

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**PİRİNÇ KAVUZU HİDROLİZATININ BİYOFİLM REAKTÖRDE KESİKLİ VE
SÜREKLİ SİSTEMLERLE ETANOL FERMENTASYONU VE ÜRETİMİN
MATEMATİKSEL MODELLERLE TANIMLANMASI**

Nour BEN BADER

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

ARALIK 2017

ANTALYA

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



**PİRİNÇ KAVUZU HİDROLİZATININ BİYOFİLM REAKTÖRDE KESİKLİ VE
SÜREKLİ SİSTEMLERLE ETANOL FERMENTASYONU VE ÜRETİMİN
MATEMATİKSEL MODELLERLE TANIMLANMASI**

Nour BEN BADER

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

ARALIK 2017

ANTALYA

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

**PİRİNÇ KAVUZU HİDROLİZATININ BİYOFİLM REAKTÖRDE KESİKLİ VE
SÜREKLİ SİSTEMLERLE ETANOL FERMENTASYONU VE ÜRETİMİN
MATEMATİKSEL MODELLERLE TANIMLANMASI**

**Nour BEN BADER
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

ARALIK 2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PIRİNÇ KAVUZU HİDROLİZATININ BİYOFİLM REAKTÖRDE KESİKLİ VE
SÜREKLİ SİSTEMLERLE ETANOL FERMENTASYONU VE ÜRETİMİN
MATEMATİKSEL MODELLERLE TANIMLANMASI

Nour BEN BADER

DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 26/12/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr. İrfan TURHAN

Prof.Dr. Mustafa KARHAN

Doç.Dr. Kemal KARABAĞ

Yrd.Doç.Dr. Zelal POLAT

Yrd.Doç.Dr. MERT KARAOĞLAN



ÖZET

PİRİNÇ KAVUZU HİDROLİZATININ BİYOFİLM REAKTÖRDE KESİKLİ VE SÜREKLİ SİSTEMLERLE ETANOL FERMENTASYONU VE ÜRETİMİN MATEMATİKSEL MODELLERLE TANIMLANMASI

Nour BEN BADER

DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
Danışman: Doç. Dr. İrfan TURHAN
ARALIK 2017, 132 sayfa

Günümüzde nüfus ve sanayileşmede hızlı bir büyüme gerçekleştiğinden yakıt ve özellikle de yüksek verimlilik ve düşük çevre etkisi olan biyo-enerji kaynakları arasında sayılan etanole, dünya çapındaki talep sürekli artmaktadır. Lignoselüloz biyokütle, birçok endüstriyel prosesin ve tarımsal materyalin yan ürünü olarak ortaya çıkan en bol ve yenilenebilir karbon kaynaklarıdır ve basitçe bazı enerji bitkilerinden üretilebilir. Lignoselülozik materyaller biyoetanol üretimi için dünya çapında artan bir ilgi görmektedir.

Bu çalışmada *Pichia stipitis* ATCC 58784 ve ATCC 58785 mayaları kullanılarak pirinç kavuzu hidrolizatından biyofilm reaktörde etanol üretimleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle biyofilm reaktör seçiminde kullanılacak destek materyalinin seçimi yapılmıştır. Her iki mikroorganizma için de farklı oranlarda denemeler gerçekleştirilerek en iyi karbon kaynağı bileşiği belirlenmiştir. Bunun sonucunda 1 numaralı besiyeri olarak “%50 pirinç kavuzu hidrolizati + % 50 glukoz”, 2 numaralı besiyeri olarak ise “%75 pirinç kavuzu hidrolizati + % 25 ksiloz” seçilmiştir. Fermentasyon sonunda tüm kinetik parametreler ve sonuçlar incelendikten sonra pirinç kavuzu hidrolizatının fermentasyon ortamında kullanılmasında *P.stipitis* ATCC 58785 suşunun daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca azot kaynağının etkisi incelenerek en iyi azot kaynağı ikilisinin maya ekstraktı ve pepton olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon ortamında en uygun karbon kaynağı içeriği ve azot kaynağı çeşidinin belirlenmesinden sonra sürekli sistemde fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir.

Buradan elde edilen ürün ve biyokütle verimlilik değerlerinin kesikli fermentasyona göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tüm bunların yanında zenginleştirme ve sterilizasyon işleminin biyofilm reaktörde önemli olduğu görülmüştür. Fermentasyon işlemleri sonucunda elde edilen sonuçlar ve hesaplanan kinetik parametreler kullanılarak (deneysel veriler) 11 farklı matematiksel model ile etanol üretimi, biyokütle gelişim ve substrat tüketimi modellenmiştir. Bu amaçla MGM, MLM, MRM, Stannard, Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri kullanılmıştır. 1 numaralı besiyeri için, biyokütle gelişiminin ve etanol üretiminin deneysel verilerinin modellenmesinde en iyi model *Fitzhugh model* olurken, şeker tüketiminde en iyi modeller *Baranyi* ve *Huang modelleri* olmuştur. 2 numaralı besiyeri için hem hücre gelişiminin hem de şeker tüketiminin deneysel verilerinin modellenmesinde en iyi modeller *MMF* ve *Cone modelleri* olurken, etanol üretimi için

en başarılı modellerin **MGM** ve **MRM** olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar piriç kavuzu hidrolizatının fermentasyon ortamında potansiyel bir karbon kaynağı olabileceğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Etanol üretimi, *P. stipitis*, Piriç kavuzu, kesikli, sürekli fermentasyon, kompozit destek materyalleri, modelleme.

JÜRİ: Doç. Dr. İrfan TURHAN

Prof.Dr. Mustafa KARHAN

Doç.Dr. Kemal KARABAĞ

Yrd.Doç.Dr. Zelal POLAT

Yrd.Doç.Dr. MERT KARAOĞLAN

ABSTRACT

ETHANOL FERMENTATION IN BIOFILM REACTOR USING BATCH AND CONTINUOUS SYSTEMS FROM RICE HUSK HYDROLYSATE AND DEFINITION OF PRODUCTION BY MATHEMATICAL MODELS

Nour BEN BADER

PhD Thesis in Food Engineering
Supervisor: Assoc. Dr. İrfan TURHAN
December 2017, 132 pages

Nowadays, rapid growth in population and industrialization has led to a steady increase in world demand for ethanol, which is considered to be one of the bio-energy sources of fuel and in particular of high efficiency and low environmental impact. Lignocellulosic biomass is the most abundant and renewable carbon source emerging as a byproduct of many industrial processes and agricultural materials, and can simply be produced from some energy plants. Lignocellulosic materials are receiving increasing interest worldwide for bioethanol production.

In this study ethanol production of rice husk hydrolyzate in biofilm reactor was carried out using *Pichia stipitis* ATCC 58784 and ATCC 58785. For this purpose, the selection of the support material to be used in the selection of the biofilm reactor has been made. Experiments were carried out at different rates for both microorganisms and the best carbon source compound was determined. As a result of this, "50% rice husk hydrolyzate + 50% glucose" was selected as the No. 1 nutrient and "75% rice husk hydrolyzate + 25% xylose" was selected as the 2nd nutritional supernatant. After all the kinetic parameters and results were examined at the end of the fermentation, *P. stipitis* ATCC 58785 strain was found to be more effective in the use of rice husk hydrolyzate in the fermentation medium. In addition, the effect of nitrogen source was examined and it was determined that the best nitrogen source pair was yeast extract and peptone. Fermentation was carried out in the continuous system after determining the most suitable carbon source content and nitrogen source type in the fermentation environment. It was determined that the product and biomass productivity values obtained from this study were higher than the batch fermentation.

In addition, enrichment and sterilization processes have been found to be important in the biofilm reactor. Using the results obtained from the fermentation process and the calculated kinetic parameters (experimental data), 11 different mathematical models were modeled for ethanol production, biomass development and substrate consumption. For this purpose, MGM, MLM, MRM, Stannard, Weibull, MMF, Asymmetric, Baranyi, Huang, Fitzhugh and Cone models are used. The best model for sugar consumption is the Baranyi and Huang models, while the best model is model Fitzhugh for experimental data of biomass development and ethanol production for medium number 1. While the best models for modeling experimental data of both cell growth and sugar consumption for medium number 2 were MMF and Cone models, the most successful models for ethanol production were MGM and MRM. The results have

shown that rice husk hydrolyzate may be a potential carbon source in the fermentation medium.

KEYWORDS: Ethanol production, *P.stipitis*, Rice husk, batch, Continuous fermentation Composite support materials, modelling.

COMMITTEE: Assoc. Dr. İrfan TURHAN

Prof.Dr. Mustafa KARAHAN

Assoc.Dr. Kemal KARABAĞ

Assist. Prof. Dr. Zelal POLAT

Assist. Prof. Dr. MERT KARAOĞLAN

ÖNSÖZ

Günümüzde nüfus ve sanayileşmede hızlı bir büyüme gerçekleştiğinden yakıt ve özellikle de yüksek verimlilik ve düşük çevre etkisi olan biyo-enerji kaynakları arasında sayılan etanole, dünya çapındaki talep sürekli artmaktadır. Lignoselüloz biyokütle, birçok endüstriyel prosesin ve tarımsal materyalin yan ürünü olarak ortaya çıkan en bol ve yenilenebilir karbon kaynaklarıdır ve basitçe bazı enerji bitkilerinden üretilebilir. Lignoselülozik materyaller biyoetanol üretimi için dünya çapında artan bir ilgi görmektedir. Ülkemizde yıllık olarak yaklaşık 70-80 milyon ton biyokütle oluşmaktadır. Karbonhidrat açısından zengin olan bu atık maddeler katma değeri yüksek ürünler (biyoyakıtlar, organik asitler, sağlık-bakım ürünleri, enzimler vd.) elde edilmesinde karbon kaynağı olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

Bu tez kapsamında sadece Türkiye'de değil, aynı zamanda dünyada da yeterince değerlendirilemeyen ve ucuz bir tarım atığı olan pirinç kavuzundan çeşitli fermentasyon teknikleri kullanılarak etanol üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla beş karbonlu şekerleri fermente edebilen iki farklı mikroorganizma kullanılmıştır. Yüksek hücre konsantrasyonuna ulaşmak için biyofilm reaktör kullanılmıştır. İlk olarak her iki mikroorganizma için biyofilm reaktörde kullanılacak farklı biyofilm materyalleri seçilmiştir. Sonrasında en iyi biyofilm materyali reaktörde kullanılmıştır. Besiyeri optimizasyonunda glukoz, ksiloz ve pirinç kavuzu hidrolizatının farklı oranları kullanılarak en uygun karbon kaynağı belirlenmiştir. Optimum karbon kaynağı içeriğinde farklı azot kaynaklarının etkisi incelenmiştir. Elde edilen optimum besiyerinde gerekli matematiksel hesaplamalar yapılarak sürekli sistemde fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Son olarak tüm sonuçlar değerlendirilerek mikroorganizma gelişimi, substrat tüketimi ve etanol oluşumu açısından farklı matematiksel eşitlikler kullanılarak fermentasyonların değerlendirilmesinde en uygun matematiksel modeller belirlenmiştir.

Bana bu konuyu çalışma fırsatı veren, çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, ilham verici bir rehberlik, yapıcı eleştiri ve değerli önerileri için çok kıymetli danışman hocam Doç. Dr. İrfan TURHAN'a (Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi), desteğini geldiğim günden beri esirgemeyen Prof.Dr. Mustafa KARHAN'a, bu proje çalışması boyunca Gıda Mühendisliği laboratuvarlarında mükemmel akademik ve mesleki önerileri olan, bunu neşesiyle ve sabırla birleştiren Mustafa GERMEÇ'e hem bilgi ve tecrübeleri hem de manevi destekleri için Öğr. Gör. Ercan YATMAZ'a (Akdeniz Üniversitesi Göynük Meslek Yüksekokulu), bana laboratuvarında verdiği sonsuz destek ve sabrı için Ercan KARAHALİL'e, Fadime DEMİREL'e, Merve ILGIN'a, Gıda Mühendisliği Bölümü'nün tüm personeline, Fen Bilimleri Enstitüsü Sekreteri Mustafa KIRIÇ ve diğer çalışanlarına, laboratuvar alt yapısının gelişmesinde katkıları olan Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, her ihtiyacımda hep yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkür etmek isiyorum. 2012 de başlayan Türkiye'ye yolculuğumda her zaman tarafında cesaret verici oldukları için ailem Salah ve Latifa Ben Bader, kızkardeşim Aya, kardeşlerim Mohamed ve Oussama'ya sonsuz teşekkürlerimi iletmek isiyorum. Ayrıca burada hiçbir zaman unutmayacağım Türk ve yabancı arkadaşlarıma da ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Bunun yanında Türkiye Cumhuriyeti'nde bir devlet üniversitesi olan Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda doktora yapmam için gerekli maddi ve manevi desteği sağlayan "Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık Yurtdışı Türkler ve Akraba Toplulukları Başkanlığı"na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	2
2.1. Biyoyakıtlar.....	2
2.1.1. Biyoyakıtların sınıflandırılması.....	2
2.1.1.1. Birinci nesil biyoyakıtlar.....	3
2.1.1.2. İkinci nesil biyoyakıtlar.....	3
2.1.1.3. Üçüncü nesil biyoyakıtlar.....	4
2.1.2. Biyoyakıtların yararları ve zorlukları.....	4
2.2. Biyoenerji Türleri.....	6
2.2.1. Biyogaz.....	7
2.2.2. Biyodizel.....	8
2.2.3. Biyoetanol.....	9
2.2.3.1. Etanol.....	9
2.2.3.2. Tanım.....	10
2.2.3.3. Tarihçe ve görünüm.....	10
2.2.3.4. Dünyadaki biyoetanol pazarı.....	11
2.2.3.5. Ulaşım için biyoetanol kullanımı.....	13
2.2.3.6. Biyoetanol işleme yolu.....	14
2.3. Biyoetanol üreten mikroorganizma.....	15
2.4. Lignoselülozik biyokütle.....	17
2.4.1. Selüloz.....	18
2.4.2. Hemiselüloz.....	18

2.4.3.Lignin	18
2.4.4.Minör elementler	19
2.5. Etanol Fermantasyonu için Bir Hammadde Olarak Pirinç	19
2.5.1.Küresel Pirinç Üretimi.....	19
2.5.2.Pirinç kavuzu	19
2.6. Lignoselülozik biyokütleden etanol üretim teknolojileri	20
2.6.1.Ön işlem.....	21
2.6.2.Seyreltik Asit Hidrolizi.....	24
2.6.2.1. Ayırma süreci	24
2.6.2.2. Biyokütle ön işleme sırasında inhibitörlerin oluşumu	24
2.6.3.Fermentasyon	25
2.7. Hücre immobilizasyonu	27
2.8. Amaçlar ve hedefler	28
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Hammadde.....	29
3.2. Mikroorganizma ve ortam	29
3.3. Plastik kompozit destek malzemeleri	29
3.4. Deneysel deneme deseni.....	30
3.5. PCS seçimi için test tüpü fermentasyonları.....	31
3.6. Pirinç kavuzu hidrolizatı hazırlanması	32
3.7. Aktif Kömür Adsorpsiyonu ile Detoksifikasyon.....	33
3.8. Etanol fermantasyonu	33
3.9. Sürekli etanol fermantasyonu	35
3.10.Besiyerindeki analizler	36
3.10.1. Şeker analizi.....	36
3.10.2. Biyokütle.....	37
3.10.3. Etanol	37
3.11.Matematiksel modeller ve kinetik parametrelerin hesaplanması	38

3.12. Modellerin karşılaştırılması.....	42
3.13. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	44
4.1. Biyofilm materyalinin seçimi	44
4.2. Karbon kaynağı seçimi	56
4.2.1. <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 kullanılarak biyofilm reaktör fermentasyonu	56
4.2.1.1. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %100 Glukoz kullanımı.....	57
4.2.1.2. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %100 Ksiloz kullanımı	58
4.2.1.3. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %50 Piriç kavuzu-%50 Glukoz kullanımı.....	60
4.2.1.4. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %75 Piriç kavuzu-%25 Glukoz kullanımı.....	61
4.2.1.5. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %50 Piriç kavuzu-%50 Ksiloz kullanımı	63
4.2.1.6. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %75 Piriç kavuzu-%25 Ksiloz kullanımı	64
4.2.1.7. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %100 Piriç kavuzu hidrolizatı kullanımı	65
4.2.2. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 kullanılarak biyofilm reaktör fermentasyonu	67
4.2.2.1. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %100 glukoz kullanımı.....	67
4.2.2.2. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %100 ksiloz kullanımı.....	68
4.2.2.3. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %50 Piriç kavuzu hidrolizatı-%50 Glukoz kullanımı	69
4.2.2.4. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %75 Piriç kavuzu hidrolizatı-%25 Glukoz kullanımı	71
4.2.2.5. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile 50% Piriç kavuzu hidrolizatı-%50 Ksiloz kullanımı	72

4.2.2.6. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%25 Ksiloz kullanımı	74
4.2.2.7. Biyofilm reaktörde <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile %100 Pirinç kavuzu hidrolizatı kullanımı	75
4.3. Azot kaynağı seçimi	78
4.3.1. Biyofilm reaktörde %50 Pirinç kavuzu hidrolizatı -%50 Glukoz ortamında YE + BE kullanımı	78
4.3.2. Biyofilm reaktörde %50 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%50 Glukoz ortamında YE + AN kullanımı	79
4.3.3. Biyofilm reaktörde %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı -%25 ksiloz için YE + BE kullanımı	81
4.3.4. Biyofilm reaktörde %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı -%25 ksiloz için YE + AN kullanımı	83
4.4. En iyi karbon ve azot kaynakları kullanılarak biyofilm reaktöründe sürekli sistemde fermentasyon	85
4.4.1. %50 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%50 Glukoz ortamında sürekli sistemde fermentasyon	85
4.4.2. %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%25 ksiloz ortamında sürekli sistemde fermentasyon	86
4.5. Zenginleştirilmemiş steril ortamda kesikli fermentasyon	88
4.6. Sterilize edilmemiş zenginleştirilmiş bir ortamda kesikli fermentasyon	89
4.7. Biyofilm reaktörde %50 pirinç kavuzu hidrolizatı (RH) + %50 Glukoz + YE + P içeren besiyeri ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun matematiksel modellemesi	91
4.7.1. Hücre gelişiminin matematiksel modellemesi	91
4.7.2. Etanol üretiminin matematiksel modellemesi	95
4.7.3. Şeker tüketiminin matematiksel modellemesi	98
4.7.4. Deneysel ve tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması (%50 RH + %50 G + YE + P)	102

4.8. Biyofilm reaktörde %75 pirinç kavuzu hidrolizati (RH) + %25 Ksiloz + YE + P besiyeri ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun matematiksel modellemesi	104
4.8.1. Hücre gelişiminin matematiksel modellemesi.....	104
4.8.2. Etanol üretiminin matematiksel modellemesi	108
4.8.3. Şeker tüketiminin matematiksel modellemesi.....	112
4.8.4. Deneysel ve tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması (%75 RH + %25 K + YE + P).....	117
5. SONUÇLAR	119
KAYNAKLAR	121
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “PİRİNÇ KAVUZU HİDROLİZATININ BİYOFİLM REAKTÖRDE KESİKLİ VE SÜREKLİ SİSTEMLERLE ETANOL FERMENTASYONU VE ÜRETİMİN MATEMATİKSEL MODELLERLE TANIMLANMASI” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak bulunduğunu belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

26/12/2017

Nour BEN BADER

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

- A_t : “t” inci zamanda tahmin edilen biyokütle gelişimi, etanol üretimi ve şeker tüketimi değerleri (g/L)
- A_o : Düşük asimptot (g/L)
- A_m : Yüksek asimptot (g/L)
- Q : Maksimum gelişim (QX), üretim (QP) ve tüketim hızları (QS), (g/L/h)
- B_t/H_t : Geçiş fonksiyonları
- λ : Biyokütle gelişimi, etanol üretimi ve şeker tüketimi eğrilerinin gecikme süreleri (h)
- e : Euler sayısı, sabit (2.718)
- t : Örneğin alındığı zaman (h)
- β : Gelişimi kaydırma değeri
- h_0 : Hücrelerin başlangıç fizyolojik durumunu hesaplayan birimsiz bir parametre
- d : Birimsiz bir dizayn parametresi
- TL : Olduğu nokta $TL = A_t = A_m/2$ (h)
- K : Cevap değişkeninin potansiyel maksimum değerine yaklaşma oranını yöneten
- δ : Allometrik sabit
- n : Gözlem sayısı
- N : Model parametrelerinin sayısı
- RSS : Artık kareler toplamı
- X_i/y_i : Sırasıyla “i” inci zamandaki deneysel ve tahmin edilen verilerdir.

Kısaltmalar

- A.B. : Avrupa Birliği
- AN : Amonyum nitrat
- BE : Et özütü
- CNG : Sıkıştırılmış doğal gaz

D : Seyreltme oranı (h^{-1})

DOE : Enerji Bölümü; Department of Energy

E5 : Nominal etanol içeriğiyle etanol-benzin karışımı Vol. %5

F : Akış (ml/h)

G : Glukoz

GHG : Sera gazı

GRAS : Genel olarak Güvenli Olarak Tanınan

h : Saat

HMF : 5- hydroxymethyl furfural

HPR : Kabuğa çeltik oranına gölge

IC : İçten yanmalı motor

K : Ksiloz

LPG : Sıvılaştırılmış petrol gazı

PAHs : Polisiklik aromatik hidrokarbonlar

PCS : Plastik Kompozit Destek

PCS1 : SH-SF-YE-S

PCS2 : SH-SF-YE-BA-S

PCS3 : SH-SF-S

PCS4 : SH-SF-YE-RBC-S

RH : Pirinç kavuzu

RHA : Pirinç külü

V : hacim (ml)

YE : Maya ekstraktı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Biyoyakıtların sınıflandırılması ve kaynakları.	2
Şekil 2.2. Birinci, ikinci nesil biyoyakıt ve petrol yakıtlarının karşılaştırılması.	4
Şekil 2.3. Biyoyakıtların potansiyel faydaları ve karşılaşılan zorluklar	5
Şekil 2.4. Biyoyakıt üretim prosesleri ve biyokütle özetleri (Ekşioğlu vd., 2009).....	6
Şekil 2.5. Çalışılan biyogaz sistemine genel bakış.	7
Şekil 2.6. Metan fermantasyonu üretimi aşamaları (Gujer vd., 1983).....	7
Şekil 2.7. Biyodizel işleme diyagramı (Demirbas, 2007).....	8
Şekil 2.8. 2012'de toplam biyoetanol üretimi, Brezilya'nın (nokta çizgi) ve ABD'nin (sabit hat) yıllık etanol üretimleri ve katkısı (Goldemberg 2006).	11
Şekil 2.9. 2016'da ülkelerin küresel yakıtlı etanol üretiminin paylaşımı (Anonymous 1).	12
Şekil 2.10. A.B. etanol üretimi (Anonymous 2).	13
Şekil 2.11. Etanol üretim süreci.	15
Şekil 2.12. Lignoselülozik biyokütlenin genel yapısı (Ratanakhanokchai vd., 2003)....	17
Şekil 2.13. Lignoselülozik biyokütleden etanol üretiminin şematik diyagramı	20
Şekil 2.14. Lignoselülozik polimerlerin matriksinin şematik görünüşü, önişlemin selülozdan hemisellüloz ve lignin'den ayrıldığı (Mosier vd., 2005)	21
Şekil 2.15. Lignoselülozların hidrolizi ile oluşan inhibitör bileşikler.	25
Şekil 2.16. Farklı hücre tutma yöntemleri (Westman vd., 2012).....	28
Şekil 3.1. Deneysel tasarım özeti.	31
Şekil 3.2. PCS disklerinin inokülasyon öncesi ve sonrası.	32
Şekil 3.3. PCS disklerinde biyokütle gelişmesi.	32
Şekil 3.4. Pirinç kavuzunun öğütülmesi.	33
Şekil 3.5. Hidroliz işlemi.	33
Şekil 3.6. Biyofilm rektör diyagramı.	34
Şekil 3.7. Sterilizasyon öncesi biyofilm biyoreaktörünün hazırlanması.....	34

Şekil 3.8. Sürekli sistemde biyoreaktörde hücre kütlesi dengesi.....	36
Şekil 3.9. Şeker analizi.....	37
Şekil 3.10. HPLC (Thermo Scientific UltiMate 3000).....	37
Şekil 4.1. <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 ile glukoz fermantasyonu için etanol üretimi ile etanol veriminin karşılaştırılması.....	47
Şekil 4.2. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 ile glukoz fermantasyonu için etanol üretimi vs etanol üretimini.....	50
Şekil 4.3. <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 ile ksiloz fermantasyonu için etanol üretimi vs etanol üretimi.....	53
Şekil 4.4. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 ile ksiloz fermantasyonu için etanol üretimi vs etanol üretimi.....	56
Şekil 4.5. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 için farklı fermentasyonların etanol üretimi ve verimlerinin karşılaştırılması.....	78
Şekil 4.6. Sürekli fermentasyonda biyokütle, etanol ve biyokütle verimliliğinin seyreltme oranlarına göre değişimi	86
Şekil 4.7. Sürekli fermentasyonda biyokütle, etanol ve biyokütle verimliliğinin seyreltme oranlarına göre değişimi.	87
Şekil 4.8. Kullanılan matematiksel modeller ile %50 RH+%50 G + YE + P besiyeri ortamında fit edilen <i>P.stipitis</i> (ATCC 58785) mayasının hücre gelişim eğrileri.	93
Şekil 4.9. En iyi fermentasyon koşulları altında (%50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen etanol değerlerinin deneysel etanol değerleri ile grafike edilmesi.....	96
Şekil 4.10. En iyi fermentasyon koşulları altında (%50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen kalıntı şeker konsantrasyonu değerlerinin deneysel kalıntı şeker konsantrasyonu değerleri ile grafike edilmesi.....	100
Şekil 4.11. Kullanılan matematiksel modeller ile %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında fit edilen <i>P. stipitis</i> (ATCC 58785) mayasının hücre gelişim eğrileri.	105
Şekil 4.12. En iyi fermentasyon koşulları altında (%75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen etanol değerlerinin deneysel etanol değerleri ile grafike edilmesi.	110
Şekil 4.13. En iyi fermentasyon koşulları altında (%75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen kalıntı şeker konsantrasyonu değerlerinin deneysel kalıntı şeker konsantrasyonu değerleri ile grafike edilmesi.....	115

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Mısır ve selülozik yem stoklarından etanol üretiminin maliyeti (Kumar vd., 2009).....	3
Çizelge 2.2. Etanolün özellikleri (Kowalewicz, 2006).....	10
Çizelge 2.3. Ülkelere göre 2016 yılı küresel yakıtlı etanol üretimi (Anonymous 1).....	12
Çizelge 2.4. Etanol üreticisi mikroorganizmalar ve özellikleri	16
Çizelge 2.5. Ortak tarım kalıntıları ve atıklarının lignoselüloz bileşenleri (Howard vd., 2003, Sun ve Cheng 2002).....	17
Çizelge 2.6. Pirinç kavuzunun tipik analizi (Saha vd., 2005).....	20
Çizelge 2.7. Lignoselülozik biyokütle ön işlem teknikleri (Fan vd., 2006; Mohammad ve Karimi 2008).....	22
Çizelge 2.8. Lignoselülozik materyaller için çeşitli ön-işlem süreçlerini avantajları ve dezavantajları (Kumar vd., 2009).....	23
Çizelge 3.1. Plastik kompozit destek materyallerinin içeriği (Germeç vd., 2015).....	30
Çizelge 3.2. Fermentasyonda sürekli fermentasyon oluşturma şartları	35
Çizelge 3.3. %50 RH + %50 G + YE + P ortamında biyofilm reaktörde gerçekleştirilen fermentasyonun matematiksel modellemesi için model parametreleri.	40
Çizelge 3.4. %75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktörde gerçekleştirilen fermentasyonun matematiksel modellemesi için model parametreleri.	41
Çizelge 4.1. Fermentasyon parametreleri ve koşulları.....	44
Çizelge 4.2. <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 ile farklı PCS kullanarak glukoz fermentasyonu.	45
Çizelge 4.3. Farklı PCS kullanarak <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 ile glukoz fermentasyonunun kinetik parametreleri.....	46
Çizelge 4.4. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 ile farklı PCS kullanarak glukoz fermentasyonu	48
Çizelge 4.5. Farklı PCS kullanarak <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 ile glukoz fermentasyonunun kinetik parametreleri.....	49

Çizelge 4.6. <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 ile farklı PCS kullanarak ksiloz fermantasyonu.....	51
Çizelge 4.7. Farklı PCS kullanılarak <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 ile ksiloz fermantasyonuna ait kinetik parametreler.....	52
Çizelge 4.8. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 ile farklı PCS kullanarak ksiloz fermantasyonu.....	54
Çizelge 4.9. Farklı PCS kullanılarak, <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 ile ksiloz fermantasyonun kinetik parametreleri.....	55
Çizelge 4.10. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	57
Çizelge 4.11. <i>P.stipitis</i> ATCC58784 kullanılarak %100 glukoz fermantasyonu.....	57
Çizelge 4.12. <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için% 100 glukozda kinetik parametreler.....	58
Çizelge 4.13. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	58
Çizelge 4.14. <i>P.stipitis</i> ATCC58784 kullanılarak % 100 ksiloz fermantasyonu.....	59
Çizelge 4.15. % 100 ksilozda <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için kinetik parametreler.....	59
Çizelge 4.16. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	60
Çizelge 4.17. <i>P.stipitis</i> ATCC58784 kullanılarak% 50 RH-%50 glukoz fermantasyonu.....	60
Çizelge 4.18. % 50 RH -% 50 G'de <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için kinetik parametreler.....	61
Çizelge 4.19. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	61
Çizelge 4.20. <i>P.stipitis</i> ATCC58784 kullanılarak % 75 RH-25% glukoz fermantasyonu.....	62
Çizelge 4.21. %75 RH-25% G'de <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için kinetik parametreler.....	62
Çizelge 4.22. <i>P.stipitis</i> ATCC58784 kullanılarak% 50 RH-%50 ksiloz fermantasyonu.....	63
Çizelge 4.23. %50 RH-%50 ksiloz <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için kinetik parametreler.....	64
Çizelge 4.24. <i>P.stipitis</i> ATCC58784 ile % 75 RH-%25 ksiloz fermantasyonu.....	64
Çizelge 4.25. % 75 RH-25% ksiloz <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için kinetik parametreler.....	65

Çizelge 4.26. <i>P.stipitis</i> ATCC58784 kullanılarak% 100 RH fermantasyonu.....	66
Çizelge 4.27. %100 RH'de <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için kinetik parametreler.....	66
Çizelge 4.28. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	67
Çizelge 4.29. <i>P.stipitis</i> ATCC58785'i kullanarak % 100 glukoz fermantasyonu.....	67
Çizelge 4.30. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 için% 100 glukozda kinetik parametreler.	68
Çizelge 4.31. <i>P.stipitis</i> ATCC58785'i kullanarak %100 ksiloz fermantasyonu.	68
Çizelge 4.32. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 için % 100 ksilozdaki kinetik parametreler.	69
Çizelge 4.33. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	69
Çizelge 4.34. <i>P.stipitis</i> ATCC58785'i kullanarak % 50 RH-%50 glukoz fermantasyonu.	70
Çizelge 4.35. %50 RH -%50 glukozda <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 için kinetik parametreler.....	70
Çizelge 4.36. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	71
Çizelge 4.37. <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %75 RH-25% glukoz fermantasyonu.	71
Çizelge 4.38. %75 RH-%25 glukozda <i>P.stipitis</i> ATCC 58784 için kinetik parametreler.....	72
Çizelge 4.39. <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %50 RH-%50 ksiloz ile fermentasyon.....	73
Çizelge 4.40. %50 RH -%50 ksilozda <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 için kinetik parametreler.....	73
Çizelge 4.41. <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %75 RH-%25 ksiloz fermentasyonu.....	74
Çizelge 4.42. %75 RH-%25 ksilozda <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 için kinetik parametreler.....	75
Çizelge 4.43. 100% RH ile <i>P.stipitis</i> ATCC58785 fermentasyonu.	76
Çizelge 4.44. 100% RH ile <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 için kinetik parametreler.	76
Çizelge 4.45. Farklı fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.....	77
Çizelge 4.46. 50% RH 50% için YE + BE kullanarak fermantasyon.....	79
Çizelge 4.47. YE + BE içeren % 50 RH-50% G fermantasyon için kinetik parametreler.....	79
Çizelge 4.48. %50 RH %50 Glukoz için YE + AN kullanarak fermentasyon.	80

Çizelge 4.49. YE+AN içeren % 50RH-50% G fermantasyonu için kinetik parametreler.....	80
Çizelge 4.50. Farklı azot kaynakları içeren fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.....	81
Çizelge 4.51. YE + BE kullanarak % 75 RH% 25 ksiloz ile fermantasyon.	82
Çizelge 4.52. YE+BE ile %75 RH-25% ksiloz fermantasyon için kinetik parametreler.....	82
Çizelge 4.53. YE+AN kullanarak %75 RH-%25% ksiloz fermentasyonu.....	83
Çizelge 4.54. YE+AN ile %75RH-%25 ksiloz fermantasyonu için kinetik parametreler.....	84
Çizelge 4.55. Farklı fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.....	84
Çizelge 4.56. Biyofilm reaktörde sürekli fermantasyon parametreleri ve sonuçları.	85
Çizelge 4.57. Farklı fermantasyon stratejileri için kinetik parametreler.	86
Çizelge 4.58. Sürekli fermantasyon parametreleri ve sonuçları.	87
Çizelge 4.59. Farklı fermantasyon stratejileri için kinetik parametreler.	88
Çizelge 4.60. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.....	88
Çizelge 4.61. <i>P.stipitis</i> ATCC58785 ile %50 RH-%50 glukoz zenginleştirilmemiş steril fermantasyon ortamı.	89
Çizelge 4.62. %50 RH-% 50 glukoz ile zenginleştirilmemiş steril fermantasyon ortamı için kinetik parametreler.	89
Çizelge 4.63. %50 RH-50% glukoz ile zenginleştirilmiş steril olmayan fermantasyon ortamı.....	90
Çizelge 4.64. <i>P.stipitis</i> ATCC 58785 ile %50 RH-%50 glukoz ile zenginleştirilmemiş steril olmayan fermentasyon ortamı için kinetik parametreler.....	90
Çizelge 4.67. %50 RH + %50 Glukoz + YE + P ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun biyokütle gelişimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler.	91
Çizelge 4.68. %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında biyokütle üretimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.	94
Çizelge 4.69. %50 RH + %50 G + YE + P ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun etanol üretimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler.	95

Çizelge 4.70. %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında etanol üretimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.	97
Çizelge 4.71. %50 RH + %50 G + YE + P ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun şeker tüketimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler	98
Çizelge 4.72. %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında şeker tüketimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.	101
Çizelge 4.73. %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında gerçekleştirilen etanol fermentasyonunun verilerinden hesaplanan deneysel kinetik parametreler ile ve matematiksel modeller kullanılarak tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması	103
Çizelge 4.74. %75 RH + %25 K + YE + P gerçekleştirilen fermentasyonun biyokütle gelişimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler	104
Çizelge 4.75. %75 RH + %25 K + YE + P gerçekleştirilen fermentasyonun etanol üretimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler	109
Çizelge 4.76. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında etanol üretimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.	111
Çizelge 4.77. %75 RH + %25 K + YE + P gerçekleştirilen fermentasyonun şeker tüketimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler	114
Çizelge 4.78. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında şeker tüketimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.	116
Çizelge 4.79. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında gerçekleştirilen etanol fermentasyonunun verilerinden hesaplanan deneysel kinetik parametreler ile ve matematiksel modeller kullanılarak tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması	117

1. GİRİŞ

İnsan nüfusunun büyümesi, özellikle petrol gibi yenilenemeyen kaynaklardan sağlanan enerji türlerindeki talebin artmasına neden olmuştur (Brown vd., 2014). Bu enerji talebinin 1970 yılından beri yıllık ortalama % 2 oranında arttığı tahmin edilmektedir. Bu durum, 2100 yılına kadar karbon dioksit seviyesi ve sıcaklık ortalaması yükselmesi (1.4 ile 5.8°C yükselmesi) gibi çevresel bir kaygıyı ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle fosil yakıtların kullanımıyla ilgili günümüzde birçok tartışma devam halindedir (Dow ve Downing, 2006). Bu kaynaklardan doğal gazın 50 yıl içinde bitebileceği tartışılmaktadır. Taşımacılık sektörü, karbondioksit emisyonlarının yaklaşık % 25'inden sorumludur. Küresel yağ tüketiminin %50'sinden fazlası insanların ve ticari malların taşınması için kullanılmaktadır. Petrol fiyatları 100 ABD doları/varile aşmış ve yeni bir politika uygulanmadığı takdirde 2035 yılına kadar 150 US \$/varile ulaşması beklenmektedir.

Dolayısıyla, alternatif ve daha sürdürülebilir bir karbon-nötr yenilenebilir yakıtlara olan ihtiyaç açık ve zorunlu hale gelmektedir. Hidroelektrik güç, güneş, rüzgâr, jeotermal enerji ve biyokütle gibi yenilenebilir enerji türleri, çok az/hiç kirliliğe neden olmaktadır. Sonuç olarak, enerji güvenliğinin geliştirilmesi, kırsal ekonomileri ve önemli çevresel faaliyetlerin desteklenmesi, sürdürülebilir olmayan fosil yakıtlarına olan bağımlılığı azaltacaktır.

Biyokütle enerjisi biyoetanol, biyohidrojen ve biyodizel gibi türleri içermektedir. Biyoyakıtlar düşük oranda toksik olmayan kükürt içerir ve biyolojik olarak parçalanabilir niteliktedir. Bu nedenle tehlikeli madde olan sera gazı (GHG), karbon monoksit ve hidrokarbon emisyonunu azaltabilmektedir (Mata vd., 2010). Yüksek oktan değerine sahip oksijenli bir yakıt olan etanol, benzin ile harmanlandığında, oktan oranını ve yakıtın oksijen içeriğini artırır, bu da karbon monoksit ve yanmamış hidrokarbonlar gibi egzoz emisyonlarında daha eksiksiz yanması ile azalmaya neden olur (Woodson ve Jablonowski, 2008). Birinci nesil biyoyakıtlar mısır ve şeker kamışı gibi gıda veya yemlik tanelerden üretildiğinden daha yüksek gıda fiyatlarının oluşmasına neden oldu (Sims vd., 2010). Bunun sonucu olarak, sürdürülebilir (gıda dışı mahsul) lignoselülozik biyokütle ile ikinci nesil biyoyakıtların üretimi giderek önem kazanmıştır (Tomás-Pejó vd., 2008).

