. and Liu, Z. 2014. One-pot simultaneous saccharification and fermentation: A preliminary study of a novel configuration for cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, 161, 171–178.
- Li, Y. 2014. Studies on the cellulose hydrolysis and hemicellulose monosaccharide degradation in concentrated hydrochloric acid, Yüksek Lisans Tezi, University of Ottawa, Ottawa, Canada.
- Lide, D. R., Haynes, W. M. and Bruno, T. J. 2006. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press.
- Lin, Y. and Tanaka, S. 2006. Ethanol fermentation from biomass resources: Current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(6), 627–642.
- Litescu, S.-C., Teodor, E. D., Truica, G.-I., Tach, A. and Radu, G.-L. 2012. Fourier Transform Infrared Spectroscopy – Useful Analytical Tool for Non-Destructive Analysis. *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*, 353–368.
- Liu, L., Sun, J., Cai, C., Wang, S., Pei, H. and Zhang, J. 2009. Corn stover pretreatment by inorganic salts and its effects on hemicellulose and cellulose degradation. *Bioresource Technology*, 100(23), 5865–5871.
- Lowry, H. O., Rosebrough, J. N., Farr, L. and Randall, R. 1951. Protein measurement with the Folin reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 264–675.
- Lozanovski, A., Lindner, J. P. and Bos, U. 2014. Environmental evaluation and comparison of selected industrial scale biomethane production facilities across Europe. *International Journal of Life Cycle Assess*, (19), 1823–1832.
- Lynd, L. R., Laser, M. S., Bransby, D., Dale, B. E., Davison, B., Hamilton, R., Himmel, M., Keller, M., McMillan, J. D., Sheehan, J. and Wyman, C. E. 2008. How biotech can transform biofuels. *Nature Biotechnology*, 26(2), 169–172.
- Lynd, L. R., Van Zyl, W. H., McBride, J. E. and Laser, M. 2005. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: An update. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(5), 577–583.

- Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H. and Pretorius, I. S. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(4), 739–739.
- Ma, S., Wang, H., Wang, Y., Bu, H. and Bai, J. 2011. Bio-hydrogen production from cornstalk wastes by orthogonal design method. *Renewable Energy*, 36(2), 709–713.
- Mabee, W. E., Gregg, D. J., Arato, C., Berlin, A., Bura, R., Gilkes, N., Mirochnik, O., Pan, X., Pye, E. K. and Saddler, J. N. 2006. Updates on softwood-to-ethanol process development. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 129(1–3), 55–70.
- Maciel, S., Pereira, B., Martins, M., Godoy, M., Borges, A. B., Pucci, C. R., ... Torres, G. 2014. Influence of Temperature on the Bleaching Efficacy of Hydrogen Peroxide. *Journal of Dental & Orofacial Research*, 10(1), 6–11.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V and Clark, D. P. 2008. Brock Biology of microorganisms 12th edn. *International Microbiology*, 11(February), 65–73.
- Makarieva, A. M., Gorshkov, V. G., Sheil, D., Nobre, A. D. and Li, B. L. 2013. Where do winds come from? A new theory on how water vapor condensation influences atmospheric pressure and dynamics. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 13(2), 1039–1056.
- Malveda, M. and Funada, C. 2003. Chemicals Economic Handbook. *SRI International*, 602.5000.
- Markin, V. I., Bazarnova, N. G., Kolosov, P. V., Cheprasova, M. Y. and Moskova, Y. S. 2013. Carboxymethylation of pine wood subjected to microwave irradiation after pretreatment in an “acetic acid-hydrogen peroxide-water-catalyst” system. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 39(7), 699–703.
- Martin, M. and Grossmann, I. E. 2015. Optimal simultaneous production of biodiesel (FAEE) and bioethanol from switchgrass. *Industrial and Engineering Chemistry*
- Martín, M. and Grossmann, I. E. 2016. Optimal Integration of Algae-Switchgrass Facility for the Production of Methanol and Biodiesel. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(10), 5651–5658.
- Martins, B. D. A., do Prado, H. F. A., Leite, R. S. R., Ferreira, H., de Souza, M. M. M., Da Silva, R. and Gomes, E. 2011. Agroindustrial Wastes as Substrates for Microbial Enzymes Production and Source of Sugar for Bioethanol Production. *Integrated Waste Management - Volume II, II*.
- Massé, D., Gilbert, Y., Savoie, P., Bélanger, G., Parent, G. and Babineau, D. 2011. Methane yield from switchgrass and reed canarygrass grown in Eastern Canada. *Bioresource Technology*, 102(22), 10286–10292.
- Matthew, H., Ashley, O., Brian, K., Alisa, E. and Benjamin, J. S. 2005. *Wine Making* 101.
- Mclaughlin, S. B. and Kszos, L. A. 2005. Development of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) as a bioenergy feedstock in the United States, *Biomass and Bioenergy*, 28(6), 515–535.

