

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAVUÇ POSASINDAN ETANOL ÜRETİMİ

Selcan SİYAKUŞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2013**

Her hakkı saklıdır

ETİK

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

05.09.2013

Selcan SİYAKUŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HAVUÇ POSASINDAN ETANOL ÜRETİMİ

Selcan SİYAKUŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Bu tez çalışmasında havuç posası kullanılarak bir biyoyakıt çeşidi olan etanol üretimi araştırılmıştır. Çalışmanın ilk adımında tarımsal bir yan ürün olan havuç posası asit çözeltisi ile hidrolize edilerek yapısındaki kompleks şekerler basit şekerlere indirgenmiştir. İkinci adımda, elde edilen basit şekerlerden altı karbonlu olanlar *Saccharomyces cerevisiae* mayası tarafından fermantasyon sonucu etanole dönüştürülmüştür.

Tez çalışmasının ilk aşamasında, hidrolizi gerçekleştirecek asidin türüne (hidroklorik asit ve sülfürik asit) ve asidin konsantrasyonuna (% 0.76, %1.14, %1.51 v/v) bağlı olarak fermantasyon sonucu oluşan etanol konsantrasyonu araştırılmıştır. Hidroliz aşamasında % 0.76 (v/v) konsantre sülfürik asit ilave edildiğinde, fermantasyon sonucu oluşan etanol konsantrasyonu 2.16 g/l olmuştur.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında besi ortamının ilk pH değerinin, mayanın ürettiği etanol konsantrasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Besi ortamının ilk pH'ı 5 olarak ayarlandığında fermantasyon sonucu oluşan etanol konsantrasyonu en yüksek değere (1.81 g/l) ulaşmıştır.

Çalışmanın üçüncü aşamasında, *S. cerevisiae* mayasının besi ortamına inokülasyon oranı incelenmiştir. Üç farklı inokülasyon oranında yapılan denemeler sonrasında en yüksek etanol üretimi % 20 (v/v) inokülasyon oranında elde edilmiştir.

Tez çalışmasının son aşamasında ise karbon kaynağı oranının etanol konsantrasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Artan (% 22.90, % 34.35 ve % 45.80 w/v) havuç posası konsantrasyonunda etanol üretiminin arttığı, en yüksek üretime % 45.80 w/v havuç posası içeren besiyerinde ulaşıldığı (3.55 g/l) denemeler sonucunda gösterilmiştir.

Eylül 2013, 37 sayfa

Anahtar Kelimeler: Havuç posası, biyoetanol, hidroliz, fermantasyon, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Master Thesis

ETHANOL PRODUCTION FROM CARROT POMACE

Selcan SİYAKUŞ

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

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

In this thesis study, bioethanol a kind of biofuel was produced using carrot pomace. At the first step of the study, carrot pomace a agricultural by-product was hydrolyzed by liquid acid solution. Thus, complex sugars in the structure of carrot pomace were broken down to simple sugars. At the second step, the simple sugars consisting of six carbon atoms were fermented to ethanol by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

At the first part of the thesis study, the concentration of ethanol formed as a result of fermentation was investigated depending on the type of acid (hydrochloric acid and sulfuric acid) and the concentration of acid (0.76%, 1.14%, 1.51% v/v). When 0.76% (v/v) concentrated sulfuric acid was used in the hydrolysis stage, the concentration of ethanol reached a value of 2.16 g/L as a result of fermentation.

At the second part of the thesis study, the effect of culture medium's initial pH on the concentration of ethanol was also investigated. When initial pH of the culture medium was adjusted to 5, the concentration of ethanol reached the highest value (1.81 g/L) as a result of fermentation.

At the third part of the study, inoculation rate of the yeast *S. cerevisiae* to the culture medium was investigated. After the experiments conducted by three different inoculation rates, the maximum ethanol production was obtained by 20% (v/v) inoculation rate.

At the last part of the thesis study, the effect of the ratio of the carbon source on the concentration of ethanol was investigated. By increasing the concentration of carrot pomace (% 22.90, % 34.35 ve % 45.80 w/v) increased the production of ethanol. When 45.80% (w/v) carrot pomace was used in the culture medium, the concentration of ethanol reached the highest value (3.55 g/L).

September 2013, 37 pages

Key Words: Carrot pomace, bioethanol, hydrolysis, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

TEŐEKKÖR

Tez çalıőmam boyunca tecrübesi ve bilgi birikimi ile bana yol gösteren, çalıőkanlıđını ve iç ahlakını tüm çalışma hayatım süresince örnek alacağım çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Gönöl DÖNMEZ'e, (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), laboratuvar çalıőmalarımnda bilgi ve deneyimini benimle paylaőıp tezime büyük katkıda bulunan Dr. Nalan Oya SAN' a ve yardımları için Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY, Doç. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ, Dr. Burcu ERTİT TAŐTAN ve arkadaőlarımna, her koőulda yanımda olan aileme en içten teőekkürlerimi sunarım.

Selcan SİYAKUŞ

Ankara, Eylül 2013

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Yenilenebilir Enerji Kaynakları.....	3
2.2 Biyoyakıtlar.....	3
2.3 Yakıt Olarak Biyoetanol.....	3
2.4 Biyoetanol Üretimi.....	4
2.4.1 Biyokütle seçimi.....	4
2.4.2 Önişlemler.....	6
2.4.2.1 Fiziksel önişlemler.....	7
2.4.2.2 Fizikokimyasal önişlemler.....	8
2.4.2.3 Kimyasal önişlemler.....	8
2.4.2.4 Enzimatik hidroliz.....	9
2.4.3 Mikroorganizma seçimi.....	9
2.4.4 Fermantasyon.....	11
2.5 Biyokütleden Biyoetanol Üretiminde Bugüne Kadar Yapılan Çalışmaların Özetlenmesi.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1 Besiyeri Hazırlanması.....	17
3.2 Mikroorganizma.....	18
3.3 Besiyerine Adaptasyon.....	18
3.4 pH Etkisi.....	18
3.5 Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonunun Etkisi.....	18
3.6 Karbon Kaynağı Miktarının Etkisi.....	19

3.7 Analiz Yöntemleri.....	19
3.7.1 Optik yoğunluğun belirlenmesi.....	20
3.7.2 Şeker analizi.....	20
3.7.3 Etanol miktarı tayini.....	20
4. BULGULAR	21
4.1 Asit Çeşidi ve Asit Konsantrasyonu Etkisi.....	21
4.2 pH Değeri Etkisi.....	23
4.3 Maya İnokülasyon Oranı Etkisi.....	24
4.4 Karbon Kaynağı Oranı Etkisi.....	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	37

SİMGELER DİZİNİ

CO ₂	Karbondioksit
HCl	Hidroklorik asit
NaOH	Sodyumhidroksit
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
OD	Optik yoğunluk
Nm	Nanometre
Rpm	Dakikadaki devir
GC:	Gaz kromatografi
ml	mililitre
°C	Santigrat
L	litre
G	gram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Lignoselülozik biyokütlenin kompozisyonu ve hidrolizi ile ortaya çıkan ürünler.....	5
Şekil 2.2 Kuru madde halindeki havuç posasının içeriği.....	6
Şekil 2.3 Lignoselülozik maddenin yapısı.....	7
Şekil 2.4 Saccharomyces cerevisiae'nin mikroskopik görüntüsü.....	11
Şekil 2.5 Glikoliz evresi.....	12
Şekil 2.6 Pirüvatın etil alkole dönüşümü.....	13
Şekil 2.7 Glikozdan etil alkol üretiminin toplam denklemi.....	13
Şekil 4.1 Farklı asit çeşidi ve konsantrasyonlarının fermantasyonun birinci gününde üretilen etanol miktarı üzerine etkisi.....	22
Şekil 4.2 Hidrolizde kullanılan farklı H ₂ SO ₄ konsantrasyonlarının optik yoğunluk üzerine etkisi.....	22
Şekil 4.3 Besi yeri pH değerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisi.....	24
Şekil 4.4 Besi yeri pH değerinin optik yoğunluk üzerine etkisi.....	24
Şekil 4.5 Maya inokülasyon oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi.....	25
Şekil 4.6 Maya inokülasyon oranının optik yoğunluk üzerine etkisi.....	26
Şekil 4.7 Karbon kaynağı oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi.....	27
Şekil 4.8 Karbon kaynağı oranının kullanılan şeker miktarı üzerine etkisi.....	27
Şekil 4.9 Karbon kaynağı oranının optik yoğunluk üzerine etkisi.....	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Etanol üretimi için en uygun mikroorganizmaların özellikleri.....	9
Çizelge 3.1 Hidroliz adımında denenen parametreler ve çalışılan değerler.....	17
Çizelge 3.2 Farklı miktarda karbon kaynağı içeren besiyerleri.....	19

1. GİRİŞ

Enerji tüketimi dünya nüfusunun artması ve birçok ülkenin endüstrileşmesi sonucu son yüzyılda artmıştır. Petrol, artan enerji talebinin karşılanmasında önemli bir kaynaktır (Sun ve Cheng 2002). Ancak artan fosil yakıt fiyatları ve dünyayı iklim değişikliğinden koruma ihtiyacı yenilenebilir yakıtların araştırılmasına yol açmıştır (Polycarpou 2009). Bu yenilenebilir yakıtlardan bir tanesi de biyoetanoldür.

Biyoetanol, fosil yakıtlardan farklı olarak şeker içerikli hammaddelerden fermantasyon sonucu elde edilir. Aynı zamanda biyoetanol yüksek oktan sayısı, yüksek buharlaşma ısısı gibi çeşitli avantajları sayesinde petrol kaynaklı taşıt yakıtlarına alternatif olarak bilinir. Biyoetanol hammaddesi çeşitleri üçe ayrılır:

- (i) çeşitli atıklar, odun biyokütlesi gibi lignoselülozik materyaller;
- (ii) mısır, tahıl gibi nişasta zengini ürünler;
- (iii) şeker kamışı ve şeker pancarı gibi sakkaroz zengini ürünler (Balat vd. 2008).

Ancak (ii) ve (iii)'de yer alan hammaddelerin gıda ürünleri olarak da kullanılıyor olması hem üretim maliyetini hem de dünyada yaşanan açlık ve yoksulluğu arttırmaktadır. Bu sebeple tarımsal atık gibi çeşitli atıklar hammadde olarak kullanılarak biyoetanol üretimi üzerine çalışmalar son yıllarda artmıştır. Bu tip hammadde kaynakları fermantasyondan önce birtakım ön işlemler görerek yapılarındaki polisakkaritler mikroorganizmaların kullanabileceği monosakkaritlere dönüştürülür (Yücel 2011).

Tez çalışmasının amacı; havuç posasının asidik hidrolizi ile içindeki kompleks şekerlerin basit şekerlere indirgenmesi ve elde edilen hidrolizatın *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile fermantasyona uğratarak biyoetanol üretilmesidir.

Çalışmada meyve suyu fabrikalarından atık olarak çıkan havuç posası biyoetanol üretiminde kullanılabilecek hammadde olarak seçilmiştir. Havuç posası yapısında basit indirgen şekerlere dönüştürülebilecek polimerik yapılar kapsamaktadır (Nawirska ve Kwasniewska 2005). Ancak konuyla ilgili yapılan kaynak araştırmasında havuç

posasının etanol üretiminde hammadde olarak kullanımıyla ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Biyoetanol üretim çalışmalarında ağırlıklı olarak, besiyeri olarak kullanılacak hammaddenin hazırlanması ve fermantasyon aşamalarının optimizasyonu üzerine odaklanılmıştır. Denemelerde biyoetanol üretiminin hidroliz basamağında asit çeşidi, asit konsantrasyonu ve karbon kaynağı oranı parametrelerinin; fermantasyon basamağında ise pH değeri ile maya inokülasyon oranı parametrelerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkileri incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Yenilenebilir Enerji Kaynakları

İklim değişikliği kaygıları, petrol fiyatları gibi sebepler yenilenebilir enerji kaynaklarına ilgiyi artırmaktadır. Yenilenebilir enerji, sınırsız doğal kaynaklardan üretilen ve hızla yenilenebilir her çeşit enerji olarak tanımlanır. Yenilenebilir enerji kaynakları arasında güneş, rüzgar, su, hidrojen, biyokütle sayılabilir (<http://www.going-green-challenge.com>, 2013).