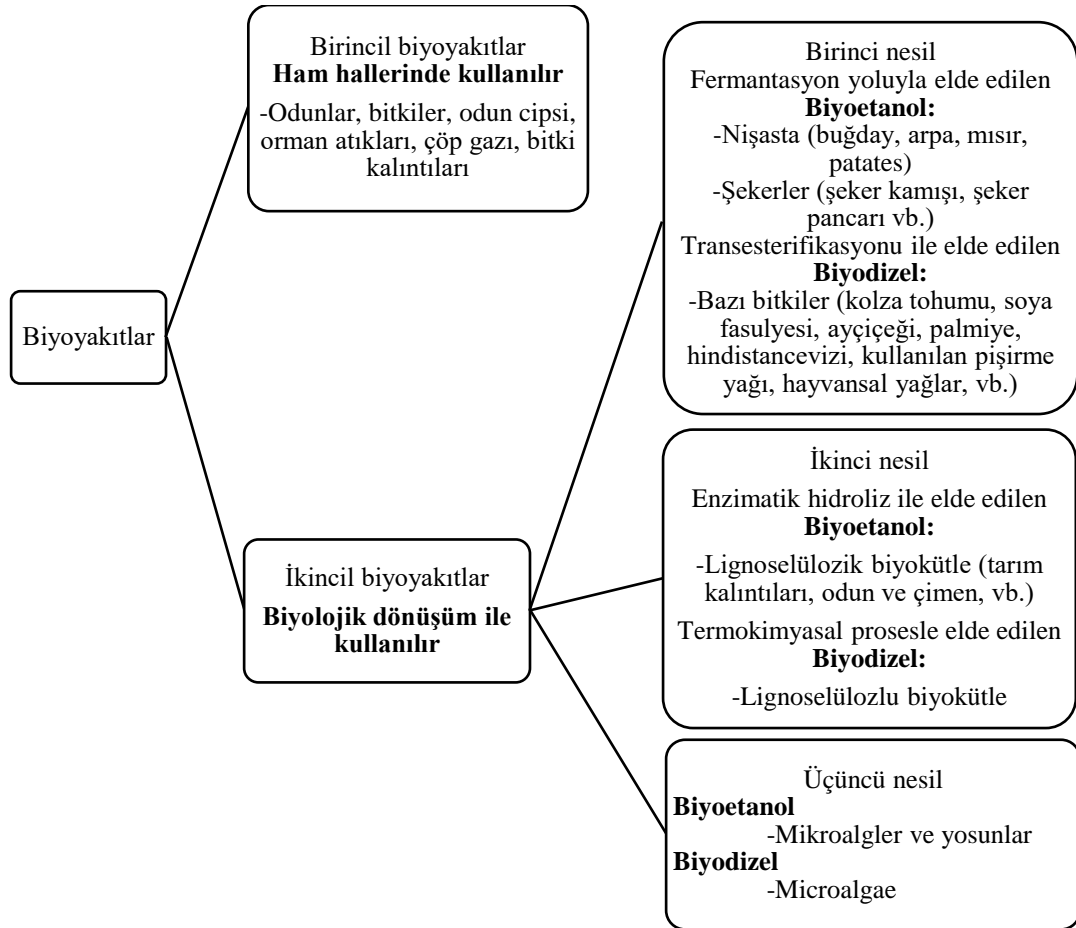
Biyoetanol, lignoselülozik materyalin biyolojik dönüşümü yoluyla üretilir (Zaldivar vd., 2001). Lignoselülozik biyokütle: tarımsal atıklar (örneğin pirinç kavuzu, bagasse vb.), Ormancılık atıkları (örneğin odun talaşı ve talaş) biyoenerji ürünleri (örneğin mısır, şeker kamışı vb.), Endüstriyel atıklar (örn. Kağıt çamuru, geri dönüştürülmüş gazete), belediye katı atıkları. (Sathisuksanoh vd., 2009). Lignoselülozik materyaldeki hemiselülozlar ve selülozlar hidroliz yoluyla fermente edilebilir şekerlere dönüştürülür (Sun ve Cheng, 2002). Seyreltik asit hidrolizi, hemiselülozik şekeri çözünür hale getirir ve bitki hücre duvarlarının gözenekliliğini artırır. ksiloz, tarımsal ve sert ağaç hidrolizatlarının hemiselülozik fraksiyonundaki ana şekerdir. Glukoz sekonder hidroliz vasıtasıyla serbest bırakılır ve kalıntı lignin bırakır (Sreenath vd., 1999). Lignin fermente edilemez, ancak fermantasyon sırasında proses enerjisi sağlamak için kullanılabilir (Cadenas ve Cabezud **Pirinç kavuzu hidrolizatı** o 1998).

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Biyoyakıtlar

2.1.1. Biyoyakıtların sınıflandırılması

Kaynaklarına ve türüne göre, biyoyakıtlar birincil ve ikincil biyoyakıtlar olarak sınıflandırılır (Şekil 2.1.). Sert ve yumuşak ahşap, odun yongaları ve peletler de dahil olmak üzere birincil biyoyakıtlar, genellikle ısıtma, pişirme veya elektrik üretimi için işlenmemiş halleri ile kullanılırlar (Nigam ve Singh, 2011). İkincil biyoyakıtlar, hammaddede bulunan biyopolimerlerin anaerobik metabolizma veya fermantasyon gibi biyolojik yollarla dönüştürülmesinden elde edilmektedir (Triana vd., 2011). Ayrıca, ikincil biyoyakıtlar, üretiminde kullanılan hammadde ve teknoloji esas alınarak birinci, ikinci ve üçüncü nesil yakıtlar olarak sınıflandırılmıştır (Dragone vd., 2010).



Şekil 2.1. Biyoyakıtların sınıflandırılması ve kaynakları.

2.1.1.1. Birinci nesil biyoyakıtlar

Birinci nesil, fermantasyon yoluyla tohumlardan, tanelerden ve şekerlerden (örneğin pekmez veya nişasta etanol ve soya fasulyesi yağı gibi transesterlenmiş tohum yağlarından biyodizel) elde edilen biyoyakıtları ifade eder (Cherubini, 2010). Birinci nesil biyoyakıtlarla ilgili en büyük husus, üretim kapasitesinin artmasıyla birlikte, biyoyakıt hammadde üretimi için daha çok tarım arazisine ihtiyaç duyulmasıdır. Ancak, özellikle 800 milyondan fazla insanın açlık çektiği gelişmekte olan ülkelerde, bu alanların gıda maddesi üretiminde kullanılması arazilerin azalmasına neden olmaktadır.

Buna ek olarak, gübre ve zirai ilaçların aşırı kullanımı çevreye önemli ölçüde zarar vermektedir (Schenk vd., 2008). Üretim işlemlerinin gıda çeşitliliğine yol açarak yaptığı potansiyel stres yüzünden birinci nesil biyoyakıtlar sürdürülemez görünmektedir (Demirbas, 2011). Bu nedenle araştırmacılar, insan gıdası zinciriyle doğrudan rekabet etmeyen bitkilerin odunsu kısmını oluşturan “lignoselülozik bileşikler içeren biyokütle” kullanarak biyoyakıt üretmek için ikinci nesil biyoyakıtlara odaklanmaktadır. Yenilebilir yem stoklarından elde edilen ikinci nesil biyoyakıt üretiminin başlıca avantajı, birinci nesil biyoyakıtlarla bağlantılı yakıt rekabetine karşı doğrudan gıda miktarını sınırlandırmasıdır.

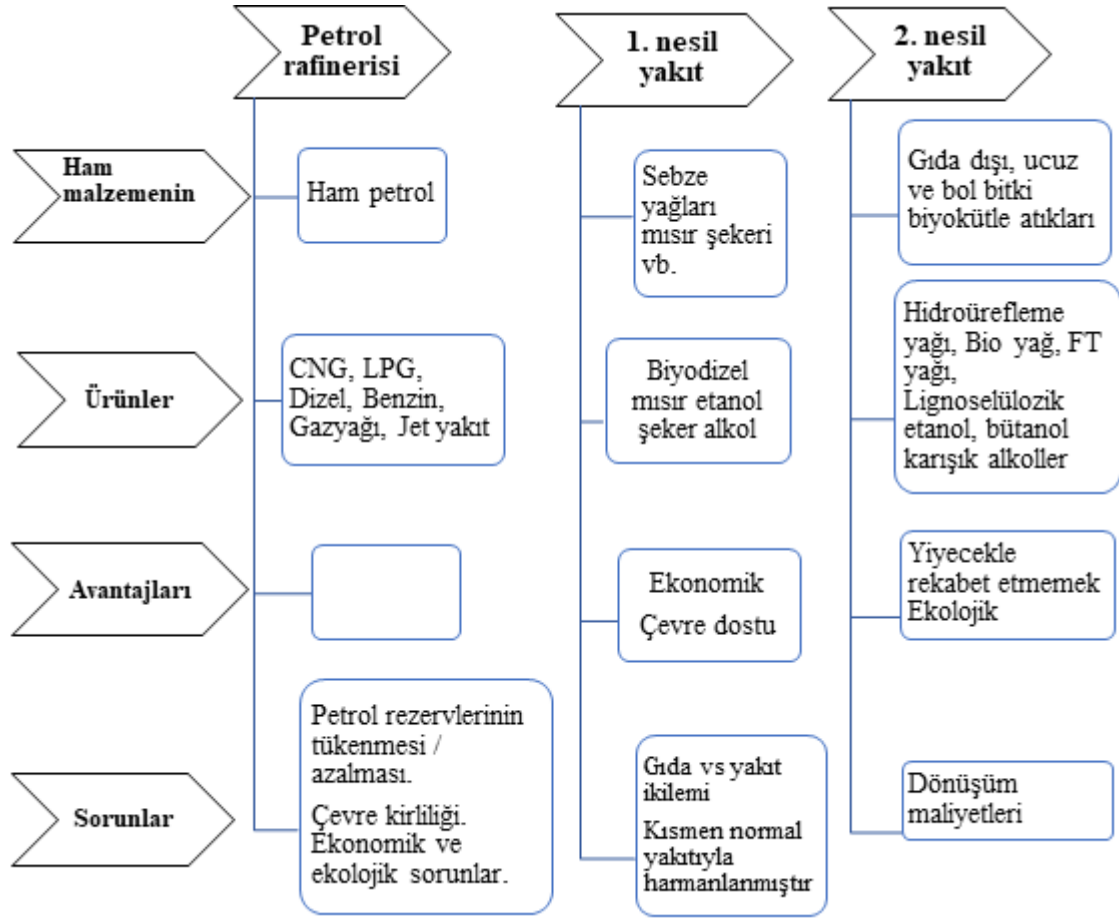
2.1.1.2. İkinci nesil biyoyakıtlar

İkinci nesil biyoyakıtların üretiminde; tarımsal atıklar, orman hasat tortuları veya yaprak, saman veya odun yongası gibi ahşap işleme atıkları ile bitki kaynaklı gıda üretiminin yenilebilir olmayan bileşenleri (örn.; mısır veya şeker kamışı) veya tüketilemeyen bütün bitki biyokütelleri (örn.; ot veya ağaçlar özellikle enerji üretiminde yetiştirilmektedir) kullanılmaktadır (Kumar vd., 2009). Bu amaçla öncelikle lignoselülozik materyallerin lignin lifleri enzim ve/veya termokimyasal işlemlerle kırılarak hidroliz edilir. Böylece fermentasyonla selülozik etanol üretmek için gerekli şekerler ortama ekstrakte olur. Bununla birlikte, odunsu biyokütlenin mayalanabilir şekerlere dönüştürülmesi, özel enzimlerle ön işlem içeren oldukça karmaşık ve pahalı teknolojileri gerektirir. Çizelge 2.1.’de ikinci kuşak biyoyakıtların ekonomik olarak büyük ölçekli üretim için karlı olmadığı görülmektedir. (Brennan vd., 2010). Şekil 2.2’de farklı biyoyakıtlar arasındaki karşılaştırmalar gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Mısır ve selülozik yem stoklarından etanol üretiminin maliyeti (Kumar vd., 2009).

	Mısır etanol fiyatı \$/galon	Selülozik etanol fiyatı \$/galon
Besleme stoğu	1,17	1,00
Enzimler	0,04	0,40
Diğer masraflar ¹⁾	0,62	0,80
Capital costs	0,20	0,55
Sermaye maliyetleri	2,03	2,75
Yan ürün	-0,38	-0,10
Net maliyetler	1,65	2,65

¹⁾ Ön işleme, fermantasyon, işçilik maliyetleri dahildir.



Şekil 2.2. Birinci, ikinci nesil biyoyakıt ve petrol yakıtlarının karşılaştırılması.

2.1.1.3. Üçüncü nesil biyoyakıtlar

Mikroalglerden türeyen üçüncü nesil biyoetanol; biyokütle üretmek için yüksek fotosentetik verimleri ve geleneksel bitkilerle karşılaştırıldığında daha yüksek gelişme hızları ve yüksek verimlilik nedeniyle en umut verici teknolojilerden biri olarak ortaya çıkmıştır (Gressel, 2008). Bazı mikroalg suşları, biyodizel üretmek için kullanılabilen yağı %80'lere kadar içermektedir. Algal biyokütle ayrıca hidroliz veya gazlaştırma ile birlikte biyoetanol üretimi için kullanılabilen selüloz içerir (Patil vd., 2008). Teknolojik ve ekonomik açıdan alglerin enerji amaçlı kullanımı, sadece sermaye maliyetleri açısından cazip bir süreç değil aynı zamanda verimlilik, ekim, hasat ve dönüştürme yolları boyunca enerji tüketimi açısından da biyolojik enerji üretimi için rekabetçi bir alternatif oluşturmaktadır (Jonker ve Faaij, 2013).

2.1.2. Biyoyakıtların yararları ve zorlukları

Biyoyakıtlar, enerji güvenliği, ekonomi ve çevre ile ilgili pek çok avantajlara sahiptir. (Hoekman, 2009). Şekil 2.3.'de biyoyakıt üretim ve tüketimindeki faydaları ve karşılaşılan zorluklar özetlenmiştir.



Şekil 2.3. Biyoyakıtların potansiyel faydaları ve karşılaşılan zorluklar.

Biyoyakıtların üretimi için yenilenebilir kaynakların kullanılmasının en büyük avantajı, doğal ve biyolojik kaynakların coğrafi olarak ham petrolere göre daha eşit dağılımlı olması, bağımsız ve güvenli bir enerji kaynağı sağlayabilmesidir (Kikas vd., 2016).

Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı (USDA) biyodizelin yakıt olarak kullanılmasının daha iyi olacağını belirtmektedir. Birçok dizel motorunda kullanılan, çok az veya hiç değiştirilmemiş olan petrol türevli dizelin yenilenebilir olma ve emisyonlarının azaltılma potansiyeli bulunmaktadır. Toksisitesi az veya hiç olmayan bir şekilde biyolojik olarak bozunabilir ve tarımsal veya diğer geri dönüştürülmüş kaynaklardan üretim yapılabilir (Constantinos vd., 2013). Araştırmalar, farklı yağ türlerinden üretilen biyodizellerin daha düşük karbondioksit ve polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) emisyonlarına sahip olduğunu göstermiştir (Demirbas, 2009). Biyodizel, "karbon nötr" yakıt olarak düşünülür, çünkü atmosferdeki karbon dioksit, üretimi için kullanılan ürünün gelişmesi sırasında bitki tarafından tutulmaktadır (Bajpai vd., 2006).

Ancak, ticari biyoyakıt tesislerinin kurulmasında biyokütlenin depolanması ve biyokütle atık toplama ağının oluşturulması gibi bazı zorluklar bulunmaktadır. Düşük maliyetli depolama çözümleri, daha karmaşık çözümlerin olumlu etkisini sınırlamaktadır. Örneğin; sahada depolamanın düşük maliyet avantajı bulunmaktadır. Ancak bu durumda biyokütlenin nemi kontrol edilememekte ve materyal kaybı oluşmaktadır. Ayrıca,

sporların ve mantarların gelişmesi neticesinde sağlık ve güvenlik sorunları da ortaya çıkmaktadır (Athanasios vd., 2009). Son olarak da, biyokütle üreticilerinin arazide bir sonraki mahsul için hazırlanmaları gerektiğinden uzun süre çiftlik üzerinde depolama sorun olmaktadır (Sokhansanj vd., 2009). Tarım ürünlerine ait kalıntı ve atık maddeleri hammadde olarak kullanmak, gıda ile yakıt arasındaki potansiyel çatışmayı en aza indirmektedir. Lignoselülozik malzemelerden üretilen biyoyakıtlar, net GHG emisyonu düşüklüğü yaratmakta, dolayısıyla olumsuz çevresel etkileri azaltmaktadır.

Yağ bitkileri üretimini sağlama ve çevre dostu bir şekilde kullanmak da bu anlamda önemlidir. Biyoyakıt bitkileri biyoçeşitlilik göz önüne alınarak akılda tutulmalı, sürdürülebilir ve düşük etki sağlayan hammaddeler teşvik edilmeli, gerekli ve yerli gıda bitkileri korunmalı ve karbon nötr biyoyakıt bitkileri geliştirilmelidir (Groom vd., 2008). Biyodizel sentezinde mısır, şeker kamışı ve soya fasulyesi gibi bazı gıda ürünleri kullanılmakta ve bu bitkilerin gıda üretimi dışında biyodizel üretiminde kullanılması bazı tartışmalar ortaya çıkmaktadır (Demirbaş, 2009). Dünyadaki tarım alanlarının sınırlandırılması nedeniyle, biyoyakıt üretiminde kullanılacak tarım arazilerinin fraksiyonunun tanımlanması gerekmektedir (Escobar vd., 2009). Dünyadaki beslenme kaynaklarının en önemli kaynağı ya doğrudan insan tüketimi ya da dolaylı olarak hayvancılık için kullanılan tahıllardan oluşmaktadır. Bu nedenle, gıda arzı, dünyadaki tahılların mevcudiyet varyasyonları ve fiyatlarından önemli ölçüde etkilenmektedir. Biyoyakıt üretimi için tarım arazilerinin ve insan tüketimi tahıllarının kullanılması tartışmalara neden olmaktadır (Escobar vd., 2009). Bu nedenle gelişmesi için az miktarda gübre gereken ve atık suyu bile kullanabilen “Switchgrass” ve çayır otu gibi bazı yağ üreten ürünler kullanılmaktadır (Groom vd., 2008).

2.2. Biyoenerji Türleri

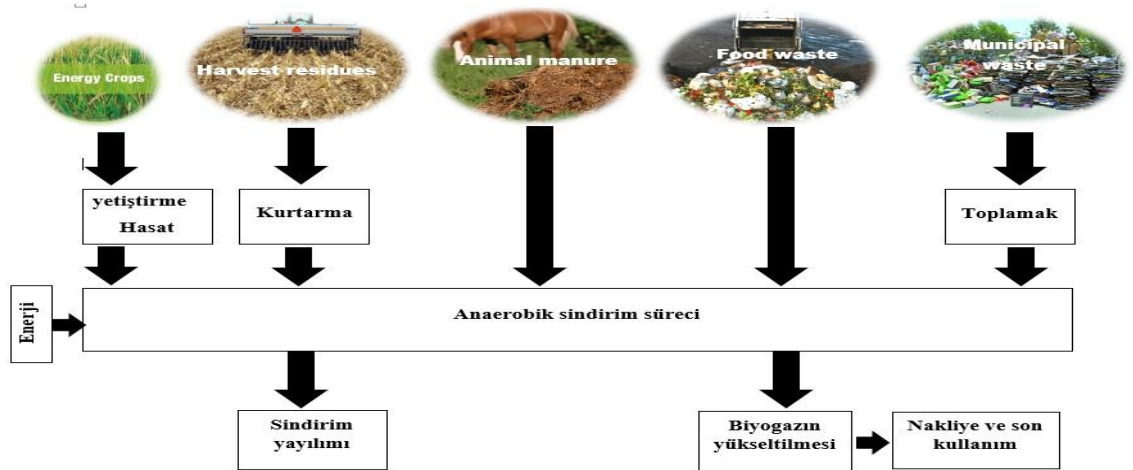
Biyoenerji, doğrudan veya yan ürünler veya atık olarak kullanılabilen yenilenebilir bir halde bulunan biyolojik kütleden üretilen her türlü enerjidir (şekil 4.). Bunlar; sıvı (biyoetanol ve biyodizel gibi birinci ve ikinci nesil biyoyakıtlar), gaz (biyogaz) ve katı yakıtlar (ortak ateşleme, ısıtma, elektrik üretimi ve biyolojik rafine etme) olarak tanımlanmaktadır (Don vd., 2012).



Şekil 2.4. Biyoyakıt üretim prosesleri ve biyokütle özetleri (Ekşioğlu vd., 2009).

2.2.1. Biyogaz

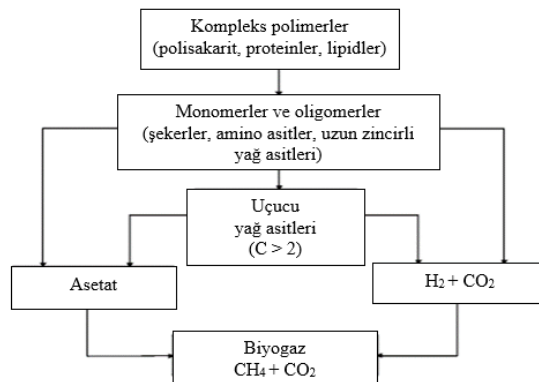
Biyogaz organik biyokütlenin anaerobik mikroorganizmalar tarafından, kontrol edilen sıcaklık, nem ve asitlik koşulları altında sindirilmesiyle üretilir (das Neves vd., 2009). Bu biyoküteller arasında evsel ve gıda endüstrisinden gelen organik atıklar, özel enerji bitkileri, ekin artıkları, hayvan gübresi ve algler gibi tarımsal atık ürünleri bulunmaktadır (Chynoweth vd., 2001) (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Çalışılan biyogaz sistemine genel bakış.

Biyogazın ana bileşeni, kokusuz, renksiz yanıcı bir gaz olan metan (CH_4) 'dır. Temelde ısı ve ışık üretmek için yakıt olarak kullanılır (Wetchakun vd., 2011). Nevruz vd. (2009) tarafından yürütülen çalışmaya göre, biyogaz; hidroliz, asidogenezis, asetogenezis ve metanogenez olmak üzere dört ana aşamada üretilmektedir (Şekil 2.6.).

- Hidroliz: Çözünmeyen bileşiklerin çözümlü bileşiklere dönüşümü.
- Asidogenez: Bakteri, hidrolizatın hidrojen, karbon dioksit ve asidik bileşikler halinde fermente olmasını sağlar.
- Asetogenez: Asetojenik bakteriler asetik asit oluştururlar.
- Metanogenez: Metanojen mikroorganizmaların hidrojen, karbon dioksit ve asetik asidi metana dönüştürmesi.

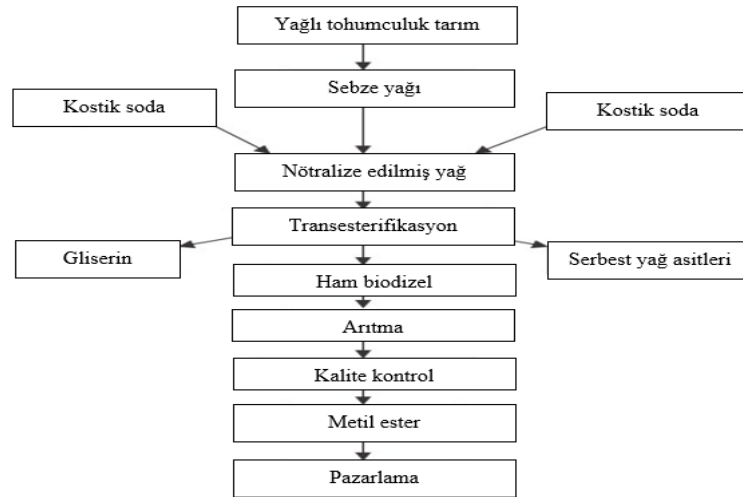


Şekil 2.6. Metan fermantasyonu üretimi aşamaları (Gujer vd., 1983).

Biyogaz üretimi katı atıkların yönetiminde katkı sağlamaktadır. Ayrıca orta gelirli ve gelişmekte olan ülkelerdeki ısıtma, ulaşım vb. konulardaki enerji ihtiyacını karşılamaktadır. Biyogaz tesisinin işletilmesi, genel olarak, net enerji talebinin yaklaşık %40-80'ine karşılık gelen, biyogaz sistemlerinde en çok enerji gerektiren süreçtir. Ayrıca, hammaddelerin kapsamlı olarak ele alınması gerektiğinde, enerji girdilerinin önemli bir kısmı bu işlemler için kullanılabilir (Berglund vd., 2006). Ayrıca biyogazın anaerobik fermantasyonu yakıtın maliyetini artıran çok yavaş bir işlemdir. Bir başka konu ise, biyogazın sera etkisi, karbon dioksitten 21 kat daha fazladır ve dikkatle depolanmalı ve yönetilmelidir (das Neves vd., 2009).

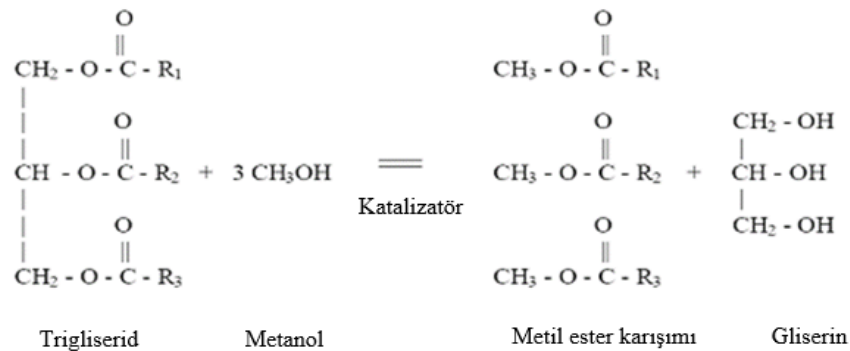
2.2.2. Biyodizel

Biyodizel, yenilenebilir, çevreye duyarlı ve enerji açısından verimli biyoenerji transesterifikasyondur (Demirbas, 2008). Yağ asitlerinin trans esterifikasyon ile metil esterlere ve gliserine dönüştüğü bitkisel yağların veya hayvan yağlarının monoalkil esterleri olarak tanımlanır (Demirbas, 2007). Şekil 2.7.'de biyodizel üretim akış şeması gösterilmektedir.



Şekil 2.7. Biyodizel işleme diyagramı (Demirbas, 2007).

Moleküler bir ölçekte esterifikasyonu daha da basitleştirmek için aşağıdaki reaksiyon, trigliseridlerin (farklı yağ türlerinden) bir katalizör varlığında esterler ve gliserin üretmek üzere bir alkol (genellikle metanol veya etanol) ile reaksiyona girdiğini göstermektedir.



Her yağ asidi, biyodizel üretimi için hammadde olabilmesine rağmen, bitkisel atık yağ ve hayvansal yağlar, gıda dışı ürünlerin avantajlarından dolayı ilgi çekmektedir (Refaat, 2010). Biyodizel üretimi, atık yağdan, kiri, gıda kalıntılarını ve yağsız malzemeleri ayırmak için filtreleme içeren özetle hammaddeden kaynaklanan tüm yabancı maddelerin temizlenmesi ile başlamaktadır. Su, öncelikle biyodizel elde etmek üzere transesterifikasyona tabi tutulmak yerine, trigliseridlerin hidrolize edilerek yağ asidi tuzlarına neden olması nedeniyle uzaklaştırılır (Bondioli, 2004). Korus vd., (1993), transesterifikasyon işlemi; alkolün bitkisel yağa oranı, sıcaklık, ajitasyon oranına ve reaksiyon karışımında bulunan suyun miktarı gibi bazı temel parametrelere bağlı olarak değişmektedir. Sıcaklığın ana etkisi, gerekli esterin dönüştürme süresini azaltmaktadır. Transesterifikasyon reaksiyonu, ısıtma maliyeti endişelerini düşürmek için oda sıcaklığında gerçekleştirilir (Korus vd., 1993). Dahası, homojen bir alkol ve yağ karışımı, dönüşümün artırılması ve maksimum dönüşüme ulaşmak için gereken süreyi azaltmak gibi birçok avantaja sahiptir (Korus vd., 1993). Ayrıca transesterifikasyonu arttırmak için kullanılabilir bazı katalizörler bulunmaktadır. Bunlar; potasyum hidroksit, sodyum hidroksit, sodyum metoksit veya sodyum etoksit gibi bileşiklerdir (Fernando ve Hanna, 2004). Biyodizellerin maliyeti; baz stoğu, coğrafi bölge, mevsimlik mahsul üretimindeki değişkenlik, ham petrol fiyatı vb. durumlardan etkilenmektedir. Biyodizel, petrol dizelinin iki katını aşan fiyata sahiptir. Biyodizelin yüksek fiyata sahip olmasının nedeni, hammaddenin fiyatının yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, biyodizel sığır don yağı, domuz yağı ve sarı gres de dahil olmak üzere diğer hammaddelerden de yapılabilmektedir (Demirbas, 2005). Hammaddeye, kimyasal teknolojiye ve üretim hacmine bağlı olması nedeniyle biyodizel üretiminin maliyeti söz konusu olduğunda, hammadde çok önemli bir unsur olarak gözükmektedir (Refaat, 2010).

2.2.3. Biyoetanol

Biyoetanol üretimini ve kullanımı son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir. Aslında burada temel olarak enerji kaynağı olarak anlaşılması gereken etanoldür.

2.2.3.1. Etanol

Etanol, sıklıkla C_2H_5OH veya CH_3CH_2OH yapısal formülüne sahip uçucu, yanıcı, renksiz bir sıvıdır. Çoğunlukla etil alkol olarak adlandırılır. Mayalardan şekerlerin fermentasyonu ile üretilen, alkollü içeceklerde bulunan alkolün başlıca türüdür. Tüketilmesinin yanı sıra, çözücü, antiseptik, yakıt olarak ve modern (civa sonrası) termometrelerde aktif sıvı olarak birkaç kullanım alanı vardır (Patil vd., 2014). Çizelge 2.2. etanolün kimyasal ve fiziksel özelliklerini gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Etanolün özellikleri (Kowalewicz, 2006).

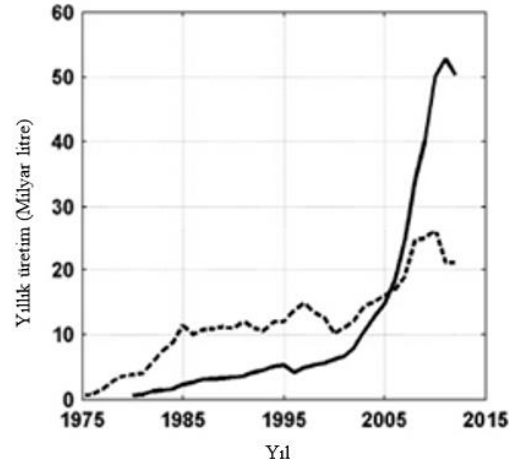
Tanım	Değerler
Kimyasal formülü	C ₂ H ₅ OH
Molekül ağırlığı (g/mol)	46
20 ° C'de Yoğunluk (kg/m ³)	789
Kalorifik değer (MJ/kg)	26,9
Stokiyometrik karışımın ısı değeri (MJ/m ³)	3,85
Buharlaşma ısısı (kJ/kg)	840
Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı (K)	665
Stokiyometrik hava / yakıt oranı (kg air/kg fuel)	9
Alt yanıcılık (λ _l)	2.06
Yüksek yanıcılık (λ _h)	0.3
40 ° C'de kinematik viskozite (mm ² /s)	1.4
Motor oktan sayısı / araştırma oktan sayısı	89/107
Setan sayısı	8
Alev sıcaklığı (K)	2235
Moleküler kompozisyon (kütleye göre)	
C (%)	52.2
H (%)	13
O (%)	34.8

2.2.3.2. Tanım

Tanım olarak, ikinci nesil biyoetanol, biyokütlenin biyolojik fermentasyonu ile üretilen etanolü ifade etmektedir (Taylor vd., 2009). Biyoetanol, şeker veya dönüştürülmüş nişastanın fermantasyonundan elde edilen yüksek oktanlı, su içermeyen alkoldür (Rajagopalan vd., 2002). En saf haliyle, 78°C'de kaynar ve -112°C'de donar ve (Farkha vd., 2016) hafif karakteristik kokusu olan renksiz berrak bir sıvıdır. Biyoetanol, çoğu sentetik etanol ile aynı özelliklere sahiptir. Biyoetanol yenilenebilir ve oksijenleşebilir olduğu için son yıllarda dikkat çekmiştir. Sanchez ve Cardona (2008), oksijenlenmiş etanolün karbondioksit ve aromatik bileşiklerin emisyonunu azalttığına işaret etmektedir.

2.2.3.3. Tarihçe ve görünüm

1908 yılından yakıt etanol, ilk olarak ulaşımda Henry Ford'un ya etanol ya da benzinle çalışmak üzere tasarlanmış model T aracı ile kullanıldı. Günümüzde hemen hemen etanol gibi tüm yakıtlar (şeker kamışı veya mısır kaynaklı nişastadan), '1. nesil' biyoetanol işlemleri ile üretilmektedir. Biyoetanol pazarı, Brezilya ve ABD olmak üzere iki ülkenin hakimiyeti altındadır. Tarihsel olarak, yakıt etanolünün ana üreticisi Pro-Alcohol programının başlatılmasıyla 1970'lerin ortalarından başlamak üzere Brezilya'dır (Goldemberg, 2006). Bununla birlikte, 2005 yılında ABD, Brezilya'yı dünyanın önde gelen biyoetanol üreticisi olarak geride bırakmış ve üretimdeki boşluk açılmıştır (Şekil 2.8.).

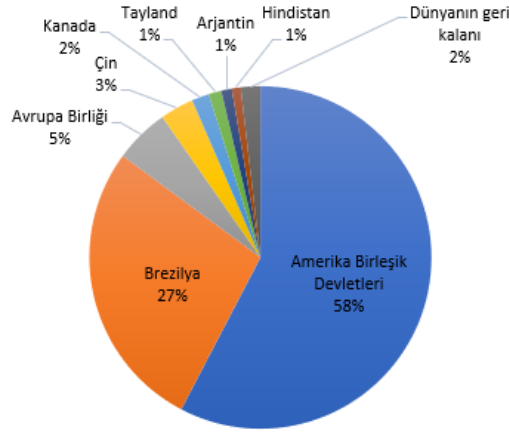


Şekil 2.8. 2012'de toplam biyoetanol üretimi, Brezilya'nın (nokta çizgi) ve ABD'nin (sabit hat) yıllık etanol üretimleri ve katkısı (Goldemberg 2006).

Avrupa ve ABD, pazardaki ileri biyolojik yakıtları tanıtmak için güçlü siyasi teşvikler sağlamıştır. Örneğin, Avrupa Birliği, yenilenebilir enerjinin payını %20 (ulaştırma yakıtlarında %10) ve verimliliğini %20 artırmayı, enerji verimliliğini %20 oranında azaltmayı amaçlayan, kod adı 20-20-20 olan enerji ve iklim değişikliği yasama paketini onayladı. 2020 yılına kadar (GHG) emisyonlarını %20 azaltmayı hedeflemektedirler (Markaki vd., 2013). Bu hedeflere yönelik biyoyakıtlar için sürdürülebilirlik kriterleri “KIRMIZI Yenilenebilir Enerji Direktifi”nde belirtilmiştir. KIRMIZIN ana amacı, atıklar, kalıntılar ve lignoselülozik materyalden biyoyakıt üretimini destekleme teşvikleri vermek suretiyle, (GHG) tasarrufu ve yüksek biyoçeşitlilik ile toprağın korunmasıdır (Janssen vd., 2013). ABD, 2007 Enerji Güvenliği ve Bağımsızlık Yasasında (EISA) daha fazla hedef belirlemiştir. Bu amaçla tahılların, 2022 yılında 136 milyar litre olarak tahmin edilen spesifik üretim seviyelerine çıkarılması ve bunların da 79 milyar litresinin hububattan başka hammaddelerden üretilmesi hedeflenmiştir (Janssen vd., 2013). Hem ABD hem de AB gelişmiş biyoyakıt projelerine maddi destek sağlamaktadır. Şubat 2012'de ABD Enerji Bakanlığı (DOE), pilot ölçekte ticari ölçekte (Balan vd., 2013) değişen 766 milyon ABD doları tutarındaki 16 selülozik etanol projesini finanse etmiştir. AB'de mali destek, 82 milyon € ile biyokimyasal işlem yapan endüstri projelerini finanse etmiştir (Balan vd., 2013).

2.2.3.4. Dünyadaki biyoetanol pazarı

ABD ve Brezilya sırasıyla mısır nişastası ve şeker kamışı şekerinden etanol üretiminde önde gelen ülkelerdir. Bu iki ülkenin 2016 yılında ürettiği etanol miktarı 22.62 milyon galon olup, bu miktarın% 85'i söz konusu hammaddelerden olmuştur (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. 2016'da ülkelerin küresel yakıtlı etanol üretiminin paylaşımı (Anonymous 1).

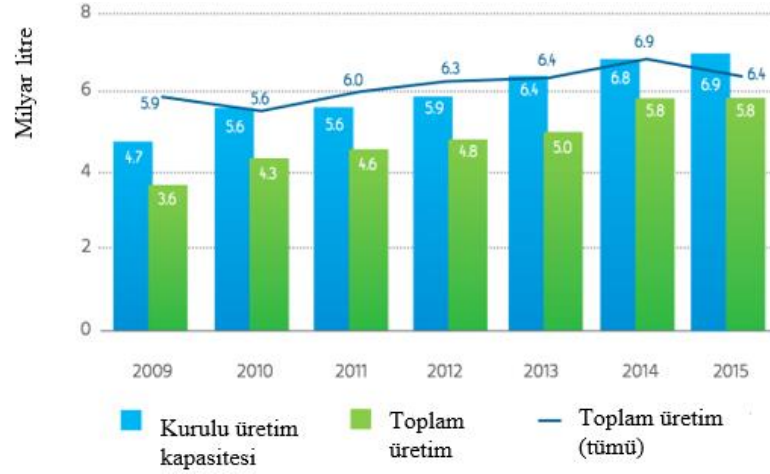
Çizelge 2.3.'de 2016'da dünyada biyoetanol üretici ülkeleri ve üretim miktarları gösterilmektedir.

Çizelge 2.3. Ükelere göre 2016 yılı küresel yakıtlı etanol üretimi (Anonymous 1).