- Miles, A. A., Misra, S. S. and Irwin, J. O. 1938. The estimation of the bactericidal power of the blood. *Journal of Hygiene*, 38(6), 732–749.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31(3), 426–428.
- Miyamoto, K. 1997. Renewable Biological Systems for Alternative Sustainable Energy Production. *FAO Agricultural Service Bulletin* - 128.
- Mohamed, B. A., Kim, C. S., Ellis, N. and Bi, X. 2016. Microwave-assisted catalytic pyrolysis of switchgrass for improving bio-oil and biochar properties. *Bioresource Technology*, 201, 121–132.
- Mosier, N., Hendrickson, R., Ho, N., Sedlak, M. and Ladisch, M. R. 2005. Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology*, 96(18 SPEC. ISS.), 1986–1993.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96(6), 673–686.
- Motasemi, F., Afzal, M. T., Salema, A. A., Mouris, J. and Hutcheon, R. M. 2014. Microwave dielectric characterization of switchgrass for bioenergy and biofuel. *Fuel*, 124, 151–157.
- Mupondwa, E., Li, X., Tabil, L., Sokhansanj, S. and Adapa, P. 2017. Status of Canada's lignocellulosic ethanol: Part I: Pretreatment technologies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 72(October 2015), 178–190.
- Naik, S. N., Goud, V. V., Rout, P. K. and Dalai, A. K. 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 578–597.
- Najafpour, G., Younesi, H. and Ku Ismail, K. S. 2004. Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*, 92(3).
- Narendranath, N. V., Thomas, K. C. and Ingledew, W. M. 2001. Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 26(3), 171–177.
- Navarro, A. R., Del, M. and Rubio, M. C. 2000. Bio-concentration of vinasse from the alcoholic fermentation of sugar cane molasses. *Waste Management*, 20(7), 581–585.
- Neto, B. B., Scarminio, I. S. and Bruns, R. E. 2005. *Statistical Design –Chemometrics. Data Handling in Science and Technology* (Vol. 25).
- Özcan, M. 2016. Estimation of Turkey's GHG emissions from electricity generation by fuel types. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 53, 832–840.
- Palmqvist, E. and Hahn-Hägerdal, B. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: Inhibition and detoxification. *Bioresource Technology*, 74(1), 17–24.
- Palmqvist, E. and Hahn-Hägerdal, B. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, 74(1), 25–33.