Mevcut petrol rezervlerinin yüzyıldan daha az sürede tükenmesi söz konusudur. Buna karşın yenilenebilir enerji kaynaklarının tükenme gibi bir sorununun olmaması onun üretim yöntemlerinin geliştirilmesine ve kullanımının yaygınlaşmasına neden olmaktadır. Yenilenebilir enerji kaynaklarından olan biyokütlenin kullanılması ile üretilen biyoyakıtlar, üretim yöntemlerinin geliştirilmesinde ve kullanımının yaygınlaşmasında en çok ilerleme kaydedilen yakıt gruplarından biridir (Yücel 2011).

2.2 Biyoyakıtlar

Enerji kaynağı olarak kullanılabilen tüm organik maddeler biyokütle olarak tanımlanır. Biyokütleden elde edilen ve yenilenebilir enerji olarak kullanılabilen katı, sıvı, gaz halindeki yakıtlara biyoyakıt adı verilir. Sıvı ve gaz biyoyakıtlar çevresel etkilerinin daha olumlu olması nedeniyle tercih edilir. Önümüzdeki 50 yıl içinde enerji sektöründe büyük rolü olacağı öngörülen biyoyakıtların en yaygın kullanımı biyodizel, biyogaz ve biyoetanol şeklindedir. Biyoetanol, en çok kullanılan sıvı biyoyakıttır (Demirbaş 2007). Ana enerji tüketim sektörlerinden biri olan taşımacılık sektöründe biyoetanolün, benzinin yerini alacağı düşünülmektedir (Demirbaş 2009).

2.3 Yakıt Olarak Biyoetanol

Etanol, C_2H_5OH kapalı formülüne sahip bir alkoldür. Etanolün fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre farklı kullanım alanları vardır ancak son zamanlarda en çok araştırılan kullanım alanı motorlu taşıtlarda yakıt olarak kullanımınıdır (Yücel 2011).

Biyoetanol, dünyada taşımacılık sektöründe en geniş kullanıma sahip biyoyakıttır. Yüksek oktan sayısına (108) ve benzine oranla daha yüksek buharlaşma ısısına sahiptir. Bu özellikleri biyoetanollü içten yanmalı motorlarda teorik olarak benzine oranla avantajlı kılmaktadır. Buna karşın benzine oranla daha düşük enerji yoğunluğuna ve buhar basıncına sahip olması biyoetanollün dezavantajlarıdır (Demirbaş vd. 2011)

Biyoetanollün içten yanmalı motorlarda en yaygın kullanım şekli benzinle belirli oranlarda harmanlanmasıdır. Bu harmanlamanın temel sebebi benzinin oktan sayısını artırmaktır. Oktan sayısı benzin kalitesini belirlemede önemli bir ölçüttür (Balat ve Balat 2009). İçten yanmalı motorlarda, hava-yakıt karışımı sıkıştırıldığında karışım sıcaklığı artmakta ve karışım buji ateşlenmeden tutuşmaktadır. Erken ateşleme olarak adlandırılan bu olay motor üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Biyoetanol gibi yüksek oktanlı yakıtlar erken ateşlemeyi önler. Bu sebeple benzinin oktan sayısını artırmak için benzin belirli oranlarda etanol ile harmanlanır. En yaygın iki biyoetanol-benzin harman oranı:

1. E-10 (%10 Biyoetanol + %90 Benzin)
2. E-85 (%85 Biyoetanol + %15 Benzin)'dir.

E-10 adı verilen harman içten yanmalı motorlarda modifiye gerektirmeden kullanılabilir (<http://www.eie.gov.tr>, 2013). E-85 adı verilen harmanın kullanılabilmesi için ise içten yanmalı motorlarda modifikasyon şarttır (Balat ve Balat 2009).

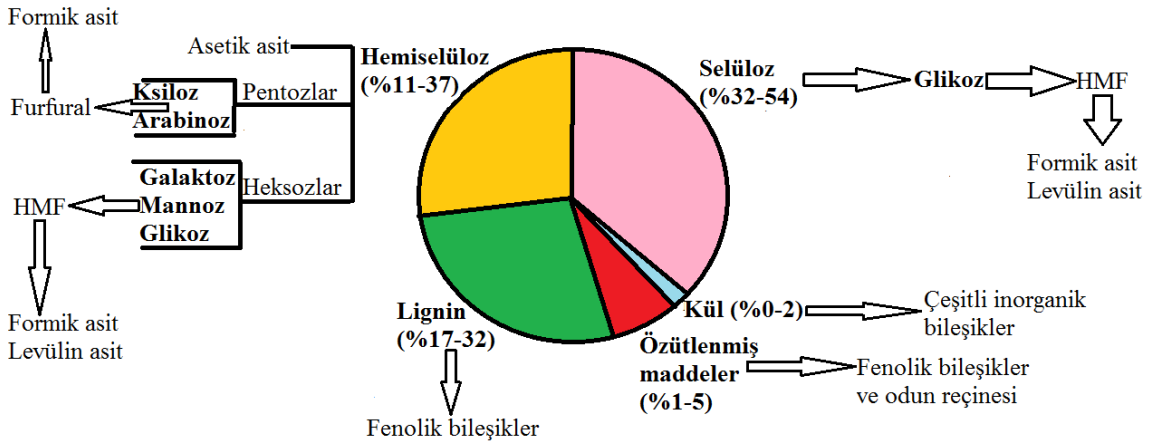
2.4 Biyoetanol Üretimi

2.4.1 Biyokütle seçimi

Biyoetanol üretiminde kullanmak için ucuz ve yeni biyokütle kaynakları üzerine araştırmalar devam etmektedir. Bununla birlikte halen biyoetanol üretiminde kullanılan biyokütle kaynakları ağırlıklı olarak mısır, şeker kamışı gibi gıda olarak da kullanılan tarım ürünleridir. Bu durum biyoetanol üretimi için uygun görünse de gıda kıtlığı ve toprak kaynaklarının tahribatı gibi etik ve çevresel sorunları da beraberinde getirir (Balat ve Balat 2009). Tam da bu noktada cazip bir alternatif olarak karşımıza

lignoselülozik biyokütle çıkmaktadır. Mısır kabuğu ve buğday sapı gibi tarımsal atıklar, belediyeye ait katı atıkların organik bölümü, bazı endüstriyel atıklar lignoselülozik biyokütle örnekleri arasındadır. Lignoselülozik biyokütle kaynakları ucuz olmakla birlikte gıda kıtlığına da neden olmazlar (Pandey vd. 2011).

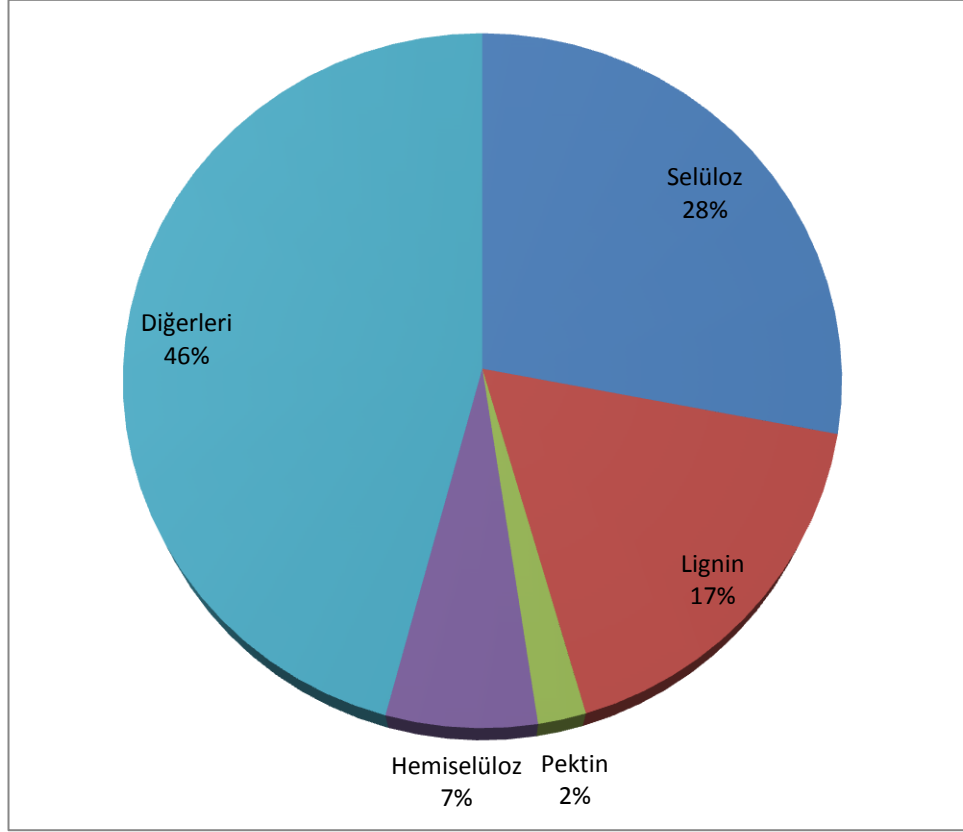
Lignoselülozik biyokütlenin yapısında ağırlıklı olarak selüloz ve hemiselüloz adı verilen karbonhidrat polimerlerinin yanında lignin, kül ve özütlenmiş maddeler de vardır. Selüloz dallanmamış lineer bir polimerdir ve yapısına hidroliz reaksiyonu ile su eklendiğinde altı karbonlu bir monosakkarit olan glikoz molekülleri elde edilir. Hemiselüloz ise heterojen polisakkaritlerdendir ve hidrolizi ile ksiloz, mannoz, glikoz, galaktoz, arabinoz gibi monomerler elde edilir. Lignin ise amorf bir heteropolimer olmakla birlikte kimyasal ve enzimatik yıkıma oldukça dirençlidir. Lignoselülozik biyokütlerdeki karbonhidrat polimerleri fermantasyondan önce hidroliz adı verilen işlemlerle basit şekere indirgenir (Taherzadeh ve Karimi 2007). Lignoselülozik biyokütlenin yapısını oluşturan ve hidrolizi ile ortaya çıkan ürünler Şekil 2.1’de gösterilmektedir.



Şekil 2.1 Lignoselülozik biyokütlenin kompozisyonu ve hidrolizi ile ortaya çıkan ürünler

Biyoetanol üretiminde kullanılacak biyokütle kaynaklarından biri de meyve suyu fabrikalarından çıkan havuç posasıdır. Şekil 2.2’de görüldüğü üzere kuru madde

halindeki havuç posasında yaklaşık olarak % 28 selüloz, % 17 lignin, % 2 pektin, % 7 hemiselüloz bulunmaktadır (Nawirska ve Kwasniewska 2005).