Bölge	Milyon Galon
Amerika Birleşik Devletleri	15,329
Brezilya	7,295
Avrupa Birliği	1,377
Çin	845
Kanada	436
Tayland	322
Arjantin	264
Hindistan	225
Dünyanın geri kalanı	490

ABD'de etanol üretimi 2005'de Brezilya'nın üretiminden fazladır ve son on yılda yaklaşık 4 kat artarak 2016'da 15,329 milyon galona ulaşmıştır (Anonymous 1).

Avrupa'da üretilen yenilenebilir etanol miktarı, 2015 yılında 5,8 milyar litre olup bu üretim kurulu kapasitelerinin %84'ünü kullanarak gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.10.). Bu amaçla Avrupa'da kullanılan hammaddeler çoğunlukla mısır (%37), buğday (%36) ve şekerpancarından (%13) oluşmaktadır (Anonymous 1). Dünya etanol üretimindeki hızlı gelişme, ABD ve AB'nin, ulaşım sektöründeki (GHG) emisyonlarının azaltılması yönündeki net hedefi ile yenilenebilir yakıtların harmanlanması yönündeki kararları vermesi ile hızlanmıştır. Böylece 2014'te AB, (GHG) emisyonlarını 1990 seviyelerine göre %24 oranında azaltmış ve nihai enerji tüketimindeki yenilenebilir enerjinin payı %16'ya (2004: %8.5) yükselmiştir (Oberthür vd., 2017). ABD etanol kullanımı ile, ithal edilen yakıtlara olan bağımlılıklarını 2005 yılında %60'dan 2012'de %40'a düşürdü ve bu azalma süreci devam etmektedir. Petrole göre nispeten mısır, şeker kamışı, mısır sapı, dallı darı ve miscanthus'tan biyoetanol kullanılması yaşam döngüsü boyunca (GHG) emisyonlarını sırasıyla %19-48, %40-62, %90-103, %77-97 ve %101-115 oranında azaltmaktadır (Wang vd., 2012).



Şekil 2.10. A.B. etanol üretimi (Anonymous 2).

Brezilya’da, 2011/2012 mahsül üretiminden yaklaşık olarak 23 milyar litre biyoetanol üretilmiş olup bu yakıtla Brezilya’daki hafif araçların yaklaşık %60’ı çalıştırılmaktadır. Şeker kamışından ülkenin enerji matrisinin % 18’ine karşılık gelen üretim gerçekleşmektedir. Bu hidroelektrikten daha yüksek bir paya sahiptir. Şeker/enerji pazarının sunduğu istihdam yılda 80 milyar doların üzerinde ciroya sahiptir (hem doğrudan hem dolaylı işlerde). 1975 yılından bu yana, Brezilya'nın genel biyoetanol endüstrisi getirisi, yılda %3-4 oranında istikrarlı bir şekilde büyümüş ve günümüzde şeker kamışı hektar başına 6.500 litreye ulaşmıştır. Aynı zamanda, şeker kamışı ton başına şeker miktarı da ilk yıllarda önemli ölçüde artarken, son 15 yıl içinde şeker kamışı ton başına yaklaşık 140 kg şekerle kararlı bir durumda devam etmektedir (Della-Bianca vd., 2012).

2.2.3.5. Ulaşım için biyoetanol kullanımı

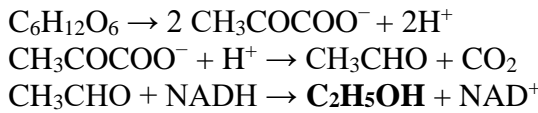
Biyoetanol, benzinli araç motoru kapasitesine bağlı olarak çeşitli oranlarda karıştırılabilir ve var olan dağıtım altyapısını değiştirmek zorunda kalmadan yavaş yavaş benzinle değiştirilme potansiyeline sahiptir. Bu durum harmanlama oranı, hükümet politikaları, coğrafi konum ve iklim gibi birçok faktöre bağlıdır. Benzine bu tip alternatif yakıt ilavesi emisyon türlerini azaltmak ve daha uzun süre kaynak kullanımını gerçekleştirmek için yapılmıştır. Etanol nadiren tek başına otomotiv yakıtı olarak kullanılmaktadır. En yaygın yol standart benzin ile karıştırmaktır. Şu anda kullanılan etanol-benzin karışımı oranı %5-15 düşük ve %85 yüksek olmak üzere gerçekleştirilmektedir. Daha yüksek karışımlar kalibrasyon ve motor donanımında değişiklikler gerektirmektedir. Bu amaçlarla E5 (%5 etanol, %95 benzin) ile E50 (%50 etanol, %50 benzin) arasındaki çeşitli etanol-benzin karışımlarının çeşitli fiziko-kimyasal özelliklerini belirlemek için de bir çok araştırma yapılmıştır (Bielaczyc vd., 2013). Birleşik Devletler, Brezilya, Çin, Tayland gibi birçok ülkede, etanol çoğunlukla benzin ile harmanlanarak 10 'gasohol' (%10 etanol ve %90 benzin) olarak adlandırılan bir E10 harmanı şeklinde kullanılmaktadır. Bu gasohol, benzin yerine geçer ve geleneksel yanmalı motorlarda herhangi bir değişiklik yapmadan yakılır. Bugüne kadar saf etanol veya E100 sadece belirli motorlar için Brezilya'da kullanılmaktadır (Balat ve Balat, 2009). Ayrıca, biyoetanol, daha yüksek bir oktan sayısı (108), daha geniş alevlenme

limitleri, daha yüksek alev hızı ve buharlaşmanın daha yüksek ısınması gibi özelliklere sahiptir. Bu özellikler daha yüksek bir sıkıştırma oranı ve daha kısa yanma süresi için yararlıdır, bu da bir IC motorunda benzine göre teorik verimlilik avantajlarına yol açar. Tanım gereğince, oktan sayısı, erken ateşlemeyi önlemek için benzin kalitesinin bir ölçüsüdür ve silindir vuruşuna neden olur. Yüksek oktanlı yakıtlar, buji ile ateşlemeli içten yanmalı motorlarda tercih edilir (Balat vd., 2009).

2.2.3.6. Biyoetanol işleme yolu

Biyoetanol, mısır, şeker kamışı, selüloz, patates vb. gibi farklı hammaddelerden üretilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde mısır tanesi biyoetanol için ana hammadde (%90) olurken, Brezilya'da şeker kamışı daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Balat vd., 2008). Etanol üretimi sentetik ve biyoloji olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilmektedir. Sentetik yol genellikle etilenin buhar fazında katalitik bir şekilde hidratlanması ve sıklıkla da bazı endüstriyel işlemlerin bir yan ürünü olarak gerçekleştirilir (Logsdon, 2006). Bu işlemde üretilen etanol ya bir solvent (%60) ya da kimyasal ara madde (%40) olarak kullanılır. Fermentatif etanol üretimi ise dünyadaki toplam etanol üretiminin %93'ünü oluşturmaktadır. Bu yolda etanol, şekerlerinin fermentasyonu ile üretilir. Yüksek etanol verimi ve yüksek etanol konsantrasyonuna karşı toleransı nedeniyle *Saccharomyces cerevisiae* en çok tercih edilen mikroorganizmadır. Bu procesten üretilen etanol yakıt (%92), endüstriyel solventler-kimyasallar (%4) ve içeceklerde (%4) kullanılmaktadır (Logsdon, 2006).

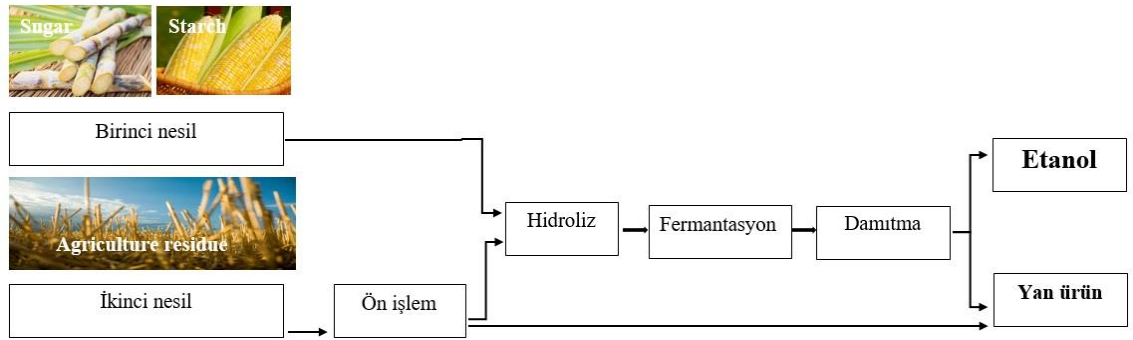
Etanol fermentasyonuna ait kimyasal denklemler:



Geleneksel olarak, biyokütleden etanol üretimi, ön işlem, asit/enzimatik hidroliz (sakarifikasyon), fermentasyon ve damıtılmanın farklı aşamalarını içerir (Chandel vd., 2007). Şekil 2.11.'de hem birinci hem de ikinci kuşak biyokütleye ait biyoetanol üretimi için farklı adımları gösterilmektedir.

- Ön muamele: Biyokütleyi oluşturan yapısal karbonhidratların sonraki basamaklar için daha erişilebilir hale getirildiği süreç;
- Enzimatik / asit hidrolizi: Polisakkaritlerin mikroorganizmalar tarafından etanol üretimi için fermente edilebilen basit şekerlere ayrılması;
- Fermentasyon: Karbonhidratların seçilen mikroorganizma veya kültür ile etanole dönüştürülmesi;
- Fermentasyon sonrası işlemler: Etanolün fermentasyon ortamından geri kazanılması (tipik olarak damıtma ile) ve kalan akışların yönetimi.

Bir ön muamele basamağına duyulan ihtiyaç birinci ve ikinci nesil bir süreç arasındaki en önemli ayrımdır (Muktham vd., 2016).



Şekil 2.11. Etanol üretim süreci.

2.3. Biyoetanol üreten mikroorganizma

Fermentasyon türüne ve mikroorganizmalara bağlı olarak karbon kaynakları, karbon dioksit, laktik asit, etanol, selüloz gibi katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmektedir. Örneğin etanol, fermentasyonun değerli son ürünlerinden biri olup bakteri veya maya ile gerçekleştirilebilmektedir. Fermentasyon, bir elektron taşıma mekanizmasına ihtiyaç duymayan bir enerji üretim sürecidir. Fermentasyon, Entner-Doudoroff ve Embden-Meyerhof gibi farklı metabolik yollarla ve farklı mikroorganizmalara gerçekleştirilebilir. Embden-Meyerhof yolunda maya, bir anaerobik fermentasyon sırasında glukozu etanole dönüştürmek için kullanılmaktadır.

Saccharomyces cerevisiae fermentasyon endüstrisinde en sık kullanılan mikroorganizma olup, güvenli (GRAS) olarak kabul edilmiştir (Kunz, 2008). *S. cerevisiae* şekeri enerjiye dönüştürerek ve alkol üreterek metabolik enerji ihtiyacını yerine getirir. Normalde fermentasyon bir anaerobik ortamda yapılır, buna rağmen *S. cerevisiae* yağ asidi ve sterollerini sentezlemek için küçük bir oksijen miktarına ihtiyaç duymaktadır (Sanchez ve Cardona, 2008). *S. cerevisiae*, biyoetanol üretiminde en yaygın kullanılan mikroorganizma olmasına rağmen, yüksek düzeyde alkol içeren ve etanol üretiminin engellenmesine neden olan ortamlarda yetişememesi gibi bazı sık karşılaşılan dezavantajlara sahiptir. Bunun yanında pentozları fermente edememektedir. Sadece *Pichia*, *Candida*, *Schizosaccharomyces* ve *Pachysolen* cinslerinden bazı mayalar pentozları etanole dönüştürebilmektedir (Azhara vd., 2017).

Zymomonas mobilis, gram negatif fakültatif anaerob, ayrıca glukozu Entner-Doudoroff yolu ile metabolize edebilen bir bakteridir. Bu mikroorganizma 120 g/L etanole kadar ortamda gelişim sürdürebilmektedir (Lin ve Tanaka, 2006). *Zymomonas mobilis* ayrıca glukoz, fruktoz ve sukroz gibi heksozları fermente edebilmektedir (Classen vd., 1999). Sadece glukozun değil, aynı zamanda ksilozun da etanol üretebilmesi için modifiye edilmiş rekombinant *Z. mobilis* suşları bulunmaktadır (Cardona ve Sanchez, 2007).

Birçok mikroorganizma arasında, *Pichia stipitis*'in endüstriyel uygulama için kullanılan en umut verici türlerden biri olduğu araştırmalarda görülmektedir. Düşük ksilitol yan ürünü ile uygun mikro-aerofilik koşullar altında pentoz şekeri olan ksilozu yüksek kapasiteli fermente etme kabiliyetine sahiptir. Ayrıca, ksiloz fermentasyonu için mutlak bir vitamin gerekliliği yoktur, ayrıca sellobiyoz da dahil olmak üzere geniş bir

şeker fermentasyonunu yapabilmektedir (Buaban vd., 2010). Çizelge 2.4.'de etanol üretiminden sorumlu olan bazı mikroorganizmalar ve özellikleri gösterilmiştir.

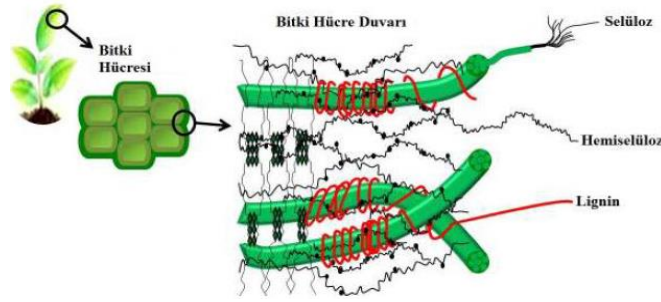
Çizelge 2.4. Etanol üreticisi mikroorganizmalar ve özellikleri.

Mikroorganizma	Fermente edilebilir yüzeyler	Fermentasyon şartları	Etanol toleransı	Uyarılar	Referanslar
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Şeker, fruktoz, maltoz, sukroz.	Anaerobik, 30-37°C	150 g/L	teorik'in% 95'inden fazlası. Yol ver	Claassen vd., 1999
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Şeker, fruktoz, maltoz, sukroz.	Anaerobik, 30-35°C		Yüksek ozmotik tolerans	Bullock (2002), ve Bolanos (2005),
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Glucose	Anaerobik, 40-45°C		% 80-90 teorik verimden	Kadar vd.,(2004)
<i>Candida shehatae</i>	Glukoz, ksiloz.	Microaerophilik, 20-31°C	30-45 g/L	% 94'ü. Ksiloz üzerinde verim, orta derecede ksilitol üretir	Olsson, ve Hahn-Hagerdal (1996), Jeffries ve Jin (2000).
<i>Pichia stipites</i>	Glukoz, ksiloz.	Microaerophilik, 26-35°C	35-47 g/L	% 92. Ksiloz üzerinde teorik verim	Olsson, ve Hahn-Hagerdal (1996), Jeffries ve Jin (2000).
<i>Pachysolen tannophilus</i>	Glukoz, ksiloz, gliserol.	Microaerophilik	37,5-45 g/L	Ksiloz üzerinde kuramsal Verimin% 94'ü büyük miktarda ksilitol üretir	Olsson, ve Hahn-Hagerdal (1996), Jeffries ve Jin (2000).
<i>Zymomonas mobilis</i>	Şeker, fruktoz, sukroz.	Anaerobik, 30°C	100 g/L	Kuramsal Verimin% 95'i kadar	Claassen vd., 1999
<i>Clostridium thermocellum</i>	Glukoz, selüloz	Anaerobik, 55-65°C	10-30 g/L	Asetik asit üretir	Claassen vd., 1999
<i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>	Glukoz, ksiloz.	Anaerobik, 60°C	< 30 g/L	Kuramsal Verimin% 95'i Ksiloz üzerinde Verim	Olsson, ve Hahn-Hagerdal (1996)

2.4. Lignoselülozik biyokütle

Lignoselülozlu biyokütle; tarımsal kalıntılar [örn., Mısır sopsası (koçanı ve sapı), pirinç saman, kese, pamuk çırpı çöpleri, vb.], ormancılık atıkları (örneğin odun talaşı ve talaş) biyoenerji bitkileri (tatlı sorgum, dallı darı ve ortak sazlıklar), endüstriyel atıklar (örn. kağıt çamuru, geri dönüşümlü gazete) ve belediye katı atıklarından oluşmaktadır. Gıda kaynaklı (nişasta türevi) biyokütle ile karşılaştırıldığında, düşük maliyetli, bol miktarda arz, tahıl olarak gıdayla rekabet olmaması gibi bir dizi avantaja sahiptir (Sathisuksanoh vd., 2009).

Lignoselülozik biyokütle, selüloz, hemiselüloz ve ligninin kompleks bir oluşumuna sahiptir (Fan vd., 1980). Lignoselülozun bu üç ana bileşeni, bitki hücre duvarı yapısal çerçevesini oluşturmak üzere birbirine yakındır (Jørgensen vd., 2007). Hücre duvarı kristal halindeki selüloz fibrillerinden oluşur ve bir kristalin olmayan hemiselülozların bir matrisi ile çevrilidir. Bunlar; Pektinle selüloza bağlanan heteropolisakkaritlerin, çapraz bağlanmış liflerin oluşturduğu bir gruptur (Ramos, 2003). Selüloz ve hemiselüloz birbirine dolanmış ve dışarıda lignin ile sarılmıştır (de Vries ve Visser 2001). Şekil 2.12.'de lignoselülozik bir bileşiğin yapısı görülmektedir.



Şekil 2.12. Lignoselülozik biyokütlenin genel yapısı (Ratanakhanokchai vd., 2003).

Selüloz fraksiyonu çoğunlukla lignoselülozik bitki biyokütlesinin en bol kısmıdır. Oysa hemiselüloz ve lignin bitki/ürün türüne bağlı olarak farklı oranlarda bulunabilmektedir. Ayrıca, aynı bitki içindeki kompozisyon, yaş, gelişme aşaması ve diğer koşullarla değişir (Perez vd., 2002). Çizelge 2.5'de. bazı lignoselülozik biyokütlelerin üç temel bileşen fraksiyonunu gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. Ortak tarım kalıntıları ve atıklarının lignoselüloz bileşenleri (Howard vd., 2003, Sun ve Cheng 2002).

Lignoselülozik bileşik	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)
Mısır koçanları	45	35	15
Sertağaç gövdeleri	40-55	24-40	18-25
Çeltik saman	32,1	24	18
Buğday samanı	30	50	15
Yapraklar	15-20	80-85	0

2.4.1. Selüloz

Selüloz, bitki hücre duvarlarının birincil yapısal polisakaritidir ve çoğunlukla dünyadaki en bol biyolojik molekül olarak bilinmektedir (Lavoine vd.,2012). Yıllık ortalama 75-100 milyar ton selüloz açığa çıkmaktadır (de Souza Lima vd., 2004). Selüloz, bitkilerin hücre duvarlarında yaygın olarak bulunan bir yapı polisakaritidir. Dallanmamış bir zincir halinde bulunur, lifli, sert, suda çözünmeyen bir bileşiktir (Lin ve Tanaka 2006; Ramesh ve Singh 1993).

Selüloz, anhidroglukoz birimleri glukoz zincirlerine birleştirilerek oluşturulmuş doğrusal bir polimer zinciridir. Bu glukoz birimleri, β - (1,4) glikosidik bağlarla birbirine bağlıdır (Demirbas, 2009). Zincirler daha sonra hidrojen bağlarıyla bağlanır ve bir kristalin veya amorf yapı oluşturur (Zaldivar vd., 2001). Moleküler-arası hidrojen bağlarıyla selüloz liflerinin bu kristallik doğası selüloza yüksek gerilme mukavemeti verir ve çoğu çözücüde çözünmez hale getirir. Bu ise etkin enzimatik sakkarifikasyon/hidroliz için büyük bir engel oluşturmaktadır. Ayrıca, selüloz liflerini çevreleyen büyük oranda odunlu hücre çeperi, ligninin mikrobiyal saldırıya ve hidrolize dirençli çimento katkısını ortaya koymaktadır (Fan vd., 1980, Jørgensen vd., 2007). Depolimerizasyona karşı dirençli yapı, enzimlerin hidrolizde kullanımını için fraksiyonlarına erişmeyi oldukça zorlaştırır. Bu nedenle selülozdan glukoz salınması önemli teknik zorluklarla karşı karşıya kalmaktadır.

2.4.2. Hemiselüloz

Hemiselüloz, selülozun aksine, polisakaritlerin heterojen ailesine ait ikinci ana polisakarittir ve arabinoz, mannoz, glukoz, ksiloz, galaktoz gibi heksoz ve pentoz karışımını içermektedir (Van Wyk, 2001). Amorf morfoloji sayesinde hemiselülozlar kısmen suda çözünebilmektedir (Demirbas, 2008). Ana hemiselüloz şekerin, diğer gruplarla birlikte β - (1,4) bağlı D-ksiloz ünitelerinden oluşan ana zincir (omurga) olarak bir ksilandan oluşan ksilozdur (D-mannoz, D-glukoz ve L-arabinoz dalları olarak) (Ramesh ve Singh 1993). Yan zincirlerin varlığı hidrojen bağını azaltır. Bu nedenle, hemiselüloz, selülozun aksine, daha düşük kristallik ve yüksek dallı ve amorf yapıya sahiptir. Bu nedenle mikrobiyal veya termokimyasal-fiziksel işlemler tarafından kolaylıkla parçalanabilir (Jeoh vd., 2007).

2.4.3. Lignin

Lignin, lignoselülozik bileşiklerin fermente olamayan bir parçasıdır. Lignini etanole dönüştüren mikroorganizmalar bulunmamaktadır (Zaldivar vd., 2001). Lignin büyük bir molekül yapısını oluşturan fenolik bileşik monomerlerinin karmaşık, çapraz bağlı bir polimeridir. Yapısal destek, geçirimsizlik ve mikrobiyal etkiye ve oksidatif strese karşı direnç sağlayan hücre duvarında bulunur (Perez vd., 2002). Bu nedenle, lignin, genellikle etanol üretim tesisinin işletilmesi için kullanılabilen ısı veya elektrik üretimi için bir yakıt olarak yakılır (Larsen vd., 2013). Lignin polimerleri esasen üç yapı taşından oluşur: siringil, p-hidroksifenil ve guaiasil (Boerjan vd., 2003). Bu yapı taşlarının oranı farklı bitki türlerine göre değişmektedir (Klinke vd., 2004). Lignoselülozik hammaddelerde, lignin yapısını güçlendirmek ve stabilite sağlamak ve bozunmaya karşı oldukça geçirimsiz hale getirmek için polisakaritler liflerini çevreleyen

ve tutan tutkal gibi davranır (Fan vd., 1987). Lignin, hücre duvarı polisakkaritlerini mikrobiyal bozulmadan koruduğundan, bitki biyokütlesinin biyoyakıtlara dönüşmesini engellemektedir. Lignin giderme işlemi maliyetli olduğundan, son yıllarda çok fazla araştırma konusu bu bileşik üzerine yoğunlaşmaktadır (Vanholme vd., 2010).

2.4.4. Minör elementler

Yukarıdaki üç temel bileşene ek olarak, lignoselülozik biyokütle, düşük molekül ağırlıklı organik maddeleri de içermektedir. Bunlar arasında; reçineler, yağlar, mumlar, yağlı asitleri ve alkoller, fenolikler, fitosteroller, tuzlar, mineraller ve diğer bileşikler bulunmaktadır. Bazı bileşikler toksiktir ve mantar-termitler tarafından saldırıya karşı ahşap için bir avantaj sağlamaktadır. Yine bu lignoselülozik bileşikler silisyum, alüminyum, kalsiyum, magnezyum, potasyum ve sodyum gibi mineralleri içermektedir.

2.5. Etanol Fermantasyonu için Bir Hammadde Olarak Pirinç

2.5.1. Küresel Pirinç Üretimi

Pirinç, insan popülasyonunun büyük bir bölümünün geleneksel diyetinin temelini oluşturan bir temel gıda olarak düşünülür. Dünya nüfusunun tahıl tüketimi düşünüldüğünde yaklaşık 1/3'ü pirinci temel besin ögesi olarak, 1/3 buğday, diğer 1/3 ise arpa, çavdar, mısır, patates ve tatlı patates tüketir. Kuzeydoğu ve Güneydoğu Asya bölgesi, pirinci ana gıda maddesi olarak kullanılmaktadır (Chang Nam vd., 2010). FAO, 2014 yılında küresel 745 milyon ton çeltik üretimi için 163 milyon ha toplam alan olması gerektiğini bildirmiştir. Bu rakamlara göre yapılan 2016 yılındaki 746 milyon ton çeltik üretim beklentisi tahmininin sadece %0,2 altında kalmıştır. Çeltik üretimi için FAO tahminleri, Uluslararası Tahıl Konseyi (IGC) 2014/2015'te küresel bir üretim 474 milyon ton (öğütülmüş eşdeğer) ile 2013/14 yılında 475 milyon ton karşılaştırması ile uyumludur (Anonymous 3). Pirinç üretimi coğrafi olarak bir bölgede üstünlük göstermektedir. Asya, toplam 745 milyon ton çeltik üretimiyle toplam dünya pirinç üretiminin % 90'dan fazlasını üretmektedir. Çin ve Hindistan, sırasıyla 205 milyon ton ve 155 milyon ton çeltik üretimiyle dünyanın en büyük iki pirinç üreticisidir (Anonymous 3).

2.5.2. Pirinç kavuzu

Pirinç kavuzu (rice hull-RH), pirinç tanesinin kabuklu ve kepekli (pirinç tanesinin dış tabakası) yenilebilir kısımdan ayrılmasını içeren, pirinç öğütme işleminde yan ürün olarak elde edilen pirinç çeltiklerinin bir parçasıdır. Dünya RH üretimi çok önemlidir ve yılda on milyonlarca ton aralığındadır. Bu, özellikle biyoetanol dönüştürülmek için potansiyel bir atık biyokütle özelliği taşımaktadır. Nitekim, bir pirinç değirmeninde üretilen kavuzun yaklaşık %50'si mekanik öğütme makinesini çalıştırmak amacıyla buhar üretmek için yanmaktadır (Sookkumnerd vd., 2005). Geriye kalan ise diğer endüstrilerde öncelikle silis esaslı yapı malzemeleri veya gübre olarak kullanılmaktadır.

Pirinç kavuzunun bulunabilirliği; çeltik üretimi, üretim süreci ve kabuk/çeltik oranı (HPR) (0.14 ila 0.27 arasındadır) gibi 3 faktöre bağlıdır. Pirinç çeltiklerinin ortalama %20'si kabuk olup yıllık yaklaşık 120 milyon ton açığa çıkmaktadır (Giddel vd., 2007). Pirinç üreten ülkelerin çoğunda pirincin öğütülmesinden geriye kalan kavuzun

büyük bir kısmı ya yakılmış ya da atık olarak kalmak suretiyle yeterince değerlendirilememektedir. Ortam atmosferinde RH'nin yakılması pirinç kavuzu külü (RHA) olarak adlandırılan bir kalıntı bırakır. Matematiksel olarak her 1000 kg çeltikten öğütülmüş yaklaşık 220 kg (%22) kabuk üretilir ve kazanlarda yakılmış kavuzundan yaklaşık 55 kg (%25) RHA üretilir (Kumar vd., 2012).

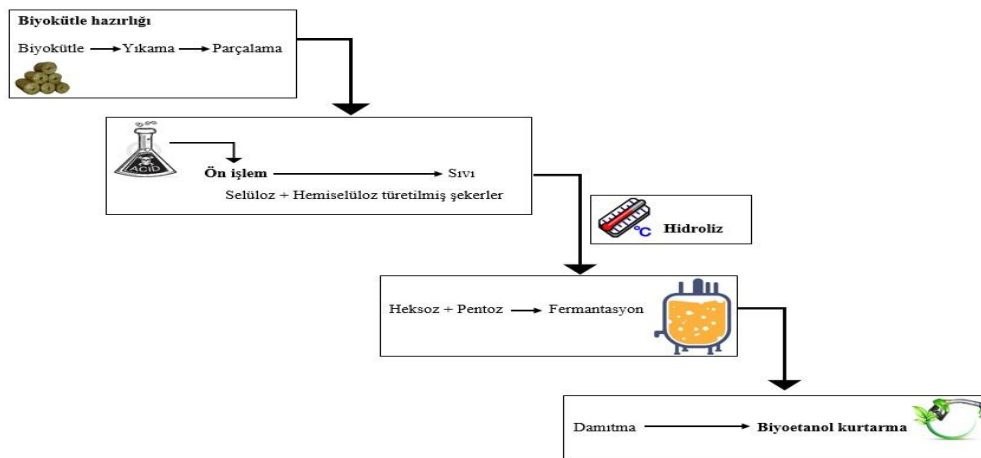
Pirinç rafine etme esnasında pirinç kavuzunun giderilmesi, sadece ticari ilginin daha az olması nedeniyle bir bertaraf problemi oluşturmamaktadır. Ancak aynı zamanda, ortaya bir nakliye problemi de çıkmaktadır. Fakat RHA fazlası çevreye büyük bir tehdit oluşturmakta ve çevre-araziye dökülme tehlikesine neden olmaktadır. Bu nedenle, çöp sorununa alternatif bir çözüm olarak pirinç kavuzunun ve külünün ticari bir kullanım potansiyeli açığa çıkmaktadır (Kumar vd., 2012). Pirinç kavuzu, selüloz, lignin gibi organik elementlerin %70-85'ini ve geri kalan kısmı ise silika, alkaliler ve eser elementleri gibi mineral bileşenler içerir. Her birinin payı, pirinç çeşitliliğine, toprak kimyasına, iklim koşullarına ve kültürün coğrafi lokalizasyonuna bağlıdır (Sarangi vd., 2009). Çizelge 2.6.'da pirinç kavuzunun tipik bir kimyasal kompozisyonu gösterilmektedir.

Çizelge 2.6. Pirinç kavuzunun tipik analizi (Saha vd., 2005).

Bileşen	Content
Selüloz	35,62%
Lignin	15,38%
Hemiselüloz	11,96 %
Kül	18,71%
Nem	6,18%

2.6. Lignoselülozik biyokütleden etanol üretim teknolojileri

Lignoselülozik bileşiklerin etanole biyolojik olarak dönüştürülmesi, dört temel işlemden oluşmaktadır; ön işleme, hidroliz, fermentasyon ve ürün ayırma/damıtma (Chandel vd., 2007). Şekil 2.15'de lignoselülozik biyokütleden etanol üretiminin genel üretim akış şeması gösterilmektedir.

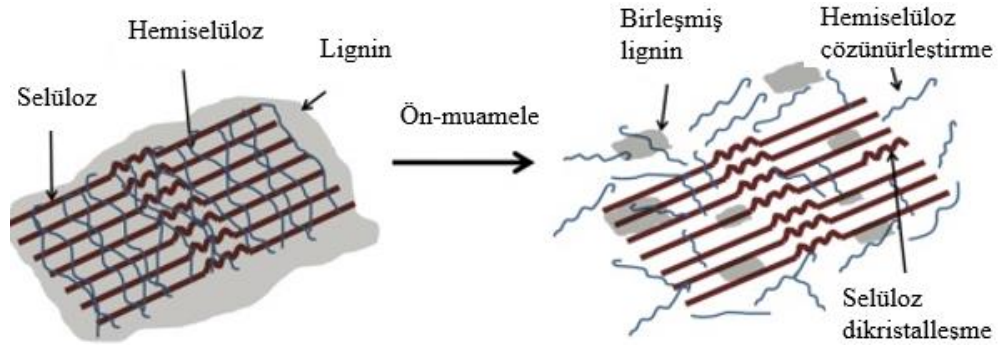


Şekil 2.13. Lignoselülozik biyokütleden etanol üretiminin şematik diyagramı.

2.6.1. Ön işlem

Biyoetanol üretimi için fermente edilebilir şekerlerin kaynağı olan lignoselülozik biyokütlenin, kendisini oluşturan şeker moleküllerine ayrılması kolay bir işlem değildir (Mosier vd., 2005). Lignoselülozik biyokütlenin kristallığı, lignin varlığı, erişilemeyen yüzey alanı ve selüloz polimerizasyon derecesi gibi özellikleri, bozunmaya karşı dirençlidir (Wyman, 1996). Önleme aşaması, daha sonraki bir hidroliz basamağı için sert yapıyı savunmasız hale getirmek için esasen lignoselülozun yapısını bozmak için kullanılır (Şekil 2.16.)

Ön işlemin amacı, selülozun kristal yapısını azaltmak, biyokütle yüzey alanını arttırmak, hemiselülozu serbest bırakmak ve lignin liflerini kırmaktır. Buna ek olarak, başarılı bir ön-muamele işlemi parçacık boyutunun azaltılmasına olan ihtiyacı ortadan kaldırır, hemiselüloz fraksiyonunu korur, şekerlerin daha ileri reaksiyonları sonucu açığa çıkan mikrobiyal gelişimi inhibe eden bileşenlerin oluşumunu sınırlar ve diğer faktörlerin yanı sıra asgari bir maliyet ve enerji tüketimi gösterir (Alvira vd., 2010; Mosier vd., 2005; Taherzadeh ve Karimi, 2008). İnhibitörlerin varlığı etanol üretimini zorlaştırır ve gerekli detoksifikasyon adımları nedeniyle üretim maliyetini arttırır.



Şekil 2.14. Lignoselülozik polimerlerin matrisinin şematik görünüşü, ön işlemin selülozdan hemiselüloz ve lignin'den ayrıldığı (Mosier vd., 2005).

Ön işlem, lignoselülozik biyokütlenin biyokimyasal dönüşümünde (Eggeman ve Elander, 2005) en maliyetli adımlar arasındadır ve toplam işleme maliyetinin %40'ına karşılık gelmektedir (Lynd, 1996). Bu konuda karşılaşılan en büyük engel, hidroliz işleminin düşük dönüştürme verimi ve yüksek maliyetidir (Sun ve Cheng, 2002).

Kapsamlı araştırma ve geliştirme yaklaşımları yoluyla ön-işlem sürecinin maliyetini düşürmede büyük birçok araştırma yapılmaktadır (Chandel vd., 2007). Ön işlem, her iki polisakaritten fermente edilebilir şekerlerin iyi nihai verimini sağlamak için çok önemlidir. Ön işlem teknikleri tipik olarak, etki biçimlerine ve kullanılan reaktiflere göre kategorize edilebilmektedir.

Ön işlem teknikleri başlıca; lignoselülozik materyallerin fiziksel, fiziko-kimyasal, kimyasal ve biyolojik uygulamaları içermektedir (Balat, 2011). Bununla birlikte, bu yöntemlerin tümü, ölçek büyütme işlemleri için teknik olarak ya da ekonomik olarak mümkün olacak kadar henüz geliştirilmemiştir. Örneğin, lignoselülozik bileşinin boyutu küçültülür ve buhar patlamasına maruz bırakılır. Bu ve benzeri işlemler bir araya

getirilerek birlikte de uygulanabilir (Tahezadeh ve K. Karimi, 2007). Çizelge 2.7.'de biyolojik dönüşüm endüstrisinde kullanılan ön-işlem teknikleri verilmiştir.

Çizelge 2.7. Lignoselülozik biyokütle ön işleme teknikleri (Fan vd., 2006; Mohammad ve Karimi 2008).

Fiziksel	Fizikokimyasal / Kimyasal	Biyolojik
Freze: -Bol frezeleme - İki silindirli freze -Hammer freze - - Kolloid freze - Vibro enerji freze	Asit: - Sülfürik asit - Hidroklorik asit - Fosforik asit	Mantarlar ve aktinomiset
Işınlama: -Gama-ışını ışınlaması - Elektron ışını ışınlaması - Mikrodalga ışınlaması	Alkali: - Sodyum hidroksit - Amonyak - Amonyum Sülfid	
Diğerleri: - Hidrotermal - Yüksek basınç - Genişleme - Ekstrüzyon - Piroliz	Patlama: - Buhar patlaması - Amonyak lifi patlaması (AFEX) - CO ₂ patlaması - SO ₂ patlaması	
	Gaz: - Klor dioksit - Nitrojen dioksit - Kükürt dioksit	
	Oksitleyici maddeler: - Hidrojen peroksit - Islak oksidasyon - Ozon	
	Ligninin çözücü ekstraksiyonu: - Etanol-su ekstraksiyonu - Benzen suyu çıkarma - Etilen glikol özütleme - Butanol-su ekstraksiyonu - Şişirici ajanlar	

Çok çeşitli ön işleme yöntemleri bulunmaktadır ve tek bir yöntem "en iyisi" olarak kabul edilememektedir. Tüm uygulanacak bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Çizelge 2.8.'de ön işleme için en çok kullanılan tekniklerin bazılarının avantaj ve dezavantajları gösterilmiştir.

Çizelge 2.8. Lignoselülozik materyaller için çeşitli ön-işlem süreçlerinin avantajları ve dezavantajları (Kumar vd., 2009).

Ön işlem	Avantajlar	Dezavantajlar
Mekanik öğütme	Selüloz kristalleşmesini azaltır	Güç tüketimi genellikle doğal biyokütle enerjisinden daha yüksek
Buhar patlaması	Hemiselüloz bozunmasına ve lignin dönüşüme neden olur; maliyetli	Xylan fraksiyonunun bir bölümünün tahrip edilmesi; lignin-karbonhidrat matrisinin tamamlanmamış bozulması; Mikroorganizmaları inhibe eden bileşiklerin üretimi
AFEX	Erişilebilir yüzey alanını artırır, lignin ve hemiselülozu bir miktar uzaklaştırır; fermentasyon için inhibitörler üretmez	Yüksek lignin içeriğine sahip biyokütle için verimli değil
CO ₂ patlaması	Erişilebilir yüzey alanını artırır; maliyetli; inhibitör bileşiklerin oluşumuna neden olmaz	Lignin veya hemiselülozları değiştirmez
Ozonoliz	Lignin içeriğini azaltır; toksik artıklar üretmez	Çok miktarda ozon gerekir; pahalı
Asit hidrolizi	Hemiselülozu ksiloz ve diğer şekerlere hidroliz eder; lignin yapısını değiştirir	Yüksek fiyat; ekipman korozyonu; toksik maddelerin oluşumu
Alkali hidrolizi	Hemiselülozları ve lignini giderir; ulaşılabilir yüzey alanını artırır	Uzun ikamet süreleri gereklidir; Kurtarılamayan tuzlar oluşur ve biyokütle içine dahil edilir
Organik çözücüler	Hidroliz; lignin ve hemiselülozlar	Çözücülerin reaktörden boşaltılması, buharlaştırılması, yoğunlaştırılması ve geri dönüştürülmesi gerekir; yüksek fiyat
Piroliz	Gaz ve sıvı ürünleri üretir.	Yüksek sıcaklık; kül üretimi
Darbeli elektrik alanı	Çevre koşulları; bitki hücrelerini bozabilir	Sürecin daha fazla araştırmaya ihtiyacı var
Biyolojik	Basit ekipman lignin ve hemiselülozları indirgemektedir; düşük enerji gereksinimleri	Hidroliz oranı çok düşüktür

2.6.2. Seyreltik Asit Hidrolizi

Bu yöntem basit alet ekipman ve ortamlarda gerçekleştirilebilmektedir. Genel olarak düşük maliyet ve daha yüksek katalitik etkinlik nedeniyle sülfürik asit asit kullanılmaktadır. Aynı zamanda nitrik, hidroklorik, fosforik ve organik asitlerin de kullanılabilmesi rapor belirtilmektedir (Sarkar vd., 2012). Asit hidrolizi, lignoselülozik biyokütle içindeki polimerik bileşenleri ve içindeki bağları kısmen veya tamamen hidroliz eden bir işlemdir. Yüksek asit konsantrasyonu-düşük sıcaklık koşulları veya düşük asit konsantrasyonu-yüksek sıcaklık olmak üzere 2 şekilde uygulanmaktadır. Düşük konsantrasyonda (seyreltik, %0.2-2) asit ve tipik ön işlem sıcaklıkları (121-220°C) koşulları üzerine yapılan araştırmalar daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü yüksek asit konsantrasyonlarının toksisitesi ve koroziyifliği nedeniyle korozyona dayanıklı malzemelerin seçimi gerekmekte bu da maliyetlerde artışa yol açmaktadır. Ayrıca açığa çıkan inhibe edici bileşikler nedeniyle hidrolizatın detoksifikasyonu gerekmektedir (Balat, 2011).