- Pan, X., Arato, C., Gilkes, N., Gregg, D., Mabee, W., Pye, K., Xiao, Z., Zhang, X. and Saddler, J. 2005. Biorefining of softwoods using ethanol organosolv pulping: Preliminary evaluation of process streams for manufacture of fuel-grade ethanol and co-products. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(4), 473–481.
- Papa, G., Rodriguez, S., George, A., Schievano, A., Orzi, V., Sale, K. L., Singh, S., Adani, F. and Simmons, B. A. 2015. Comparison of different pretreatments for the production of bioethanol and biomethane from corn stover and switchgrass. *Bioresource Technology*, 183, 101–110.
- Parthasarathi, R., Bellesia, G., Chundawat, S. P. S., Dale, B. E., Langan, P. and Gnanakaran, S. 2011. Insights into hydrogen bonding and stacking interactions in cellulose. *Journal of Physical Chemistry A*, 115(49), 14191–14202.
- Pataro, G., Lisi, M. De, Donsì, G. and Ferrari, G. (2014). Microbial inactivation of *E. coli* cells by a combined PEF–HPCD treatment in a continuous flow system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 102–109.
- Pérez, J., Muñoz-Dorado, J., De La Rubia, T. and Martínez, J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview. *International Microbiology*, 5(2), 53–63.
- Pessani, N. K., Atiyeh, H. K., Wilkins, M. R., Bellmer, D. D. and Banat, I. M. 2011. Simultaneous saccharification and fermentation of Kanlow switchgrass by thermotolerant *Kluyveromyces marxianus* IMB3: The effect of enzyme loading, temperature and higher solid loadings. *Bioresource Technology*, 102(22), 10618–10624.
- Petri, B. G., Watts, R. J., Teel, A. L., Huling, S. G. and Brown, R. A. 2011. *In Situ Chemical Oxidation for Groundwater Remediation* (Vol. 3).
- Pinal, L., Cedeño, M., Gutiérrez, H. and Alvarez-Jacobs, J. 1997. Fermentation parameters influencing higher alcohol production in the tequila process. *Biotechnology Letters*, 19(1), 45–47.
- Pizzutilo, E., Kasian, O., Choi, C. H., Cherevko, S., Hutchings, G. J., Mayrhofer, K. J. J. and Freakley, S. J. 2017. Electrocatalytic synthesis of hydrogen peroxide on Au-Pd nanoparticles: From fundamentals to continuous production. *Chemical Physics Letters*, 683, 436–442.
- Porter, C. L. 1966. An Analysis of Variation Between Upland and Lowland Switchgrass, *Panicum Virgatum* L., in Central Oklahoma. *Ecology*, 47(6), 980–992.
- Puri, V. P. 1984. Effect of crystallinity and degree of polymerization of cellulose on enzymatic saccharification. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(10), 1219–1222.
- REN21. 2017. *Renewables 2017: global status report. Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 72).
- RFA. (2016). *Fueling a High Octane Future*.
- Rodionova, M., Poudyal, R., Tiwari, I., Voloshin, R., Zharmukhamedov, S., Nam, H.G., Zayadan, B. K., Bruce, B. D., Hou, H. J. M. and Allakhverdiev, S. 2017. Biofuel production: Challenges and opportunities, *International Journal of Hydrogen Energy*, 42, 8450–8461.

- Rohstoffe, F. N., Bioenergieberatung, R., Biomasseforschungszentrum, D., Biogas, F., Heinrich, J. and Potsdam-bornim, A. 2010. Biogas Basisdaten Deutschland. *Agrartechnik*.
- Rosales-calderon, O., Trajano, H. L. and Du, S. J. B. 2014. Stability of commercial glucanase and β -glucosidase preparations under hydrolysis conditions, *PeerJ*, 2, 402.
- Roukas, T. 1996. Ethanol production from non-sterilized beet molasses by free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells using fed-batch culture. *Journal of Food Engineering*, 27(1), 87–96.
- Rustagi, J. S. 1994. *Optimization Techniques in Statistics. Optimization Techniques in Statistics* (Vol. i).
- Sabuncu, S. and Çulha, M. 2015. Temperature-dependent breakdown of hydrogen peroxide-treated ZnO and TiO₂ nanoparticle agglomerates. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6(1), 1897–1903.
- Sadaka, S., Sharara, M. A., Ashworth, A., Keyser, P., Allen, F. and Wright, A. 2014. Characterization of biochar from switchgrass carbonization. *Energies*, 7(2), 548–567.
- Saha, B. C. 2003. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 279–291.
- Saha, B. C., Qureshi, N., Kennedy, G. J. and Cotta, M. A. 2016. Biological pretreatment of corn stover with white-rot fungus for improved enzymatic hydrolysis. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 109, 29–35.
- Saha, B., Iten, L., Cotta, M. and Wu, Y. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol☆. *Process Biochemistry*, 40(12), 3693–3700.
- Saharan, V. K., Rizwani, M. A., Malani, A. A. and Pandit, A. B. 2013. Effect of geometry of hydrodynamically cavitating device on degradation of orange-G. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 345–353.
- Sahoo, S., Chakraborti, C. K., Behera, P. K. and Mishra, S. C. 2012. FTIR and Raman Spectroscopic Investigations of a Norfloxacin/Carbopol934 Polymeric Suspension. *Journal of Young Pharmacists*, 4(3), 138–145.
- Saikia, B. J. and Parthasarathy, G. 2010. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Characterization of Kaolinite from Assam and Meghalaya, Northeastern India. *Journal of Modern Physics*, 01(04), 206–210.
- Samuel, R., Pu, Y., Raman, B. and Ragauskas, A. J. 2010. Structural characterization and comparison of switchgrass ball-milled lignin before and after dilute acid pretreatment. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(1), 62–74.
- Sánchez, C. 2009. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27(2), 185–194.
- Sánchez, Ó. J. and Cardona, C. A. 2008. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*, 99(13), 5270–5295.