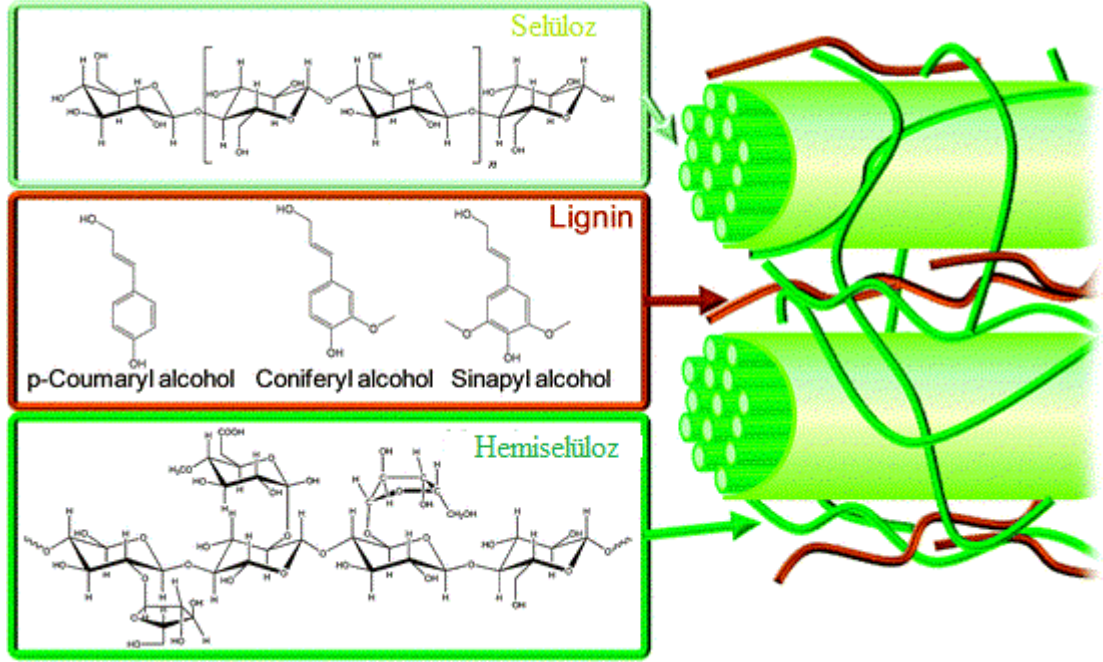


Şekil 2.2 Kuru madde halindeki havuç posasının içeriği

Biyometanol retiminde kullanılacak olan biyokütle ilk olarak çeşitli n iŐlemlere tabi tutulur. n işlemler sayesinde biyokütle yapısındaki selüloz ve hemiselüloz basit Şekerlere indirgenir (Yücel 2011).

2.4.2 niŐlemler

Lignoselülozik materyaller mikroorganizmanın direkt fermente edebileceği monosakkaritleri içermez. Bunun yerine selüloz ve hemiselüloz gibi asit ya da enzimler tarafından hidrolize edilmesi gereken polisakkaritleri içerir (Cardona vd. 2010). Şekil 2.3 lignoselülozik maddenin yapısını göstermektedir.



Şekil 2.3 Lignoselülozik maddenin yapısı

Bu yapıda lignin hemiselüloz ile bağlantı kurarak hidrolitik ajanların selüloza ulaşımını engeller. Bununla birlikte selülozun kristal yapısı da onun hidrolizini zorlaştıran etkenlerdendir. Bu nedenle lignin ve hemiselülozun bağlantısını ortadan kaldıracak, selülozun kristalliğini azaltacak ve lignoselülozik yapının gözenekliliğini artıracak bir önışleme gerek vardır (Keller vd. 2003). Etkili bir önışlem inhibitör oluşumuna mahal vermemeli, pahalı olmayan kimyasallar ve ekipmanlar kullanarak ekonomik olmalıdır (Laser vd. 2002).

2.4.2.1 Fiziksel önışlemler

- i. **Öğütme:** Lignoselülozik biyokütlenin doğal yapısını ve kristalliğini değiştirmek için kullanılan bir önışlemdir. Enzimatik hidroliz ya da diğer önışlemlerden önce uygulanır.
- ii. **Işınlama:** Gama ışınları ile ya da mikrodalgalarla ışınlama lignoselülozun enzimatik hidrolizini artırır.

2.4.2.2 Fizikokimyasal öniflemeler

- i. **Buhar ile muamele:** Hemiselülozun bozunmasını sağlaması ve maliyetinin düşük olması bu öniflemenin avantajlarıdır. Bununla birlikte fermantasyonu gerçekleştirecek mikroorganizmaların gelişimini engelleyen inhibitörlerin oluşumuna neden olması bu öniflemenin dezavantajıdır.
- ii. **Amonyak ile muamele:** Bu öniflem ligninin yapısını bozar ancak hemiselüloz ve selülozun yapısında değişikliğe neden olmaz.
- iii. **CO₂ ile muamele:** Lignoselülozik materyalin ulaşılabilir yüzey alanını artırır. Bununla beraber buhar ile muamele öniflemesinde oluşan inhibitörleri oluşturmaz bu öniflem.

2.4.2.3 Kimyasal öniflemeler

- i. **Alkali ile hidroliz:** Diğer öniflemelere nazaran alkali ile hidroliz daha düşük sıcaklık ve basınçta gerçekleştirilir. Buna karşın öniflem süresi daha uzundur. Asidik hidroliz ile karşılaştırıldığında oluşturduğu basit şeker miktarının daha az olduğu gözlemlenmiştir.
- ii. **Organosolv prosesi:** Bu proseste lignin ile hemiselüloz arasındaki bağları kırmak için HCl ya da H₂SO₄ gibi bir inorganik asit katalizör, organik bir çözücü ile karıştırılır.
- iii. **Ozonlama:** Bu metot lignini ve hemiselülozun bir kısmını indirger. Öniflem oda sıcaklığında gerçekleşir ve inhibitör bileşik oluşturmaz. Ancak yüksek miktarda ozona ihtiyaç duyulduğu için ekonomik bir yöntem değildir.
- iv. **Asit ile hidroliz:** Bu öniflemde en çok H₂SO₄ kullanılmakla beraber HCl ve HNO₃ de kullanılmaktadır. Bu öniflemde ya seyreltik asit ya da derişik asit kullanılır. Derişik asit selüloz hidrolizi için güçlü bir ajan olmakla beraber toksik ve aşındırıcıdır. Seyreltik asit hidrolizi ise daha ekonomik ve verimli olduğu için tercih edilir.

2.4.2.4 Enzimatik hidroliz

Yüksek verim ve düşük maliyet sebebiyle avantajlı bir yöntemdir. Ancak işlemin yavaş gerçekleşmesi enzimatik hidrolizin dezavantajıdır (Balat 2010). Enzimatik hidroliz selüloz enziminin aktivitesi ile selülozun basit şekerlere indirgenmesini sağlar. Böylece bu basit şekerler bakteriler ya da mayalar tarafından fermente edilebilir (Sun ve Cheng 2002). Selülozun enzimatik hidrolizi üç adımdan oluşur. İlk adım selüloz enziminin selüloz yüzeyine adsorpsiyonu iken ikinci adım selülozun glikoza hidrolizidir. Son adım ise selülozun desorpsiyonudur (Han ve Chen 2010).

2.4.3 Mikroorganizma seçimi

Önişlemler sayesinde lignoselülozik biyokütlenin yapısındaki hemiselüloz pentoz ve heksozlara, selüloz ise bir heksoz olan glukozu indirgenir. Oluşan pentoz ve heksoz şekerleri fermantasyon ile etanole dönüştürecek mikroorganizmalar mevcuttur. Bu mikroorganizmalar arasında etanol üretimine en uygun olanlar *E. coli*, *Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia stipitis*'tir (Girio vd. 2010). Yukarıda ismi geçen dört mikroorganizmanın da etanol üretimi için farklı doğal karakteristik özelliklerinden kaynaklanan avantaj ve dezavantajları vardır ve bunlar çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Etanol üretimi için en uygun mikroorganizmaların özellikleri

Özellikler	<i>E. coli</i>	<i>Z. mobilis</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>P. stipitis</i>
D-glikoz fermantasyonu	+	+	+	+
Pentoz kullanımı (D-ksiloz, L-arabinoz)	+	-	-	+
Anaerobik fermantasyon	+	+	+	-
Etanol toleransı	z	z	+	z
Lignoselülozik biyokütleden oluşan inhibitörlerin toleransı	z	z	+	z

+, pozitif; -, negatif; z, zayıf.

Biyoetanol üretimi de dahil geleneksel endüstriyel fermantasyon işlemlerinde en yaygın kullanılan mikroorganizma *S. cerevisiae* mayasıdır. *S. cerevisiae* D-glikoz, D-mannoz ve D-galaktoz gibi heksoz şekerler ile sakkaroz ve maltoz gibi disakkaritleri etanole verimli bir şekilde fermente edebilir. Aynı zamanda önişlemler sonucu oluşan inhibitörlere karşı toleransı yüksektir. *S. cerevisiae*'nin ortamda etanol konsantrasyonu %10'un altında iken fermantasyon oranı azalmaz. Lignoselülozik fermantasyonda *S. cerevisiae*'nin bir önemli sıkıntısı D-ksiloz ve L-arabinoz adı verilen pentoz şekerleri fermente edememesidir (Girio vd. 2010).

Bu tez çalışmasında havuç posası hidrolizatının etanole fermantasyonunda *S. cerevisiae* mayası kullanılmıştır. *Saccharomyces cerevisiae* ökaryotik bir mikroorganizmadır. Daha spesifik olarak Fungi alemine ait küre şekilli sarı-yeşil renkli mikroorganizmalar olarak da tanımlanabilir. Doğal soyları bitki yüzeylerinde, tüm dünyadaki topraklarda, insektisitlerin vücut yüzeylerinde hatta su ortamında bulunur. Bilim adamları tarafından *Saccharomyces cerevisiae* model organizma olarak tanımlanır. Bunun sebebi hem tek hücreli hem de ökaryotik olmasıdır. *S. cerevisiae* ökaryot olduğu için genom ve proteinlerinin çoğunluğu insan genom ve proteinleri ile homologdur. Bu nedenle insan genom ve proteinlerini anlamada bilim adamlarına yardım etmektedir. Bununla birlikte bir diğer avantajı da hızlı büyüme oranıdır. Normal bir maya ortamında doksan dakikada mayalar sayılarını ikiye katlar (<http://microbewiki.kenyon.edu>, 2013). *Saccharomyces cerevisiae*'nin mikroskopik görüntüsü şekil 2.4'de verilmiştir.



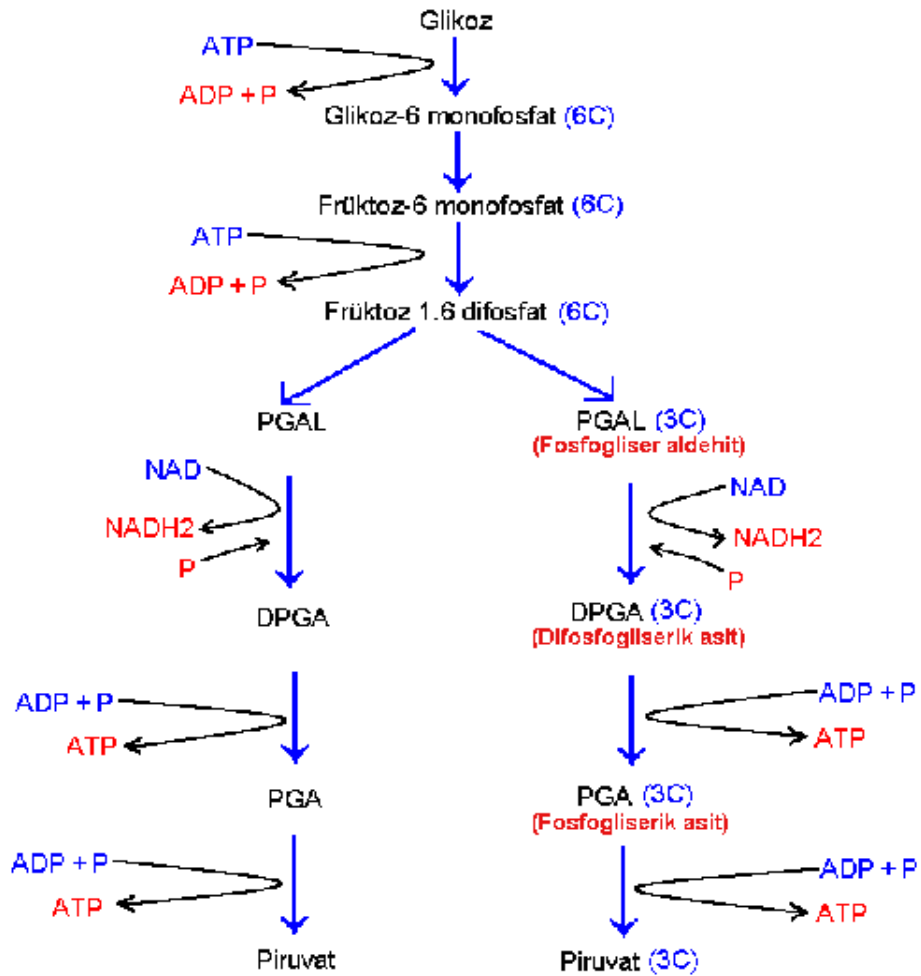
Şekil 2.4 *Saccharomyces cerevisiae*'nin mikroskopik görüntüsü

2.4.4 Fermantasyon

S. cerevisiae aerobik şartlarda yaşayabildiği gibi anaerobik koşullarda da yaşayabilir. Oksijen varlığında aerobik solunum yaparken oksijen yokluğunda maya, enerjisini şekeri etanole çevirerek elde eder. Bu nedenle *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak etanol üretimi anaerobik şartlarda gerçekleştirilir. *Saccharomyces cerevisiae*'nin fermantasyon ortamının optimum pH aralığı 4.8-6 olarak belirlenmiştir (Joosten ve Peeters 2010). Fermantasyon için optimum sıcaklık ise 35 °C olarak belirlenmiştir (Slaa vd. 2009).