Özetle, bu termokimyasal süreç, hemiselülozu (ksilen) kolayca çözerek ve monomerik bileşenine dönüştürerek (Esteghlalian vd., 1998), lignin hemiselülozik ağını etkin bir şekilde parçalamaktadır. Bununla birlikte, bu ön-işlem yöntemi, fermantasyon süreçleri için engelleyici olan yan ürünlerin oluşumunun yanı sıra (Behera vd., 2014) yavaş kimyasal dönüşüm oranına da sahiptir.

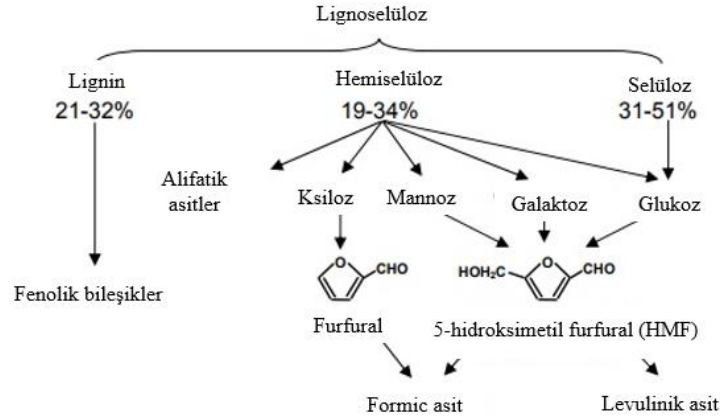
2.6.2.1. Ayırma süreci

Hidroliz edilmiş biyokütlenin katı ve sıvı fraksiyonlara ayrılması, hidrolizatın yüksek değerli fraksiyonlarını elde etmek için gereklidir. Hemiselüloz, hidrolizatın sıvı fraksiyonunda substrat olarak kullanılacak düzeyde çözünür olarak bulunur (pentozlar-esas olarak ksiloz). Katı fraksiyon esas olarak selüloz ve lignin içerir (Cardona ve Sanchez, 2006).

2.6.2.2. Biyokütle ön işlemi sırasında inhibitörlerin oluşumu

Inhibitör bileşiklerin oluşumu, ön-işlemin kaçınılmaz bir parçasıdır. Bu inhibitörler fermentasyonda kullanılan mikroorganizmaların gelişmesi üzerinde negatif etkiye sahip olabilmektedir. Bu nedenle etanol üretkenliğini ve verimlerini azaltma eğiliminde olabilmektedirler (Palmqvist ve Hahn-Hägerdal, 2000). Karboksilik asitler, furan türevleri (furfural ve 5- hidroksimetil furfural HMF) ve fenolik bileşikler, lignoselülozik biyokütlenin ön işleminin yan ürünü olarak açığa çıkmaktadır (Klinke vd., 2004).

Ön işlem sırasında oluşan diğer önleyici bileşikler; hemiselülozdan kaynaklanan asetik gruplarından asetik asit ve hidroliz ekipmanının korozyonundan kaynaklanabilen ağır metal iyonlarıdır (Olsson ve Hahn-Hägerdal, 1996). Daha şiddetli ve yoğun ön işlem koşullarında; ksiloz, furfural olarak bozunurken, HMF heksoz ayrışmasından oluşur ve fenolik bileşikler, ligninin kısmi parçalanmasından üretilir (Şekil 2.17.). Furfural ayrıca formik aside HMF'den levulinik asit olarak ayrıştırılır (Palmqvist ve Hahn-Hägerdal, 2000). Oluşan toksin bileşiklerinin miktarı ve tipi hammadde çeşidi ve hidroliz için kullanılan çalışma koşulları (sıcaklık, zaman, basınç ve pH) olmak üzere iki faktöre bağlıdır (Taherzadeh vd., 2000).



Şekil 2.15. Lignoselülozların hidrolizi ile oluşan inhibitör bileşikler.

Ön işlem sonucunda oluşan bu toksik yan ürünler, şeker bozunma ürünleri, lignin parçalanma ürünleri, lignoselüloz yapısından türetilen bileşikler ve ağır metal iyonları olmak üzere dört kategoriye ayrılır (Olsson ve Hahn-Hägerdal, 1996). Çok düşük konsantrasyonlarda bile, bu bileşikler hücrelerin zarlarını etkilerler ve enzim matrislerini bozarlar (Palmqvist ve Hahn-Hägerdal, 2000). Bu inhibitör bileşiklerin uzaklaştırılması veya fermantasyon işleminin verimliliğini arttırmak için bunların oluşumunu engellemek oldukça önemlidir. Bu inhibitör bileşikler, mevcut şekerlerin etanol üretiminde kullanılabilmesi için ortamdan uzaklaştırılmalıdır. Bu işleme detoksifikasyon adı verilmektedir.

Detoksifikasyon işlemi, ön işlem aşamasında üretilen toksik bileşiklerin konsantrasyonunu (Şekil 2.7.) azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Lignini parçalamak ve hemicelülozu indirgeyici şekerlere indirgemek için kullanılan ön işleme tekniğine bakılmaksızın, bu toksik bileşikler oluşur (Mohagheghi vd., 2006). Hidrolizatı detoksifiye etmek aktif kömür ile muamele, organik çözücüler ile ekstraksiyon, iyon değişimi, iyon eksklüzyonu, moleküler elekler, kireçle giderme ve buhar uygulama gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Olsson ve Hahn-Hägerdal, 1996).

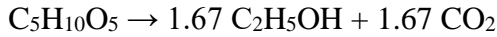
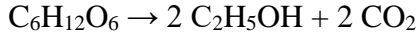
Detoksifikasyon aşaması, ön işlem ile elde edilen sıvı fraksiyondaki (hidrolizat) asitleri nötrleştirmek, furfural ve HMF'yi filtrasyon ile ayrılabilen çözünmeyen tuzlara dönüştürmek için bir kimyasal madde ile muamele işlemlerini içermektedir. Çalışma koşulları genellikle 30-60°C, pH 9-12 ve kalış süresi 30 dakika olarak bilinmektedir. Ön işlem sırasında üretilen asit hidrolizatlarının detoksifikasyonu için en çok kullanılan madde, furfural ve organik asitlerin dönüştürülmesi ve endüstride iyi uygulanabilirlik açısından iyi sonuçlar veren Ca(OH)₂'dir (Triana, 2016).

2.6.3. Fermentasyon

Fermentasyon aşamasında, lignoselülozik bileşiklerin hidrolizi ile elde edilen hidrolizat etanole dönüştürülür. Birçok araştırma, ortamdaki tüm substratı kullanarak yüksek etanol verimini elde etmek için yeni teknolojiler ve yöntemler, işletme parametreleri ve yeni fermantasyon suşlarının tasarımı gibi optimal koşulları bulmaya odaklanmıştır (Baeyens vd., 2015 Carrasco vd., 2011; Liguori vd., 2015; Swain ve Krishnan, 2015).

Lignoselülozik materyallerin fermantasyonu, hidrolizat detoksifikasyonundan sonra gerçekleştirilir. Bu hidrolizat normal olarak fermente edilebilir şekerler, çeşitli heksozlar, özellikle glukoz ve pentozları, çoğunlukla ksilozu içerir. Hem heksoz hem de pentoz şekerleri, anaerobik / aerobik koşullar altında etanol veya diğer değerli ürünlere fermente edilebilmektedir (Tahezadeh ve Karimi, 2007).

Teorik olarak, 2 mol etanol, 1 mol heksozdan elde edilmektedir. 1 mol pentoz kullanıldığında ise verim daha düşük olmaktadır.



Bununla birlikte, şekerlerin bir kısmı hücre gelişmesi ve biyokütle üretimi için kullanılmaktadır. Bu nedenle deneysel olarak elde edilen verimler teorik olanlarla aynı olmamaktadır. Ayrıca, mikroorganizmanın kullandığı metabolik yola bağlı olarak, diğer metabolitler etanolün yanında üretilebilmektedir. Bu nedenle nihai verim azaltılmaktadır (Dellomonaco vd., 2010). Gerçekleştirilen işlemin ekonomisi için hem C5 hem de C6 şekeri kullanılıyorsa verim önemli ölçüde artar. Buna rağmen C5 şekerlerinin fermantasyon verimliliği çok düşüktür (Bensah ve Moses, 2013).

Fermantasyon, 20-40°C sıcaklıklarda ve 48-168 saatlik bir süre boyunca gerçekleştirilir. C6 şekerlerinin %90'ından fazlası genellikle ilk 48 saat boyunca fermente edilmektedir (Thangavelu vd., 2014). Fermantasyon, kesikli, kesikli beslemeli veya sürekli olarak gerçekleştirilebilir. En uygun yöntemin seçimi, işleminin ekonomisine ek olarak mikroorganizmaların kinetik özelliklerine ve lignoselülozik hidrolizat türüne bağlı olarak değişmektedir (Chandel vd., 2007).

2.6.3.1. Kesikli fermantasyon

Kesikli fermantasyonda, mikroorganizma başlangıçta yüksek substrat konsantrasyonunda çalışır ve sonunda yüksek bir ürün konsantrasyonu sağlar (Olsson ve HanHagerdal, 1996). Bu oldukça kompleks bir işlemdir ve esnek çalışma-operasyon üzerinde kolay kontrol sağlamaktadır (Shama, 1988). Bu tip bir fermantasyon için ayrıntılı hazırlama prosedürleri gereklidir. Kesikli başlatma ve kapatma operasyonları nedeniyle yüksek işçilik maliyetleri gerektirmektedir. Fermantasyon öncesi hazırlık aşamasından son ürün eldesine kadar besiyeri sterilizasyonu, soğuması, inokulum tankı, ürünün ayrılması vb. gibi birçok kayıp zaman oluşmaktadır. Bu doğal dezavantaj nedeniyle düşük üretkenlik, pek çok ticari operatörün diğer fermantasyon yöntemlerini düşünmesine yol açmaktadır (Chandel vd., 2007).

2.6.3.2. Beslemeli kesikli fermantasyon

Bu işlem, taze steril besiyerinin bir reaktöre farklı zamanlarda bir veya birkaç sefer eklenmesi ile gerçekleştirilmektedir. Bu işlemin avantajları; besin azalması nedeniyle mikrobiyal gelişmenin etkilenmemesi ve substrat inhibisyonunun olmamasıdır. Ayrıca ürün olarak açığa çıkan etanol, mikroorganizma için metabolik bir inhibitördür ve substrat beslemesi ile ortadan kaldırabilir. Bununla birlikte verimliliği ve etanol verimini artırmak için beslemenin optimizasyonu yapılmalıdır (Sanchez ve Cardona, 2008).

Furfural, hidroksimetil furfural ve fenolik gibi fermantasyon inhibitörlerinin yüksek konsantrasyonunu içeren substrat solüsyonunun düşük besleme hızını koruyarak, bu bileşiklerin mikroorganizma üzerindeki önleyici etkisi de önlenmiş olacaktır (Chandel vd., 2007). Beslemeli kesikli fermantasyonun verimliliği, hücre biyokütle konsantrasyonu ile sınırlı olan besleme hızından etkilenir. Spesifik etanol üretkenliğinin hücre kütlesi konsantrasyonunda artışla birlikte azaldığı da bildirilmiştir. İdeal olarak, hücre yoğunluğu, maksimum etanol üretkenliği ve verim sağlayan bir seviyede tutulmalıdır (Chandel vd., 2007).

2.6.3.3. Sürekli fermantasyon

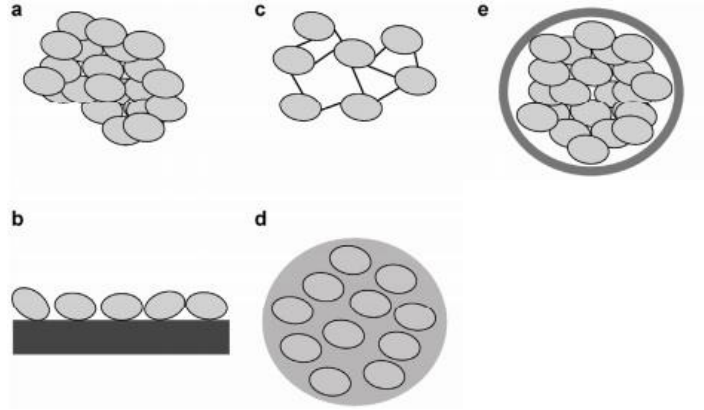
Sürekli fermantasyon, farklı reaktör türlerinde tek veya seri halde birkaç fermentör kullanılarak gerçekleştirilebilir. Sürekli fermantasyon, diğer fermantasyonlara kıyasla daha yüksek üretkenlik vermekte ve en yüksek verimlilik sağlayan düşük seyreltme hızlarında avantaj sağlamaktadır (Chandel vd., 2007).

Sürekli sistemde fermentasyon ile fermentörde daha kolay kontrol sağlanır. Sürekli sistemde, temizleme, besiyeri ve ortamın ayarlanması ve sterilizasyonu gibi boşa giden zamanın büyük kısmını ortadan kalmaktadır. Sürekli fermentörün logaritmik fazda çalışması nedeniyle oluşan yüksek hücre yoğunluğu, klasik kesikli fermantasyon (24-60 saat) ile karşılaştırıldığında, yüksek üretkenlik ve genel olarak daha kısa işlem süresi (4-6 saat) ile sonuçlanır. Böylece önemli oranda tasarruf sağlanmata ve yatırım maliyetleri de azalmaktadır (Chandel vd., 2007).

Ayrıca, sürekli fermantasyon işlemlerinde mikroorganizmanın gelişme (kültür kararlılığı) oldukça önemlidir. Sıcaklık, seyreltme oranı, besin substratı konsantrasyonu gibi fermentasyon parametrelerin herhangi birindeki en küçük değişiklik verimi azaltabilmektedir. Sürekli fermantasyonun bu dezavantajlarının üstesinden gelmek için farklı çözümler kullanılabilir. Sanchez ve Cardona (2008), verimliliği artırmak ve bazı olumsuz fermentasyon parametrelerinin etkisini azaltmak için, hücrelerin kalsiyum aljinat, kryolit vb. şekilde immobilize edilmesi veya biyofilm reaktörlerde hücre sabitlenmesi gibi teknolojilerden faydalanılmasını önermektedir.

2.7. Hücre immobilizasyonu

Hücre immobilizasyonu "bazı istenen katalitik aktivitenin muhafaza edilmesiyle hücrelerin belirli bir alanına fiziksel olarak sınırlanması veya lokalizasyonu" olarak tanımlanır (Karel vd., 1985). Bakteri hücrelerinin immobilizasyonu, hücre yoğunluğunu arttırmak ve sürekli bir reaktör içinde hücreleri muhafaza etmek için bir yöntem sağladığı için, etanolün üretkenliğini ve verimini arttırmak ve sonradan işleme sürecini kolaylaştırmak için önemli bir stretejidir (Olsson ve Hahn-Hägerdal, 1996). Hücre immobilizasyonu; bir yüzeye adsorpsiyon, kimyasal çapraz bağlanma, bir matris içinde hareketsiz kılma, bir zar zarfında kapsülasyon veya kendi kendine topaklaştırma gibi çeşitli yollarla gerçekleştirilebilir (Şekil 2.8.) (Westman vd., 2012).



Şekil 2.16. Farklı hücre tutma yöntemleri. Hücrenin tutulması veya immobilizasyonu için farklı yollar örn. Kendi kendine flokülasyon (a), bir yüzeye (b) adsorbe etme, çapraz bağlama (c), bir matriste immobilizasyon (d) ve yarı geçirgen bir zar içinde kapsülleme (e) (Westman vd., 2012).

Hücre immobilizasyonunda yeni bir yaklaşım olarak, şekerkamışı küspesi, pirinç kavuzu, lif kabağı süngerleri ve diğer doğal yapısal lifli materyaller gibi hücrelerin yapışabileceği doğal olarak bulunan destek malzemelerinin kullanılmasıdır. Bunlar genellikle toksik olmayan, tekrar kullanılabilir, mikroorganizma tutunması için gözenekli, besiyeri için önemli besinleri içeren ve difüzyon problemleri olmaksızın hücresel gelişmeye izin verebilmektedir (Iqbal ve Saeed, 2005).

2.8. Amaçlar ve hedefler

Bu tez kapsamında sadece Türkiye'de değil, aynı zamanda dünyada da yeterince değerlendirilemeyen ve ucuz bir tarım atığı olan pirinç kavuzundan çeşitli fermentasyon teknikleri kullanılarak etanol üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla beş karbonlu şekerleri fermente edebilen iki farklı mikroorganizma kullanılmıştır. Yüksek hücre konsantrasyonuna ulaşmak için biyofilm reaktör kullanılmıştır. İlk olarak her iki mikroorganizma için biyofilm reaktörde kullanılacak farklı biyofilm materyalleri seçilmiştir. Sonrasında en iyi biyofilm materyali reaktörde kullanılmıştır. Besiyeri optimizasyonunda glukoz, ksiloz ve pirinç kavuzu hidrolizatının farklı oranları kullanılarak en uygun karbon kaynağı belirlenmiştir. Optimum karbon kaynağı içeriğinde farklı azot kaynaklarının etkisi incelenmiştir. Elde edilen optimum besiyerinde gerekli matematiksel hesaplamalar yapılarak sürekli sistemde fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Son olarak tüm sonuçlar değerlendirilerek mikroorganizma gelişimi, substrat tüketimi ve etanol oluşumu açısından farklı matematiksel eşitlikler kullanılarak fermentasyonların değerlendirilmesinde en uygun matematiksel modeller belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hammadde

Karbon kaynağı olarak kullanılacak pirinç (*Oryza sativa*) kavuzu, Osmancık'ta bir yerel pirinç üreticisinden (bir Çorum ilçesi) temin edilmiştir. Ön işlem için, pirinç kavuzu, bir çekiçli değirmen (IKA MF 10.2 öğütme değirmeni, Markham, Ontario, Kanada) kullanılarak 5000 rpm'da 2 mm'ye kadar öğütülmüştür. Kullanım anına kadar oda sıcaklığında plastik bir kaptaki saklanmıştır (Germec vd., 2016).

3.2. Mikroorganizma ve ortam

Etanol üretimlerinde *Pichia stipitis* (ATCC 58784) ve *Pichia stipitis* (ATCC 58785) kullanılmıştır (American Type Culture Collection (Manassas, VA). Aksi belirtilmedikçe, tüm kimyasallar Sigma'dan (Münih, Almanya) satın alınmıştır. Bu mikroorganizmalar ksilozu fermente ettiği için, lignoseluloz içeren besiyerinden etanol üretiminde kullanımı uygun olduğu için seçilmiştir.

Pichia stipitis ATCC 58784 için besiyeri içeriği ve koşulları; 10 g glukoz, 3 g maya ekstraktı, 3 g malt ekstraktı ve 5 g pepton bir litre deiyonize su içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerine %1 maya inokülasyonu yapılarak 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. pH, 4N NaOH ve 4N HCl ile 6.2'ye ayarlanmıştır.

Pichia stipitis ATCC 58785 için besiyeri içeriği ve koşullar; 20 g glukoz, 10 g maya ekstraktı ve 20 g pepton bir litre deiyonize su içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerine %1 maya inokülasyonu yapılarak 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. pH, 4N NaOH ve HCl ile 5.6'ya ayarlanmıştır.

Tüm kültürler kısa süreli depolama için, 4°C'de tutulmuş ve canlılığı korumak için iki ayda bir yenilenmiştir. Uzun vadeli bir depolama için, stok kültürleri, -80°C'de % 20'lik gliserol içinde muhafaza edilmiştir. Fermentasyon denemelerinde kullanılacak ön kültürler için, her bir *P. stipitis* suşu, %1 inoküle edilerek 30°C'de 100 mL'lik besiyeri ortamında 24 saat 150 rpm'de 250 mL'lik erlenmayerlerde hazırlanmıştır (Lee vd., 2011; Zhu vd., 2014). Besiyeri içeriği stok ve ön kültürler için aynıdır.

3.3. Plastik kompozit destek malzemeleri

Biyofilm reaktörlerinde destek malzemesi olarak %50 (w/w) tarımsal malzemeleri, %50 oranında (w/w) polipropil içeren plastik kompozit destek (PCS) materyalleri kullanılmıştır. PCS, hücre gelişimini sürdürmek için gerekli besin maddeleri olarak; soya fasulyesi gövdelerini, soya fasulyesi ununu, maya özütünü, kırmızı kan hücrelerini, sığır albuminini ve/veya mineral tuzlarını ve tarımsal ürünleri içermektedir (Ho vd., 1997). PCS malzemeleri, Ho vd. 1997, tarafından tarif edildiği gibi, bir Brabender PL2000 eş-dönen çift eksenli ekstrüder makinesinde (Model CTSE-V, CW Brabender Instruments, Inc., South Hackensack, NJ, ABD) yüksek sıcaklıkta Iowa Devlet Üniversitesi'nde (Ames, IA) üretilmiştir. Çizelge 1.'de çalışma kapsamında kullanılan her bir PCS türünün tam içeriği ve formülasyonu verilmiştir.

Çizelge 3.1. Plastik kompozit destek materyallerinin içeriği (Germec vd., 2015).

PCS	Küçük tarımsal malzemeler (w/w)
PCS1:Sh ^a –SF ^b –YE ^c –S	5% soya unu–5% maya ekstraktı
PCS2: SH–SF–YE–BA ^d –S	5% soya unu–5% maya ekstraktı–5% sığır albumin
PCS3: SH–SF–S	10% soya unu
PCS4:SH–SF–YE–RBC ^e –S ^f	5% soya unu–5% maya ekstraktı–5% kırmızı kan

^a SH: Öğütülmüş 20 gözenekli ve vakumlu kurutulmuş soya gövdeleri (Cargill Soy Processing Plant, Iowa Falls, IA, USA).

^b SF: Yakumlu kurutulmuş soya fasulyesi unu (Archer Daniel Midland Co, Decatur, IL, USA).

^c YE: Maya özütü (Ardamine-Z, Champlain Industries, Chifton, NJ, USA).

^d BA: Kurutulmuş sığır albumin (American Protein Corporation, Ames, IA, USA).

^e RBC: Kırmızı kan hücreleri (American Protein Corp., Ames, Iowa).

^f S: Tuzlar.

3.4. Deneysel deneme deseni

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen fermentasyon denemeleri aşağıda şekildedir;

- *P.stipitis* ATCC 58784'ü kullanarak glukoz içerisinde dört farklı PCS materyali içinden etanol üretimi açısından en iyi materyalin seçilmesi
- *P.stipitis* ATCC 58785'i kullanarak glukoz içerisinde dört farklı PCS materyali içinden etanol üretimi açısından en iyi materyalin seçilmesi
- *P.stipitis* ATCC 58784'ü kullanarak ksiloz içerisinde dört farklı PCS materyali içinden etanol üretimi açısından en iyi materyalin seçilmesi
- *P.stipitis* ATCC 58785'i kullanarak ksiloz içerisinde dört farklı PCS materyali içinden etanol üretimi açısından en iyi materyalin seçilmesi

Tüm denemeler sonucunda her iki mikroorganizma için karbon kaynağı açısından en uygun PCS materyali seçilmiştir.

En iyi PCS materyali ile oluşturulan biyofilm reaktörde her iki mikroorganizma için etanol üretimi açısından en iyi karbon kaynağı seçilmiştir. Besiyeri ortamında ana materyal olarak pirinç kavuzunun değerlendirilmesi hedeflenmektedir. Bu nedenle %100 pirinç kavuzunun kullanılmama ihtimaline karşı farklı oranlarda kullanım stratejisi de uygulanmıştır. Bu amaçla aşağıdaki besiyeri ortamları kullanılmıştır:

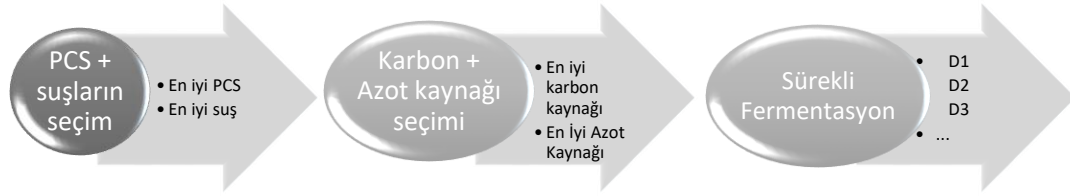
- Ortam 1: % 100 Glukoz.
- Ortam 2: % 100 Ksiloz.
- Ortam 3: %50 pirinç kavuzu hidrolizati + %50 Glukoz.
- Ortam 4: % 75 pirinç kavuzu hidrolizati + %25 Glukoz.
- Ortam 5: % 50 pirinç kavuzu hidrolizati + %50 Ksiloz.
- Ortam 6: % 75 pirinç kavuzu hidrolizati + %25 Ksiloz.
- Ortam 7: % 100 pirinç kavuzu hidrolizati.

En iyi karbon kaynağı oranının seçilmesinden sonra biyofilm reaktörde azot kaynağının etkisi incelenecektir. Bu amaçla farklı kaynaklar Maya ekstraktı + Peptone içeren kontrol ortamıyla karşılaştırılacaktır.

- Ortam 8: En iyi karbon kaynağı + Maya ekstraktı + Et ekstraktı
- Ortam 9: En iyi karbon kaynağı + Maya ekstraktı + Amonyum Nitrat.

Biyofilm reaktörde kesikli fermentasyonlar sonucunda en iyi PCS materyali, karbon kaynağı ve azot kaynağı belirlendikten sonra farklı dilüsyon oranlarına sürekli sistemde fermentasyonlar gerçekleştirilecektir.

- Sürekli fermantasyon; En iyi PCS + En iyi suş + En iyi karbon kaynağı + En iyi azot kaynağı ile farklı seyreltme hızlarında en iyi dilüsyon oranının belirlenmesi (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Deneysel tasarım özeti.

Son olarak, biyofilm reaktörde besiyeri zenginleştirmesi ve sterilizasyonun etkisini görmek amacıyla aşağıdaki şartlarda fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir.

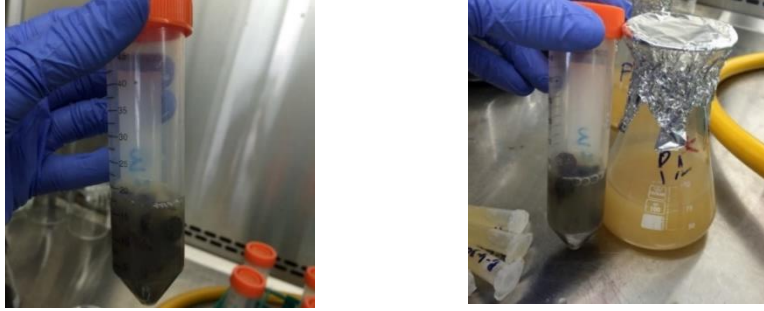
- Orta 10: Zenginleştirilmiş steril besiyeri
- Orta 11: Zenginleştirilmiş steril olmayan besiyeri

Tüm sonuçların farklı matematiksel modellemeler kullanılarak mikroorganizma gelişimi, substrat tüketimi ve etanol üretimi açısından en uygun eşitlikler oluş seçilmiştir turulmuştur.

3.5. PCS seçimi için test tüpü fermentasyonları

Farklı içeriklere sahip dört çeşit PCS (Çizelge 3.1.) her mikroorganizma için uygun besiyeri içeriklerinde test tüpünde biyofilm oluşturularak fermentasyona bırakılmıştır. Biyofilm tüpleri hazırlanmasında; 2.9 g PCS diskleri 25 x 150 mm vidalı tüplere yerleştirilmiş ve yüzey sterilizasyonu için deiyonize suda 121 °C'de 30 dakika sterilize edilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, 10 ml steril glukoz veya ksiloz ortama ilave edilmiştir. Tüpler 24 saat boyunca 30°C'de inkübe edilmiş ve sonra inkübasyon sırasında PCS yüzeyinden parçalanan aşırı parçacıklar ayrılmıştır. 10 ml taze zenginleştirilmiş glukoz veya ksiloz ortama tekrar ilave edildikten sonra tüplere, *P.stipitis*'in 24 saatlik ön kültüründen 0.1 ml (%1) ile inoküle edildi ve 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2.). Besiyeri ortamı aseptik olarak her gün boşaltılmıştır ve bu işlem yedi sefer tekrar edilmiştir. Yedi aktarımın sonunda, her bir tüpün kullanılmış besiyerinde etanol ve indirgenmiş şeker konsantrasyonu belirlenmiştir

(Demirci vd., 1997). Şekil 3.3.'de en iyi PCS materyalinin seçilmesi için tüplerde biyofilm oluşturulmasını göstermektedir.



Şekil 3.2. PCS disklerinin inokülasyon öncesi ve sonrası.



Şekil 3.3. PCS disklerinde biyokütle gelişmesi.

3.6. Pirinç kavuzu hidrolizati hazırlanması

Fermentasyon ortamında karbon kaynağı olarak pirinç kavuzu hidrolizatının kullanılması için aşağıdaki işlemler gerçekleştirilmiştir.

Pirinç kavuzu hidrolizati hazırlanması için:

- Pirinç kavuzu GT110838 model 180W Tefal değirmeni ile öğütülmüştür (Şekil 3.4.).
- Öğütülmüş kavuz 1:10.44 (w/v) katı-sıvı oranında, %2.52'si (w/v) H₂SO₄ seyreltik asit konsantrasyonunda 22.01 dakika boyunca 127.14°C sıcaklıkta Hirayama HICLAVE HG-80 kullanarak hidroliz edilmiştir (Şekil 3.5.).
- Elde edilen hidrolizat, Whatman GF / C Filtre kağıdı ile katı partiküllerinden ayrılmıştır (Germec vd., 2016; Li vd., 2009).



Şekil 3.4. Pirinç kavuzunun öğütülmesi.



Şekil 3.5. Hidroliz işlemi.

3.7. Aktif Kömür Adsorpsiyonu ile Detoksifikasyon

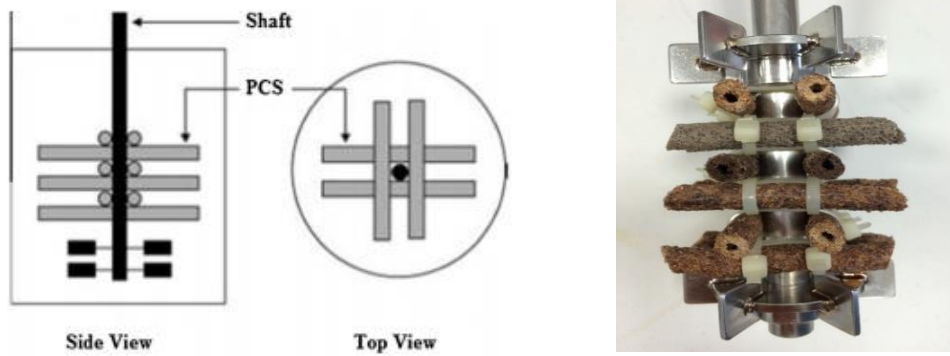
Pirinç kavuzunun ön işlemi nedeniyle açığa çıkan inhibitörlerin toksik etkisini azaltmak için, hidrolizat aktif kömür ile detoksifiye edilmiştir. Bu işlem, katı partiküllerinden ayrılan sıvı kısma %2 (ağırlık / hacim) aktif kömür eklenmesi ile 30°C'de ve 30 dakika çalkalamalı inkibatörde (CERTOMAT® IS, Gottingen, Almanya) 150 rpm'de karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Detoksifikasyonun ardından aktif kömür hidrolizatlardan santrifüj (4000 rpm, 20°C ve 30 dakika) (VWR Mega Star 3.0R, Osterode am Harz, Almanya) kullanılarak ayrılmış ve sıvı kısım fermentasyonda kullanılmak üzere alınmıştır. 8 N NaOH çözeltisi kullanılarak işlenmiş hidrolizatların pH'ı, etanol üretimi (5.6 veya 6.2) için fermentasyon pH'sına ayarlanmıştır (Germec vd., 2016; Mateo vd., 2013).

3.8. Etanol fermentasyonu

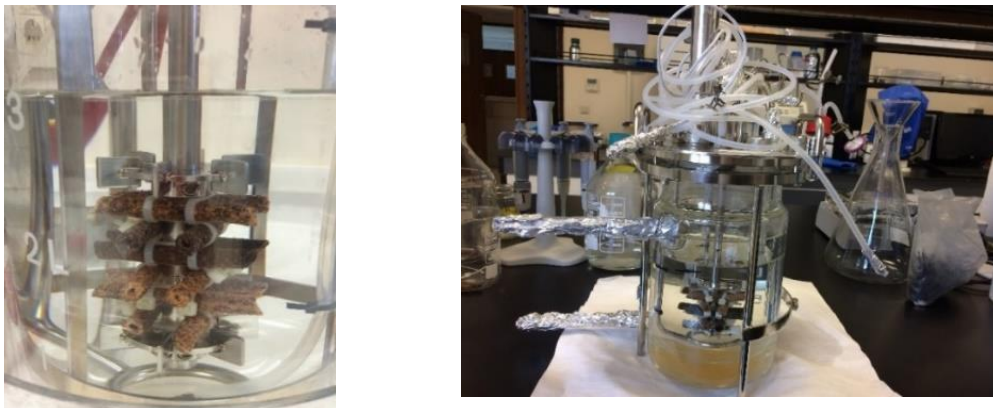
Test tüplerinde en iyi plastik kompozit materyalinin belirlenmesinden sonra gerçekleştirilen tüp fermentasyonlar biyofilm reaktör kurularak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; pH, sıcaklık ve çalkalama kontrolü yapılabilen 5L'lik bir fermentör (3 L'lik çalışma hacmi) (Sartorius Biostad B Plus, Goettingen, Almanya) kullanılmıştır. Biyofilm reaktörü için 12 adet PCS malzemesi (65 mm uzunluğunda ve 10.5 mm genişlikte), altı sıralı iki paralel boru ile Şekil 5'te gösterildiği gibi, ızgara benzeri bir tarzda karıştırma

miline bağlanmıştır. PCS'li reaktör ortamı deiyonize su ile doldurulmuş ve otoklavda 121°C'de 60 dakika sterilize edilmiştir (Şekil 3.5.). Sonrasında reaktör oda sıcaklığına soğutulmuş ve içerisindeki su (bazı PCS parçalarını içerir) bir peristaltik pompa ile reaktörden alınmıştır (Şekil 3.6.). Steril biyofilm reaktör kabına aseptik olarak 3 L taze sterilize zenginleştirilmiş glukoz içeren besiyeri ilave edilmiştir. Sterilite kontrolü amacıyla, reaktör ortamının berraklığı kontrol edilmiş bu amaçla reaktör 30°C'de 24 saat bekletilmiştir. Bu süreç sonunda besiyeri peristaltik pompa ile reaktörden alınmış ve biyofilm oluşturma amacı ile taze steril besiyeri ortama ilave edilmiştir. Reaktöre %1 oranında (h/h) mikroorganizma 24 saat süreyle yetiştirilen *P.stipitis* ön kültüründen eklenmiştir.

Biyofilm oluşumu için fermentasyon 30°C, 5.6 pH, 150 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir (Turhan vd., 2010). pH otomatik olarak 4N NaOH eklenerek kontrol edilmiştir. Seçilen PCS malzemeleri üzerinde biyofilm oluşturmak için yedi kez fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Biyofilm oluşumu için, reaktöründe bulunan ortam, her 24 veya 48 saatte bir değiştirilmiştir (Demirci vd., 1997). Her bir fermentasyon çalışması için, ilk 12 saat boyunca her iki veya dört saatte bir, ardından da her 6 ve 12 saatte bir örnekler alınmıştır. Alınan örneklerde şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.6. Biyofilm reaktör diyagramı.



Şekil 3.7. Sterilizasyon öncesi biyofilm biyoreaktörünün hazırlanması.

3.9. Sürekli etanol fermantasyonu

Sürekli fermantasyon biyoreaktöründe etanol fermantasyonu için en iyi mikroorganizma, en iyi PCS materyali, en iyi karbon ve azot kaynağı içeren ortam kullanılmıştır. Bu amaçla 2.5L'lik (1.5L'lik çalışma hacmi) ile Biostat B Plus Biyoreaktörleri (Allentown, PA) kullanılmıştır. Biyoreaktör, 30°C'de 150 rpm'de, pH 5.6'da ve gerekli olması durumunda 0.05 vvm havalandırma yapılarak çalıştırılmıştır. Biyofilm reaktörü sürekli sistemde çalıştırmak için hızı kontrol edilebilir bir peristaltik pompa (Watson-Marlow, model 323E/D) kullanılmıştır. Buna ek olarak, biyoreaktör içinde sabit bir sıvı seviyesi sağlamak için bir hasat pompası kullanıldı. Reaktörün sürekli sistemde çalışabilmesi için 0.02 ila 0.12/saat arasında seyreltme oranları tercih edilmiştir. Seyreltme oranlarının belirlenmesinde mikroorganizmanın kesikli kültürdeki gelişme hızı ve spesifik gelime hızları göz önünde bulundurulmuştur. Her 24 saatte bir örnek alınarak şeker, biyokütle ve etanol konsantrasyonları ölçülmüştür.