- Sanchez, S., Bravo, V., Castro, E., Moya, A. J. and Camacho, F. 1999. Comparative study of the fermentation of D-glucose / D-xylose mixtures with *Pachysolen tannophilus* and *Candida shehatae*, *Bioprocess Engineering*, 21(6), 525-532.
- Šarc, A., Stepišnik-Perdih, T., Petkovšek, M. and Dular, M. 2017. The issue of cavitation number value in studies of water treatment by hydrodynamic cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 51–59.
- Sarkar, M., Kumar, A., Tumuluru, J. S., Patil, K. N. and Bellmer, D. D. 2014. Gasification performance of switchgrass pretreated with torrefaction and densification. *Applied Energy*, 127, 194–201.
- Schnürer, A. 2016. Biogas Production : Microbiology and Technology. *Adv Biochem Eng Biotechnol.*
- Secter, B. 2006. Plentiful switch grass emerges as breakthrough biofuel. *San Diego Union Tribute*.
- Self, S. J., Reddy, B. V. and Rosen, M. A. 2013. Geothermal heat pump systems: Status review and comparison with other heating options. *Applied Energy*, 101, 341–348.
- Serapiglia, M. J., Dien, B. S., Boateng, A. A. and Casler, M. D. 2017. Impact of Harvest Time and Switchgrass Cultivar on Sugar Release Through Enzymatic Hydrolysis. *Bioenergy Research*, 10(2), 377–387.
- Shafiq, K., Ali, S. and Ikram-ul-Haq. 2003. Time Course Study for Yeast Invertase Production by Submerged Fermentation. *Journal of Biological Sciences*, 3(11), 984–988.
- Shao, Q., Chundawat, S. P., Krishnan, C., Bals, B., Sousa, L. D. C., Thelen, K. D., ... Balan, V. 2010. Enzymatic digestibility and ethanol fermentability of AFEX-treated starch-rich lignocellulosics such as corn silage and whole corn plant. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 12.
- Sharma, H. K., Xu, C. and Qin, W. 2017. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts: An Overview. *Waste and Biomass Valorization*, 0(0), 1–17.
- Sheets, J. P., Ge, X. and Li, Y. 2015. Effect of limited air exposure and comparative performance between thermophilic and mesophilic solid-state anaerobic digestion of switchgrass. *Bioresource Technology*, 180, 296–303.
- Slizer, T. 2007. *Panicum virgatum* L., Switchgrass, prairie switchgrass, tall panic grass. *Rangeland Ecosystems & Plants Fact Sheets University of Saskatchewan Department of Plant Sciences*, Canada.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R. and Scarlata, C. 2006. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples. *National Renewable Energy Laboratory (NREL)*, (January), 1–14.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. and Nrel, D. C. 2012. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass, *National Renewable Energy Laboratory (NREL)*.