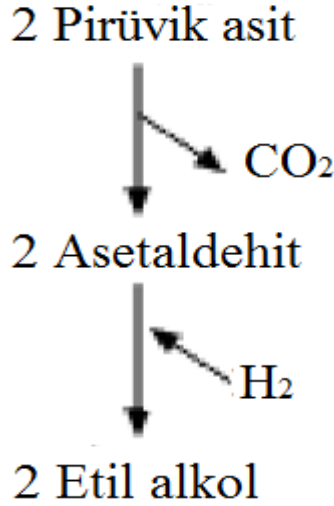
Fermantasyon genellikle anaerobik koşullarda hücre içi metabolik olaylar sonucunda besin değeri yüksek organik bileşiklerden farklı ürünlerin oluşmasıdır. Fermantasyon (mayalanma) bir anaerobik solunum şeklidir ve başlangıç maddesi glikozdur. Canlı çeşidine bağlı olarak reaksiyonlar sırasında kullanılan enzimler farklı olacağından oluşan son ürünlerde de farklılık vardır. Canlı çeşidine bağlı olarak oluşan son ürünler arasında laktik asit, asetik asit, etanol ve bütanol sayılabilir. *Saccharomyces cerevisiae* mayasının oksijen yokluğunda yaptığı etil alkol fermantasyonu temel olarak iki basamaktan oluşur. Birinci basamak glikoliz evresi olarak bilinir. Glikoliz evresinde

glikozdan 2 molekül pirüvik asit oluşur. Glikoliz evresi şekil 2.5’de görüldüğü gibi gerçekleşir. Glikolizin başlangıcında glikozun aktifleştirilmesi için bir ATP molekülü yapısındaki fosfat grubunu ortama bırakır ve bu fosfat ortamdaki glikoza bağlanarak glikoz monofosfatı oluşturur. Oluşan glikoz monofosfat, glikoz izomeraz enzimi yardımı ile fruktoz monofosfata dönüştürülür. Bu aşamada ikinci ATP’nin fosfat grubu fruktoz monofosfata bağlanarak fruktoz difosfat yapısını oluşturur. Altı karbonlu bir molekül olan fruktoz difosfat, iki adet 3 karbonlu fosfogliseraldehit molekülüne ayrılır ve her iki fosfogliseraldehit molekülü de NAD⁺ (nikotinamid adenin dinükleotid) koenzimine elektron verip ardından da ADP molekülüne fosfat bırakarak fosfogliseric asit yapısını oluşturur. Son aşamada ise iki fosfogliseric asit molekülü de mevcut ADP moleküllerine birer fosfat grubu bağlayarak ATP molekülünü sentezler ve sonuç olarak pirüvat molekülü oluşur.



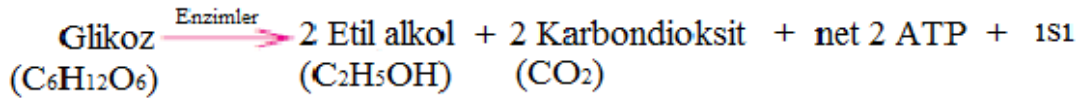
Şekil 2.5 Glikoliz evresi

Etil alkol fermantasyonunun ikinci basamağı ise 2 molekül pirüvattan etil alkol oluşumudur. Pirüvatin etil alkole dönüşümünü ifade eden reaksiyon şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6 Pirüvatin etil alkole dönüşümü

Sonuç olarak glikozdan fermantasyon yolu ile etil alkol üretiminin toplam denklemi şekil 4.7'de gösterilmiştir. Glikozdan etil alkol üretimi reaksiyonuna göre teorik verim 2 mol etanol/1 mol glikoz ya da 0.51 gram etanol/gram glikoz olarak ifade edilebilir.



Şekil 2.7 Glikozdan etil alkol üretiminin toplam denklemi

2.5 Biyokütleden Biyoetanol Üretiminde Bugüne Kadar Yapılan Çalışmaların Özetlenmesi

Araştırmacılar son yıllarda farklı biyokütle kaynaklarını değişik yöntemlerle hidroliz ederek çeşitli mikroorganizmalarla etanol üretimi üzerine birçok çalışma yapmıştır.

Arapoglou vd. (2010), patates kabuğunu biyokütle olarak kullanmış ve HCl ile 121°C'da 15 dakika hidroliz etmişlerdir. Hidroliz işleminden sonra fermente edilebilir şeker miktarı litrede 18.15 g iken fermantasyon sonucu kalan fermente edilebilir şeker

miktarı litrede 4.06 g olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından *S. cerevisiae* kullanılarak 48 saatlik fermantasyon sonunda üretilen maksimum etanol miktarı ise 6.97 g/L olarak ölçülmüştür.

Wilkins vd. (2007), narenciye kabuğunu biyokütle olarak kullanmışlar ve *S. cerevisiae* mayasının fermantasyon ortamının ilk pH değerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisini araştırmışlardır. Bunun için önışlemeden sonra ortam pH değerlerini 4.3-4.4 olarak ölçmüşler ve fermantasyondan önce kalsiyum karbonat kullanarak ortam pH değerlerini 5.0, 5.6, 6.0 olarak ayarlamışlardır. Fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde üretilen etanol miktarları ölçülmüş ve ilk pH değeri 6 olarak ayarlandığında en yüksek etanol üretimine ulaşıldığı tespit edilmiştir. İlk pH değeri hiç değiştirilmeden yani 4.3-4.4 olarak kaldığında üretilen etanol miktarının ise en düşük değerde olduğu bulunmuştur. Kalsiyum karbonat kullanarak ilk pH değerini 5.0 ve 5.6 olarak ayarladıklarında üretilen etanol miktarının ise pH 6 da üretilenden düşük pH 4.3-4.4 de üretilenden yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra 24 ve 48 saatte üretilen etanol miktarlarının aynı olduğu dolayısı ile fermantasyonun 24 saatten önce tamamlandığı anlaşılmıştır.

Romero vd. (2010), zeytin ağacı biyokütlesini kullanarak yaptıkları çalışmada asidik hidrolizin gerçekleştiği sıcaklığın ortaya çıkan indirgen şeker miktarı üzerine etkisini araştırmışlardır. Hidroliz için H₂SO₄ kullanılarak 60, 70, 80 ve 90°C'lerde gerçekleştirilen hidroliz işlemleri sonucu ortaya çıkan indirgen şeker miktarları ölçülmüştür. En yüksek indirgen şeker miktarı 90°C sıcaklıkta gerçekleşen hidroliz işleminden elde edilmiştir. 90°C sıcaklıkta gerçekleşen hidrolizde elde edilen indirgen şeker miktarı 100 g kuru hammaddede 21.6 g olarak ölçülmüştür.

Hashem ve Darwish (2010), patates fabrikasından alınan patates nişasta artıklarını kullanarak etanol üretimi yapmışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında fermantasyon için *Saccharomyces cerevisiae* mayasının iki farklı soyunu (y-1646 ve ticari bir soy) kullanmışlardır. En yüksek etanol miktarına (5.52 gram/L) ise 35°C sıcaklıkta *S. cerevisiae* y-1646 soyunu kullandıklarında ulaşmışlardır.

Lin vd. (2012), *Saccharomyces cerevisiae* BY4742 mayasını kullanarak şekerlerin etanole fermantasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada sıcaklık ve pH değerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisini incelemiştir. Maksimum etanol üretimi 30°C ve 45°C sıcaklık değerleri arasında gerçekleşmiştir. Aynı zamanda en yüksek etanol üretimine fermantasyon ortamı pH değeri 5 olduğunda ulaşıldığı da çalışmada belirtilmiştir.

Al-Judaibi (2011) tarafından yapılan çalışmada ise pancar melası biyokütle olarak kullanmış ve *Saccharomyces cerevisiae* CAIM13 mayası tarafından etanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışmada maya inokülasyon oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmacı çalışmada maya inokülasyon oranı arttıkça üretilen etanol miktarının lineer olarak arttığını buna karşılık basit şeker miktarının lineer bir biçimde azaldığını tespit etmiştir. Bununla birlikte belirli bir maya inokülasyon oranının üzerinde ekim yaptığında üretilen etanol miktarının azaldığını da tespit etmiştir.

Togarepi vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada ise *Ziziphus mauritiana* meyvesinin posası kullanılarak etanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada fermantasyon için *Saccharomyces cerevisiae* mayasını kullanmışlardır. Maya inokülasyon oranı, pH değeri ve sıcaklık parametrelerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisinin incelendiği çalışmada pH değeri 6 olarak alındığında, sıcaklık 30°C olarak ayarlandığında ve 20 g meyve posası başına 8 gram maya inoküle edildiğinde en yüksek etanol değerine ulaşıldığı ortaya konulmuştur.

Oberoi vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada muz kabukları kullanılarak etanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar çalışmada fermantasyon için *Saccharomyces cerevisiae* mayasını kullanmışlardır. Hidrotermal önışlem ve eşzamanlı hidroliz - fermantasyon yöntemleri kullanılarak üretilen etanolün konsantrasyonu 28.2 g/L olarak tespit edilmiştir.

Afifi vd. (2011), endüstriyel katı patates atıklarını biyokütle olarak kullanarak etanol üretmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada fermantasyon için *Saccharomyces cerevisiae* mayasını kullanmışlar ve karbon kaynağı oranı, inkübasyon sıcaklığı, ilk pH değeri

parametrelerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Karbon kaynağı oranı 10 g/L, inkübasyon sıcaklığı 25°C ve ilk pH değeri 3.5 iken en yüksek etanol üretimlerinin gerçekleştiği belirlenmiştir.

Agbogbo vd. (2007), *Pichia stipitis* mayasının farklı başlangıç hücre konsantrasyonlarının üretilen etanol miktarı üzerine etkisini araştırmışlardır. Deneylede, başlangıç ksiloz konsantrasyonu 120 g/L olan besiyerlerine farklı başlangıç hücre konsantrasyonlarına sahip *Pichia stipitis* mayası ekilmiştir. Sonuç olarak, başlangıç hücre konsantrasyonu arttıkça üretilen etanol miktarının da arttığı saptanmıştır. Araştırmacılar, düşük başlangıç hücre konsantrasyonlarında hücre büyümesinin yüksek olduğunu buna karşın yüksek başlangıç hücre konsantrasyonlarında etanol üretiminin yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Besiyeri Hazırlanması

Belso A.Ş.'den temin edilen 60 gram (yaş ağırlık) havuç posası üzerine su ilave edilerek % 22.90 (w/v)'lik havuç posası-su karışımları hazırlandı. Konsantre H₂SO₄ (Sigma) ve HCl (Sigma), havuç posası-su karışımları üzerine % 0.76, % 1.14 ve % 1.51 (v/v) olacak şekilde ilave edilmiştir.