Sürekli fermentasyonlar her zaman mikroorganizmaların logaritmik fazında gerçekleştirilir. Her seyreltme oranı için pompa hızını hesaplamak için aşağıdaki eşitlikler kullanılmıştır.

$$D = F/V$$

$$0.01 \text{ h}^{-1} = F/1500 \text{ ml}$$

$$\longrightarrow F = 15 \text{ ml/h}$$

Eşitlikte D: dilüsyon oranı (h^{-1}), V: hacim ve F ise besleme hızıdır (ml/h). Denklemden bir dakika içinde 0.01 rpm'de pompalanan su miktarı ölçülmüş ve $D = 0.01 \text{ h}^{-1}$ 'de F'ye göre pompa hızı bulunmuştur.

$$0.5 \text{ rpm} \longrightarrow (15 \text{ ml/h})$$

Çizelge 3.2.'de farklı seyreltme oranlarını, besleme hızını, pompa hızlarını ve her pompa hız değişiminde biyoreaktörü doldurmak için hazırlanacak ortam hacmi verilmiştir.

Çizelge 3.2. Fermentasyonda sürekli fermentasyon oluşturma şartları .

D (h^{-1})	F (ml/h)	Rpm	Volume (ml)
0,02	30	1	720
0,04	60	2	1440
0,06	90	3	2160
0,08	120	4	2880
0,10	150	5	3600
0,12	180	6	4320

Biyofilm reaktörde sürekli fermantasyon gerçekleştirilmesi için aşağıdaki eşitlikler dikkate alınmalıdır;

Logaritmik fazdaki hücre kütle dengesi (Şekil 3.8.);

$$\begin{aligned} dx/dt &= In - Out + (dx/dt)_{growth} - (dx/dt)_{death} \\ &= X_0 * F/V - X * F/V + (dx/dt)_{growth} - (dx/dt)_{death} \end{aligned}$$

Burada; $X_0 = 0$, $(dx/dt)_{death} = 0$, $dx/dt = \mu * X$

Eşitlikte değerler yerine konulduğu zaman;

$$dx/dt = 0 - X * D + \mu * X \text{ olmaktadır.}$$

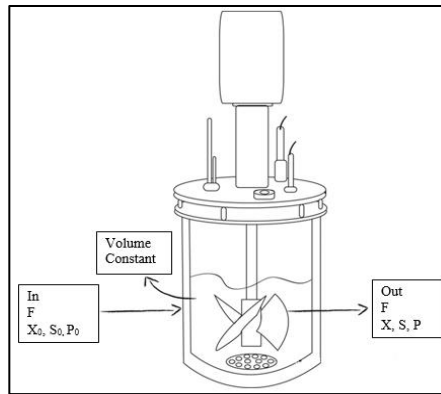
Fermentasyon ortamında birim zamanda hücre gelişiminin olmadığı bir zaman dilim olduğu düşünülür ve bu durum “durağan hal durumu” (steady-state) olarak adlandırılır. Biyokütle oluşumu bu durumda “0” (sıfır) olmaktadır.

$$0 = - X * D + \mu * X$$

$$X * D = \mu * X$$

$$D = \mu$$

Bu durumda sürekli fermentasyonda dilüsyon oranı mikroorganizmanın gelişme hızına eşit olmaktadır. Buna bağlı olarak da sürekli sistemde fermentasyon gerçekleştirilmektedir.



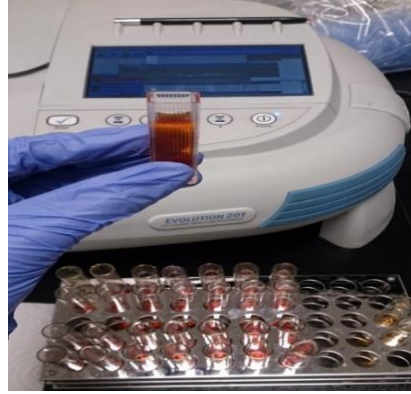
Şekil 3.8. Sürekli sistemde biyoreaktörde hücre kütlesi dengesi.

3.10. Besiyerindeki analizler

3.10.1. Şeker analizi

Fermentasyon besiyerinde kalıntı şeker içeriği, 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemi (Miller vd. 1959) ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Sakaroz çözeltisi kullanılarak kalibrasyon eğrisi elde edilmiş olup ve negatif kontrol olarak deiyonize su kullanılmıştır. Elde edilen standart eğri ($Y = 57.298X + 0.3979$, burada Y: şeker

konsantrasyonu (g/L) ve X: 575 nm'de absorbans) kullanılarak şeker konsantrasyonu belirlenmiştir (Şekil 3.9.).



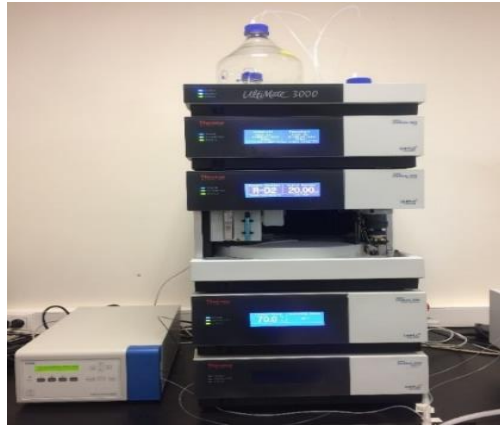
Şekil 3.9. Şeker analizi.

3.10.2. Biyokütle

Biyokütle hesaplamak için optik hücre yoğunluğu spektrofotometre (ThermoScientific Evolution, Şanghay, Çin) ile 620 nm'de ölçülmüştür. İnoküle edilmemiş fermentasyon ortamı kör olarak kullanılmıştır. Absorbans değerleri, standart bir eğri ($Y = 0.666019 \times X + 0.10634$)'tür. Y: biyokütle (g kuru biyokütle / L) ve X: 620 nm'de absorbanstır) kullanılarak biyokütle konsantrasyonuna dönüştürülmüştür. (Turhan vd., 2010).

3.10.3. Etanol

Etanol tayini, RefractoMax 520 dedektörü, otomatik örnekleyici, kolon fırını ve bilgisayar ile donatılmış bir HPLC (Thermo Scientific UltiMate 3000, Dreieich, Almanya) kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.10.). Ayırma, 20 µL'lik bir enjeksiyon hacmi ile 0.01 N H₂SO₄ mobil faz olarak kullanılarak 70°C'de 0.5 ml/dak akış hızında bir Transgenomic IC Sep ORH-801 kolonu (Apple Valley, MN) ile gerçekleştirilmiştir (Germec vd., 2017).



Şekil 3.10. HPLC (Thermo Scientific UltiMate 3000).

3.11. Matematiksel modeller ve kinetik parametrelerin hesaplanması

Bu çalışmada, maya ekstraktı (YE) ve pepton (P) ile zenginleştirilen pirinç kavuzu hidrolizatının (RH) glukoz (G) ve ksiloz (K) ile farklı oranlarda kombinasyonu ile biyofilm reaktörde tekrarlanan kesikli fermentasyon yöntemiyle *Pichia (Pichia) stipitis* (ATCC 58784 ve ATCC 58785) mayaları kullanılarak etanol üretimleri gerçekleştirilmiş olup en fermentasyon sonuçları *Pichia stipitis* (ATCC 58785) mayası kullanılarak elde edilmiştir. Bununla beraber, belirlenen en iyi kombinasyonlarda (**1. Kombinasyon:** %50 RK + %50 G. **2. Kombinasyon:** %75 RH + %25 K) besiyerinde azot kaynağı olarak kullanılan peptonun yerine alternatif azot kaynakları olarak et özütü ekstraktı ve amonyum nitrat kullanılmış ve elde edilen en iyi fermentasyon sonuçları (**1. Kombinasyon:** %50 RH + %50 G + YE + P. **2. Kombinasyon:** %75 RH + %25 K + YE + P) matematiksel modeller ile modellenmiştir. Bu amaçla, en iyi fermentasyon koşulları altında biyofilm reaktördeki şeker tüketimi, etanol üretimi ve biyokütle gelişiminin deneysel verilerini tahmin etmek için 11 farklı matematiksel model (Denklem 3.1-3.11) kullanılmıştır. Optimal koşullarda gerçekleştirilen en az iki fermentasyonun deneysel sonuçlarının ortalama değerleri, matematiksel modelleri fit etmek için kullanılmıştır. Modellemelerde, Microsoft Office Excel 2007 programı kullanılmıştır. Aşağıda, bu çalışmada kullanılan modellerin matematiksel ifadesi verilmiştir.

- Modifiye Gompertz model (4 parametrelili) (Zwietering vd., 1990)

$$A_t = A_o + (A_m - A_o) \times \exp \left[-\exp \left\{ \frac{Q \times e \times (\lambda - t)}{A_m} + 1 \right\} \right] \quad (3.1)$$

- Modifiye lojistik model (4 parametrelili) (Zwietering vd., 1990)

$$A_t = A_o + \frac{A_m - A_o}{1 + \exp \left(\frac{4 \times Q \times (\lambda - t)}{A_m} + 2 \right)} \quad (3.2)$$

- Modifiye Richards model (5 parametrelili) (Zwietering vd., 1990)

$$A_t = A_o + \frac{A_m - A_o}{\left\{ 1 + v_1 \times \exp(1 + v_1) \times \exp \left(\frac{Q \times (1 + v_1)^{(1 + \frac{1}{v_1})} \times (\lambda - t)}{A_m} \right) \right\}^{\frac{1}{v_1}}} \quad (3.3)$$

- Stannard model (5 parametrelili) (Stannard vd., 1985)

$$A_t = A_o + \frac{A_m - A_o}{\left[1 + \exp \left(-\frac{\beta + Q \times t}{v_2} \right) \right]^{v_2}} \quad (3.4)$$

- Weibull model (4 parametrelili) (Weibull, 1951)

$$A_t = A_m - (A_m - A_o) \times \exp \left[-(k_1 \times t)^{\delta_1} \right] \quad (3.5)$$

- Morgan-Mercer-Flodin model (4 parametrelili) (Morgan vd., 1975)

$$A_t = A_m - \frac{(A_m - A_o)}{1 + (k_2 \times t)^{\delta_2}} \quad (3.6)$$

- Asimetrik model (4 parametrelili) (Dantigny vd., 2011)

$$A_t = A_o + (A_m - A_o) \times \left[1 - \frac{1}{1 + \left(\frac{t}{T_L}\right)^d} \right] \quad (3.7)$$

- Baranyi model (5 parametrelili) (Baranyi & Roberts, 1994)

$$A_t = A_o + Q \times B_t - \ln \left[1 + \frac{\exp(Q \times B_t) - 1}{\exp(A_m - A_o)} \right] \quad (3.8)$$

Burada,

$$B_t = t + \frac{1}{Q} \times \ln[\exp(-Q \times t) + \exp(-h_o) - \exp(-Q \times t - h_o)]$$

Burada,

$$h_o = Q \times \lambda$$

- Huang model (4 parametrelili) (Huang, 2013)

$$A_t = A_o + A_m - \ln[\exp(A_o) + [\exp(A_m) - \exp(A_o)] \times \exp(-Q \times H_t)] \quad (3.9)$$

Burada,

$$H_t = t + \frac{1}{a} \times \ln \left[\frac{1 + \exp(-a \times (t - \lambda))}{1 + \exp(a \times \lambda)} \right]$$

- Fitzhugh model (4 parametrelili) (Pitt vd., 1999)

$$A_t = A_o + (A_m - A_o) \times [1 - \exp(-k_3 \times t)]^{v_3} \quad (3.10)$$

- Cone model (4 parametrel) (Pitt vd., 1999)

$$A_t = A_o + \frac{A_m - A_o}{1 + \left(\frac{1}{k_4 \times t}\right)^{v_4}} \quad (3.11)$$

Burada,

v (v_1, v_2, v_3 , ve v_4); şekil parametresi, birimsiz. Bu parametreler, en az hata değeri ve 1'e en yakın regresyon katsayısını (R^2) elde etmek amacıyla doğrusal olmayan en küçük kareler regresyon prosedürüyle hesaplanmıştır.

a ; Gecikme fazı geçiş katsayısı. Huang (2003), $a = 4$ parametresinin Huang modelindeki mikrobiyal gelişim, üretim ve tüketim eğrilerini analiz etmek için uygun olduğunu önermiştir

Bununla birlikte, hesaplanan A_t değerleri, kalıntı şeker konsantrasyonunu tahmin etmek amacıyla hesaplanan A_m değerinden çıkartılmıştır. En iyi fermentasyon koşulları altında gerçekleştirilen fermentasyonların matematiksel modellemesine yönelik model parametreleri Çizelge 4.65 ve 4.66'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. %50 RH + %50 G + YE + P ortamında biyofilm reaktörde gerçekleştirilen fermentasyonun matematiksel modellemesi için model parametreleri.

Parametreler	Biyokütle	Etanol	Şeker
A_0 (g/L)	0,44	0	4,12
A_m (g/L)	1,65	5,16	16,48
Q (g/L/h)	0,13	0,6375	1,185
λ (h)	0	0	0,2404
v_1	0,004	0,004	0,004
v_2	0,41	1,798	3,33
h_0	0	0	0,285
B	-1,123	-1,231	-1,2
k_1	0,133	0,1553	0,143
k_2	0,21	0,238	0,2
δ_1	1	1	3
δ_2	1,61	1,26	2,24
D	1,44	1,2	2,72
T_L (h)	2,92	4,176	7,204
k_3	0,136	0,117	0,245
v_3	1,023	0,772	2
k_4	0,2104	0,247	0,201
v_4	1,65	1,209	2,32

Çizelge 3.4. %75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktörde gerçekleştirilen fermentasyonun matematiksel modellenmesi için model parametreleri.

Parametreler	Biyokütle	Etanol	Şeker
A_0 (g/L)	0,48	0	12,31
A_m (g/L)	2,232	3,80	22,26
Q (g/L/h)	0,0464	0,0671	0,6498
λ (h)	3,433	0	1,88
v_1	0,004	0,004	0,004
v_2	0,612	0,9	4
h_o	0	0	1,222
B	-1,47	-2,1	-1,22
k_1	0,029	0,031	0,048
k_2	0,042	0,044	0,0762
δ_1	1	1	1
δ_2	1,72	1,72	1,59
D	1,39	2,35	1,89
T_L	17,274	29,173	13
k_3	0,029	0,0401	0,16
v_3	1,09	1,44	3,84
k_4	0,041	0,0464	0,0762
v_4	1,7	1,57	1,59

Ayrıca, fermentasyonun biyolojik anlamlı parametreleri (biyokütle gelişimi, etanol üretimi, şeker tüketimi, biyokütle ve etanol verimi, biyokütle başına etanol verimi, maksimum gelişim, üretim ve tüketim hızları, maksimum spesifik gelişim hızı, şeker kullanım oranı ve teorik etanol verimi) de matematiksel modellerin daha da doğrulanması için tahmin edilen değerler kullanılarak hesaplanmıştır (Denklem 3.12-3.23) (Germec vd., 2017).

- Biyokütle gelişimi (X , g/L) = $X_{max} - X_{min}$ (3.12)
- Etanol üretimi (P , g/L) = $P_{max} - P_{min}$ (3.13)
- Şeker tüketimi (S , g/L) = $S_{max} - S_{min}$ (3.14)
- Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %) = $(X/S) \times 100$ (3.15)
- Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %) = $(P/S) \times 100$ (3.16)
- Biyokütle başına etanol üretimi ($Y_{P/X}$, g ethanol/g cell) = P/X (3.17)
- Maksimum gelişim hızı (Q_X , g/L/h) = $(dx/dt)_{max}$ (3.18)
- Maksimum üretim hızı (Q_P , g/L/h) = $(dp/dt)_{max}$ (3.19)
- Maksimum tüketim hızı (Q_S , g/L/h) = $(-ds/dt)_{max}$ (3.20)
- Maksimum spesifik gelişim hızı (μ_{max} , h⁻¹) = $[\ln(X_2) - \ln(X_1)] / (t_2 - t_1)$ (3.21)
- Şeker kullanım oranı (SUY , %) = $(S/S_m) \times 100$ (3.22)
- Teorik etanol verimi (TY , %) = $(Y_{P/S} / 51.1) \times 100$ (3.23)

Burada,

X_{min} , P_{min} ve S_{min} , sırasıyla en düşük biyokütle, etanol ve şeker konsantrasyonlarıdır.

X_{max}, P_{max}, and S_{max}, sırasıyla en yüksek biyokütle, etanol ve şeker konsantrasyonlarıdır.

3.12. Modellerin karşılaştırılması

Bu çalışmada kullanılan matematiksel modellerin karşılaştırılmasında ve en iyi modelin seçilmesinde ortalama karesel hata (RMSE), ortalama mutlak hata (MAE), regresyon katsayısı (R^2), eğim (m), ortalama standart hata (MSD), Akaike bilgi ölçütü (AIC), ön yargı faktörü (BF) ve kesinlik faktörü (AF) değerleri kullanılmıştır. RMSE, proseslerin model performansını değerlendirmek için standart bir istatistiksel metrik olarak kullanılmış olup Denklem 3.24 ile hesaplanmıştır (Chai ve Draxler, 2014).

$$RMSE = \sqrt{\left[\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2 \right] / n}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (3.24)$$

MAE de model değerlendirmelerinde yaygın olarak kullanılan bir ölçüt olup Denklem 3.25 ile hesaplanmıştır (Chai ve Draxler, 2014).

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |x_i - y_i|, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (3.25)$$

Matematiksel modeller kullanılarak tahmin edilen veriler elde edildikten sonra, tahmin edilen değerler, deneysel verilere karşı grafike edilmiş ve R^2 ve m değerleri, çizilen doğru denklemine göre belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, MSD değerleri de Microsoft Office Excel 2007 programı yardımıyla hesaplanmıştır. Ayrıca, AIC değerleri, bu çalışmada kullanılan matematiksel modeller arasında seçim yapmaya yardımcı olan bir ölçüttür. Bu ölçüt kullanılarak, en iyi model, en düşük AIC değerine sahip olan modeldir. Bu ölçüt, modelin noktalarına uymanın yakınlığını ve model tarafından kullanılan parametrelerin sayısını hesaba katar. AIC, Denklem 3.26 kullanılarak hesaplanmıştır (Akaike, 1974).

$$AIC = n \times \ln\left(\frac{RSS}{n}\right) + 2 \times (N + 1) + \frac{2 \times (N + 1) \times (N + 2)}{(n - N - 2)} \quad (3.26)$$

İlaveten, BF değeri, deneysel ve tahmin edilen değerler arasındaki ortalama fark için bir tahmin değeri olup Denklem 3.27 kullanılarak hesaplanmıştır. Herhangi bir yapısal sapma yoksa ve BF değeri 1'e eşit ise model tamdır (Cayré vd., 2003; Ross, 1996).

$$BF = 10^{\sum_{i=1}^n \frac{\log(x_i/y_i)}{n}}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (3.27)$$

AF değeri, deneysel ve tahmin edilen değerler arasındaki ortalama mutlak fark için bir tahmin değeri olup Denklem 3.28 kullanılarak hesaplanmıştır. Daha büyük değer, daha az kesin tahmin demektir (Cayré vd., 2003; Ross, 1996).

$$AF = 10^{\sum_{i=1}^n \frac{|\log(y_i/x_i)|}{n}}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (3.28)$$

3.13. İstatistiksel Analiz

Fermentasyonlarının verim ve maksimum üretim hızı değerleri SAS istatistiksel programı (SAS Institute, Carry, NC) kullanılarak Duncan çoklu karşılaştırma testi ile %95 güven seviyesinde analiz edilmiştir. Tüm parametrelerin değerleri, iki tekrarlamının ortalaması olarak verilmiştir ve tablolarda ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada sadece pirinç kavuzu hidrolizatından biyofilm kullanarak etanol üretiminin optimize edilmesi değil aynı zamanda farklı karbon kaynağı karışımları, azot kaynakları ve farklı fermentasyon sistemleri kullanılmıştır. Bunun yanında elde edilen veriler farklı matematiksel modeller kullanılarak karşılaştırılmıştır.

4.1. Biyofilm materyalinin seçimi

Biyoreaktörde kullanılacak PCS materyalini seçmek için dört farklı PCS diski (Çizelge 4.1.) kullanılmıştır. Bu amaçla *P.stipitis* ATCC58784 ve *P.stipitis* ATCC58785 test edilmiş ve en iyi etanol üretiminin gerçekleştirildiği PCS materyali seçilmiştir. Her fermentasyon ortamında karbon kaynağı olarak ayrı olarak glukoz ve ksiloz kullanılmıştır. Çizelge 4.1.'de her iki mikroorganizma için kullanılan fermentasyon şartları verilmiştir.

Çizelge 4.1.Fermentasyon parametreleri ve koşulları.

Fermentasyon parametreleri	<i>P.stipitis</i> ATCC58784 için Şartları	<i>P.stipitis</i> ATCC58785 için Şartları
Başlangıç şekeri miktarı (g/L)	10	20
Aşılama oranı (% v/v)	1	1
Çalkalama hızı (rpm)	0	0
pH	6,2	5,6
Sıcaklık (°C)	30	30
Maya konsantrasyonu (g/L)	3	10
Pepton konsantrasyonu (g/L)	5	20
Malt özütü (g/L)	3	0
iş hacmi (ml)	20	20
Fermentasyon süresi (h)	60	60

4.1.1. Glukoz ortamında *Pichia stipitis* ATCC 58784 için PCS Seçimi

Çizelge 4.2'de PCS'nin her biri için glukoz, etanol ve biyokütle konsantrasyonlarını gösterilmektedir. *P.stipitis* ATCC 58784 için kullanılan PCS1 (SH-SF-YE-S), materyali ile gerçekleştirilen biyofilm fermentasyonunda başlangıçta glukoz konsantrasyonu 12,69 g/L iken ve fermentasyonun sonunda 1,88 g/L'ye düşmüştür. Etanol ise 48. saatte 3,6 g/L'ye ulaşmıştır. Fermentasyonun sonunda biyokütle konsantrasyonu 1,28 g/L olmuştur. PCS2 (SH-SF-YE-BA-S) için glukoz konsantrasyonu 11,46 g/L'den 2,09 g/L'ye düşmüştür. Fermentasyonun sonunda etanol ve biyokütle konsantrasyonları sırasıyla 3,61 g/L ve 1,32 g/L olarak belirlenmiştir. PCS3 (SH-SF-S) ile gerçekleşen fermentasyonda glukoz konsantrasyonunun başlangıç miktarı 11,49 g/L'den 2,00 g/L'ye kadar düşmüştür. Öte yandan fermentasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 2,85 g/L iken biyokütle 1,86 g/L olmuştur. PSC4 (SH-SF-YE-RBC-S) ile yapılan son fermentasyonda, glukoz konsantrasyonunun 11,99 g/L'den 2,05 g/L'ye düştüğü görülmüştür. Etanol konsantrasyonu en yüksek 3,57 g/L olurken biyokütle konsantrasyonu 1,32 g/L'ye çıkmıştır (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. *P.stipitis* ATCC 58784 ile farklı PCS kullanarak glukoz fermantasyonu.

PCS Tipi	Saat (h)	Glukoz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
SH-SF-YE-S (PCS1)	B	12,69 ±1,34	0 ±0,00	0 ±0,00
	0	11,37 ±2,27	0,14 ±0,03	0±0,00
	2	12,20 ±2,06	0,34 ±0,08	0,07 ±0,18
	4	10,15±0,43	0,44 ±0,05	0,03 ±0,03
	8	8,52 ±2,01	0,48 ±0,00	0,36 ±0,05
	12	7,71 ±0,32	0,49 ±0,02	0,67 ±0,13
	30	3,14 ±2,11	2,43 ±0,03	1,24 ±0,12
	48	2,54 ±1,09	3,66 ±0,09	1,36 ±0,01
	60	1,88 ±2,30	3,6 ±0,08	1,28 ±0,02
SH-SF-YE-BA-S (PCS2)	B	11,46±0,83	0±0,04	0±0,00
	0	11,37±1,80	0,23±0,09	0±0,00
	2	9,06±1,93	0,30±0,10	0,24±0,08
	4	7,99±0,43	0,63±0,09	0,29±0,00
	8	7,39±1,58	0,85±0,03	0,62±0,02
	12	4,72±0,76	1,71±0,01	1,27±0,01
	36	2,29±2,60	2,81±0,04	1,12±0,02
	48	2,09±1,90	3,02±0,04	1,29±0,03
	60	2,08±0,84	3,61±0,02	1,32±0,00
SH-SF-S (PCS3)	B	1,49±0,97	0±0,00	0±0,00
	0	1,37±0,17	0,19±0,05	0±0,00
	2	12,91±0,90	0,35±0,06	0±0,00
	4	9,68±2,48	0,29±0,05	0,25±0,07
	8	8,28±1,37	0,40±0,07	0,68±0,09
	12	7,20±0,66	0,77±0,03	1,00±0,10
	24	4,46±0,59	1,01±0,03	1,11±0,02
	36	2,74±1,23	1,99±0,06	1,40±0,02
	48	2,47±0,94	2,27±0,01	1,51±0,01
	54	2,41±1,22	2,64±0,12	1,77±0,01
	60	2,00±0,15	2,85±0,16	1,86±0,03
SH-SF-YE-RBC-S (PCS4)	B	11,99 ±0,24	0±0,00	0 ±0,00
	0	11,07 ±0,10	0,23 ±0,04	0 ±0,00
	2	10,72 ±1,00	0,36 ±0,04	0,14 ±0,17
	4	8,48 ±0,43	0,99 ±0,05	0,01 ±0,10
	8	6,46 ±1,32	1,44 ±0,01	0,42 ±0,08
	12	5,60 ±0,41	1,78 ±0,02	0,85 ±0,05
	24	2,65 ±0,54	3,03 ±0,12	1,12 ±0,09
	36	2,07 ±2,38	3,43 ±0,08	1,33 ±0,14
	54	2,41 ±0,91	3,54 ±0,05	1,47 ±0,07
	60	2,05±1,16	3,57±0,01	1,32±0,01

Farklı PCS materyalleri ile gerçekleştirilen fermentasyonların karşılaştırılması için elde edilen verilerin her biri için kinetik parametreler hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

PCS1 ile gerçekleştirilen fermentasyonlar için etanol üretimi 3,60 g/L, PCS2 için 3,61 g/L, PCS3 2,85 g/L ve PCS4 3,57 g/L olmuştur. Ürün açısından etanol verimleri, PCS1, PCS2, PCS3 ve PCS4 için sırasıyla %33,28, %38,83, %26,06 ve %35,93 olarak bulunmuştur. Öte yandan, maksimum tüketim hızı, PCS1 için 0,29 g/L/h, PCS2 için 0,32 g/L/h, PCS3 için 0,21 g/L/h ve PCS4 için 0,28 g/L/h olarak belirlenmiştir. Ayrıca maksimum üretim hızları PCS1, PCS2, PCS3 ve PCS4 için sırasıyla 0,02 g/L/h, 0,08 g/L/h, 0,05 g/L/h ve 0,04 g/L/h olarak hesaplanmıştır. Buna ek olarak, maksimum gelişme oranları PCS1 için 0,04 g/L/h, PCS2 için 0,06 g/L/h, PCS3 için 0,02 g/L/h ve PCS4 için 0,04 g/L/h olarak belirlenmiştir. PCS1 için spesifik gelişme oranı $0,05 \text{ h}^{-1}$, PCS2 için $0,06 \text{ h}^{-1}$, PCS3 için $0,02 \text{ h}^{-1}$ ve $0,05 \text{ h}^{-1}$ PCS4 olmuştur (Çizelge 4.3.).

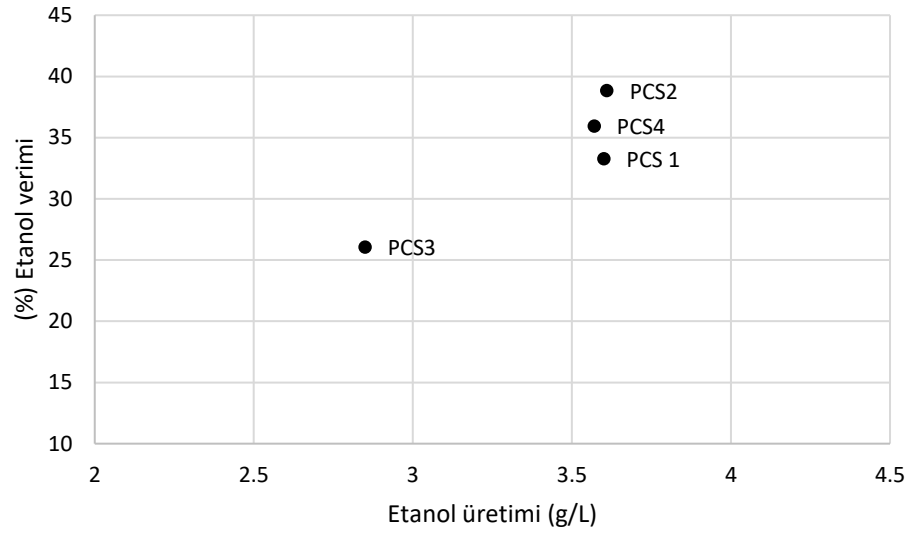
Çizelge 4.3. Farklı PCS kullanarak *P.stipitis* ATCC 58784 ile glukoz fermantasyonunun kinetik parametreleri.

Kinetik parametreler	PCS1	PCS2	PCS3	PCS4
Glukoz tüketimi (S, g/L)	10,82	9,28	10,92	9,94
Etanol üretimi (P, g/L)	3,60 ^a	3,61^a	2,85 ^b	3,57 ^a
Biyokütle (X, g/L)	1,28	1,32	1,86	1,32
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	33,28 ^b	38,83^a	26,06 ^c	35,93 ^b
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	11,80	14,22	17,03	13,26
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	2,82	2,73	1,53	2,71
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,29 ^b	0,32^a	0,21 ^c	0,28 ^b
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,02 ^c	0,08^a	0,05 ^b	0,04 ^b
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,04 ^b	0,06^a	0,02 ^c	0,04 ^b
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h^{-1})	0,03	0,04	0,04	0,06
Spesifik üretim oranı (μ_P , h^{-1})	0,06	0,04	0,03	0,01
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h^{-1})	0,05	0,06	0,02	0,05
Katlama zamanı (td, h)	13,91	11,14	39,78	13,21
Şeker kullanım oranı (%)	85,21	81,03	84,54	82,86
Teorik verime göre etanol verimi (%)	65,13	75,99	51,00	70,32

Satırlardaki harfler $P < 0.05$ düzeyinde farklılığı göstermektedir.

PCS materyalleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen etanol üretim değerleri incelendiğinde PCS1, 2 ve 4 materyalleri arasında istatistiksel olarak bir fark görünmemekte ($P > 0,05$) ancak PCS3 materyali farklıdır ($P < 0,05$). Etanol verimleri incelendiğinde PCS1 ve PCS2 materyali arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamazken ($P > 0,05$), PCS2 ve PCS3 diğerlerinden farklıdır ($P < 0,05$). Ancak PCS2 verim olarak en yüksek değere sahiptir. Ayrıca maksimum üretim, tüketim ve gelişme oranları değerleri için PCS2 materyali diğerlerinden yüksek olup bu değer istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

Şekil 4.1.'de *P.stipitis* ATCC 58784 ile glukoz fermantasyonu sonucu elde edilen etanol üretimi, etanol üretim hızı ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.1. *P.stipitis* ATCC 58784 ile glukoz fermantasyonu için etanol üretimi ile etanol veriminin karşılaştırılması.

Kinetik parametreler (Çizelge 4.3.) ve karşılaştırma grafiği incelendiğinde (Şekil 4.1.), glukoz ortamında *P.stipitis* ATCC 58784 için en iyi PCS materyali, PCS 2 olarak belirlenmiştir.

4.1.2. Glukoz ortamında *Pichia stipitis* ATCC 58785 için PCS Seçimi

Dört farklı PCS materyali ile *P.stipitis* ATCC 58785 kullanılarak glukoz ortamında fermentasyon gerçekleştirilmiştir. PCS1 ile yapılan fermentasyonda glukoz konsantrasyonunu, fermentasyonun başında 10,82 g/L'den sonunda 2,38 g/L'ye düşmüştür. Fermentasyonun 60. saatinde etanol ve biyokütle konsantrasyonları sırasıyla 3,26 g/L ve 1,51 g/L'ye ulaşmıştır. PCS2 materyali için başlangıçtaki glukoz konsantrasyonu 10,55 g/L'den 2,81 g/L'ye düştü. Etanol konsantrasyonu 3,81 g/L olurken, biyokütle konsantrasyonu fermentasyonun sonunda 1,53 g/L olmuştur. PCS3 ile yapılan fermentasyonda glukoz konsantrasyonu, 12,96 g/L'den 2,17 g/L'ye düşerken, etanol konsantrasyonu 3,40 g/L'ye yükselmiş ve fermentasyonun son saatinde biyokütle konsantrasyonu 1,16 g/L olarak hesaplanmıştır. PCS4 materyali için fermentasyonun başlangıcında glukoz konsantrasyonu 11,46 g/L iken sonunda 1,84 g/L'ye düşmüştür. Etanol konsantrasyonu 3,25 g/L iken, biyokütle konsantrasyonu 1,00 g/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. *P.stipitis* ATCC 58785 ile farklı PCS kullanarak glukoz fermantasyonu.

PCS Tipi	Zaman (h)	Glukoz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
SH-SF-YE-S (PCS1)	B	10,82±0,60	0±0,00	0±0,00
	0	10,78±1,03	0,08±0,05	0±0,00
	2	9,65±0,09	0,30±0,09	0±0,00
	4	9,09±0,33	0,16±0,03	0±0,00
	12	6,30±1,11	0,74±0,02	0,44±0,03
	24	4,09±0,86	1,83±0,02	0,64±0,01
	30	3,06±0,57	2,02±0,11	0,94±0,01
	48	2,65±2,37	2,8±0,04	1,17±0,02
	54	2,59±1,82	3,1±0,03	1,13±0,02
	60	2,38±1,54	3,12±0,18	1,51±0,01
SH-SF-YE-BA-S (PCS2)	B	10,55±0,83	0±0,00	0±0,00
	0	10,75±1,67	0,19±0,06	0±0,00
	2	10,24±0,94	0,41±0,03	0±0,00
	4	9,53±2,17	0,82±0,01	0±0,00
	12	6,10±1,09	1,10±0,03	0,50±0,01
	24	3,38±0,74	2,03±0,01	0,92±0,01
	30	3,04±1,92	2,08±0,06	0,94±0,02
	36	2,47±0,79	2,69±0,04	0,89±0,02
	48	2,00±1,84	3,30±0,02	1,02±0,01
	60	1,96±2,00	3,33±0,01	1,53±0,02
SH-SF-S (PCS3)	B	12,69±1,73	0±0,00	0±0,00
	0	11,43±0,25	0,12±0,06	0±0,00
	2	12,50±2,32	0,34±0,01	0±0,00
	4	9,77±1,36	0,65±0,01	0±0,00
	12	6,72±0,74	0,84±0,10	0,38±0,08
	24	3,42±0,32	2,17±0,04	0,71±0,09
	30	2,94±0,41	2,22±0,06	0,94±0,06
	48	2,20±0,74	3,29±0,08	0,95±0,02
	60	2,17±2,76	3,40±0,01	1,16±0,03
SH-SF-YE-RBC-S (PCS4)	B	11,46±0,57	0±0,00	0±0,00
	0	11,43±0,18	0,17±0,13	0±0,00
	2	11,78±1,35	0,27±0,02	0±0,00
	8	8,64±1,39	0,54±0,02	0±0,00
	12	7,23±0,44	0,49±0,21	0,36±0,01
	24	4,68±1,60	1,28±0,03	0,64±0,05
	30	3,81±0,18	1,46±0,07	0,76±0,03
	48	2,00±2,05	3,36±0,03	0,84±0,06
	60	1,84±1,21	3,25±0,01	1,00±0,02

P.stipitis ATCC 58785 ile yapılan fermentasyonlarından elde edilen sonuçlar ile dört PCS materyali için kinetik parametreler hesaplandı (Çizelge 4.5). Bunlara göre, PCS1 için etanol üretimi 3,12 g/L, PCS2 için 3,33 g/L, PCS3 için 3,40 g/L ve PCS4 için 3,36 g/L olduğu görülmüştür. Ayrıca PCS1, PCS2, PCS3 ve PCS4 için etanol verimi sırasıyla %36,99, %37,88, %32,37 ve %33,78 olarak bulunmuştur. Öte yandan, maksimum tüketim oranı, PCS1 için 0,23 g/L/h, PCS2 için 0,22 g/L/h, PCS3 için 0,17 g/L/h ve PCS4 için 0,16 g/L/h olarak hesaplanmıştır. Üstelik PCS1 ve PCS2 için maksimum üretim hızı 0,07 g/L/h olurken PCS3 için 0,04 g/L/h, PCS4 için 0,06 g/L/h olarak bulunmuştur. Buna ek olarak maksimum gelişme oranları PCS1 için 0,02 g/L/h, PCS2 için 0,03 g/L/h, PCS3 için 0,01 g/L/h ve PCS4 için 0,01 g/L/h olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, PCS1 için spesifik gelişme oranı 0,02 h⁻¹, PCS2 için 0,04 h⁻¹, PCS3 için 0,01 h⁻¹ ve PCS4 için 0,01 h⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5.).

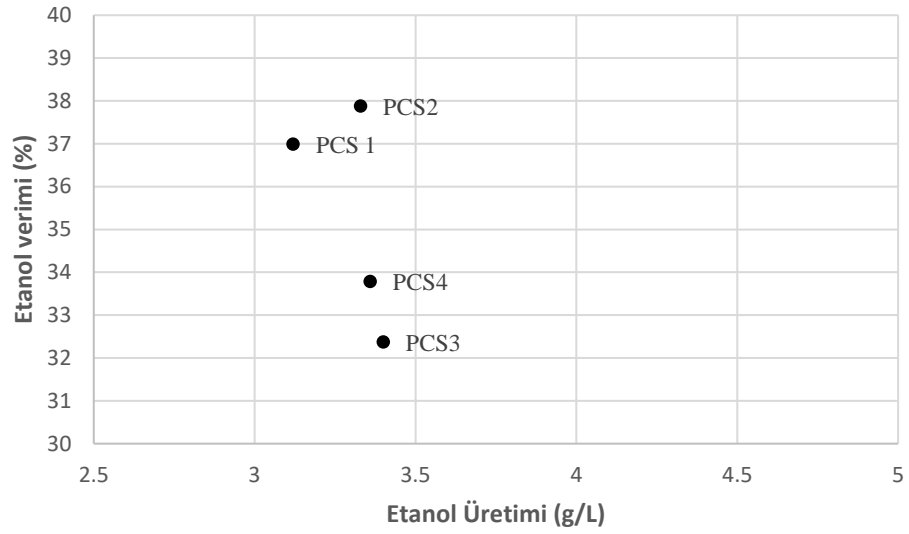
Çizelge 4.5. Farklı PCS kullanarak *P.stipitis* ATCC 58785 ile glukoz fermantasyonunun kinetik parametreleri.