- Smullen, E., Finnan, J., Dowling, D. and Mulcahy, P. 2017. Bioconversion of switchgrass: Identification of a leading pretreatment option based on yield, cost and environmental impact. *Renewable Energy*, 111, 638–645.
- Soccol, C. R., Vandenberghe, L. P. de S., Medeiros, A. B. P., Karp, S. G., Buckeridge, M., Ramos, L. P., Pitarelo, A. P., Ferreira-Leitão, V., Gottschalk, L. M. F., Ferrara, M. A., Silva bon, E. P., Moraes, L. M. P., Araújo, J. A. and Torres, F. A. G. (2010). Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. *Bioresource Technology*, 101(13), 4820–4825.
- Somleva, M. N., Snell, K. D., Beaulieu, J. J., Peoples, O. P., Garrison, B. R. and Patterson, N. A. 2008. Production of polyhydroxybutyrate in switchgrass, a value-added co-product in an important lignocellulosic biomass crop. *Plant Biotechnology Journal*, 6(7), 663–678.
- Song, Y., Wi, S. G., Kim, H. M. and Bae, H. J. 2016. Cellulosic bioethanol production from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) using hydrogen peroxide-acetic acid (HPAC) pretreatment. *Bioresource Technology*, 214, 30–36.
- Stat-Ease. (2017). ANOVA Output.
- Stat Teaser, News from Stat-ease, 2004.
- Stegelmeyer, B. L., Elmore, S. A., Lee, S. T., James, L. F. and Gardner, D. R. 2004. Chapter 19 Switchgrass (*Panicum virgatum*) Toxicity in Rodents , Sheep , Goats and Horses. *Veterinary Research Communications*, (January).
- Sumayya, A., Panicker, C. Y., Varghese, H. T. and Harikumar, B. 2008. Vibrational spectroscopic studies and AB initio calculations of l-glutamic acid 5-amide. *RJC Rasayan J. Chem*, 1(3), 548–555.
- Sun, Y.; Cheng, J. Y. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review. *Bioresource Technology*, 83(1), 1–11.
- Sun, C., Liu, R., Cao, W., Yin, R., Mei, Y. and Zhang, L. 2015. Impacts of Alkaline Hydrogen Peroxide Pretreatment on Chemical Composition and Biochemical Methane Potential of Agricultural Crop Stalks. *Energy and Fuels*, 29(8), 4966–4975.
- Sun, X. F., Xu, F., Sun, R. C., Wang, Y. X., Fowler, P. and Baird, M. S. 2004. Characteristics of degraded lignins obtained from steam exploded wheat straw. *Polymer Degradation and Stability*, 86(2), 245–256.
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review, 83, 1–11.
- Suryawati, L., Wilkins, M. R., Bellmer, D. D., Huhnke, R. L., Maness, N. O. and Banat, I. M. 2009. Effect of hydrothermolysis process conditions on pretreated switchgrass composition and ethanol yield by SSF with *Kluyveromyces marxianus* IMB4. *Process Biochemistry*, 44(5), 540–545.
- T.C. Kalınma Bakanlığı. (2013). Onuncu Kalkınma Planı (2014-2018).

- Taherzadeh, M. J., Gustafsson, L., Niklasson, C. and Lidén, G. 2000. Physiological effects of 5-hydroxymethylfurfural on *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(6), 701–708.
- Taherzadeh, M. J. and Karimi, K. 2008. *Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 9).
- Talebna, F., Karakashev, D. and Angelidaki, I. 2010. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*, 101(13), 4744–4753.
- Tan, H., Yang, R., Sun, W. and Wang, S. 2010. Peroxide-acetic acid pretreatment to remove bagasse lignin prior to enzymatic hydrolysis. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49(4), 1473–1479.
- Tao, L., Aden, A., Elander, R. T., Pallapolu, V. R., Lee, Y. Y., Garlock, R. J., ... Warner, R. E. 2011. Process and techno-economic analysis of leading pretreatment technologies for lignocellulosic ethanol production using switchgrass. *Bioresource Technology*, 102(24), 11105–11114.
- Teel, A. L. and Watts, R. J. 2002. Degradation of carbon tetrachloride by modified Fenton's reagent. *Journal of Hazardous Materials*, 94(2), 179–189.
- TEİAŞ. (2017). Türkiye'de elektrik enerjisi kurulu gücü – 2017 haziran sonu.
- Teymouri, F., Laureano-Perez, L., Alizadeh, H. and Dale, B. E. 2005. Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology*, 96(18 SPEC. ISS.), 2014–2018.
- Thauer, R. K., Kaster, A. K., Seedorf, H., Buckel, W. and Hedderich, R. 2008. Methanogenic archaea: Ecologically relevant differences in energy conservation. *Nature Reviews Microbiology*, 6(8), 579–591.
- TÜİK. (2013). TÜİK Türkiye Nüfus projeksiyonu.
- Umagiliyage, A. L., Choudhary, R., Liang, Y., Haddock, J. and Watson, D. G. 2015. Laboratory scale optimization of alkali pretreatment for improving enzymatic hydrolysis of sweet sorghum bagasse. *Industrial Crops and Products*, 74, 977–986.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, P. D. 2017. World Population Prospects The 2017 Revision Key Findings and Advance Tables. *World Population Prospects The 2017*, 1–46.
- Updegraff, D. M. 1969. Semimicro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochemistry*, 32(3), 420–424.
- Ur Rehman, M. S., Kim, I., Chisti, Y. and Han, J. I. 2012. Use of ultrasound in the production of bioethanol from lignocellulosic biomass. *Energy Education Science and Technology Part A: Energy Science and Research*, 30(SPEC. ISS.1), 359–378.