Her biri çizelge 3.1'de verilen miktarda havuç posası, su ve asit içeren erlenler, otoklava yerleştirilmiştir. Otoklavda 121°C'de 1.1 atmosfer basınçta 15 dakika 500 ml'lik erlenler içerisinde hidroliz işlemi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1 Hidroliz adımı denenen parametreler ve çalışılan değerler

Parametre	Çalışılan Değerler
Karbon Kaynağı	60 gr havuç posası içeren % 22.90 (w/v)'lik havuç posası-su karışımı
Asit Tipi	H ₂ SO ₄ HCl
Asit Konsantrasyonu	% 0.76 v/v % 1.14 v/v % 1.51 v/v

Otoklav sonrası erlenler içerisinde bulunan karışım kaba filtre kağıdından süzülerek posanın katı kısmının ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen bu hidrolizatın pH'sı NaOH tabletleri kullanılarak 5'e ayarlandıktan sonra filtre kağıdı ile tekrar süzülmüştür.

Son olarak sterilizasyon için hidrolizat, mayanın üretileceği tüp ya da erlenlere aktararak tekrar 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

3.2 Mikroorganizma

Tez çalışmasında, fermantasyon yolu ile biyoetanol üretiminde Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarından alınan *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılmıştır. Maya hücreleri, 5 g/l pepton, 3 g/l et özütü ve 12 g/l agar içeren yatık agarlı tüplerde 4 °C'de üretilmiş ve depolanmıştır.

3.3 Besiyerine Adaptasyon

Fermantasyon için kullanılacak *S. cerevisiae* mayasının hidrolizat ortamına adaptasyonu için 60 gr havuç posası, 200 ml su, % 1.14 (v/v) H₂SO₄ içeren ve pH'sı NaOH ile 5'e ayarlanmış besiyeri kullanılmıştır.

Yatık agarda 4°C'de bekletilen *S. cerevisiae*' dan bir öze dolusu alınarak steril koşullarda 20 ml besiyeri içeren 50 ml'lik erlenlere ekilmiştir. Ekim işleminden hemen sonra erlenler çalkalamalı inkübatörde 150 rpm ve 30°C'de 3 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Üçüncü gün erlenlerden 2 şer mililitre alınarak aynı besiyerlerine ekim yapılmıştır. Bu işlem üç kez tekrarlanmıştır.

3.4 pH Etkisi

Çalışmada, 60 gram havuç posası ihtiva eden % 22.90 (w/v)'lik havuç posası-su karışımı üzerine % 0.76 (v/v) H₂SO₄ eklenerek besiyeri hazırlanmıştır. Elde edilen besiyerine adapte kültürden 2 ml eklenerek 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Deneylerde 10 ml besiyeri içeren 15 ml'lik Hungate tüpleri kullanılmıştır. Hazırlanan tüpler 150 rpm karıştırma hızında 30°C sıcaklıkta çalışan çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir.

3.5 Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonunun Etkisi

Farklı başlangıç mikroorganizma konsantrasyonlarının etkisinin belirlenmesi amacıyla planlanan çalışmada, % 22.90 (w/v)'lik havuç posası-su karışımı üzerine % 0.76 (v/v) H₂SO₄ eklenerek besiyeri hazırlanmıştır. pH'ı 5'e ayarlanmış besiyerlerine adapte

kültürlerden %10, %20 ve %30 (v/v) olacak şekilde eklenerek 1 gün inkübasyona bırakılmıştır.

Denemeler pH etkisinin belirlenmesinde olduğu gibi, son hacim 10 ml olacak şekilde besiyeri içeren 15 ml'lik Hungate tüplerinde, 150 rpm karıştırma hızında ve 30°C'de çalkalamalı inkübatörde yapılmıştır.

3.6 Karbon Kaynağı Miktarının Etkisi

Çalışmada 60 gram havuç posası, 90 gram havuç posası ya da 120 gram havuç posası içeren ve pH'sı 5 olan konsantre besiyerleri hazırlanmıştır. Oluşturulan besiyerleri Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Farklı miktarda karbon kaynağı içeren besiyerleri

60 gr havuç posası (% 22.90 w/v)	200 ml su	% 0.76 (v/v) H ₂ SO ₄
90 gr havuç posası (% 34.35 w/v)	170 ml su	% 0.76 (v/v) H ₂ SO ₄
120 gr havuç posası (% 45.8 w/v)	140 ml su	% 0.76 (v/v) H ₂ SO ₄

Bu besiyerlerine adapte kültürden % 20 (v/v) olacak şekilde eklenerek 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Denemelerde 10 ml besiyeri içeren 15 ml'lik Hungate tüpleri kullanılmıştır. Hazırlanan tüpler 150 rpm karıştırma hızında 30°C sıcaklıkta çalışan çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir.

3.7 Analiz Yöntemleri

Bu tez çalışmasında incelenen her bir parametre için OD analizi, şeker analizi ve etanol miktarı tayini yapılmıştır. Her bir analiz yönteminde üç paralel çalışılmıştır.

3.7.1 Optik yoğunluğun belirlenmesi

Fermantasyon ortamlarından alınan örnekler 5000 rpm' de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Çökelti fizyolojik tuzlu su ile yıkanıp gerekli seyreltmeler yapılarak optik yoğunluk 600 nm dalga boyunda absorbans okunarak tayin edilmiştir.

3.7.2 Şeker analizi

Fermantasyon ortamlarından alınan örneklerdeki toplam şeker miktarı tayini fenol-sülfürik asit yöntemi ile yapılmıştır. 500 mikrolitre örnek üzerine 500 mikrolitre fenol ve 2,5 mililitre sülfürik asit eklenmesi ile oluşan çözeltinin gerekli seyreltmeler yapılarak absorbansının 490 nm' de ölçülmesi ile analiz yapılmıştır. Bununla birlikte henüz fermantasyon için maya ekimi yapılmamış besin ortamının da fenol-sülfürik asit yöntemi ile toplam şeker miktarı tayini yapılmıştır (Dubois vd. 1956).

3.7.3 Etanol miktarı tayini

Fermantasyon ortamlarından alınan örneklerdeki etanol konsantrasyonu, alev iyonizasyon dedektörlü gaz kromatografi (Shimadzu, GC) kullanılarak tayin edilmiştir. Bir mikrolitre örnek 2 mm iç çapa ve 2 metre uzunluğa sahip bir cam kolona enjekte edilmiştir. Enjeksiyon deliği ve alev iyonizasyon dedektör sıcaklıkları sırasıyla 220°C ve 250°C olarak, fırın sıcaklığı ise 160°C'de sabit olarak tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak azot kullanılmıştır (Avcı ve Dönmez 2005).

4. BULGULAR

Tez çalışmasında öncelikle etanol üretimi için en uygun besiyerinin hazırlanması amacıyla, havuç posası asidik hidrolize uğratarak yapısındaki kompleks şekerlerin basit şekerlere indirgenmesi sağlanmıştır. Elde edilen basit şekerli besiyerlerinde *Saccharomyces cerevisiae* mayası kısmen anaerobik şartlarda üretilerek etanol elde edilmiştir.

Denemelerde asit tipi ve konsantrasyonu, pH etkisi, maya inokülasyon oranı ve karbon kaynağı oranı parametrelerinin etanol verimine etkileri incelenmiştir.

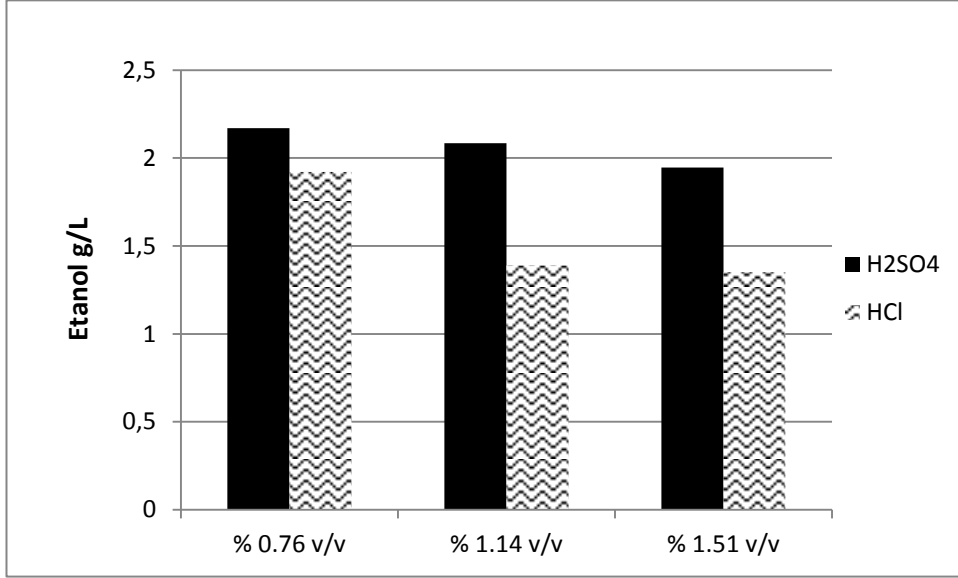
4.1 Asit Türü ve Konsantrasyonunun Etkisi

Hidroliz işleminde üç farklı konsantrasyonda kullanılan H₂SO₄ ve HCl asitlerinin 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda üretilen etanol miktarı ve biyokütle üzerindeki etkileri Şekil 4.1 ve 4.2’de verilmiştir.

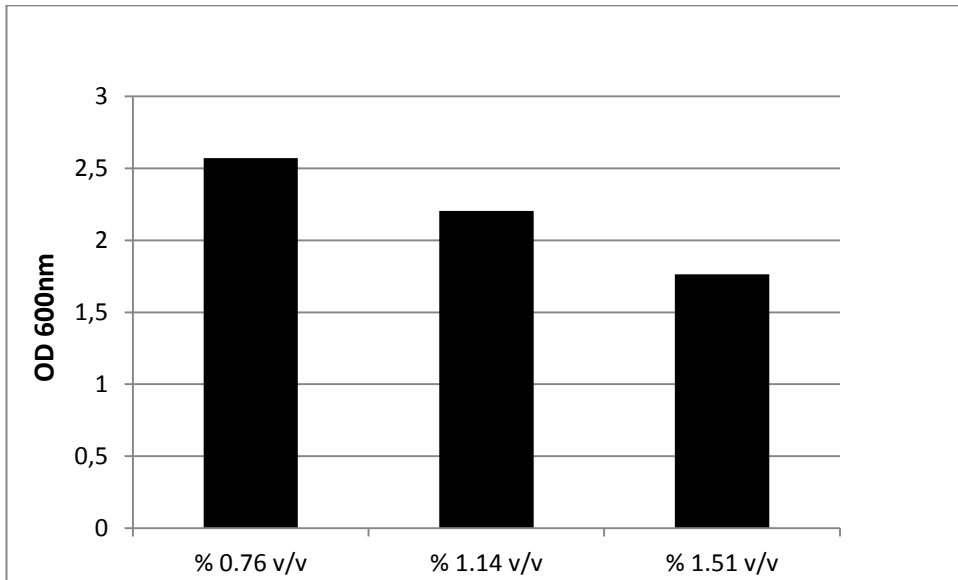
Hidroliz işleminde kullanılan her iki asit türü için de konsantrasyon arttıkça üretilen etanol miktarının azaldığı belirlenmiştir. Denemelerde kullanılan en düşük asit konsantrasyonlarında en yüksek etanol değerleri elde edilmiştir. Şekil 4.1’te görüldüğü üzere hidroliz için % 0.76 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında üretilen etanol miktarı 2,16 g/l iken % 1.14 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında üretilen etanol miktarı 2,08 g/l olmuştur. Hidroliz işlemi için % 1.51 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında ise üretilen etanol miktarı 1,94 g/l olarak ölçülmüştür. Hidroliz işlemi için % 0.76 (v/v) HCl içeren besiyeri tercih edildiğinde üretilen etanol miktarı 1,92 g/l iken % 1.14 (v/v) HCl içeren besiyeri kullanıldığında üretilen etanol miktarı 1,38 g/l olarak ölçülmüştür. Denemelerde % 1.51 (v/v) HCl içeren besiyeri kullanıldığında ise üretilen etanol miktarı 1,35 g/l olarak ölçülmüştür.