PCS Türü	PCS1	PCS2	PCS3	PCS4
Glukoz tüketimi (S, g/L)	8,43	8,79	10,52	9,95
Etanol Üretimi (P, g/L)	3,12 ^a	3,33 ^a	3,40 ^a	3,36 ^a
Biyokütle gelişmesi (X, g/L)	1,17	1,53	1,16	1,00
Etanol verimi (Y _{P/S} ,%)	36,99 ^a	37,88^a	32,37 ^b	33,78 ^b
Biyokütle verimi (Y _{X/S} ,%)	13,93	17,43	11,01	10,06
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	2,66	2,17	2,94	3,36
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,23	0,22	0,17	0,16
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,07 ^a	0,07^a	0,04 ^b	0,06 ^a
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,02	0,03	0,01	0,01
Spesifik tüketim oranı (μS, h ⁻¹)	0,04	0,04	0,03	0,04
Spesifik üretim oranı (μP, h ⁻¹)	0,06	0,04	0,06	0,06
Spesifik gelişme oranı (μX, h ⁻¹)	0,02	0,04	0,01	0,01
Katlama zamanı (td, h)	31,32	18,74	72,69	67,48
Şeker kullanım oranı (%)	77,98	83,32	82,88	84,41
Teorik verime göre etanol verimi (%)	72,39	74,14	63,34	66,10

Satırlardaki harfler $P < 0,05$ düzeyinde farklılığı göstermektedir.

PCS materyalleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen etanol üretim değerleri incelendiğinde materyaller arasında istatistiksel olarak bir fark görünmemektedir ($P > 0,05$). Etanol verimleri incelendiğinde PCS1 ve PCS2 materyali arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamazken ($P > 0,05$), PCS2 ve PCS3 diğerlerinden farklıdır ($P < 0,05$). Ancak PCS2 verim olarak en yüksek değere sahiptir. Ayrıca maksimum üretim oranı için PCS1 ve PCS2 materyali diğerlerinden yüksek olup bu değer istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

Şekil 4.2.'de *P.stipitis* ATCC 58785 ile glukoz fermantasyonu sonucu belirlenen etanol üretimi ve etanol verimleri karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.2. *P. stipitis* ATCC 58785 ile glukoz fermantasyonu için etanol üretimi vs etanol üretimini.

Kinetik parametreler (Çizelge 4.5.) ve Şekil 4.2. incelendiğinde glukoz ortamında *P. stipitis* ATCC 58785 için en iyi PCS, PCS2 olarak bulunmuştur.

4.1.3. Ksiloz ortamda *Pichia stipitis* ATCC 58784 için PCS Seçimi

P. stipitis ATCC 58784 ile biyofilm reaktör için PCS seçiminde lignoselülozik materyallerden açığa çıkan bir şeker olan ksiloz için fermentasyonlar yapılmıştır. Farklı PCS materyalleri ile yapılan fermentasyonlardan elde edilen örnekler için ksiloz, etanol ve biyokütle konsantrasyonu sonuçları Çizelge 4.6.'de verilmiştir.

PCS1 için, başlangıçta ksiloz konsantrasyonu 12,06 g/L iken fermantasyonun sonunda 3,26 g/L'ye düşmüştür. Maksimum etanol 2,82 g/L'ye ulaşırken, fermantasyonun sonunda biyokütle konsantrasyonu 2,62 g/L olmuştur. PCS2 için ksiloz konsantrasyonu 12,42 g/L'den 3,11 g/L'ye düşmüştür. Fermantasyonun sonunda etanol ve biyokütle konsantrasyonları sırasıyla 3,08 g/L ve 2,71 g/L olarak bulunmuştur. PCS3 materyali için ksiloz konsantrasyonu, başlangıçta 12,72 g/L iken sonunda 3,76 g/L olmuştur. Öte yandan fermantasyon sonunda etanol konsantrasyonu 1,50 g/L olurken biyokütle 2,66 g/L olarak hesaplanmıştır. PCS4 ile ksiloz konsantrasyonu 12,29 g/L'den 3,44 g/L'ye düşmüştür. Ayrıca, fermantasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 1,67 g/L iken biyokütle konsantrasyonu 1,32 g/L olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. *P.stipitis* ATCC 58784 ile farklı PCS kullanarak ksiloz fermantasyonu.

PCS Tipi	Zaman (h)	Ksiloz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
SH-SF-YE-S (PCS1)	B	12,06±0,72	0±0,00	0±0,00
	0	11,97±0,91	0,60±0,13	0±0,00
	2	11,94±1,84	0,56±0,02	0,01±0,00
	4	11,36±2,01	0,60±0,00	0,11±0,02
	8	11,22±2,00	0,62±0,01	0,36±0,01
	12	10,95±1,60	0,65±0,00	0,50±0,01
	24	9,78±0,88	1,09±0,01	1,08±0,02
	30	9,40±0,98	1,16±0,04	1,78±0,03
	36	7,80±0,39	1,24±0,02	2,15±0,01
	48	3,76±1,82	1,63±0,10	2,43±0,01
	54	3,72±2,20	2,34±0,08	2,55±0,02
	60	3,26±1,63	2,82±0,01	2,62±0,01
SH-SF-YE-BA-S (PCS2)	B	12,42±1,90	0±0,00	0±0,00
	0	12,35±1,55	0,84±0,10	0±0,00
	2	11,94±1,22	0,92±0,00	0±0,00
	4	11,68±1,39	1,02±0,01	0,12±0,01
	8	10,47±0,01	1,25±0,08	0,23±0,00
	12	9,99±1,73	1,32±0,02	0,66±0,03
	24	7,70±1,01	1,97±0,03	0,97±0,00
	30	7,00±2,14	2,07±0,19	0,99±0,02
	36	6,57±1,12	2,10±0,19	1,03±0,01
	48	4,28±0,90	2,79±0,09	2,46±0,01
	54	4,04±2,08	2,84±0,10	2,45±0,02
	60	3,11±2,01	3,08±0,19	2,71±0,00
SH-SF-S (PCS3)	B	12,72±0,91	0±0,00	0±0,00
	0	12,56±1,21	0,67±0,02	0±0,00
	2	12,25±2,00	0,68±0,00	0±0,00
	8	12,04±0,98	0,70±0,01	0,10±0,02
	12	11,90±1,82	0,71±0,01	0,12±0,01
	24	9,95±1,93	1,11±0,02	0,99±0,02
	36	8,62±2,11	1,13±0,03	1,37±0,10
	48	6,02±1,19	1,48±0,10	2,32±0,16
	54	3,90±0,84	1,49±0,16	2,28±0,04
	60	3,76±2,23	1,50±0,01	2,66±0,02
SH-SF-YE-RBC-S (PCS4)	B	12,29±1,11	0±0,00	0±0,00
	0	12,21±0,86	0,67±0,00	0±0,00
	2	11,95±1,50	0,71±0,01	0,04±0,01
	4	11,87±2,00	0,75±0,01	0,35±0,02
	8	11,56±1,94	0,97±0,00	0,68±0,03
	12	11,20±0,89	0,99±0,01	1,00±0,02
	24	10,67±0,41	1,27±0,04	1,16±0,01
	30	8,96±1,70	1,35±0,05	1,37±0,00
	48	5,25±0,53	1,51±0,03	2,32±0,01
	54	3,97±1,94	1,56±0,13	2,38±0,01
60	3,44±2,32	1,67±0,02	2,71±0,02	

Çizelge 4.7.'de farklı PCS materyalleri ile ksiloz ortamında *P.stipitis* ATCC 58784 ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler gösterilmiştir. PCS1 kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyonlar için etanol üretimi 2,82 g/L, PCS2 için 3,08 g/L, PCS3 için 1,50 g/L ve PCS4 için 1,67 g/L olmuştur. PCS1, PCS2, PCS3 ve PCS4 için etanol verimleri sırasıyla %32,06, %33,06, %16,75 ve %18,81 olarak bulunmuştur. Ayrıca maksimum tüketim hızı, PCS1 için 0,11 g/L/h, PCS2 için 0,25 g/L/h, PCS3 için 0,16 g/L/h ve PCS4 için 0,11 g/L/h olarak bulunmuştur. PCS1 için maksimum üretim hızı 0,03 g/L/h, PCS2 için 0,06 g/L/h, PCS3 için 0,02 g/L/h ve PCS4 için 0,05 g/L/h hesaplanmıştır. Maksimum gelişme oranları PCS1 için 0,05 g/L/h, PCS2 için 0,07 g/L/h, PCS3 için 0,06 g/L/h ve PCS4 için 0,05 g/L/h olmuştur. Ayrıca, PCS1 için spesifik gelişme oranı 0,07 h⁻¹, PCS2 için 0,08 h⁻¹, PCS3 için 0,04 h⁻¹ ve PCS4 için ise 0,03 h⁻¹ hesaplanmıştır.

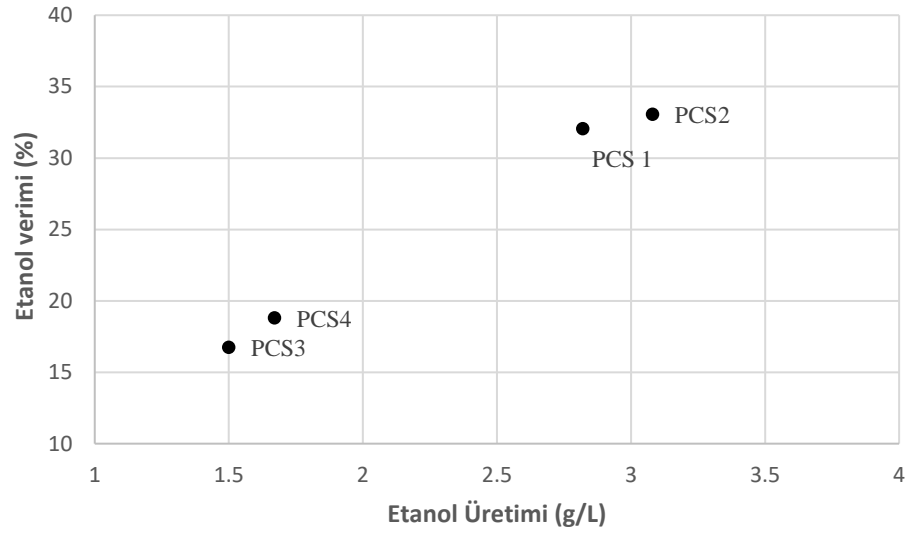
Çizelge 4.7. Farklı PCS kullanılarak *P.stipitis* ATCC 58784 ile ksiloz fermantasyonuna ait kinetik parametreler.

PCS Türü	PCS1	PCS2	PCS3	PCS4
Ksiloz tüketimi (S, g/L)	8,80	9,30	8,96	8,85
Etanol Üretimi (P, g/L)	2,82 ^a	3,08^a	1,50 ^b	1,67 ^b
Biyokütle (X, g/L)	2,43	2,71	2,66	2,71
Etanol verimi (Y _{P/S} ,%)	32,06 ^a	33,06^a	16,75 ^b	18,81 ^b
Biyokütle verimi (Y _{X/S} ,%)	27,67	29,13	29,75	30,65
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,16	1,13	0,56	0,61
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,11 ^b	0,25^a	0,16 ^b	0,11 ^b
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,03 ^b	0,06^a	0,02 ^b	0,05 ^a
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,05	0,07	0,06	0,05
Spesifik tüketim oranı (μS, h ⁻¹)	0,01	0,02	0,01	0,01
Spesifik üretim oranı (μP, h ⁻¹)	0,04 ^a	0,05^a	0,02 ^b	0,02 ^b
Spesifik gelişme oranı (μX, h ⁻¹)	0,07	0,08	0,04	0,03
Katlama zamanı (td, h)	9,91	9,05	19,63	24,26
Şeker kullanım oranı (%)	72,94	74,92	73,14	74,07
Teorik verime göre etanol verimi (%)	62,75	64,69	32,78	36, 81

Satırlardaki harfler $P < 0,05$ düzeyinde farklılığı göstermektedir.

PCS materyalleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen etanol üretim değerleri incelendiğinde PCS1 ve 2 materyalleri arasında istatistiksel olarak bir fark görünmemekte ($P > 0,05$). Etanol verimleri incelendiğinde PCS1 ve PCS2 materyali arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamazken ($P > 0,05$), PCS2 ve PCS3 diğerlerinden farklıdır ($P < 0,05$). Ancak PCS2 verim olarak en yüksek değere sahiptir. Ayrıca maksimum üretim ve tüketim oranları değerleri için PCS2 materyali diğerlerinden yüksek olup bu değer istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

Şekil 4.3. *P.stipitis* ATCC 58784 ile ksiloz fermantasyonu için etanol üretiminin etanol verimi ile karşılaştırılmasını göstermektedir.



Şekil 4.3. *P. stipitis* ATCC 58784 ile ksiloz fermantasyonu için etanol üretimi vs etanol üretimi.

Kinetik parametrelere (Çizelge 4.7.) ve Şekil 4.3. incelendiğinde ksiloz kullanılarak *P. stipitis* ATCC 58784 ile gerçekleştirilen fermentasyonlar için en iyi PCS materyali, PCS 2 olarak belirlenmiştir.

4.1.4. Ksiloz ortamda *Pichia stipitis* ATCC 58785 için PCS Seçimi

Çizelge 4.8.'de farklı PCS materyalleri ile ksiloz ortamında *P. stipitis* ATCC58785 fermentasyonları sonucu elde edilen ksiloz, etanol ve biyokütle değerleri görülmektedir. PCS1 için ksiloz konsantrasyonu fermentasyon boyunca 12,06 g/L'den 2,30 g/L'ye düşmüştür. Maksimum etanol konsantrasyonu 2,09 g/L olurken biyokütle konsantrasyonu 2,98 g/L olarak hesaplanmıştır. PCS2 için başlangıçta ksiloz konsantrasyonu 12,42 g/L iken fermentasyonun sonunda 2,23 g/L'ye düşmüştür. Etanol ve biyokütle konsantrasyonları sırasıyla 3,07 g/L ve 2,55 g/L olarak belirlenmiştir. PCS3 için gerçekleştirilen fermentasyonda ksiloz konsantrasyonu, 12,00 g/L'den 2,23 g/L'ye düşmüştür. Ayrıca, fermentasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 2,90 g/L'ye ulaşmıştır. Biyokütle konsantrasyonu 1,75 g/L olarak belirlenmiştir. PCS4 için başlangıçtaki ksiloz konsantrasyonu 12,06 g/L iken ve fermentasyon sonunda 3,20 g/L'ye düşmüştür. Ayrıca, etanol ve biyokütle konsantrasyonları sırasıyla 2,23 g/L ve 1,37 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. *P.stipitis* ATCC 58785 ile farklı PCS kullanarak ksiloz fermantasyonu.

PCS Tipi	Zaman (h)	Glukoz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
SH-SF-YE-S (PCS1)	B	12,06±0,65	0±0,00	0±0,00
	0	11,77±0,98	0,14±0,01	0,11±0,01
	2	11,63±1,74	0,16±0,01	0,33±0,02
	4	11,60±2,01	0,19±0,01	0,34±0,00
	8	11,46±1,01	0,27±0,01	0,45±0,01
	12	11,15±1,83	0,31±0,01	0,58±0,03
	24	9,26±1,70	0,71±0,05	0,77±0,01
	36	7,94±2,64	1,06±0,01	0,85±0,02
	48	4,14±2,83	1,15±0,06	0,91±0,01
	54	3,08±0,42	1,78±0,07	1,21±0,00
	60	2,30±1,91	2,09±0,02	2,98±0,01
SH-SF-YE-BA-S (PCS2)	B	12,42±1,34	0±0,00	0±0,00
	0	11,99±1,86	0,11±0,01	0,22±0,02
	2	11,97±1,73	0,16±0,00	0,28±0,03
	4	11,38±1,58	0,45±0,09	0,38±0,01
	12	11,15±0,13	0,54±0,02	0,44±0,02
	24	8,12±2,59	1,07±0,04	0,53±0,01
	30	7,90±0,82	1,29±0,03	0,67±0,03
	48	4,21±0,90	1,78±0,00	0,85±0,01
	54	3,03±1,46	2,51±0,00	1,00±0,00
	60	3,01±1,13	3,07±0,00	2,55±0,02
SH-SF-S (PCS3)	B	12,00±0,01	0±0,00	0±0,00
	0	11,65±1,01	0,11±0,00	0±0,00
	4	11,18±0,00	0,31±0,01	0,01±0,00
	12	10,83±0,64	0,39±0,02	0,05±0,01
	24	8,93±0,05	1,02±0,02	0,33±0,01
	30	8,21±0,42	1,17±0,03	0,41±0,03
	48	3,76±0,95	2,10±0,00	1,04±0,02
	54	3,10±0,39	2,53±0,17	1,39±0,01
	60	2,23±0,66	2,90±0,04	1,75±0,00
SH-SF-YE-RBC-S (PCS4)	B	12,06±1,08	0±0,00	0±0,00
	0	11,87±1,10	0,07±0,03	0±0,00
	4	11,53±0,01	0,19±0,01	0±0,00
	8	11,45±0,02	0,28±0,01	0,03±0,01
	12	11,11±0,02	0,45±0,01	0,05±0,02
	24	9,49±0,03	0,71±0,03	0,09±0,01
	30	9,24±0,85	0,97±0,03	0,14±0,03
	36	8,10±0,17	1,09±0,05	0,25±0,01
	48	4,52±0,04	1,87±0,01	1,08±0,00
	54	3,46±0,01	1,93±0,00	1,27±0,01
	60	3,20±0,53	2,23±0,00	1,37±0,02

Çizelge 4.9.'de ksiloz içeren ortamda farklı PCS materyalleri kullanılarak *P.stipitis* ATCC 58784 ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler görülmektedir. Buna göre, PCS1 için etanol üretimi 2,09 g/L, PCS2 için 3,08 g/L, PCS3 için 2,91 g/L ve PCS4 için 2,24 g/L olarak bulunmuştur. PCS1, PCS2, PCS3 ve PCS4 etanol verimleri sırasıyla %33,06, %32,70, %30,91 ve %25,23 olarak bulunmuştur. PCS1 için maksimum tüketim oranı 0,13 g/L/h, PCS2 için 0,19 g/L/h, PCS3 için 0,13 g/L/h ve PCS4 için 0,13 g/L/h olarak bulunmuştur. Ayrıca, maksimum üretim hızı, PCS1 ve PCS4 için 0,03 g/L/h, PCS2 ve PCS3 için de 0,04 g/L/h hesaplanmıştır. Maksimum gelişme oranları PCS1 için 0,03 g/L/h, PCS2 için 0,03 g/L/h, PCS3 için 0,02 g/L/h ve PCS4 için 0,01 g/L/h belirlenmiştir. Ayrıca PCS1 için spesifik gelişme oranı 0,04 h⁻¹, PCS2 için 0,04 h⁻¹, PCS3 için 0,04 h⁻¹ ve PCS4 için 0,06 h⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.9.).

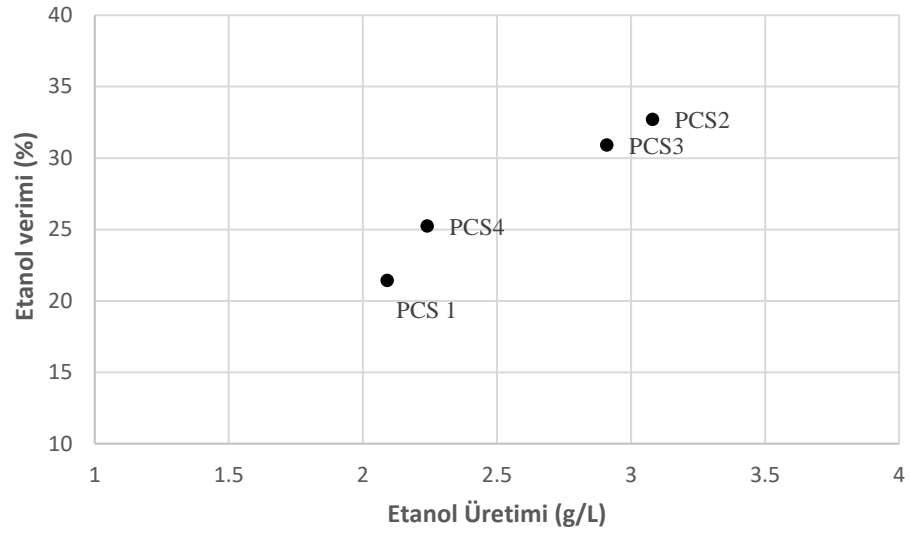
Çizelge 4.9. Farklı PCS kullanılarak, *P.stipitis* ATCC 58785 ile ksiloz fermentasyonun kinetik parametreleri.

PCS Türü	PCS1	PCS2	PCS3	PCS4
Ksiloz tüketimi (S, g/L)	9,75	9,41	9,41	8,86
Etanol Üretimi (P, g/L)	2,09 ^b	3,08^a	2,91 ^a	2,24 ^b
Biyokütle (X, g/L)	2,98	1,00	1,39	1,27
Etanol verimi (Y _{P/S} ,%)	21,43 ^b	32,70^a	30,91 ^a	25,23 ^b
Biyokütle verimi (Y _{X/S} ,%)	30,56	10,64	14,79	14,28
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	0,70	3,07	2,09	1,77
Maksimum tüketim oranı (Q _S , g/L/h)	0,13 ^b	0,19^a	0,13 ^b	0,13 ^b
Maksimum üretim oranı (Q _P , g/L/h)	0,03	0,04	0,04	0,03
Maksimum gelişme oranı (Q _X , g/L/h)	0,03	0,03	0,02	0,01
Spesifik tüketim oranı (μ _S , h ⁻¹)	0,01	0,02	0,01	0,01
Spesifik üretim oranı (μ _P , h ⁻¹)	0,05	0,05	0,05	0,04
Spesifik gelişme oranı (μ _X , h ⁻¹)	0,04	0,04	0,04	0,06
Katlama zamanı (td, h)	17,87	18,47	15,89	11,01
Şeker kullanım oranı (%)	80,88	75,75	78,38	71,93
Teorik verime göre etanol verimi (%)	41,94	63,98	60,49	49,38

Satırlardaki harfler $P < 0,05$ düzeyinde farklılığı göstermektedir.

PCS materyalleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen etanol üretim değerleri incelendiğinde PCS1 ve 2 materyalleri arasında istatistiksel olarak bir fark görünmemekte ($P > 0,05$). Etanol verimleri incelendiğinde PCS1 ve PCS2 materyali arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamazken ($P > 0,05$), PCS2 ve PCS3 diğerlerinden farklıdır ($P < 0,05$). Ancak PCS2 verim olarak en yüksek değere sahiptir. Ayrıca maksimum tüketim oranı değerleri için PCS2 materyali diğerlerinden yüksek olup bu değer istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

Şekil 4.4.'te *P.stipitis* ATCC 58785 ile ksiloz fermantasyonuna ait etanol üretimi ve etanol verimleri karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.4. *P.stipitis* ATCC 58785 ile ksiloz fermantasyonu için etanol üretimi vs etanol üretimi.

Kinetik parametreler (Çizelge 4.9.) ve Şekil 4.4. incelendiğinde, ksiloz ortamında *P.stipitis* ATCC 58785 için en iyi PCS materyali, PCS 2 olarak belirlenmiştir.

Hem *P.stipitis* ATCC 58784 hem de *P.stipitis* ATCC 58785 için en iyi PCS materyali glukoz ve ksiloz kullanıldığında **PCS 2 (SH-SF-YE-BA-S; % 5 soya fasulyesi unu -% 5 maya ekstraktı -% 5 sığır albümini)** olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3., Çizelge 4.5., Çizelge 4.7., Çizelge 4.9. ve Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3. Şekil 4.4.). Germec vd., (2015), SH-SF-YE-BA-S ile hazırlanan PCS materyalini *Saccharomyces cerevisiae*'yi kullanarak keçiyoynuzu ekstraktından etanol üretimi için en iyi biyofilm materyali olarak belirlemiştir. Elde edilen sonuçlar literatürde görülen değerlerle uyum içerisindedir. Bu aşamadan sonra yapılan tüm fermentasyonlarda etanol üretimlerinde en iyi materyal olarak PCS2 seçilmiş ve biyofilm reaktörlerde kullanılmıştır.

4.2. Karbon kaynağı seçimi

Biyofilm reaktörde en iyi PCS materyali seçildikten sonra besiyerinde farklı oranlarda karbon kaynakları kullanılarak fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her iki mikroorganizma suşu için farklı oranlarında saf/karışık glukoz, ksiloz ve pirinç kavuzu hidrolizatı karbon kaynağı olarak kullanılmıştır.

4.2.1. *P.stipitis* ATCC 58784 kullanılarak biyofilm reaktör fermentasyonu

Reaktörde PCS2 kullanılarak *P.stipitis* ATCC 58784 ile biyofilm oluşturulmuştur. Bu amaçla öncelikle ortamda %100 glukoz kullanılarak biyofilm reaktörde etanol üretimleri gerçekleştirilmiştir.

4.2.1.1. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %100 Glukoz kullanımı

Çizelge 10.'da biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %100 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir.

Çizelge 4.10. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.

Fermantasyon parametreleri	Koşullar
Başlangıç şekeri miktarı (g / L)	10
İnokülasyon oranı (% v / v)	1
Çalkalama hızı (rpm)	150
pH	6,2
Sıcaklık (°C)	30
Maya konsantrasyonu (g / L)	3
Pepton konsantrasyonu (g / L)	5
Malt özütü (g / L)	3
Çalışma hacmi (ml)	3
Fermantasyon süresi (h)	48

Ortamdan alınan örneklerde, glukoz 9,48 g/L'den fermentasyonun sonunda 1,61 g/L'ye düşmüştür. Maksimum etanol 2,72 g/L olurken biyokütle konsantrasyonu 1,12 g/L olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak %100 glukoz fermentasyonu.

Zaman (h)	Glukoz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	9,48±0,25	0±0,00	0±0,00
0	8,95±0,11	0,11±0,02	0±0,00
2	9,18±0,01	0,30±0,01	0±0,00
4	8,55±0,49	0,64±0,13	0,13±0,00
8	7,35±0,67	0,89±0,04	0,24±0,10
12	6,33±0,47	1,08±0,03	0,46±0,03
24	1,85±0,03	2,43±0,24	0,77±0,02
30	1,65±0,04	2,61±0,21	0,86±0,03
36	1,66±0,02	2,68±0,15	0,93±0,02
48	1,61±0,03	2,72±0,15	1,12±0,02

Çizelge 4.12.'de *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak %100 glukoz ile gerçekleştirilen fermentasyona ait kinetik parametreler gösterilmiştir. Maksimum etanol üretimi 2,57 g/L olurken ve etanol verimi % 35,01 belirlenmiştir. Ayrıca, maksimum tüketim oranı 0,36 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,10 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,04 g/L/h olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.12. *P.stipitis* ATCC 58784 için %100 glukozda kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Glukoz tüketimi (S, g/L)	7,34
Etanol Üretimi (P, g/L)	2,57
Biyokütle (X, g/L)	1,12
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	35,01
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	15,26
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	2,29
Maksimum tüketim oranı (QS, g /L/s)	0,36
Maksimum üretim oranı (QP, g /L/s)	0,10
Maksimum gelişme oranı (QX, g /L/s)	0,03
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,09
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,06
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,07
Katlama zamanı (td, h)	10,65
Şeker kullanım oranı (%)	82,01
Teorik verime göre etanol verimi (%)	68,52

4.2.1.2. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %100 Ksiloz kullanımı

Çizelge 13.'de biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %100 ksiloz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir.

Çizelge 4.13. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.

Fermantasyon parametreleri	Koşullar
Başlangıç şekeri miktarı (g/L)	10
İnokülasyon oranı (% v/v)	1
Çalkalama hızı (rpm)	150
pH	6,2
Sıcaklık (°C)	30
Maya konsantrasyonu (g/L)	3
Pepton konsantrasyonu (g/L)	5
Malt özütü (g/L)	3
Çalışma hacmi (ml)	3
Fermantasyon süresi (h)	72

%100 ksiloz ile gerçekleştirilen fermantasyonda şeker içeriği başlangıçta 11,71 g/L iken son olarak 3,61 g/L'ye düşmüştür. Fermantasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 2,01 g/L ve biyokütle konsantrasyonu 1,18 g/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14.).

Çizelge 4.14. *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak % 100 ksiloz fermantasyonu.

Zaman (h)	Ksiloz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	11,71±0,26	0±0,00	0±0,00
0	11,49±0,14	0,23±0,01	0±0,08
2	11,27±0,12	0,20±0,05	0±0,05
4	11,23±0,32	0,26±0,11	0±0,01
8	10,42±0,37	0,33±0,09	0±0,02
12	10,16±0,38	0,40±0,10	0,01±0,00
24	7,89±0,16	0,84±0,02	0,34±0,03
30	6,50±0,15	1,00±0,14	0,49±0,03
36	5,63±0,23	1,17±0,12	0,57±0,01
48	4,80±0,56	1,55±0,09	0,88±0,00
54	4,57±0,51	1,69±0,04	0,98±0,01
60	4,21±0,94	1,81±0,05	1,15±0,00
72	3,61±0,55	2,01±0,03	1,18±0,00

Çizelge 4.15.'de *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak %100 ksilozda gerçekleşen fermantasyon için kinetik parametreler gösterilmiştir. Etanol üretimi 2,01 g/L olurken verim %25,51 olarak belirlenmiştir. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,20 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,03 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,02 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.15. % 100 ksilozda *P.stipitis* ATCC 58784 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Ksiloz tüketimi (S, g/L)	7,88
Etanol Üretimi (P, g/L)	2,01
Biyokütle (X, g/L)	1,18
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	25,51
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	14,97
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,70
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,20
Maksimum üretim oranı (QP, g /L/h)	0,03
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/s)	0,02
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,02
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,05
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,03
Katlama zamanı (td, h)	20,97
Şeker kullanım oranı (%)	67,29
Teorik verime göre etanol verimi (%)	49,92

4.2.1.3. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %50 Pirinç kavuzu-%50 Glukoz kullanımı

Çizelge 16.'da biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %50 pirinç kavuzu ve %50 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir.

Çizelge 4.16. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.

Fermantasyon parametreleri	Koşullar
Başlangıç karbon kaynağı hacmi miktarı (L)	1,5 RH-1,5 G
İnokülasyon oranı (% v/v)	1
Çalkalama hızı (rpm)	150
Ph	6,2
Sıcaklık (°C)	30
Maya konsantrasyonu (g/L)	3
Pepton konsantrasyonu (g/L)	5
Malt özütü (g/L)	3
Çalışma hacmi (ml)	3
Fermantasyon süresi (h)	72

Pirinç kavuzu hidrolizatının ve glukozun besiyerinde %50-%50 kullanıldığı fermentasyonlara ait şeker, etanol ve biyokütle sonuçları Çizelge 4.17.'de verilmiştir. Şeker konsantrasyonu başlangıçta 12,94 g/L iken, fermentasyon sonunda 3,92 g/L olarak belirlenmiştir. Fermantasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 1,18 g/L ve biyokütle konsantrasyonu 0,93 g/L olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.17. *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak %50 RH-%50 G fermantasyonu.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	12,94±0,03	0,04±0,01	0±0,00
0	13,38±0,44	0,33±0,01	0±0,00
2	11,97±0,47	0,34±0,02	0±0,00
4	11,51±0,00	0,70±0,07	0,02±0,02
8	8,66±0,32	0,72±0,06	0,23±0,12
12	7,81±0,06	0,82±0,13	0,41±0,15
24	4,76±0,07	0,95±0,23	0,50±0,04
30	4,79±0,01	0,97±0,18	0,57±0,00
36	4,58±0,04	1,02±0,15	0,64±0,05
48	4,65±0,07	1,06±0,12	0,69±0,09
54	4,24±0,16	1,15±0,02	0,81±0,02
60	4,16±0,42	1,17±0,01	0,89±0,02
72	3,92±0,05	1,18±0,01	0,93±0,01

Çizelge 4.18.'de %50 pirinç kavuzu hidrolizatı ve %50 glukozda *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait kinetik parametreler verilmiştir. Etanol üretimi 1,14 g/L ve etanol verimi ise %12,64 olarak belirlenmiştir.

Maksimum tüketim oranı 0,46 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,06 g/L /h ve maksimum gelişme oranı 0,04 g/L/h olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.18. %50 RH-%50 G de *P.stipitis* ATCC 58784 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	9,02
Etanol Üretimi (P, g/L)	1,14
Biyokütle (X, g/L)	0,93
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	12,64
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	10,31
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	1,23
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,46
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,06
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,05
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,05
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,11
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,04
Katlama zamanı (td, h)	16,84
Şeker kullanım oranı (%)	69,71
Teorik verime göre etanol verimi (%)	24,73

4.2.1.4. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %75 Pirinç kavuzu-%25 Glukoz kullanımı

Çizelge 19.'da biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %75 pirinç kavuzu ve %25 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir.

Çizelge 4.19. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.

Fermantasyon parametreleri	Şartlar
Başlangıç şekeri miktarı (L)	2,25 RH-0,75 G
İnokülasyon oranı (% v/v)	1
Çalkalama hızı (rpm)	150
pH	6,2
Sıcaklık (°C)	30
Maya konsantrasyonu (g/L)	3
Pepton konsantrasyonu (g/L)	5
Malt özütü (g/L)	3
Çalışma hacmi (ml)	3
Fermantasyon süresi (h)	96

Fermantasyon besiyerinde %75 pirinç kavuzu hidrolizati ve %25 glukoz kullanılan denemelere ait sonuçlar Çizelge 4.20'de verilmiştir. Başlangıçta şeker konsantrasyonu 12,66 g/L iken fermentasyon sonunda 3,92 g/L olarak bulunmuştur. Ayrıca fermantasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 2,08 g/L ve biyokütle konsantrasyonu 1,07 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.20. *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak %75 RH-25% G fermantasyonu.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g / L)	Biyokütle (g / L)
B	12,66±0,63	0±0,00	0±0,00
0	13,81±1,67	0,30±0,00	0±0,00
2	13,78±1,68	0,35±0,01	0±0,00
4	13,16±1,30	0,37±0,01	0,05±0,07
8	10,72±0,79	0,38±0,00	0,13±0,00
12	6,90±0,16	0,65±0,03	0,29±0,13
24	6,58±0,37	0,98±0,04	0,34±0,12
30	6,47±0,21	1,05±0,03	0,45±0,17
36	6,30±0,62	1,17±0,02	0,52±0,15
48	6,19±0,58	1,24±0,02	0,60±0,13
54	5,89±0,32	1,30±0,08	0,68±0,09
60	5,40±0,62	1,42±0,01	0,78±0,12
72	5,12±0,72	1,67±0,12	0,93±0,09
96	4,23±0,17	2,01±0,03	1,07±0,08

Çizelge 4.21’de besiyerinde karbon kaynağı olarak %75 pirinç kavuzu hidrolizatı ve %25 glukozda *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak gerçekleştirilen fermantasyona ait kinetik parametreler gösterilmiştir. Etanol üretiminin 1,98 g/L ve etanol veriminin ise %23,50 olduğunu tespit edilmiştir. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,78 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,04 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,03 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.21. %75 RH-25% G’de *P.stipitis* ATCC 58784 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	8,44
Etanol Üretimi (P, g/L)	1,98
Biyokütle (X, g/L)	1,07
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	23,50
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	12,68
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,85
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,78
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,04
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,03
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,08
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,07
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,05
Katlama zamanı (td, h)	13,50
Şeker kullanım oranı (%)	66,63
Teorik verime göre etanol verimi (%)	46,00

4.2.1.5. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %50 Pirinç kavuzu-%50 Ksiloz kullanımı

Besiyerinde kullanılan %50 pirinç kavuzu ve %50 ksiloza ait fermentasyon koşulları Çizelge 4.16. ile aynıdır. Sadece karbon kaynağı olarak glukoz yerine burada ksiloz kullanılmıştır. Çizelge 22.'de bu koşullarda gerçekleşen fermentasyonlara ait şeker, etanol ve biyokütle sonuçları görülmektedir. Fermantasyonun başlangıcında toplam şeker konsantrasyonu 14,26 g/L'den fermantasyon sonunda 6,36 g/L'ye düşmüştür. Etanol ve biyokütle konsantrasyonu sırasıyla 1,96 g/L ve 1,09 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.22. *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak %50 RH-%50 K fermantasyonu.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	14,26±0,17	0±0,00	0±0,00
0	15,03±0,75	0,28±0,01	0±0,00
2	14,84±0,45	0,29±0,03	0±0,00
4	14,64±0,62	0,40±0,07	0±0,00
8	12,37±0,44	0,44±0,04	0,01±0,01
12	10,98±0,79	0,50±0,00	0,06±0,02
24	10,19±0,34	0,51±0,01	0,13±0,04
30	10,00±0,42	0,52±0,02	0,18±0,07
36	9,60±0,53	0,70±0,03	0,24±0,10
48	9,31±0,42	0,78±0,05	0,41±0,04
54	9,14±0,64	0,87±0,08	0,53±0,05
60	8,80±0,20	1,14±0,07	0,58±0,01
72	8,77±0,32	1,68±0,03	0,72±0,03
84	7,41±0,82	1,69±0,06	0,92±0,01
96	6,36±0,62	1,96±0,02	1,09±0,06

Çizelge 23.'te besiyerinde karbon kaynağı olarak % 50 pirinç kavuzu hidrolizatı ve % 50 ksilozda *P.stipitis* ATCC 58784 kullanılarak yapılan fermantasyona kinetik parametreleri görülmektedir. Etanol üretiminin 1,96 g/L ve etanol verimi ise %22,65 olarak bulunmuştur. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,44 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,04 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,02 g/L/h olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.23. %50 RH-%50 K *P.stipitis* ATCC 58784 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	8,66
Etanol Üretimi (P, g/L)	1,96
Biyokütle (X, g/L)	1,09
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	22,65
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	12,61
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,80
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,44
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,04
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,02
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,03
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,04
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,06
Katlama zamanı (td, h)	11,25
Şeker kullanım oranı (%)	60,74
Teorik verime göre etanol verimi (%)	44,33

4.2.1.6. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %75 Pirinç kavuzu-%25 Ksiloz kullanımı

Besiyerinde kullanılan %75 pirinç kavuzu ve %25 ksiloza ait fermentasyon koşulları Çizelge 4.19. ile aynıdır. Sadece karbon kaynağı olarak glukoz yerine burada ksiloz kullanılmıştır. Çizelge 24.'de bu koşullarda gerçekleşen fermentasyonlara ait şeker, etanol ve biyokütle sonuçları görülmektedir. Fermentasyonda başlangıç şeker miktarı 17,06 g/L iken sonunda 6,73 g/L'ye düşmüştür. Fermentasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 1,78 g/L ve biyokütle konsantrasyonu 1,10 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.24. *P.stipitis* ATCC58784 ile %75 RH-%25 K fermantasyonu.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	17,06±0,21	0±0,00	0±0,00
0	16,73±0,55	0,30±0,13	0±0,00
2	17,50±0,12	0,27±0,13	0±0,00
4	17,30±1,15	0,39±0,16	0±0,00
8	16,24±1,26	0,57±0,07	0,09±0,02
12	14,27±2,04	0,63±0,03	0,15±0,02
24	10,52±0,51	0,71±0,09	0,27±0,07
30	10,37±0,38	0,79±0,11	0,33±0,11
36	9,97±0,29	0,83±0,06	0,38±0,12
48	9,34±0,31	0,93±0,14	0,40±0,04
54	9,26±0,52	1,06±0,03	0,48±0,15
60	9,07±0,74	1,09±0,12	0,64±0,07
72	8,05±0,09	1,29±0,02	0,88±0,04
84	7,46±0,62	1,55±0,08	0,96±0,03
96	6,73±0,27	1,78±0,05	1,10±0,06

Çizelge 4.25.'te besiyerinde karbon kaynağı olarak % 75 pirinç kavuzu hidrolizati ve %25 ksilozda *P.stipitis* ATCC58784 ile gerçekleştirilen fermentasyona ait kinetik parametreler gösterilmiştir. Etanol üretiminin 1,78 g/L ve etanol veriminin ise %17,75 olduğunu belirlenmiştir. Ayrıca, maksimum tüketim oranı 0,35 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,05 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,02 g/L/h olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.25. %75 RH-25% K *P.stipitis* ATCC 58784 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	10,00
Etanol Üretimi (P, g/L)	1,78
Biyokütle (X, g/L)	1,10
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	17,75
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	10,96
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,62
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,35
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,05
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,02
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,03
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,12
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,04
Katlama zamanı (td, h)	15,77
Şeker kullanım oranı (%)	58,62
Teorik verime göre etanol verimi (%)	34,74

4.2.1.7. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %100 Pirinç kavuzu hidrolizati kullanımı

Besiyerinde kullanılan %100 pirinç kavuzu hidrolizati için fermentasyon koşulları Çizelge 4.19. ile aynıdır. Sadece karbon kaynağı olarak glukoz yerine burada %100 pirinç kavuzu hidrolizati (3L) kullanılmıştır. Çizelge 26.'da bu koşullarda gerçekleşen fermentasyonlara ait şeker, etanol ve biyokütle sonuçları görülmektedir. Fermentasyonun başlangıcında toplam şeker konsantrasyonunun 18,99 g/L'den fermentasyon sonunda 6,65 g/L'ye düşmüştür. Maksimum etanol miktarı 1,38 g/L iken biyokütle miktarı 1,06 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.26. *P.stipitis* ATCC58784 kullanılarak % 100 RH fermantasyonu.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	18,99±2,15	0,05±0,02	0±0,00
0	16,26±1,15	0,13±0,00	0±0,00
2	15,69±1,22	0,19±0,01	0±0,00
4	14,87±0,96	0,23±0,03	0±0,00
8	12,96±0,42	0,35±0,11	0±0,00
12	11,44±1,35	0,57±0,08	0,27±0,07
24	9,77±0,19	0,64±0,10	0,37±0,16
30	8,67±0,43	0,70±0,06	0,44±0,12
36	8,40±0,75	0,71±0,13	0,57±0,01
48	8,03±1,00	0,79±0,06	0,67±0,08
54	7,74±1,15	0,85±0,03	0,77±0,07
60	7,56±1,06	0,89±0,05	0,81±0,09
72	7,33±1,27	0,99±0,04	0,93±0,08
84	6,92±1,04	1,15±0,03	1,05±0,05
96	6,65±0,84	1,38±0,01	1,06±0,02

Çizelge 4.27.'de besiyerinde %100 pirinç kavuzu hidrolizatı kullanılarak *P.stipitis* ATCC58784' ile fermentasyondan elde edilen kinetik parametreler gösterilmiştir. Etanol üretimi 1,38 g/L olurken ve etanol verimi %14,32 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, maksimum tüketim oranı 0,46 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,04 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,02 g/L/h olarak belirlenmiştir.