- Us, E. (2010). Sera Atıklarına Uygulanan Kimyasal Ön Arıtım Yöntemlerinin Anaerobik Arıtılabilirlik Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya.
- Us, E. and Perendeci, N. A. 2012. Improvement of methane production from greenhouse residues: Optimization of thermal and H₂SO₄ pretreatment process by experimental design. *Chemical Engineering Journal*, 181–182, 120–131.
- Uysal, I., Severcan, F. and Evis, Z. 2013. Characterization by Fourier transform infrared spectroscopy of hydroxyapatite co-doped with zinc and fluoride. *Ceramics International*, 39(7), 7727–7733.
- Valaskova, V. and Baldrian, P. 2006. Degradation of cellulose and hemicelluloses by the brown rot fungus *Piptoporus betulinus* – production of extracellular enzymes and characterization of the major cellulases. *Microbiology*, 152, 3613–3622.
- Valdez-Vazquez, I., Pérez-Rangel, M., Tapia, A., Buitrón, G., Molina, C., Hernández, G. and Amaya-Delgado, L. 2015. Hydrogen and butanol production from native wheat straw by synthetic microbial consortia integrated by species of *Enterococcus* and *Clostridium*. *Fuel*, 159, 214–222.
- Vallet, C., Saïd, R., Rabiller, C. and Martin, M. L. 1996. Natural Abundance Isotopic Fractionation in the Fermentation Reaction: Influence of the Nature of the Yeast. *Bioorganic Chemistry*, 24(4), 319–330.
- Vamvuka, D., Topouzi, V. and Sfakiotakis, S. 2010. Evaluation of production yield and thermal processing of switchgrass as a bio-energy crop for the Mediterranean region. *Fuel Processing Technology*, 91(9), 988–996.
- Van Soest, P. J. 1963. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fibre and lignin. *Journal of the Association of Analytical Chemists*, 46(5), 829–835.
- Varga, E., Réczey, K. and Zacchi, G. 2004. Optimization of steam pretreatment of corn stover to enhance enzymatic digestibility. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 114(1–3), 509–523.
- Waldron, K. 2010. *Bioalcohol production: Biochemical conversion of lignocellulosic biomass*. *Bioalcohol Production: Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass*.
- Wang, S., Li, R., Yi, X., Fang, T., Yang, J. and Bae, H. J. 2016. Isoprene Production on Enzymatic Hydrolysate of Peanut Hull Using Different Pretreatment Methods. *BioMed Research International*, 2016(Usda 2015).
- Watanabe, T. 1989. Structural Studies on the Covalent Bonds between Lignin and Carbohydrate in Lignin-Carbohydrate Complexes by Selective Oxidation of the Lignin. *Kyoto University Research Information Repository*, 59–123.
- Watts, R. J. and Teel, A. L. 2005. Chemistry of Modified Fenton's Reagent (Catalyzed H₂O₂ Propagations-CHP) for In Situ Soil and Groundwater Remediation. *Journal of Environmental Engineering-ASCE*, 131(4), 612–622.
- Weaver, J. C. and Chizmadzhev, Yu. A. 1996. Theory of electroporation: A review. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 41(2), 135–160.

- Weiland, P. 2010. Biogas production: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4), 849–860.
- Weinberg, Z. G., Muck, R. E. and Weimer, P. J. 2003. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. *Journal of Applied Microbiology*, 94(6), 1066–1071.
- Wi, S. G., Cho, E. J., Lee, D.-S., Lee, S. J., Lee, Y. J. and Bae, H.-J. 2015. Lignocellulose conversion for biofuel: a new pretreatment greatly improves downstream biocatalytic hydrolysis of various lignocellulosic materials. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1), 228.
- World Energy Council. 2016. World Energy Scenarios 2016. *World Energy Council (2016)*, 1–138.
- Worm, P., Müller, N., Plugge, C. M., Stams, A. and Schink, B. 2010. Syntrophy in Methanogenic Degradation. *(Endo)Symbiotic Methanogenic Archaea*, 19, 143–173.
- Wright, L. and Turhollow, A. 2010. Switchgrass selection as a “ model” bioenergy crop: A history of the process. *Biomass and Bioenergy*, 34(6), 851–868.
- Wu, W., Rondon, V., Weeks, K., Pullammanappallil, P., Ingram, L. O. and Shanmugam, K. T. 2018. Phosphoric acid based pretreatment of switchgrass and fermentation of entire slurry to ethanol using a simplified process. *Bioresource Technology*, 251(December 2017), 171–180.
- Wyman, C. 1996. Handbook on bioethanol : production and utilization. Applied energy technology series, *CRC Press*, 444 p.
- Wyman, C. E. 1994. Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresource Technology*, 50(1), 3–15.
- Yang, S., Liu, X. and Zhang, Y. 2007. Chapter 4 . Metabolic Engineering – Applications , Methods , and Challenges. Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources: New Technologies and Applications. *Elsevier B.V.*
- Yang, Y., Sharma-Shivappa, R. R., Burns, J. C. and Cheng, J. 2009. Saccharification and fermentation of dilute-acid-pretreated freeze-dried switchgrass. *Energy and Fuels*, 23(11), 5626–5635.
- Yu, J., Paterson, N., Blamey, J. and Millan, M. 2017. Cellulose, xylan and lignin interactions during pyrolysis of lignocellulosic biomass. *Fuel*, 191, 140–149.
- Yu, Q., Zhuang, X., Yuan, Z., Qi, W., Wang, Q. and Tan, X. 2011. The effect of metal salts on the decomposition of sweet sorghum bagasse in flow-through liquid hot water. *Bioresource Technology*, 102(3), 3445–3450.
- Yu, Z. and Zhang, H. 2004. Ethanol fermentation of acid-hydrolyzed cellulosic pyrolysate with *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*, 93(2), 199–204.
- Zabed, H., Sahu, J. N., Suelly, A., Boyce, A. N. and Faruq, G. 2017. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 71(December 2016), 475–501.