Asit türü ve konsantrasyonunun etkisinin denendiği bu çalışma sonunda en yüksek etanol üretiminin % 0.76 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında elde edildiği bulunmuştur. En yüksek etanol veriminin elde edildiği H₂SO₄ konsantrasyonlarının

fermantasyonun birinci gününde üretilen biyokütle üzerindeki etkisi şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Asit çeşidi ve konsantrasyonunun *S. cerevisiae*'nin ürettiği etanol üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 24 saat KH: 150 rpm)



Şekil 4.2 Hidrolizde kullanılan H₂SO₄ konsantrasyonunun optik yoğunluk üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 24 saat; KH: 150 rpm)

Şekil 4.2’de etanol üretimine benzer şekilde H₂SO₄ konsantrasyonu arttıkça optik yoğunluğun düştüğü görülmektedir. Hidroliz işleminde % 0.76 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında fermantasyonun birinci gününde optik yoğunluk 2,57 olarak ölçülürken hidroliz işleminde % 1.14 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında optik yoğunluk 2,20 olarak ölçülmüştür. Hidroliz işleminde % 1.51 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında ise inkübasyon süresi sonunda optik yoğunluğun 1,76 olduğu görülmüştür.

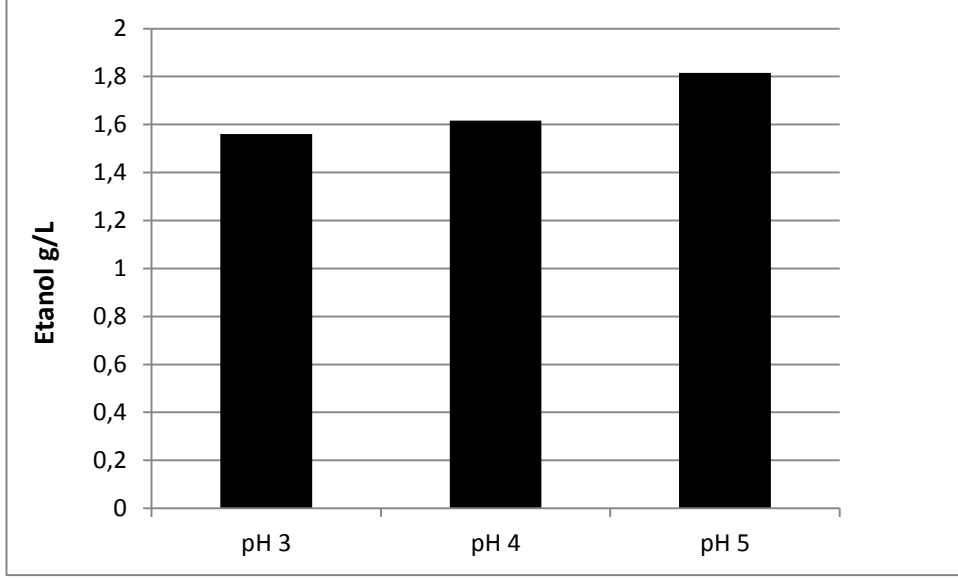
Denemeler sonunda, % 0.76 (v/v) H₂SO₄ içeren besiyeri kullanıldığında en yüksek etanol derişimine ve biyokütleyle ulaşıldığı belirlenmiştir.

4.2 pH’ın Etkisi

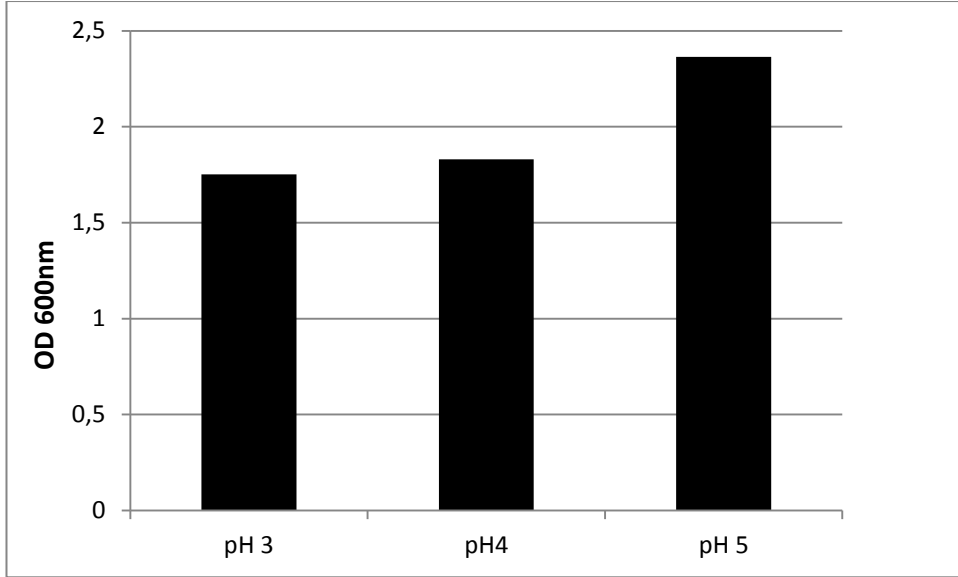
Bu parametre fermantasyon için maya inoküle edilecek besi ortamı pH değerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisini incelemek amacıyla çalışılmıştır. Fermantasyonun 4. gününde, üretilen etanol miktarı ve optik yoğunluğun pH değerine göre değişimlerinin sunulduğu şekil 4.3 ve 4.4 incelendiğinde hem üretilen etanol miktarı hem de optik yoğunluğun pH 5 değerinde az da olsa arttığı görülmektedir. Besiyeri pH değerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisi incelendiğinde pH 3 değerinde üretilen etanol miktarının (1,56 g/l) pH değeri 4 olduğunda arttığı (1,61 g/l) ve en yüksek değerine pH 5’de (1,81 g/l) ulaştığı görülmektedir.

Besiyeri pH değerinin optik yoğunluk üzerine etkisini gösteren şekil 4.4’de pH 3, pH 4 ve pH 5 değerlerinde giderek artan bir optik yoğunluk (pH 3 için 1,75, pH 4 için 1,83 ve pH 5 için 2,36) görülmektedir.

Tez çalışmasında bundan sonra yapılan tüm deneylerde, mayanın geliştiği fermantasyon ortamının pH’sı 5 olarak ayarlanmıştır.



Şekil 4.3 Besi yeri pH değerinin *S. cerevisiae*'nin ürettiği etanol derişimi üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 96 saat KH: 150 rpm)



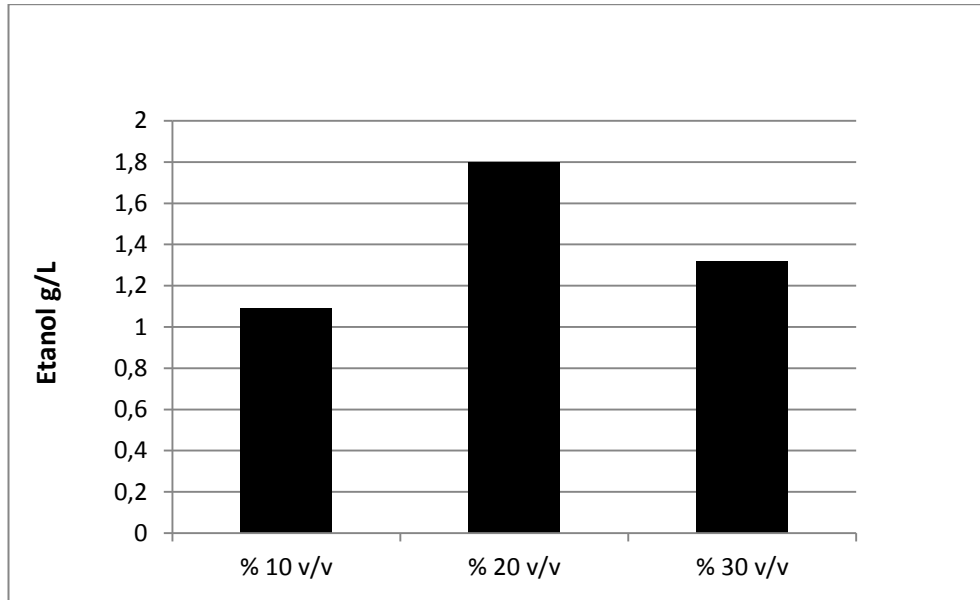
Şekil 4.4 Besi yeri pH değerinin optik yoğunluk üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 96 saat KH: 150 rpm)

4.3 Maya İnokülasyon Oranı Etkisi

Bu parametrede, fermantasyon ortamına inoküle edilecek maya oranının üretilen etanol miktarı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Denemelerde pH'ı 5'e ayarlanmış besiyerlerine adapte kültürden % 10 (v/v), % 20 (v/v) ve % 30 (v/v) olacak şekilde maya inoküle

edilip üretilen etanol miktarı ve optik yoğunluk üzerine etkileri sırasıyla şekil 4.5 ve 4.6'da verilmiştir.

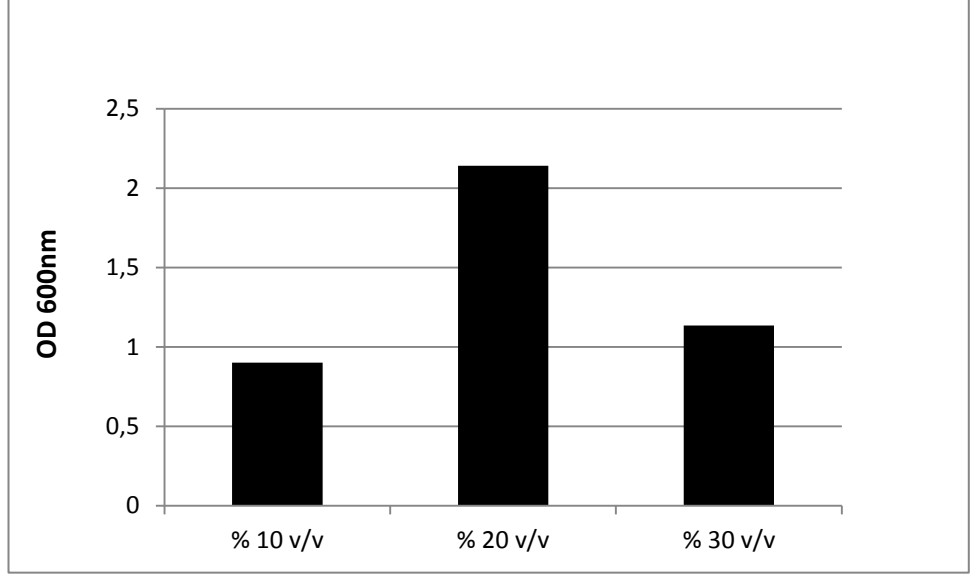
Şekil 4.5 incelendiğinde, fermantasyon ortamına % 10 (v/v) olacak şekilde maya inoküle edildiğinde üretilen etanol miktarının 1,08 g/l; % 20 (v/v) olacak şekilde maya inoküle edildiğinde üretilen etanol miktarının 1,80 g/l olduğu görülmektedir. Fermantasyon ortamına % 30 (v/v) olacak şekilde maya inoküle edildiğinde ise üretilen etanol miktarı 1,32 g/l olarak ölçülmüştür. En yüksek etanol verimi fermantasyon ortamına % 20 (v/v) olacak şekilde maya inoküle edildiğinde elde edilmiştir.



Şekil 4.5 Maya inokülasyon oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 24 saat KH: 150 rpm)

Şekil 4.6 ise fermantasyonun birinci günündeki optik yoğunluk değerlerine işaret etmektedir. pH'ı 5'e ayarlanmış besiyeri ortamına % 10 (v/v) olacak şekilde maya inoküle edildiğinde fermantasyon ortamının birinci günündeki optik yoğunluğu 0,90 iken % 20 (v/v) olacak şekilde maya inoküle edildiğinde fermantasyon ortamının birinci günündeki optik yoğunluğu 2,14 değerine yükselmiştir. Maya % 30 (v/v) olacak şekilde inoküle edildiğinde ise fermantasyon ortamının birinci günündeki optik yoğunluğu ise 1,13 değerine düşmüştür.