çizelge 4.27. % 100 RH'de *P.stipitis* ATCC 58784 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	9,60
Etanol Üretimi (P, g/L)	1,38
Biyokütle (X, g/L)	1,06
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	14,32
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	11,05
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,30
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,46
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,04
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,02
Spesifik üretim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,03
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,11
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,03
Katlama zamanı (td, h)	23,08
Şeker kullanım oranı (%)	50,56
Teorik verime göre etanol verimi (%)	28,02

4.2.2. *P.stipitis* ATCC 58785 kullanılarak biyofilm reaktör fermentasyonu

Fermentörde PCS2 materyali ile *P.stipitis* ATCC 58785 kullanılarak biyofilm reaktör oluşturulmuştur. Sonrasında farklı karbon kaynakları ve azot kaynaklarının etkisi incelenmiştir. Bu aşamada kullanılan mikroorganizma mikroaerofilik olduğu için ortama 0,05 vvm havalandırma yapılmıştır.

4.2.2.1. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58785 ile %100 glukoz kullanımı

Çizelge 4.28'da biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %100 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir.

Çizelge 4.28. Fermentasyon parametreleri ve koşulları.

Fermentasyon parametreleri	Koşullar
Başlangıç şekeri miktarı (g/L)	20
İnokülasyon oranı (% , v/v)	1
Çalkalama hızı (rpm)	150
pH	5,6
Sıcaklık (°C)	30
Maya konsantrasyonu (g/L)	10
Pepton konsantrasyonu (g/L)	20
Çalışma hacmi (ml)	3
Fermentasyon süresi (h)	24

Çizelge 4.29.'da %100 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyonlara ait glukoz, etanol ve biyokütle sonuçları verilmiştir. Fermentasyonun başlangıcında şeker içeriği 16,74 g/L'den 2,35 g/L'ye kadar düşmüştür. Maksimum etanol konsantrasyonu 6,00 g/L olurken biyokütle konsantrasyonu 1,84 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.29. *P.stipitis* ATCC58785'i kullanarak %100 glukoz fermentasyonu.

Zaman (h)	Glukoz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	16,74±0,55	0±0,00	0±0,00
0	14,71±0,56	0±0,00	0,44±0,11
2	13,22±0,16	0,55±0,55	0,81±0,01
4	10,53±0,59	1,26±0,10	1,25±0,05
8	6,17±0,23	3,24±0,34	1,60±0,02
12	3,12±0,49	4,90±0,36	1,63±0,04
24	2,35±0,00	6,00±0,13	1,84±0,00

Çizelge 4.30.'da %100 glukoz ortamında *P.stipitis* ATCC58785 kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait kinetik parametreler gösterilmiştir. Bu parametrelere göre etanol üretimi 6,00 g/L olurken ve etanol verimi % 48,54 olarak hesaplanmıştır. Maksimum tüketim oranı 1,46 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,46 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,21 g/L/h olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.30. *P.stipitis* ATCC 58785 için %100 glukozda kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Glukoz tüketimi (S, g/L)	12,36
Etanol Üretimi (P, g/L)	6,00
Biyokütle (X, g/L)	1,84
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	48,54
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	14,89
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	3,26
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	1,16
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,46
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,21
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,13
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,17
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,27
Katlama zamanı (td, h)	2,60
Şeker kullanım oranı (%)	73,84
Teorik verime göre etanol verimi (%)	95,00

4.2.2.2. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58785 ile %100 ksiloz kullanımı

Çizelge 4.28’da biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %100 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir. Bu fermentasyonda şartlar Çizelge 4.28 ile aynı olup sadece glukoz yerine %100 ksiloz kullanılmıştır. Elde edilen örneklerde ksiloz, etanol ve biyokütle analizleri yapılarak sonuçlar Çizelge 4.31’de verilmiştir. Fermentasyon süresi de şekerin tamamen tüketilmesine bağlı olarak 78 saate kadar sürdürülmüştür. Fermentasyonun başında ksiloz konsantrasyonu 22,10 g/L iken sonunda 7,38 g/L’ye düşmüştür. Biyokütle konsantrasyonu 1.18 g/L olurken, etanol konsantrasyonu fermentasyonun sonunda 4,02 g/L’ye olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.31. *P.stipitis* ATCC58785’i kullanarak %100 ksiloz fermantasyonu.

Zaman (h)	Ksiloz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	22,10±1,21	0±0,00	0±0,00
0	21,71±1,39	0±0,00	0,52±0,04
2	20,84±0,57	0±0,00	0,67±0,05
4	20,74±0,56	0±0,00	0,73±0,09
8	20,68±0,60	0±0,00	0,91±0,25
12	20,61±0,56	0±0,00	0,94±0,30
24	18,44±0,44	0,62±0,13	1,31±0,33
30	17,85±0,38	0,79±0,17	1,37±0,35
36	17,23±0,18	0,92±0,22	1,45±0,39
48	12,27±1,55	1,43±0,17	1,52±0,40
54	11,47±1,60	2,30±0,65	1,67±0,28
60	11,20±1,35	2,86±0,19	1,77±0,31
72	7,38±3,02	4,02±0,99	1,81±0,32

Çizelge 4.32.'de *P.stipitis* ATCC58785 kullanılarak % 100 ksilozda gerçekleşen fermentasyona ait kinetik veriler gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, etanol üretimi 4,59 g/L olurken ve etanol verimi %31,74 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,32 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,04 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,03 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.32. *P.stipitis* ATCC 58785 için %100 ksilozdaki kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Ksiloz tüketimi (S, g/L)	14,46
Etanol Üretimi (P, g/L)	4,59
Biyokütle (X, g/L)	1,97
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	31,74
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	13,62
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	2,33
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,32
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,04
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,03
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,02
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,03
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,02
Katlama zamanı (td, h)	28,37
Şeker kullanım oranı (%)	65,46
Teorik verime göre etanol verimi (%)	62,12

4.2.2.3. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58785 ile %50 Pirinç kavuzu hidrolizati-%50 Glukoz kullanımı

Çizelge 4.33'de biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %50 pirinç kavuzu hidrolizati ve %50 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir.

Çizelge 4.33. Fermentasyon parametreleri ve koşulları.

Fermentasyon parametreleri	Koşullar
Başlangıç şekeri miktarı (L)	1,5 RH-1,5 G
İnokülasyon oranı (% v/v)	1
Çalkalama hızı (rpm)	150
pH	5,6
Sıcaklık (°C)	30
Maya konsantrasyonu (g/L)	10
Pepton konsantrasyonu (g/L)	20
Çalışma hacmi (ml)	3
Fermentasyon süresi (h)	24

Biyofilm reaktörde %50 pirinç kavuzu hidrolizati ve %50 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyonlara ait ksiloz, etanol ve biyokütle değerleri Çizelge 4.34'de

verilmiştir. Fermentasyon başlangıcında şeker içeriği 17,29 g/L iken, son örnekte 4.12 g/L'ye kadar düşmüştür. Buna ek olarak, fermantasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 5,16 g/L ve biyokütle konsantrasyonu ise 1,65 g/L olmuştur (Çizelge 4.34.).

Çizelge 4.34. *P.stipitis* ATCC58785'i kullanarak %50 RH-%50 G fermantasyonu.

Zaman (h)	Ksiloz (g / L)	Etanol (g / L)	Biyokütle (g / L)
B	17,29±0,04	0±0,00	0±0,00
0	16,49±0,65	0±0,00	0,44±0,04
2	14,54±1,33	1,54±0,51	0,71±0,06
4	11,82±1,98	2,55±0,69	0,96±0,08
8	7,35±0,70	3,23±0,87	1,15±0,11
12	4,20±0,23	4,06±0,39	1,45±0,02
24	4,12±0,33	5,16±0,10	1,65±0,05

Çizelge 4.35.'de besiyerinde %50 pirinç kavuzu hidrolizatı ve %50 glukoz varlığında *P.stipitis* ATCC58785 ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik veriler gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre maksimum etanol üretiminin 5,16 g/L, etanol veriminin ise % 41,75 olduğu görülmektedir. Ayrıca maksimum tüketim hızı 1,03 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,24 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,07 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.35. %50 RH -%50 G *P.stipitis* ATCC 58785 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	12,36
Etanol Üretimi (P, g/L)	5,16
Biyokütle (X, g/L)	1,65
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	41,75
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	13,35
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	3,13
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	1,19
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,64
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,25
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,12
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,09
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,08
Katlama zamanı (td, h)	9,20
Şeker kullanım oranı (%)	71,53
Teorik verime göre etanol verimi (%)	81,70

4.2.2.4. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58785 ile %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%25 Glukoz kullanımı

Çizelge 4.36'da biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %75 pirinç kavuzu hidrolizatı ve %25 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartlar görülmektedir.

Çizelge 4.36. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.

Fermantasyon parametreleri	Koşullar
Başlangıç şekeri miktarı (L)	2,25 RH-0,75 G
İnokülasyon oranı (% , v/v)	1
Çalkalama hızı (d/dk)	150
pH	5,6
Sıcaklık (°C)	30
Maya konsantrasyonu (g / L)	10
Pepton konsantrasyonu (g / L)	20
Çalışma hacmi (ml)	3
Fermantasyon süresi (h)	72

Biyofilm reaktörde besiyeri olarak %75 pirinç kavuzu hidrolizatı ve %25 glukoz kullanılan fermentasyona ait sonuçlar Çizelge 4,37'de verilmiştir. Başlangıç şeker konsantrasyonu 17,47 g/L iken fermentasyon sonunda 4,26 g/L'ye düşmüştür. Ayrıca, fermentasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 4,03 g/L ve biyokütle konsantrasyonu ise 2,35 g/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.37.).

Çizelge 4.37. *P.stipitis* ATCC58785 ile %75 RH-25% G fermantasyonu.

Zaman (h)	Ksiloz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g / L)
B	17,47±0,07	0±0,00	0±0,00
0	16,84±0,06	0±0,00	0±0,00
2	16,18±0,02	0,13±0,06	0,23±0,05
4	13,68±1,09	0,38±0,03	0,44±0,03
8	12,24±0,56	0,67±0,06	0,65±0,10
12	11,01±1,10	1,17±0,25	1,03±0,13
24	10,50±1,02	1,58±0,39	1,31±0,02
30	9,87±1,17	1,82±0,21	1,58±0,05
36	8,48±0,63	2,19±0,18	1,74±0,09
48	7,32±0,93	2,58±0,34	2,01±0,01
54	6,37±1,56	2,80±0,25	2,17±0,08
60	5,38±1,05	3,23±0,37	2,24±0,07
72	4,26±0,51	4,03±0,24	2,35±0,02

Çizelge 4.38.'te biyofilm reaktörde gerçekleştirilen fermentasyona ait kinetik parametreler görülmektedir. Bu sonuçlara göre etanol üretimi 4,03 g/L iken etanol verimi %32,02 olarak belirlenmiştir. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,61 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,10 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,08 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.38. %75 RH-%25 G'de *P.stipitis* ATCC 58784 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	12,58
Etanol Üretimi (P, g/L)	4,03
Biyokütle (X, g/L)	2,35
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	32,02
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	18,70
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,71
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,61
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,10
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,08
Spesifik üretim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,04
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,26
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,14
Katlama zamanı (td, h)	4,97
Şeker kullanım oranı (%)	72,03
Teorik verime göre etanol verimi (%)	62,67

4.2.2.5. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58785 ile 50% Pirinç kavuzu hidrolizatı-%50 Ksiloz kullanımı

Çizelge 4.33'de biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %50 Pirinç kavuzu hidrolizatı ve %50 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartların aynı buradaki fermentasyonda kullanılmıştır. Sadece %50 glukoz yerine %50 ksiloz kullanılmıştır. Fermentasyon süresi 72 saat olmuştur.

Çizelge 4.39.'da fermentasyon sonucu elde edilen verilerin görülmektedir. Fermentasyonun başlangıcında toplam şeker konsantrasyonu 23,95 g/L iken fermentasyon sonunda 5,01 g/L'e düşmüştür. Etanol konsantrasyonu ve biyokütle konsantrasyonu sırasıyla 3,43 g/L ve 2,10 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.39. *P.stipitis* ATCC58785 ile %50 RH-%50 K ile fermentasyon.

Zaman (h)	Ksiloz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	23,95±0,38	0±0,00	0±0,00
0	21,21±0,80	0±0,00	0,09±0,02
2	20,19±0,97	0,40±0,05	0,17±0,03
4	17,38±0,19	0,43±0,05	0,25±0,02
8	16,21±0,16	0,53±0,06	0,31±0,03
12	15,13±0,52	0,58±0,05	0,37±0,03
24	12,93±0,14	0,93±0,03	0,66±0,08
30	12,37±0,10	1,07±0,09	0,87±0,01
36	11,54±0,24	1,12±0,09	1,01±0,09
48	10,78±0,59	1,26±0,17	1,25±0,17
54	9,81±0,45	2,16±0,08	1,66±0,07
60	9,00±0,00	2,72±0,10	1,93±0,02
72	5,01±0,75	3,43±0,13	2,10±0,03

Çizelge 4.40.'da %50 pirinç kavuzu hidrolizati ve %50 ksiloz kullanımı ile *P.stipitis* ATCC58784 fermantasyonuna ait kinetik parametreler görülmektedir. Bu verilere göre etanol üretimi 3,43 g/L ve etanol verimi ise %21,17 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,61 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,12 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,06 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.40. %50 RH -%50 K *P.stipitis* ATCC 58785 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	16,20
Etanol Üretimi (P, g/L)	3,43
Biyokütle (X, g/L)	2,10
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	21,17
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	12,96
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,63
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,61
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,12
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,06
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,03
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,06
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,04
Katlama zamanı (td, h)	19,15
Şeker kullanım oranı (%)	67,64
Teorik verime göre etanol verimi (%)	41,43

4.2.2.6. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58785 ile %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%25 Ksiloz kullanımı

Çizelge 4.36'da biyofilm reaktörde karbon kaynağı olarak %75 pirinç kavuzu hidrolizatı ve %25 glukoz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyona ait şartların aynı buradaki fermentasyonda kullanılmıştır. Sadece %25 glukoz yerine %25 ksiloz kullanılmıştır. Ksilozun ortamda kullanımı uzun sürdüğü için fermentasyon süresi 84 saat olmuştur.

Çizelge 4.41.'de fermentasyon sonucu elde edilen verilerin görülmektedir. Başlangıçta şeker içeriği 23,62 g/L iken fermentasyon sonunda 12,31 g/L olmuştur. Ayrıca fermentasyonun sonunda etanol konsantrasyonu 3,80 g/L ve biyokütle konsantrasyonu ise 2,23 g/L olmuştur.

Çizelge 4.41. *P.stipitis* ATCC58785 ile %75 RH-%25 K fermentasyonu.

Zaman (h)	Ksiloz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	23,62±2,51	0±0,00	0±0,00
0	22,26±2,52	0±0,00	0,48±0,05
2	21,87±2,62	0,36±0,03	0,51±0,05
4	20,98±2,60	0,45±0,03	0,57±0,02
8	19,44±1,14	0,75±0,04	0,71±0,05
12	16,84±1,14	0,95±0,02	0,86±0,07
24	15,42±0,40	1,58±0,25	1,44±0,16
30	15,20±0,28	1,95±0,54	1,53±0,23
36	14,73±0,10	2,63±0,50	1,63±0,22
48	14,54±0,14	2,89±0,51	1,76±0,21
54	14,20±0,09	3,08±0,54	1,83±0,22
60	13,61±0,21	3,34±0,68	1,90±0,22
72	13,19±0,15	3,59±0,49	2,02±0,18
78	12,71±0,07	3,80±0,35	2,09±0,12
84	12,31±0,03	3,80±0,38	2,23±0,03

Çizelge 4.42.'de fermentasyon sonucunda elde edilen verilerle kullanılarak hesaplanan kinetik parametreler görülmektedir. Buna göre etanol üretimi 3,80 g/L iken etanol verimi % 38,22 olarak belirlenmiştir. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,52 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,09 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,05 g/L/h olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.42. %75 RH-%25 K *P.stipitis* ATCC 58785 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	9,94
Etanol Üretimi (P, g/L)	3,80
Biyokütle (X, g/L)	2,23
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	38,22
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	22,44
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,70
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,52
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,07
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,05
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,03
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,07
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,04
Katlama zamanı (td, h)	15,74
Şeker kullanım oranı (%)	42,10
Teorik verime göre etanol verimi (%)	74,79

4.2.2.7. Biyofilm reaktörde *P.stipitis* ATCC58784 ile %100 Pirinç kavuzu hidrolizatı kullanımı

Çizelge 4.36'de biyofilm reaktörde kullanım şartlarının aynısı buradaki fermentasyonda kullanılmıştır. Karbon kaynağı olarak ortama sadece %100 pirinç kavuzu hidrolizatı ilave edilmiştir. Ksilozun ortamda kullanımını uzun sürdüğü için fermentasyon süresi 96 saat olmuştur.

Çizelge 4.43.'de fermentasyon sonucu elde edilen verilerin görülmektedir. Fermentasyonun başlangıcında toplam şeker konsantrasyonu 22,09 g/L iken fermentasyon sonunda 10,49 g/L'ye düşmüştür. Bunun yanında etanol ve biyokütle konsantrasyonu sırasıyla 4,03 g/L ve 2,20 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.43. 100% RH ile *P.stipitis* ATCC58785 fermentasyonu.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	22,09±0,91	0±0,00	0±0,00
0	21,63±0,97	0±0,00	0,23±0,14
2	20,37±0,86	0,48±0,08	0,62±0,21
4	18,99±0,81	0,61±0,07	0,82±0,23
8	15,43±0,68	0,76±0,05	0,98±0,16
12	14,37±0,46	1,46±0,18	1,25±0,14
24	14,01±0,39	1,93±0,09	1,38±0,00
30	13,37±0,29	2,13±0,02	1,48±0,02
36	12,79±0,03	2,50±0,03	1,71±0,02
48	12,55±0,02	2,81±0,07	1,75±0,03
54	12,08±0,08	3,05±0,00	1,93±0,08
60	11,78±0,47	3,22±0,11	2,00±0,04
72	11,58±0,39	3,45±0,00	2,05±0,03
78	11,41±0,27	3,78±0,10	2,18±0,01
84	10,94±0,25	4,03±0,06	2,20±0,00
96	10,21±0,05	4,18±0,02	2,27±0,02

Çizelge 4.44.'de fermentasyon sonunda hesaplanan kinetik parametreler verilmiştir. Burada etanol üretimi 4,18 g/L iken etanol verimi ise %14,32 olarak belirlenmiştir. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,83 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,07 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,06 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.44. 100% RH ile *P.stipitis* ATCC 58785 için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	11,42
Etanol Üretimi (P, g/L)	4,18
Biyokütle (X, g/L)	2,27
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	36,59
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	19,87
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	1,84
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,83
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,07
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,06
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,05
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,05
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,07
Katlama zamanı (td, h)	9,62
Şeker kullanım oranı (%)	51,72
Teorik verime göre etanol verimi (%)	71,61

Biyofilm reaktörde karbon kaynağının etkisinin incelenmesi üzerine tüm fermentasyonlar tamamlanmıştır. Her iki mikroorganizma için saf karbon kaynakları olmaları nedeniyle %100 glukoz ve %100 ksiloz eklenen ortamlar kontrol olarak kabul edilmiş ve karbon kaynaklarının karşılaştırılmaları için kullanılmamıştır. Bu araştırmada temel amaç pirinç kavuzu hidrolizatının besiyeri olarak kullanım olanaklarını incelemektir. Bu nedenle her iki mikroorganizmanın kullanabildiği saf karbon kaynakları çeşitli oranlarda paçal yapılarak besiyerine eklenmiştir.

Çizelge 4.45.'de farklı miktarlarda karbon kaynaklarına ait her iki mikroorganizmaya ait kinetik parametreler verilmiştir. Bu amaçla ilgili çizelge ve veriler değerlendirilerek etanol konsantrasyonu (P), verim (YP/S), tüketim oranı (QS), üretim oranı (QP) ve gelişme oranı (QX) açısından en iyi mikroorganizma ve besiyerindeki karbon kaynağı bileşimi belirlenecektir.

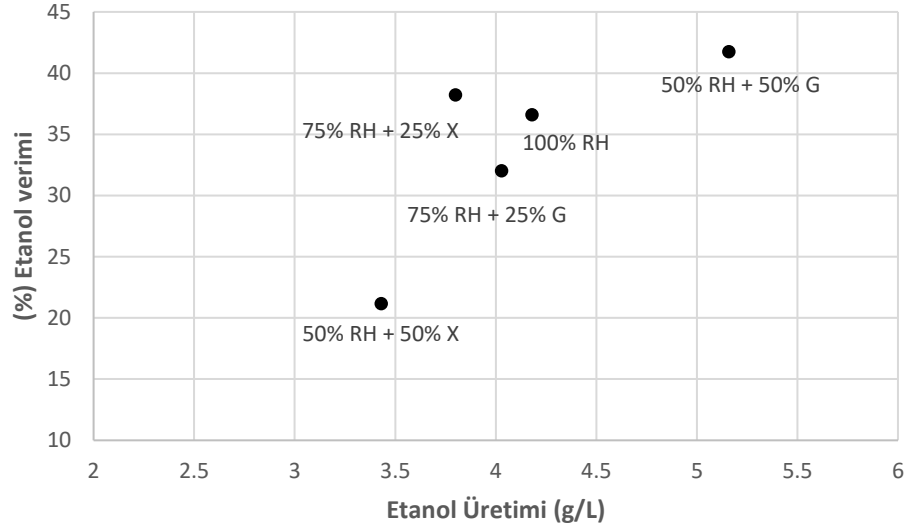
Çizelge 4.45. Farklı fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.

Parametreler	50% RH + 50% G	75% RH + 25% G	50% RH + 50% K	75% RH + 25% K	100% RH
<i>P.stipitis</i> ATCC 58785					
P, g/L	5,16 ^a	4,03 ^b	3,43 ^c	3,80 ^c	4,18 ^b
Y _{P/S} , %	41,75 ^a	32,02 ^c	21,17 ^d	38,22 ^b	36,59 ^b
QS, g/L/h	1,03 ^a	0,61 ^c	0,61 ^c	0,52 ^d	0,83 ^b
QP, g/L/h	0,24 ^a	0,10 ^b	0,12 ^b	0,11 ^b	0,07 ^b
QX, g/L/h	0,13 ^a	0,08 ^b	0,06 ^b	0,05 ^b	0,06 ^b
<i>P.stipitis</i> ATCC 58784					
P, g/L	1,14 ^b	1,98 ^a	1,96 ^a	1,78 ^b	1,38 ^b
Y _{P/S} , %	12,64 ^b	23,50 ^a	22,65 ^a	17,75 ^b	14,32 ^b
QS, g/L/h	0,46 ^b	0,78 ^a	0,44 ^b	0,35 ^b	0,46 ^b
QP, g/L/h	0,06 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a	0,05 ^a	0,04 ^a
QX, g/L/h	0,05 ^a	0,03 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b

Tüm fermentasyon sonuçları incelendiğinde; *P.stipitis* ATCC 58784 ve ATCC 58785 mikroorganizmalarının karbon kaynağı kullanımları açısından en iyi sonuçlar *P.stipitis* ATCC 58785 ile elde edilmiştir. Her iki mikroorganizma ile yapılan etanol fermentasyonlarının tümünde istatistiksel olarak farklılık önemlidir ($P<0,05$). Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kinetik parametreleri yüksek ve istatistiksel olarak farklı olan *P.stipitis* ATCC 58785 kullanılacaktır. Besiyerinde en iyi karbon kaynağı bileşiminin belirlenmesi açısından da bu mikroorganizmaya ait kinetik veriler kullanılacaktır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde; en yüksek etanol üretimi (5.16 g/L), en yüksek verim (%41,75) ve aynı zamanda en yüksek maksimum tüketim hızı, en iyi maksimum üretim hızı ve en iyi maksimum gelişme hızı (sırasıyla 1,03 g/L/h, 0,24 g/L/h ve 0,13 g/L/h) **%50 pirinç kavuzu hidrolizatı + %50 glukoz** karışımı olan fermentasyon ile elde edilmiştir. Bu bileşime ait değerler diğerlerinden istatistiksel olarak farklıdır ve farklılık önemlidir ($P<0,05$).

Ayrıca lignoselülozik bileşiklerin hidrolizi sonucunda açığa ksiloz çıktığı için glukoz içeren besiyerinin yanında bir de ksiloz içeren besiyeri seçilmek istenmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde ikinci bir besiyeri önerisi olarak; **%75 pirinç kavuzu hidrolizati + %25 ksiloz** bundan sonraki denemelerde kullanılacaktır. Ksiloz içeren besiyerleri içerisinde en yüksek etanol üretimi (3,80 g/L) ve etanol verimi (38,22 g/L) olan bu bileşimden elde edilmiştir (Çizelge 4.45. ve Şekil 4.5.). Ksiloz şekerleri arasında yapılan değerlendirmede bu bileşime ait verim değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli çıkmıştır ($P<0,05$)



Şekil 4.5. *P.stipitis* ATCC 58785 için farklı fermentasyonların etanol üretimi ve verimlerinin karşılaştırılması.

Çalışmanın bundan sonraki aşaması olan azot kaynağı seçiminde besiyeri olarak;

1.numaralı besiyeri : %50 pirinç kavuzu hidrolizati + %50 glukoz

2.numaralı besiyeri : %75 pirinç kavuzu hidrolizati + %25 ksiloz

kullanılmıştır.

4.3. Azot kaynağı seçimi

Biyofilm reaktörde gerçekleştirilen fermentasyonların tamamında, azot kaynakları olarak maya özütü ve pepton (YE + P) kullanılmıştır. Bu zamana kadar gerçekleştirilen fermentasyonlarda en iyi karbon kaynağı bileşimi belirlendikten sonra farklı azot kaynaklarının fermentasyon üzerine etkisi incelenecektir. Bu amaçla literatürde birbirine alternatif olarak kullanıldığı görülen “et özütü (BE)” ve “amonyum nitrat (AN)”, pepton yerine aynı oranlarda besiyerine ilave edilmiştir. Azot kaynağı olarak maya ekstraktı ve peptonun kullanıldığı optimum sonuçlar (1.numaralı ve 2.numaralı besiyeri) kontrol olarak kullanılmıştır.

4.3.1. Biyofilm reaktörde %50 Pirinç kavuzu hidrolizati -%50 Glukoz ortamında YE + BE kullanımı

En iyi karbon kaynağı bileşimi %50RH + %50 glukoz olan besiyerine azot kaynağı olarak pepton yerine et özütü (BE) ilave edilmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen

fermentasyon şartları Çizelge 4.33. ile aynıdır. Sadece pepton yerine et özütü ilave edilmiştir. Fermentasyon sonucunda elde edilen şeker, etanol ve biyokütle değerleri Çizelge 4.46'da verilmiştir. Fermentasyondaki başlangıç şekeri konsantrasyonu 16,86 g/L iken sonunda 5,04 g/L'e düşmüştür. Etanol konsantrasyonu 4,34 g/L ve biyokütle konsantrasyonu ise 1,71 g/L olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.46. 50% RH-50% G için YE + BE kullanarak fermentasyon.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	16,86±0,47	0±0,00	0±0,00
0	15,82±0,16	0±0,00	0,04±0,02
2	14,76±0,20	0,44±0,02	0,06±0,01
4	12,59±0,24	0,59±0,01	0,45±0,10
8	6,31±0,55	1,26±0,23	1,12±0,02
12	5,61±0,28	3,24±0,13	1,37±0,20
24	5,04±0,27	4,34±0,06	1,71±0,16

Çizelge 4.47.'de fermentasyondan elde edilen veriler göre hesaplanan kinetik parametreler görülmektedir. Fermentasyon sonucunda etanol üretimi 4,34 g/L, etanol verimi ise %40,25 olmuştur. Ayrıca maksimum tüketim oranı 1,43 g/L/h, maksimum üretim oranı 0,33 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,18 g/L/h olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.47. YE + BE içeren %50 RH-50% G fermentasyon için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	10,78
Etanol Üretimi (P, g/L)	4,34
Biyokütle (X, g/L)	2,24
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	40,25
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	20,77
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	1,94
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	1,43
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,33
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,18
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,10
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,18
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,02
Katlama zamanı (td, h)	28,17
Şeker kullanım oranı (%)	63,97
Teorik verime göre etanol verimi (%)	78,77

4.3.2. Biyofilm reaktörde %50 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%50 Glukoz ortamında YE + AN kullanımı

En iyi karbon kaynağı bileşimi %50RH+%50 glukoz olan besiyerine azot kaynağı olarak pepton yerine amonyum nitrat (AN) ilave edilmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen

fermentasyon şartları Çizelge 4.33. ile aynıdır. Sadece pepton yerine amonyum nitrat ilave edilmiştir. Fermentasyon sonucunda elde edilen şeker, etanol ve biyokütle değerleri Çizelge 4.48'de verilmiştir. Fermentasyondaki başlangıç şekeri konsantrasyonu 22,16 g/L iken sonunda 6,62 g/L'e düşmüştür. Etanol konsantrasyonu 4,77 g/L ve biyokütle konsantrasyonu ise 1,80 g/L olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.48. %50 RH-%50 G için YE + AN kullanarak fermentasyon.

Zaman (h)	ksiloz (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	22,16±0,22	0±0,00	0±0,00
0	21,68±0,47	0±0,00	0,49±0,01
2	19,99±0,39	0,33±0,03	0,56±0,01
4	18,87±0,36	0,55±0,10	0,96±0,17
8	17,09±0,60	1,54±0,32	1,07±0,12
12	12,71±0,08	2,69±0,04	1,57±0,23
24	6,62±0,10	4,77±0,14	1,80±0,21

Çizelge 4.49.'de fermentasyondan elde edilen veriler göre hesaplanan kinetik parametreler görülmektedir. Fermentasyon sonucunda etanol üretimi 4,77 g/L, etanol verimi ise %31,67 olmuştur. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,77 g/L/h, maksimum üretim oranı 0,27 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,08 g/L/h olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.49. YE+AN içeren %50 RH-50% G fermantasyonu için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	15,06
Etanol Üretimi (P, g/L)	4,77
Biyokütle (X, g/L)	1,80
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	31,67
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	11,97
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	2,65
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,77
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,27
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,08
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,05
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,20
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,10
Katlama zamanı (td, h)	7,25
Şeker kullanım oranı (%)	67,97
Teorik verime göre etanol verimi (%)	61,98

Tüm fermentasyonlar sonucunda her iki azot kaynağı ilavesi ile yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar etanol konsantrasyonu (P), verim (YP/S), tüketim oranı (QS), üretim oranı (QP) ve gelişme oranı (QS) açısından karşılaştırılarak Çizelge 4.50'de verilmiştir.

Çizelge 4.50. Farklı azot kaynakları içeren fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.

Kinetik parametreler	Kontrol	1	2
Etanol Üretimi (P, g/L)	5,16 ^a	4,34 ^a	4,77 ^a
Etanol verimi (Y _{P/S} ,%)	41,75 ^a	40,25 ^a	31,67 ^b
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	1,19 ^a	1,43 ^a	0,77 ^b
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,64 ^a	0,33 ^b	0,27 ^b
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,25 ^a	0,18 ^a	0,08 ^b

Kontrol:% 50 RH-%50 G ortamında azot kaynakları olarak YE + P kullanılarak tekrarlı kesikli fermantasyonu.

1:%50 RH-%50 G ortamında azot kaynağı olarak YE + BE'yi kullanarak kesikli fermantasyon.

2:%50 RH-%50 G ortamında azot kaynağı olarak YE + AN kullanılarak kesikli fermantasyon.

Elde edilen sonuçlar %50 RH + %50 glukoz içeren besiyerine peptona alternatif olarak ilave edilen azot kaynaklarının istatistiksel olarak etkisinin olmadığını göstermiştir ($P>0,05$). Ancak kontrol olarak kabul edilen YE + P verim ve üretim hızı değerlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, azot kaynakları olarak maya ekstraktını ve peptonu içeren kontrol ortamı tercih edilmiştir.