- Zavrel, M., Bross, D., Funke, M., Büchs, J. and Spiess, A. C. 2009. High-throughput screening for ionic liquids dissolving (ligno-)cellulose. *Bioresource Technology*, 100(9), 2580–2587.
- Zhang, H. and Wu, S. 2014. Efficient sugar release by acetic acid ethanol-based organosolv pretreatment and enzymatic saccharification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(48), 11681–11687.
- Zhang, X., Fu, J., Lin, G., Jiang, D. and Yan, X. 2017. Switchgrass-based bioethanol productivity and potential environmental impact from marginal lands in China. *Energies*, 10(2).
- Zhao, X., Liu, J., Liu, J., Yang, F., Zhu, W., Yuan, X., Hu., Y., Cui, Z. and Wang, X. 2017. Effect of ensiling and silage additives on biogas production and microbial community dynamics during anaerobic digestion of switchgrass. *Bioresource Technology*, 241, 349–359.
- Zheng, Y. 1996. Avicel hydrolysis by cellulase enzyme in supercritical CO₂. *Biotechnology Letters*, 18(4), 451–454.
- Zheng, Y., Lin, H. M., Wen, J., Cao, N., Yu, X. and Tsao, G. T. 1995. Supercritical carbon dioxide explosion as a pretreatment for cellulose hydrolysis. *Biotechnology Letters*, 17(8), 845–850.
- Zheng, Z., Liu, J., Yuan, X., Wang, X., Zhu, W., Yang, F. and Cui, Z. 2015. Effect of dairy manure to switchgrass co-digestion ratio on methane production and the bacterial community in batch anaerobic digestion. *Applied Energy*, 151, 249–257.

ÖZGEÇMİŞ

İbrahim Alper BAŞAR

i_alper_basar@hotmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2015-2018	Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2007-2012	Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Proje Asistanı	Akdeniz Üniversitesi
2015-2018	Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarı, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

-

Ulusal / Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- Başar, İ.A., Ünyay, H., Ünşar, E.K., Perendeci, N.A., Yıldız, O. (2018). Evaluation of Enzyme Doses on Ethanol Production from Raw Switchgrass Variety of Kanlow. International Commission of Agricultural and Biosystems Engineering (CIGR) 19th World Congress. (Sunum)
- Ünşar, E.K., Başar, İ.A., Gönülal, E., Perendeci, N.A., Akman, H.E., Yıldız, O., Soylu, S. (2018). Biochemical Characterization of Switchgrass Varieties Grown in Turkey for Biofuel Production. International Commission of Agricultural and Biosystems Engineering (CIGR) 19th World Congress. Antalya. (Sunum)
- Ünyay, H., Ünşar, E.K., Başar, İ.A., Perendeci, N.A., Yıldız, O., Akman, H.E., Yılmaz, V., Ertekin, C. (2018). Is Switchgrass the New Ground-Breaking Energy Crop for Biofuel Production? International Commission of Agricultural and Biosystems Engineering (CIGR) 19th World Congress. Antalya. (Poster)