Maya inokülasyon oranının belirlendiği bu çalışma sonunda, en yüksek etanol verimi ve biyokütleye besiyeri ortamına 2 ml hacimce % 20 olacak şekilde maya inoküle edildiğinde ulaşıldığı görülmüştür.



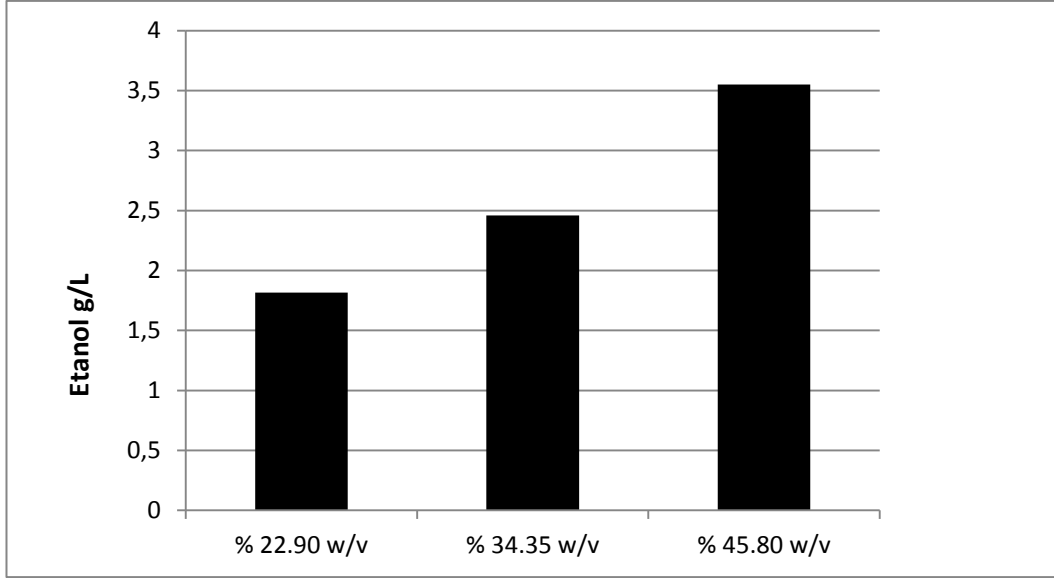
Şekil 4.6 Maya inokülasyon oranının optik yoğunluk üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 24saat KH: 150 rpm)

4.4 Karbon Kaynağı Oranı Etkisi

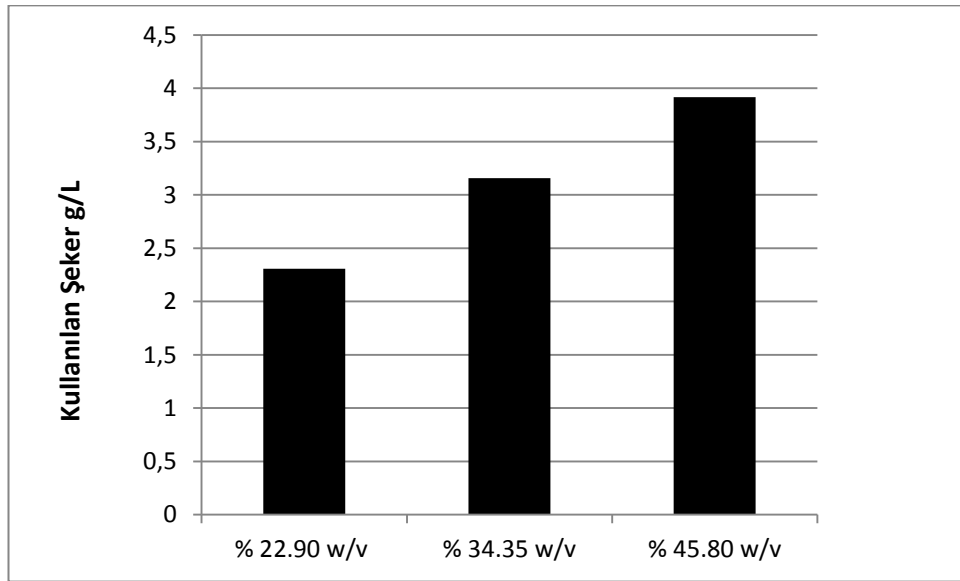
Bu parametrede, hidroliz işlemine giren karbon kaynağı oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. Karbon kaynağı oranının *S. cerevisiae*'nin ürettiği etanol derişimi, kullanılan şeker miktarı ve optik yoğunluk üzerine etkileri sırasıyla şekil 4.7, 4.8 ve 4.9'da sunulmuştur.

Şekil 4.7'de görüldüğü üzere besiyerinde havuç posası % 22.90 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında üretilen etanol miktarı 1,81 g/l iken besiyerinde havuç posası % 34.35 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında üretilen etanol miktarı 2,46 g/l olarak ölçülmüştür. Besiyerinde havuç posası % 45.80 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında ise üretilen etanol miktarı 3,55 g/l olarak ölçülmüştür.

Denemeler sonunda en yüksek etanol miktarı, karbon kaynağı olarak havuç posası % 45.80 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında elde edilmiştir.



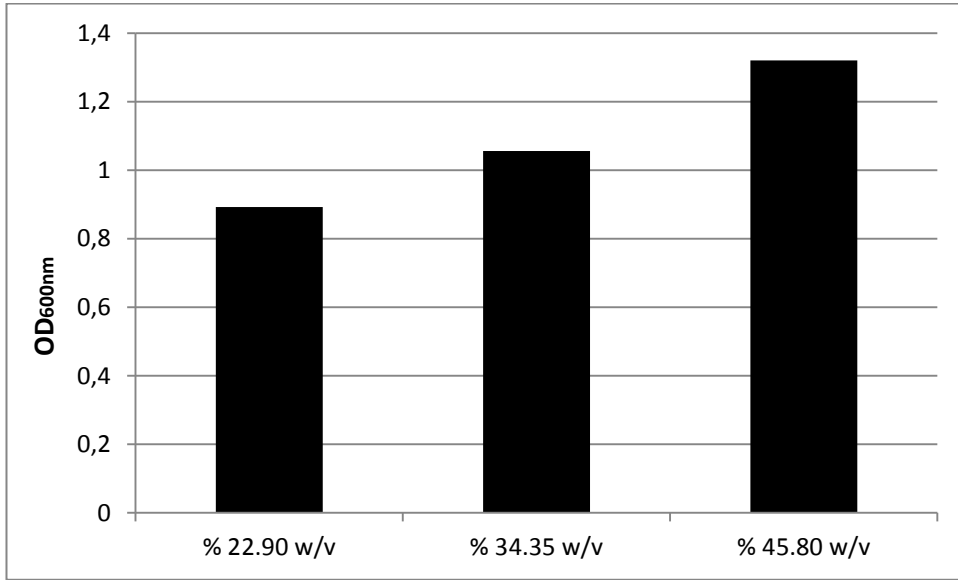
Şekil 4.7 Karbon kaynağı oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 96 saat KH: 150 rpm)



Şekil 4.8 Karbon kaynağı oranının kullanılan şeker miktarı üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 96 saat KH: 150 rpm)

Şekil 4.8’de verilen kullanılan şeker miktarları incelendiğinde besiyerinde havuç posası % 22.90 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında kullanılan şeker miktarı 2.30 g/l ve havuç posası % 34.35 (w/v) olacak şekilde kullanıldığı durumda kullanılan şeker miktarı 3.15 g/l olarak saptanmıştır. Besiyerinde havuç posası % 45.80 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında kullanılan şeker miktarı da artarak 3,91 g/l olmuştur.

Şekil 4.9’da verilen optik yoğunluk miktarları incelendiğinde, besiyerinde havuç posası % 22.90 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında 4. gündeki optik yoğunluk 0,89 iken havuç posası % 34.35 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında optik yoğunluk 1,05 olarak ölçülmüştür. Besiyerinde havuç posası % 45.80 (w/v) olacak şekilde kullanıldığında ise optik yoğunluğun 1,32 olarak ölçüldüğü görülmektedir.



Şekil 4.9 Karbon kaynağı oranının optik yoğunluk üzerine etkisi (S: 30°C; İS: 96 saat KH: 150 rpm)

Tez çalışması sonunda asidik hidroliz sonrası pH 5’de denenen en yüksek havuç posasında en fazla etanol üretimine ulaşıldığı belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyoyakıtlar, petrolden elde edilen yakıtların yerini aldığı için önemlidir. Biyoyakıtların çevresel ve ekonomik faydalarının olduğu bilinmektedir. Dünyadaki taşımacılıkta en geniş kullanıma sahip biyoyakıt çeşidi biyoetanoldür. Biyokütleden biyoetanol üretimi ham petrol tüketimini ve çevresel kirliliği azaltır. Biyoetanolün gazolin ile harmanı otomobillerde kullanılmakta ve bu durum petrol tüketimi ile sera gazları emisyonunu azaltmaktadır. Biyoetanol farklı hammaddeler kullanılarak üretilmektedir (Balat ve Balat 2009).

Bu tez çalışması kapsamında hammadde olarak havuç posası kullanılarak çevre dostu bir yakıt olan biyoetanol üretimi araştırılmıştır. Bu amaçla, biyokütle olarak kullanılan havuç posası asidik hidrolize maruz bırakılmış ve ardından elde edilen hidrolizat *Saccharomyces cerevisiae* mayası tarafından fermantasyona uğratarak etanol elde edilmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında hidroliz işleminde kullanılacak asidin türü ve konsantrasyonunun üretilen etanol miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır. Hidroliz işlemi lignoselülozik hammaddeden fermente edilebilir şekerler elde etmek için uygulanır. Hidroliz işlemi ile selüloz ve hemiselüloz polimerleri monomerlere parçalanır. Kimyasal hidrolizde ağırlıklı olarak asitler kullanılır. Sülfürik asit en çok kullanılan asit olmakla beraber hidroklorik asit gibi diğer asitler de hidrolizde kullanılır (Taherzadeh ve Karimi 2007).

Kim ve Lee'ye (2002) göre, H_2SO_4 'ün difüzyonu lignoselülozik biyokütlenin yapısına bağlıdır ve tarımsal atıklarda H_2SO_4 'ün difüzyonu odun atıklarına göre daha yüksektir. Hashem ve Darwish (2010) yaptıkları çalışmada biyokütle olarak patates artığı kullanmış ve *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanarak biyoetanol üretimi gerçekleştirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada araştırmacılar hidrolizde HCl ve H_2SO_4 'ün etkinliğini karşılaştırmışlar ve sonuç olarak H_2SO_4 'ün hidroliz için daha uygun olduğunu belirleyerek yaptıkları diğer deneyler boyunca da sülfürik asidi hidroliz işleminde kullanmışlardır.

Literatür bilgileri dikkate alınarak planlanan tez çalışmasında asidik hidroliz işleminde H₂SO₄ ve HCl'nin farklı konsantrasyonları kullanılmıştır. Ardından fermantasyon işlemi ile etanol üretimi gerçekleşmiş ve en yüksek etanol üretimi % 0.76 (v/v) H₂SO₄ kullanıldığında elde edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında fermantasyon için maya inoküle edilecek besiyeri ortamının pH değerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* mayasının etanol üretiminin pH 5-5.5 değerlerinde arttığı dolayısı ile *Saccharomyces cerevisiae* mayasının optimum pH aralığının 5- 5.2 olduğu daha önce yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Wilkins vd. 2007).

Lin vd. (2012) yaptıkları çalışmada, pH değerinin üretilen etanol miktarı üzerine etkisini incelerken pH 3, pH 4, pH 5, pH 5.5 ve pH 6 değerlerini besiyerlerinin ilk pH'ı olarak ayarlamışlar ve ardından *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanarak etanol üretimi yapmışlardır. Farklı pH değerlerine sahip besi ortamlarında oluşan etanol miktarları saptandığında en yüksek etanol üretiminin besi ortamı pH değeri 5 olduğunda ortaya çıktığı gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda fermantasyon boyunca bakterilerin +H iyonu salgılaması nedeniyle ortam pH değerinin azaldığı da bilinmektedir (Lindberg 2009).

Tez çalışmasında üç farklı pH değeri kullanılarak hazırlanan besi ortamlarına eşit miktarda maya inoküle edilerek en yüksek etanol miktarının pH 5 değerinde üretildiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada pH 5 değerinde üretilen etanol miktarını pH 4 değerinde üretilen etanol miktarı ve onu da pH 3 değerinde üretilen etanol miktarının takip ettiği görülmektedir.

Çalışmanın üçüncü aşamasında fermantasyon ortamına inoküle edilecek olan maya miktarının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. Aynı içeriğe sahip üç fermantasyon ortamına % 10 (v/v), % 20 (v/v) ve % 30 (v/v) maya inoküle edilmiştir ve en yüksek etanol miktarı besiyerine % 20 (v/v) maya inoküle edildiğinde elde edilmiştir.

Togarepi vd. (2012) yaptıkları çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* mayasını kullanmış ve meyve posalarından etanol üretmişlerdir. Araştırmacılar fermantasyon parametrelerinin optimizasyonu için yaptıkları bu çalışmada maya inokülasyon oranını giderek artırırken

üretileen etanol miktarının da arttığını gözlemlemişler. Ancak belirli bir noktadan sonra besiyeri miktarının sabit olması nedeniyle maya miktarını artırsalar bile etanol miktarının artmadığını gözlemlemişlerdir.

Al-Judaibi (2011) tarafından yapılan çalışmada ise pancar melası karbon kaynağı olarak kullanılarak *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile etanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Araştırmacı çalışmasında maya inokülasyon oranının üretilen etanol miktarına etkisini incelemiş ve maya inokülasyon oranı arttıkça üretilen etanol miktarının lineer olarak arttığı buna karşılık basit şeker miktarının lineer bir biçimde azaldığını tespit etmiştir. Bununla birlikte araştırmacı belirli bir maya inokülasyon miktarının üzerinde ekim yaptığında üretilen etanol miktarının azaldığını da tespit etmiştir.

Maya inokülasyon oranı ile ilgili bir diğer çalışmayı ise Agbogbo vd. (2007) yapmıştır. Araştırmacılar çalışmalarında sabit bir ksiloz konsantrasyonu belirlemişler ve *Pichia stipitis* mayasının farklı inokülasyon oranlarının bu sabit ksiloz konsantrasyonunu kullanım miktarını saptamışlardır. Araştırmacılar düşük *Pichia stipitis* inokülasyonunda hücre büyümesinin yüksek olduğunu saptamışlardır. Buna karşın yüksek *Pichia stipitis* inokülasyonunda ise hücre büyümesinin değil etanol üretiminin ve ksiloz tüketiminin yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar bunun sebebinin yüksek inokülasyon oranında hücrelerin ksilozu büyüme için değil etanol üretmek için kullanmasından kaynaklandığını söylemektedir.

Çalışmanın son aşamasında hidroliz edilecek karbon kaynağı oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu nedenle hidroliz işlemi için % 22.90 (w/v), % 34.35 (w/v) ve % 45.80 (w/v) havuç posası kullanılmış ve üretilen en yüksek etanol değerinin % 45.80 (w/v) havuç posası kullanıldığında elde edildiği saptanmıştır.

Hong ve Yoon (2011) yaptıkları çalışmada, yiyecek artıklarını kullanarak etanol üretimi gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada fermantasyon için *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanmışlar ve karbon kaynağı oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonunda başlangıçtaki karbon kaynağı miktarı arttıkça üretilen etanol miktarında da artış olduğunu saptamışlardır.

Karbon kaynağı oranının üretilen etanol miktarı üzerine etkisini inceleyen bir başka çalışmada ise Almarsdottir vd. (2011) *Thermoanaerobacterium* AK17 bakterisini kullanarak etanol üretmişlerdir. Çalışmada başlangıç karbon kaynağı olarak glikoz kullanılmıştır. Araştırmacılar glikoz miktarını belirli bir seviyeye kadar artırdıklarında üretilen etanol miktarının arttığını gözlemlemişlerdir. Buna karşın glikoz miktarındaki artışın belirli bir seviyeden sonra üretilen etanol miktarında düşüşe neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu düşüşün sebebini ise kapalı sistemlerde aşırı başlangıç karbon kaynağının organik asitlerin birikimine neden olması ve bunun sonucunda da ortam pH değerinin düşmesi olarak saptamışlardır.

Karbon kaynağının üretilen etanol miktarı üzerine etkisini inceleyen bir başka çalışmada ise biyokütle olarak patates atığı kullanılmıştır (Afifi vd. 2011). Çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak patates atığından etanol üretiminde karbon kaynağı oranının etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar patates atığının miktarını artırdıkça üretilen etanol miktarının arttığını ancak belirli bir patates atığı miktarının üzerinde, üretilen etanol miktarının düşmeye başladığını saptamışlardır. Bu düşüşün aşırı karbon kaynağının maya hücreleri üzerindeki inhibitör etkisi olabileceğini de belirtmişlerdir.

Tez çalışmasının sonucunda, havuç posası kullanılarak biyoetanol üretiminde maksimum verimin alınması için gerekli parametreler ve bu parametrelere ait optimum değerler tespit edilmiştir. Denemelerde en yüksek etanol miktarına, % 45.80 (w/v) havuç posasının % 0.76 (v/v) H₂SO₄ ile hidroliziyle hazırlanan, pH'sı 5 olan besiyerinde ve başlangıç inokülasyon oranı olarak % 20 (v/v) maya kullanıldığında ulaşıldığı bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Afifi, M., El-Ghany, A., Abboud, M., Taha, T. and Ghaleb, K. 2011. Biorefinery of Industrial Potato Wastes to ethanol by Solid State Fermentation. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 7; 126-134.
- Agbogbo, F., Kelly, G., Smith, M., Wenger, K. and Jeffries, T. 2007. The Effect of Initial Cell Concentration on Xylose Fermentation by *Pichia stipitis*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 136-140; 653-662.
- Al-Judaibi, A. 2011. Effect of Some Fermentation Parameters on Ethanol Production from Beet Molasses by *Saccharomyces cerevisiae* CAIM13. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 6; 301-306.
- Almarsdottir, A., Sigurbjornsdottir, M. and Orlygsson, J. 2011. Effect of Various Factors on Ethanol Yields From Lignocellulosic Biomass by *Thermoanaerobacterium* AK17. Biotechnology and Bioengineering, 9999; 1-9.
- Anonymous. 2013. Web Sites: <http://pubs.rsc.org>, Erişim Tarihi: 15.06.2013.
- Anonymous. 2013. Web Sites: <http://visualsunlimited.photoshelter.com>, Erişim Tarihi: 10.05.2013.
- Arapoglou, D., Varzakas, T., Vlyssides, A. and Israilides, C. 2010. Ethanol production from potato peel waste. Waste Management, 30; 1898–1902.
- Avci, A. and Donmez, S. 2005. Effect of zinc on ethanol production by two *Thermoanaerobacter* strains. Process Biochemistry, 41; 984–989.
- Balat, M., Balat, H. and Öz, C. 2008. Progress in bioethanol processing. Progress in Energy and Combustion Science, 34; 551–573.
- Balat, M. and Balat, H. 2009. Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel. Applied Energy, 86; 2273–2282.
- Cardona, C.A., Quintero, J.A. and Paz, I.C. 2010. Production of bioethanol from sugarcane bagasse. Bioresource Technology, 101; 4754-4766.

- Demirbaş, A. 2007. Progress and recent trends in biofuels. *Progress in Energy and Combustion Science*, 33; 1–18.
- Demirbaş, A. 2009. Political, economic and environmental impacts of biofuels. *Applied Energy*, 86; pp. 108–S117.
- Demirbaş, M.F., Balat, M. and Balat, H. 2011. Biowastes-to-biofuels. *Energy Conversion and Management*, 52; 1815–1828.
- Dodic, S., Popov, S., Dodic, J., Rankovic, J., Zavargo, Z. and Mucibabic, R.J. 2009. Bioethanol production from thick juice as intermediate of sugar beet processing. *Biomass and Bioenergy*, 33; 822-827.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28; 350-356.
- Girio, F.M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L.C., Marques, S. and Bogel-Lukasik, R. 2010. Hemicelluloses for fuel ethanol. *Bioresource Technology*, 101; 4775–4800.
- Han, Y.J. and Chen, H.Z. 2010. Synergism between hydrophobic proteins of corn stover and cellulose in lignocellulose hydrolysis. *Biochem. Eng. J*, 48; 218–224.
- Hashem, M. and Darwish, S.M.I. 2010. Production of bioethanol and associated by-products from potato starch residue stream by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomass and Bioenergy*, 34; 953-959.
- Hong, Y.S. and Yoon, H.H. 2011. Ethanol production from food residue. *Biomass and Bioenergy*, 35; 3271-3275.
- Karatay, S.E. and Dönmez, G. 2010. Improving the lipid accumulation properties of the yeast cells for biodiesel production using molasses. *Bioresource Technology*, 101; 7988–7990.
- Keller, F.A., Hamilton, J.E. and Nguyen, Q.A. 2003. Microbial pretreatment of biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 105-108; 27-41

- Kim, B.S. and Lee, Y.Y. 2002. Diffusion of sulfuric acid within lignocellulosic biomass particles and its impact on dilute-acid pretreatment. *Bioresource Technology*, 83; 165-171.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J. and Stroeve, P. 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48; 3713–3729.
- Laser, M., Schulman, D., Allen, S.G., Lichwa, J., Antal, M.J. and Lynd, L.R. 2002. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. *Bioresource Technology*, 81; 33-44.
- Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S. and Kong, H. 2012. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and Bioenergy*, 47; 395-401.
- Lindberg, L. 2009. Evaluation of Different Enzymes and Yeasts, and Their Impact on Bioethanol Production Based on Debranned Wheat. Department of Physics, Chemistry and Biology Linköping University, 48, Sweden.
- Martin, C., Klinke, H.B. and Thomsen, A.B. 2007. Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. *Enzyme and Microbial Technology*, 40;426-432.
- Nawirska, A. and Kwasniewska, M. 2005. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chemistry*, 91; 221–225.
- Oberoi, H.S., Vadlani, P.V., Saida, L., Bansal, S. and Hughes, J.D. 2011. Ethanol production from banana peels using statistically optimized simultaneous saccharification and fermentation process. *Waste Management*, 31; 1576-1584.
- Pandey, A., Larroche, C., Ricke, S.C., Dussap, C.G. and Gnansounou, E. 2011. *Biofuels Alternative feedstocks and conversion processes*. Elsevier, 629, USA.
- Polycarpou, P. 2009. Bioethanol production from *Asphodelus aestivus*. *Renewable Energy*, 34; 2525–2527.

- Romero, I., Ruiz, E., Castro, E. and Moya, M. 2010. Acid hydrolysis of olive tree biomass. *Chemical Engineering Research and Design*, 88; 633-640.
- Slaa, J., Gnode, M. and Else, H. 2009. Yeast and fermentation: the optimal temperature. *Journal of Organic Chemistry*, 134.
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. *Bioresource Technology*, 83; 1-11.
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2007. Acid hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials. *BioResources*, 2(3); 472-499.
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2008. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production. *International Journal of Molecular Sciences*, 9; 1621-1651.
- Togarepi, E., Mapiye, C., Muchanyereyi, N. and Dzomba, P. 2012. Optimization of Fermentation Parameters for Ethanol Production from *Ziziphus mauritiana* Fruit Pulp Using *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Biochemistry Research and Review*, 2(2); 60-69.
- Wilkins, M.R., Widmer, W.W. and Grohmann, K. 2007. Simultaneous saccharification and fermentation of citrus peel waste by *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol. *Process Biochemistry*, 42; 1614–1619.
- Yücel, H.G. 2011. Şeker pancarı küspesinin biyoetanol üretiminde kullanılabilirliğinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi, 115 s., Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selcan SİYAKUŞ

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 1983

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Çankaya Cumhuriyet Lisesi (2001)

Lisans : İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı
(Şubat 2010- Eylül 2013)