4.3.3. Biyofilm reaktörde %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı -%25 ksiloz için YE + BE kullanımı

En iyi karbon kaynağı bileşimi %75RH + %25 ksiloz olan besiyerine azot kaynağı olarak pepton yerine et özütü (BE) ilave edilmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen fermentasyon şartları Çizelge 4.36. ile aynıdır. Sadece pepton yerine et özütü ilave edilmiştir. Fermentasyon sonucunda elde edilen şeker, etanol ve biyokütle değerleri Çizelge 4.51'de verilmiştir. Fermantasyondaki başlangıç şekeri konsantrasyonu 24,02 g/L iken sonunda 12,01 g/L'e düşmüştür. Etanol konsantrasyonu 3,95 g/L ve biyokütle konsantrasyonu ise 2,21 g/L olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.51. YE + BE kullanarak %75 RH-%25 K ile fermantasyon.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	24,02±0,32	0±0,00	0±0,00
0	22,63±0,25	0±0,00	0,07±0,07
2	21,43±0,32	0,48±0,06	0,32±0,07
4	18,60±2,76	0,66±0,06	0,50±0,09
8	17,84±2,34	0,88±0,01	0,67±0,03
12	17,50±2,63	1,02±0,03	0,87±0,02
24	16,98±2,60	1,67±0,10	1,27±0,04
30	16,50±2,39	1,89±0,03	1,43±0,15
36	15,98±2,32	2,05±0,15	1,56±0,08
48	15,58±2,24	2,56±0,46	1,71±0,09
54	14,75±2,11	2,84±0,38	1,75±0,11
60	13,38±1,36	3,00±0,51	1,88±0,08
72	12,75±0,88	3,48±0,34	2,00±0,15
78	12,43±0,74	3,77±0,33	2,10±0,07
84	12,01±0,41	3,95±0,27	2,21±0,06

Çizelge 4.52.'de fermentasyondan elde edilen veriler göre hesaplanan kinetik parametreler görülmektedir. Fermentasyon sonucunda etanol üretimi 3,95 g/L, etanol verimi ise %37,12 olmuştur. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,54 g/L/h, maksimum üretim oranı 0,07 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,06 g/L/h olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.52. YE + BE ile %75 RH-25% K fermantasyon için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	10,63
Etanol Üretimi (P, g/L)	3,95
Biyokütle (X, g/L)	2,21
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	37,12
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	20,82
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	1,78
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,54
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,07
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,06
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,03
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,10
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,12
Katlama zamanı (td, h)	5,84
Şeker kullanım oranı (%)	44,25
Teorik verime göre etanol verimi (%)	72,64

4.3.4. Biyofilm reaktörde %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı -%25 ksiloz için YE + AN kullanımı

En iyi karbon kaynağı bileşimi %75 RH + %25 ksiloz olan besiyerine azot kaynağı olarak pepton yerine amonyum nitrate (AN) ilave edilmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen fermentasyon şartları Çizelge 4.36. ile aynıdır. Sadece pepton yerine amonyum nitrat ilave edilmiştir. Fermentasyon sonucunda elde edilen şeker, etanol ve biyokütle değerleri Çizelge 4.53’de verilmiştir. Fermentasyondaki başlangıç şekeri konsantrasyonu 22,68 g/L iken sonunda 10,50 g/L’e düşmüştür. Etanol konsantrasyonu 3,47 g/L ve biyokütle konsantrasyonu ise 2,29 g/L olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.53. YE + AN kullanarak %75 RH-%25 K fermentasyonu.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	22,68±1,39	0±0,00	0±0,00
0	20,53±0,33	0±0,00	0,01±0,01
2	19,42±0,62	0,48±0,03	0,35±0,01
4	18,38±0,03	0,63±0,04	0,40±0,04
8	16,73±1,26	0,78±0,06	0,55±0,06
12	15,79±1,33	1,07±0,16	0,80±0,26
24	15,05±1,06	1,45±0,34	1,09±0,30
30	14,27±1,02	1,63±0,40	1,34±0,24
36	13,78±1,08	2,02±0,41	1,50±0,10
48	13,25±0,97	2,38±0,39	1,65±0,02
54	12,74±0,87	2,62±0,50	1,73±0,00
60	11,96±0,81	2,94±0,59	1,86±0,03
72	11,49±0,82	3,11±0,55	1,97±0,03
78	11,13±0,98	3,28±0,59	2,17±0,03
84	10,50±1,59	3,47±0,74	2,29±0,01

Çizelge 4.54.’de fermentasyondan elde edilen veriler göre hesaplanan kinetik parametreler görülmektedir. Fermentasyon sonucunda etanol üretimi 3,47 g/L, etanol verimi ise %34,54 olmuştur. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,44 g/L/h, maksimum üretim oranı 0,05 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,05 g/L/h olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.54. YE+AN ile %75 RH-%25 K fermantasyonu için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	10,03
Etanol Üretimi (P, g/L)	3,47
Biyokütle (X, g/L)	2,29
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	34,54
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	22,82
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	1,51
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,44
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,05
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,05
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,02
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,07
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,09
Katlama zamanı (td, h)	8,01
Şeker kullanım oranı (%)	44,24
Teorik verime göre etanol verimi (%)	67,59

Tüm fermentasyonlar sonucunda her iki azot kaynağı ilavesi ile yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar etanol konsantrasyonu (P), verim ($Y_{P/S}$), tüketim oranı (QS), üretim oranı (QP) ve gelişme oranı (QS) açısından karşılaştırılarak Çizelge 4.55'de verilmiştir.

Çizelge 4.55. Farklı fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.

Kinetik parametreler	Kontrol	1	2
Etanol Üretimi (P, g/L)	3,80 ^a	3,95 ^a	3,47 ^a
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	38,22 ^a	37,12 ^a	34,54 ^a
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,52 ^a	0,54 ^a	0,44 ^b
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,11 ^a	0,07 ^a	0,05 ^a
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,05 ^a	0,06 ^a	0,05 ^a

Kontrol: 75% RH 25% G ortamında azot kaynakları olarak YE+P kullanılarak tekrarlı kesikli fermantasyonu.

1: 75% RH 25% X ortamında azot kaynağı olarak YE + BE'yi kullanarak yinelenen toplu fermantasyon.

2: 75% RH 25% X ortamında azot kaynağı olarak YE + AN kullanılarak yinelenen kesikli fermantasyon.

Elde edilen sonuçlar %75 RH + %25 ksiloz içeren besiyerine peptona alternatif olarak ilave edilen azot kaynaklarının istatistiksel olarak etkisinin olmadığını göstermiştir ($P>0,05$). Kontrol olarak kabul edilen YE + P verim değerlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, azot kaynakları olarak maya ekstraktını ve peptonu içeren kontrol ortamı tercih edilmiştir.

Serbest hücreler kullanılarak gerçekleştirilen bir fermentasyon işleminde etanol üretimi için besiyerinde maya özütü ve peptonun önemli olduğu bildirilmiştir (Laopaiboon vd., 2009). Li vd., (2017) etanol üretiminde besiyeri olarak farklı azot

kaynaklarını kullanmışlardır. Bu amaçla *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak etanol üretimleri gerçekleştirilmiş ve en ideal azot kaynağı olarak maya ekstraktını belirlenmiştir. Laopaiboon vd., (2009)'un *Saccharomyces cerevisiae* ile etanol fermentasyonu gerçekleştirdiği besiyerinde maya ekstraktı ve peptonun birlikte kullanımının verim ve verimlilik değerlerini artırdığını göstermişlerdir. Mongkolchaiarunya vd., (2016) *Saccharomyces cerevisiae*'yi kullanarak lignoselülozik materyallerden etanol üretimi üzerine farklı azot kaynaklarının etkisini incelemiştir. Fermentasyonlar sonucunda en uygun azot kaynağının pepton olduğu belirlenmiştir. Amonyum nitratın da alternatif olarak bu fermentasyonda kullanılabileceğini göstermişlerdir. Guebel vd., (1992) farklı azot kaynakları içeren ortamda *Pichia stipitis* etanol üretimlerini gerçekleştirmişlerdir. Fermentasyonda besiyeri olarak maya ekstraktı ile etanol üretimleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda en iyi karbon kaynakları (1 numaralı besiyeri: %50 pirinç kavuzu hidrolizati + %50 glukoz) ve (2 numaralı besiyeri: %75 pirinç kavuzu hidrolizati + %25 ksiloz) için, azot kaynağı olarak maya ekstraktı + peptonun kullanılmasına karar verilmiştir. Bu aşamadan sonra 1 ve 2 numaralı besiyerlerinde sürekli sistemde fermentasyonlar gerçekleştirilecektir.

4.4. En iyi karbon ve azot kaynakları kullanılarak biyofilm reaktöründe sürekli sistemde fermentasyon

4.4.1. %50 Pirinç kavuzu hidrolizati-%50 Glukoz ortamında sürekli sistemde fermantasyon

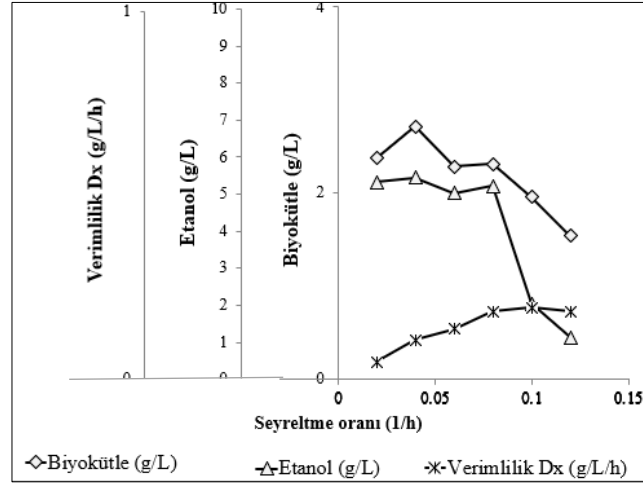
Biyofilm reaktöründe sürekli sistemde fermentasyonu gerçekleştirmek için öncelikle Çizelge 4.35'e göre mikroorganizmanın spesifik gelişme oranı belirlenmiştir. $0,08 \text{ h}^{-1}$ spesifik gelişme hızında seyreltme hızları (D) $0,02 \text{ h}^{-1}$ ile $0,12 \text{ h}^{-1}$ arasında değişerek fermentasyonlar ortamda mikroorganizma sayısı bitene (wash-out) ve verimlilik (DX) düşene kadar gerçekleştirilir.

Çizelge 4.56.'da sunulan sürekli fermantasyon sonuçlarına göre verimlilik (productivity) (Dx) değerleri hesaplanır. $0,10 \text{ h}^{-1}$ 'lik bir seyreltme oranında maksimum $0,20 \text{ g/L/h}$ 'lik bir verimlilik elde edilmiştir. Etanol üretkenliği (Dp) $0,08 \text{ h}^{-1}$ 'lik bir seyreltme oranında maksimum $0,42 \text{ g/L/h}$ olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.56. Biyofilm reaktörde sürekli fermantasyon parametreleri ve sonuçları.

D (h^{-1})	Biyokütle (g/L)	Dx (g/L/h)	Kalıntı şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Dp (g/L/h)
0,02	2,39	0,05	6,85	5,33	0,11
0,04	2,72	0,11	5,88	5,45	0,22
0,06	2,29	0,14	7,07	5,03	0,30
0,08	2,32	0,19	5,70	5,22	0,42
0,10	1,96	0,20	12,42	2,04	0,20
0,12	1,54	0,19	15,42	1,13	0,14

Şekil 4,6.'da $0,02 \text{ h}^{-1}$ 'den $0,08 \text{ h}^{-1}$ 'e değişen seyreltme oranları için biyokütle üretiminin istikrarlı olduğu belirlenmiştir. Etanol üretimi de aynı seyreltme oranları için istikrarlı devam etmiştir. Sonrasında, etanol ve biyokütle azalarak (wash-out) $D=0,08 \text{ h}^{-1}$ oranından sonra düşmeye başlamış ve bu düşüş $D = 0,12 \text{ h}^{-1}$ 'de de devam etmiştir. Ancak biyokütle için üretkenlik seyreltmeden sürekli artmakta ve $D = 0,10 \text{ h}^{-1}$ 'de düşmektedir.



Şekil 4.6. Sürekli fermentasyonda biyokütle, etanol ve biyokütle verimliliğinin seyreltme oranlarına göre değişimi

Seçilen en iyi fermentasyon stratejisi, kesikli ve sürekli fermentasyon parametreleri için denge durumunda (steady-state) ($D = \mu = 0,08 \text{ h}^{-1}$) karşılaştırılmalıdır. Çizelge 4.57.'de sürekli fermentasyonda biyokütle üretkenliğinin $0,19 \text{ g/L/h}$, kesikli fermentasyonda ise maksimum gelişme oranının $0,13 \text{ g/L/h}$ olduğu görülmektedir. Ayrıca etanol verimliliği, sürekli fermentasyonda $0,42 \text{ g/L/h}$ iken kesikli fermentasyonda $0,24 \text{ g/L/h}$ üretim oranı bulunmuştur. Sonuçlar sürekli sistemde fermentasyon verimliliğinin kesikli sisteme göre yaklaşık iki kat daha yüksek olduğunu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.57. Farklı fermentasyon stratejileri için kinetik parametreler.

Denge durumu	Kesikli fermentasyon		Sürekli fermentasyon	
	$\mu \text{ (h}^{-1}\text{)}$		$D \text{ (h}^{-1}\text{)}$	
	Maksimum gelişme oranı (g/L/h)	0,13	Biyokütle verimliliği (g/L/h)	0,19
	Maksimum üretim oranı (g/L/h)	0,24 ^a	Etanol verimliliği (g/L/h)	0,42 ^a

4.4.2. %75 Pirinç kavuzu hidrolizatı-%25 ksiloz ortamında sürekli sistemde fermentasyon

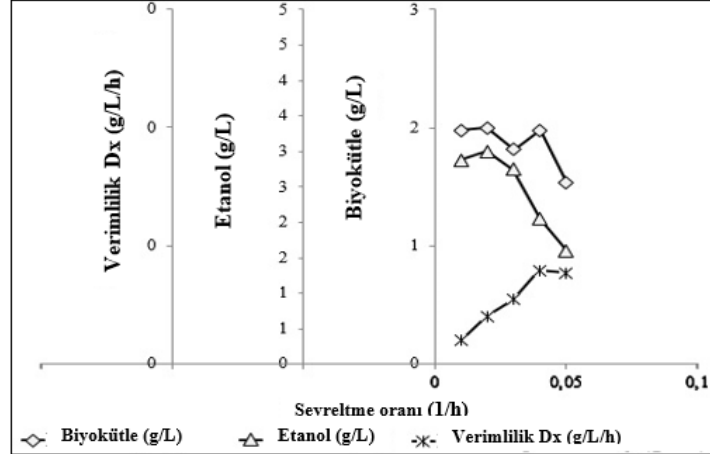
Biyofilm reaktöründe sürekli sistemde fermentasyonu gerçekleştirmek için öncelikle Çizelge 4.42.'e göre mikroorganizmanın spesifik gelişme oranı belirlenmiştir. $0,03 \text{ h}^{-1}$ spesifik gelişme hızında seyreltme hızları (D) $0,01 \text{ h}^{-1}$ ile $0,05 \text{ h}^{-1}$ arasında değişerek fermentasyonlar ortamda mikroorganizma sayısı bitene (wash-out) ve

verimlilik (DX) düşene kadar gerçekleştirilir. Çizelge 4.58.'de sunulan sürekli fermentasyon sonuçlarına göre verimlilik (productivity) (Dx) değerleri hesaplanır. 0,04 h⁻¹'lik bir seyreltme oranında maksimum 0,08 g/L/h'lik bir verimlilik elde edilmiştir. Etanol üretkenliği (Dp) 0,08 h⁻¹'lik bir seyreltme oranında maksimum 0,08 g/L/h olarak belirlenmiştir. Biyokütle üretkenliği (Dx) 0,04 g/L/h'lik bir seyreltme oranında kademli olarak artar ve geri kalan fermentasyon için bu oranda dengelenir.

Çizelge 4.58. Sürekli fermentasyon parametreleri ve sonuçları.

D (h ⁻¹)	Biyokütle (g/L)	Dx (g/L/h)	Kalıntı şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Dp (g/L/h)
0,01	1,98	0,02	14,61	2,88	0,03
0,02	2,00	0,04	14,54	3,00	0,06
0,03	1,82	0,05	14,81	2,75	0,08
0,04	1,98	0,08	15,82	2,05	0,08
0,05	1,54	0,08	15,99	1,60	0,08

Şekil 4.7.'de 0,01 h⁻¹'den 0,04 h⁻¹'e değişen seyreltme oranları için biyokütle üretiminin istikrarlı olduğu belirlenmiştir. Etanol üretimi ise 0,01 h⁻¹'den 0,03 h⁻¹'e kadar seyreltme oranları için istikrarlı kalmıştır. Sonrasında, etanol ve biyokütle azalarak (wash-out) D=0,05h⁻¹ oranından sonra düşmeye başlamış ve bu düşüş D = 0,03h⁻¹'de de devam etmiştir. Ancak biyokütle için üretkenlik seyreltmeden sürekli artmakta ve D = 0,04 h⁻¹'de düşmektedir.



Şekil 4.7. Sürekli fermentasyonda biyokütle, etanol ve biyokütle verimliliğinin seyreltme oranlarına göre değişimi.

Seçilen en iyi fermentasyon stratejisi, kesikli ve sürekli fermentasyon parametreleri için denge durumunda (steady-state) ($D = \mu = 0,04 \text{ h}^{-1}$) karşılaştırılmalıdır. Çizelge 4.59.'da sürekli fermentasyonda biyokütle üretkenliğinin 0,08 g/L/h, kesikli fermentasyonda ise maksimum gelişme oranının 0,05 g/L/h olduğu görülmektedir. Ayrıca etanol verimliliği, sürekli fermentasyonda 0,08 g/L/h iken kesikli fermentasyonda 0,07 g/L/h üretim oranı bulunmuştur. Sonuçlar sürekli sistemde fermentasyon verimliliğinin kesikli sisteme göre daha iyi olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.59. Farklı fermantasyon stratejileri için kinetik parametreler.

Denge durumu	Kesikli fermantasyon		Sürekli fermantasyon	
	μ (h^{-1})	0,04	D (h^{-1})	0,04
	Maksimum gelişme oranı (g/L/h)	0,05	Biyokütle verimliliği (g/L/h)	0,08
	Maksimum üretim oranı (g/L/h)	0,07	Etanol verimliliği (g/L/h)	0,08

Kesikli ve sürekli fermentasyonlar biyokütle ve etanol verimliliği açısından karşılaştırıldığında sürekli sistemin daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Brethauer ve Wyman (2009), sürekli hidroliz ve fermantasyon proseslerinin maliyetleri düşürmede önemli potansiyel avantajlar sunduğunu, ancak selülozik biyokütlelerin etanole sürekli olarak işlenmesiyle ilgili çok az şey yapıldığını bildirmiştir. Bu amaçla selülozik etanol üretimi için sürekli hidroliz ve fermantasyonun gözden geçirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Sürekli fermantasyonların kullanılması ile daha yüksek hacimsel üretkenlik, azaltılmış iş gücü maliyetleri ve temizleme-doldurma için ölü zamanların kazanılması gibi avantajlar ortaya çıkmaktadır. Lynd vd., (1989), kesikli ve sürekli kültürde selülozik substratların fermantasyonunu *Clostridium thermocellum* ile başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir.

Son olarak çalışma kapsamında 1.numaralı besiyerlerinde kesikli fermentasyonla “zenginleştirilmemiş ancak steril bir ortam” ile “zenginleştirilmiş ancak sterilize edilmemiş ortamda” fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir.

4.5. Zenginleştirilmemiş steril ortamda kesikli fermantasyon

%50 pirinç kavuzu hidrolizati + %50 glukoz içeren besiyeri herhangi bir zenginleştirme işlemi yapılmadan sterilize edilerek fermentasyona bırakılmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen fermentasyona ait koşullar Çizelge 4.60 verilmiştir.

Çizelge 4.60. Fermantasyon parametreleri ve koşulları.

Fermantasyon parametreleri	Koşullar
Başlangıç şekeri miktarı (L)	1,5 RH-1,5 G
İnokülasyon oranı (% v/v)	1
Çalkalama hızı (rpm)	150
pH	5,6
Sıcaklık (°C)	30
Çalışma hacmi (L)	3
Fermantasyon süresi (saat)	24

Çizelge 4,61.'de fermentasyon ortamından alınan örneklerde gerçekleştirilen şeker, etanol ve biyokütle analiz sonuçları görülmektedir. Fermantasyonun başlangıcında toplam şeker konsantrasyonu 16,89 g/L iken fermantasyonun sonunda 12,02 g/L'ye düşmüştür. Etanol konsantrasyonu ve biyokütle konsantrasyonu, sırasıyla 1,19 g/L ve 0,65 g/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.61. *P.stipitis* ATCC58785 ile %50 RH-%50 glukoz zenginleştirilmemiş steril fermantasyon ortamı.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	16,89±0,14	0±0,00	0±0,00
0	16,77±0,37	0±0,00	0±0,04
2	15,49±0,18	0,35±0,51	0,21±0,06
4	14,86±1,13	0,53±0,69	0,33±0,08
8	14,54±1,42	0,74±0,87	0,52±0,11
12	13,73±0,36	0,96±0,39	0,61±0,02
24	12,02±0,23	1,19±0,10	0,65±0,05

Çizelge 4.62.'de fermentasyona ait kinetik parametreler görülmektedir. Buna göre etanol üretimi 1,19 g/L, etanol verimi ise % 25,05 olarak belirlenmiştir. Ayrıca maksimum tüketim oranı 0,15 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,06 g/L/h ve maksimum gelişme oranı 0,05 g/L/h olmuştur.

Çizelge 4.62. %50 RH-%50 glukoz ile zenginleştirilmemiş steril fermantasyon ortamı için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	4,75
Etanol Üretimi (P, g/L)	1,19
Biyokütle (X, g/L)	0,65
Etanol verimi ($Y_{P/S}$,%)	25,05
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$,%)	13,68
Biyokütle başına ürün verimi (g/g,%)	1,83
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,15
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,06
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,05
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,01
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,12
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,15
Katlama zamanı (td, h)	4,76
Şeker kullanım oranı (%)	28,12
Teorik verime göre etanol verimi (%)	49,03

4.6. Sterilize edilmemiş zenginleştirilmiş bir ortamda kesikli fermantasyon

%50 pirinç kavuzu hidrolizatı + %50 glukoz içeren besiyeri zenginleştirme işlemi yapılmış sterilize edilmeden fermentasyona bırakılmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen fermentasyona ait koşullar Çizelge 4.60 ile aynıdır.

Çizelge 4.63.'de ortamdan alınan örneklerde gerçekleştirilen şeker, etanol ve biyokütle analizlerine ait sonuçlar görülmektedir. Başlangıç şeker konsantrasyonu 17,33 g/L'den 16,10 g/L'ye düşmüştür. Etanol üretimi 0,18 g/L olurken ve biyokütle konsantrasyonu 48 saatlik fermantasyon ile 1,09 g/L'ye yükselmiştir.

Çizelge 4.63. %50 RH-50% glukoz ile zenginleştirilmiş steril olmayan fermentasyon ortamı.

Zaman (h)	Şeker (g/L)	Etanol (g/L)	Biyokütle (g/L)
B	17,33±0,83	0±0,00	0±0,00
0	17,28±0,92	0±0,00	0±0,00
2	17,15±0,49	0,12±0,51	0,39±0,06
4	17,20±0,96	0,12±0,69	0,63±0,08
8	17,13±0,27	0,15±0,87	0,74±0,11
12	17,08±0,54	0,15±0,39	0,91±0,02
24	16,10±0,25	0,18±0,10	1,09±0,05

Çizelge 4.64.'de fermentasyona ait kinetik parametreler görülmektedir. Etanol üretimi 0,18 g/L, etanol verimi ise % 15,25 olmuştur. Ayrıca, maksimum tüketim hızı 0,01 g/L/h, maksimum üretim hızı 0,01 g/L/h ve maksimum gelişme oranı ise 0,05 g/L/h olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.64. *P.stipitis* ATCC 58785 ile %50 RH-%50 glukoz ile zenginleştirilmemiş steril olmayan fermentasyon ortamı için kinetik parametreler.

Kinetik parametreler	Sonuçlar
Şeker tüketimi (S, g/L)	1,18
Etanol Üretimi (P, g/L)	0,18
Biyokütle (X, g/L)	1,09
Etanol verimi ($Y_{P/S}$, %)	15,25
Biyokütle verimi ($Y_{X/S}$, %)	92,37
Biyokütle başına ürün verimi (g/g, %)	0,19
Maksimum tüketim oranı (QS, g/L/h)	0,01
Maksimum üretim oranı (QP, g/L/h)	0,01
Maksimum gelişme oranı (QX, g/L/h)	0,05
Spesifik tüketim oranı (μ_S , h ⁻¹)	0,00
Spesifik üretim oranı (μ_P , h ⁻¹)	0,04
Spesifik gelişme oranı (μ_X , h ⁻¹)	0,10
Katlama zamanı (td, h)	7,13
Şeker kullanım oranı (%)	6,81
Teorik verime göre etanol verimi (%)	34,83

Zenginleştirme ve sterilizasyonun etkisinin belirlenmeye çalışıldığı fermentasyonlara ait denemelerde sonuçlar çok düşük olduğu için 2 numaralı besiyeri için benzer denemeler gerçekleştirilmemiştir. En az etanol üretiminin ve etanol veriminin, zenginleştirilmemiş ve steril olmayan ortamda gerçekleştiği belirlenmiştir.

Rokas (1994), *S. cerevisiae*'yi kullanarak etanol üretimi için keçiyoynuzu tozları ile katı kültür fermentasyonu gerçekleştirmiştir. Sterilize edilmemiş ortamda yetiştirilen kültürün, aynı fermentasyon koşulları altında sterilize edilmiş ortamda geliştirilenlerle aynı etanol konsantrasyonu, etanol verimliliği, etanol verimi, biyokütle konsantrasyonu

ve fermantasyon verimliliğini verdiğini bildirmişlerdir. Ancak söz konusu işlem sıvı kültür fermentasyonunu tam olarak temsil etmemektedir.

Clementz vd., (2015), immobilize *Saccharomyces cerevisiae*'yi kullanarak havuç atıklarından etanol fermantasyonu gerçekleştirmiştir. Zenginleştirilmemiş, steril olmayan havuç atıkları immobilize mayalar vasıtasıyla fermente edilmişlerdir. Elde edilen sonuçlar serbest hücreler kullanıldığında benzer sonuçlara ulaşılabilceğini göstermiştir (Clementz vd., 2015).

Germec vd., (2016b), bir biyofilm reaktöründe, steril olmayan zenginleştirilmiş ve steril olmayan zenginleştirilmemiş keçiyoynuzu özlerinden etanol üretimi için, *Saccharomyces cerevisiae* kullanarak tekrarlı kesikli fermantasyonlar gerçekleştirmiştir. Steril olmayan zenginleştirilmemiş ortam için etanol üretimi (P) ve verim ($Y_{P/S}$) sırasıyla 18,46 g/L ve %33,76 olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, steril olmayan zenginleştirilmiş ortam için, P ve $Y_{P/S}$ sırasıyla 19,57 g/L ve %38,14 olarak belirlenmiştir (Germec vd., 2016b).

4.7. Biyofilm reaktörde %50 pirinç kavuzu hidrolizatı (RH) + %50 Glukoz + YE + P içeren besiyeri ortamında gerçekleştirilen fermantasyonun matematiksel modellemesi

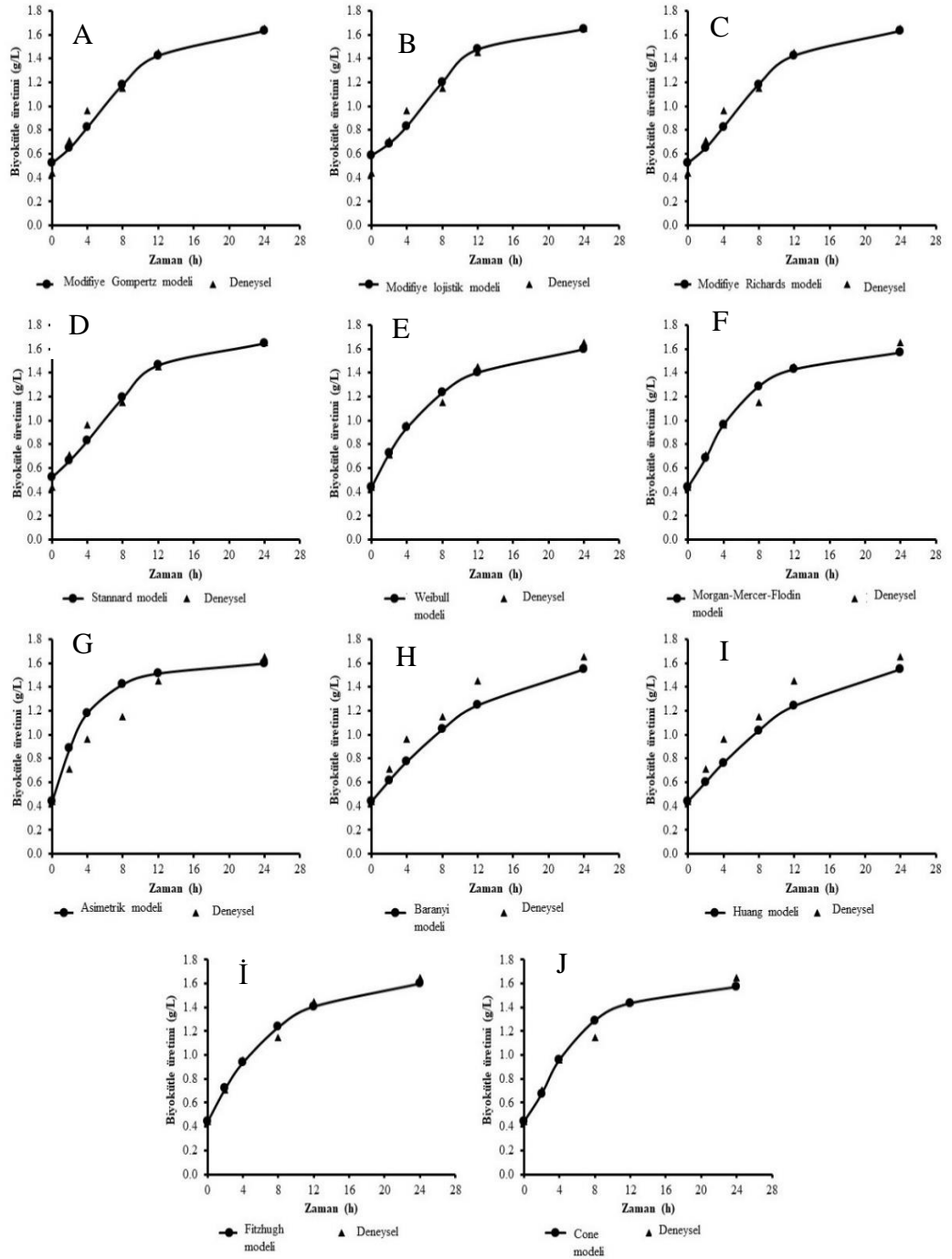
4.7.1. Hücre gelişiminin matematiksel modellemesi

%50 RH + %50 Glukoz + YE + P ortamında biyofilm reaktördeki biyokütle gelişim eğrisinin karşılaştırılması, hem tahmin edilen değerlerin hem de gözlemlenen verilerin grafik edilmesi ve ham değerlerin verilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.8.A-J, Çizelge 4.67).

Çizelge 4.65. %50 RH + %50 Glukoz + YE + P ortamında gerçekleştirilen fermantasyonun biyokütle gelişimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler.

Modeller	Zaman (h)					
	0	2	4	8	12	24
Deneysel	0,44	0,71	0,96	1,15	1,45	1,65
MGM	0,52	0,65	0,82	1,18	1,42	1,63
MLM	0,58	0,69	0,83	1,20	1,48	1,65
MRM	0,52	0,65	0,82	1,18	1,42	1,63
Stannard	0,52	0,66	0,83	1,19	1,46	1,64
Weibull	0,44	0,72	0,94	1,23	1,40	1,60
MMF	0,44	0,68	0,96	1,28	1,43	1,57
Asimetrik	0,44	0,88	1,18	1,42	1,51	1,59
Baranyi	0,44	0,62	0,77	1,04	1,25	1,55
Huang	0,44	0,60	0,76	1,03	1,24	1,55
Fitzhugh	0,44	0,72	0,94	1,23	1,41	1,60
Cone	0,44	0,67	0,96	1,29	1,43	1,57

Model tahminlerinden elde edilen sonuçlara göre, Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen X_{min} , fermentasyonun başlangıcındaki deneysel X_{min} 'e (0,44 g/L) eşit olarak tahmin edilmiştir (Şekil 1E-J, Çizelge 4.67.). Bununla beraber, MGM, MLM, MRM ve Stannard modelleri ile tahmin edilen X_{min} , gözlemlenen X_{min} 'den nispeten büyük olmuştur (Şekil 4.8.A-D, Çizelge 4.67.). Benzer şekilde, deneysel fermentasyonun sonundaki X_{max} (1,65 g/L), sadece MLM ile eşit olarak tahmin edilirken (Şekil 4.8.B, Çizelge 4.67.) geriye kalan modellerin kullanımı ile tahmin edilen X_{max} , deneysel X_{max} 'dan nispeten küçük olmuştur (Şekil 4.8.A, C-J, Çizelge 4.67.). Diğer yandan, deneysel fermentasyonun 2. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (0,71 g/L), Weibull, Asimetrik ve Fitzhugh modelleri ile nispeten büyük tahmin edilirken (Şekil 4.8.E, G ve İ, Çizelge 4.67.) modellerin geri kalanı ile deneysel biyokütle konsantrasyonu nispeten düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.8.A-D, F, H, I, ve J, Çizelge 4.67.). Deneysel fermentasyonun 4. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (0,96 g/L), MMF ve Cone modellerinin kullanımı ile eşit tahmin edilirken (Şekil 4.8.F ve J, Çizelge 4.67.) Asimetrik modelin kullanımı ile yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 1G, Çizelge 4.67.). Modellerin geri kalanı da fermentasyonun 4. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu nispeten düşük tahmin etmiştir (Şekil 4.8.A-E ve H-İ, Çizelge 4.67.). Baranyi ve Huang modelleri, fermentasyonun 8. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu (1,15 g/L) deneysel fermentasyondan nispeten düşük tahmin ederken (Şekil 4.8.H ve I, Çizelge 4.67.) modellerin geri kalanı da deneysel fermentasyondan nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.8.A-G, İ ve J, Çizelge 4.67.). Diğer yandan, MLM, Stannard ve Asimetrik modelleri deneysel fermentasyonun 12. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu (1,45 g/L) nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.8.B, D ve G, Çizelge 4.67.). Modellerin geri kalanı ile tahmin edilen fermentasyonun 12. saatindeki biyokütle konsantrasyonu, deneysel fermentasyonun biyokütle konsantrasyonundan nispeten düşük olmuştur (Şekil 4.8.A, C, E, F ve H-J, Çizelge 4.67.).



Şekil 4.8. Kullanılan matematiksel modeller ile %50 RH+%50 G + YE + P besiyeri ortamında fit edilen *P.stipitis* (ATCC 58785) mayasının hücre gelişim eğrileri.

Çizelge 4.65.'de verilen model parametrelerinin kullanımı ile %50 RH + %50 G + YE + P ortamında biyofilm reaktörde maya gelişimi, deneysel verilere bağlı olarak sigmoidal gelişim fonksiyonları ile tanımlanmıştır. Elde edilen model kıyaslama sonuçları Çizelge 4.68.'te özetlenmiştir.

Çizelge 4.66. %50 RH +%50 G + YE + P besiyeri ortamında biyokütle üretimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.

Modeller	Biyokütle üretimi (g/L)							
	RMSE	MAE	MSD	R^2	m	AIC	BF	AF
MGM	0,073	0,060	0,042	0,9721	0,969	-13,95	1,015	1,082
MLM	0,083	0,063	0,044	0,9607	0,945	-12,39	0,974	1,092
MRM	0,073	0,060	0,042	0,9721	0,969	-7,45	1,014	1,082
Stannard	0,068	0,053	0,037	0,9734	0,983	-14,76	1,000	1,074
Weibull	0,045	0,035	0,025	0,9894	0,959	-19,83	1,000	1,029
MMF	0,066	0,045	0,032	0,9744	0,965	-15,08	1,000	1,038
Asimetrik	0,162	0,130	0,092	0,9185	0,934	-4,31	0,898	1,126
Baranyi	0,132	0,114	0,081	0,9795	0,908	-0,28	1,117	1,117
Huang	0,141	0,122	0,086	0,9764	0,909	-6,04	1,128	1,128
Fitzhugh	0,044	0,034	0,024	0,9893	0,964	-19,93	1,000	1,028
Cone	0,067	0,045	0,032	0,9734	0,974	-14,86	1,000	1,039

Çizelge 4.68.'ten elde edilen sonuçlara göre, en düşük RMSE, MAE ve MSD değerleri Weibull ve Fitzhugh modelleri ile elde edilirken en yüksek RMSE, MAE ve MSD değerleri Asimetrik model ile belirlenmiştir. Bununla beraber, en yüksek R^2 değeri ve 1'e en yakın m değeri sırasıyla Weibull ve Fitzhugh modelleri ile tespit edilmiştir. Benzer şekilde en düşük R^2 değeri ve 1'e en uzak m değeri sırasıyla Asimetrik model ve Huang model ile elde edilmiştir. Bunun anlamı, Asimetrik ve Huang modellerinin biyokütle üretiminin deneysel verilerini tanımlamada başarısız olduğudur. Diğer yandan, modellerin başarılı olup olmadığının tespitinde AIC değeri de önemli bir ölçüt olarak kabul edilmiş olup en düşük AIC değerine sahip olan modelin deneysel verileri tanımlamada en iyi model olduğu öne sürülmektedir. En iyi koşullarda gerçekleştirilen deneysel fermentasyonun biyokütle üretiminin matematiksel modellemesinde en düşük AIC değerine sahip olan modelin Fitzhugh model olduğu tespit edilmiştir (AIC = -19.93, Çizelge 4.68.). İlaveten, Çizelge 4.68.'te BF ve AF değerleri gösterilmiştir. 1'den daha düşük bir BF değeri modelin genel olarak başarısız olduğu anlamına gelir. Buna göre, MLM ve Asimetrik modelin BF değerleri 1'den daha küçük olmuştur (Çizelge 4.68.). Bu sonuç, tahmin edilen değerlerin deneysel verilerden daha yüksek olduğunu gösterir. Diğer yandan MGM ve MRM'nin BF değerleri nispeten 1'e yakinken Baranyi ve Huang modelleri 1'den oldukça uzak BF değerlerine sahip olmuştur. Bu sonuç, Baranyi ve Huang modelleri ile elde edilen tahminlerin daha düşük bir güven seviyesine neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Stannard, Weibull, MMF, Fitzhugh ve Cone modelleri ile 1'e eşit BF değerleri elde edilmiştir. Bu sonuç ile modellerin herhangi bir yapısal sapma göstermediği ve dolayısıyla modellerin tam olduğu anlaşılmaktadır. İlaveten, Çizelge 4.68.'te AF değerleri de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar, AF değerlerinin ortalama olarak tahminin gözlemlerden MGM için %8,2, MLM için %9,2, MRM için %8,2, Stannard için %7,4, Weibull için %2,9, MMF için %3,8, Asimetrik için %12,6, Baranyi için %11,7, Huang için %12,8, Fitzhugh için %2,8 ve Cone için %3,9 oranında farklı olduğunu göstermektedir. Bu sonuca göre en düşük farklılık Fitzhugh modeli ile %2,8 düzeyinde elde edilirken en yüksek farklılık ise %12,8 ile Huang modelinde gözlemlenmiştir (Çizelge 4.68.). **Sonuç olarak, Fitzhugh modelin kullanımının biyokütle üretimini açıkça temsil ettiğini düşük RMSE, MAE, MSD ve AIC değerleri,**

yüksek R^2 değeri, 1'e yakın m değeri, 1'e eşit olan BF değeri ve 1'e en yakın AF değeri göstermiştir. Böylece, Fitzhugh modeli, biyokütle üretiminin deneysel verilerini bu çalışmada kullanılan diğer matematiksel modellerden daha iyi tahmin edebilir. Ayrıca, Fitzhugh modelin kullanılmasıyla tahmin edilen değerler, biyokütle üretiminin deneysel verileri ile iyi bir uyum sağlamıştır.

4.7.2. Etanol üretiminin matematiksel modellemesi

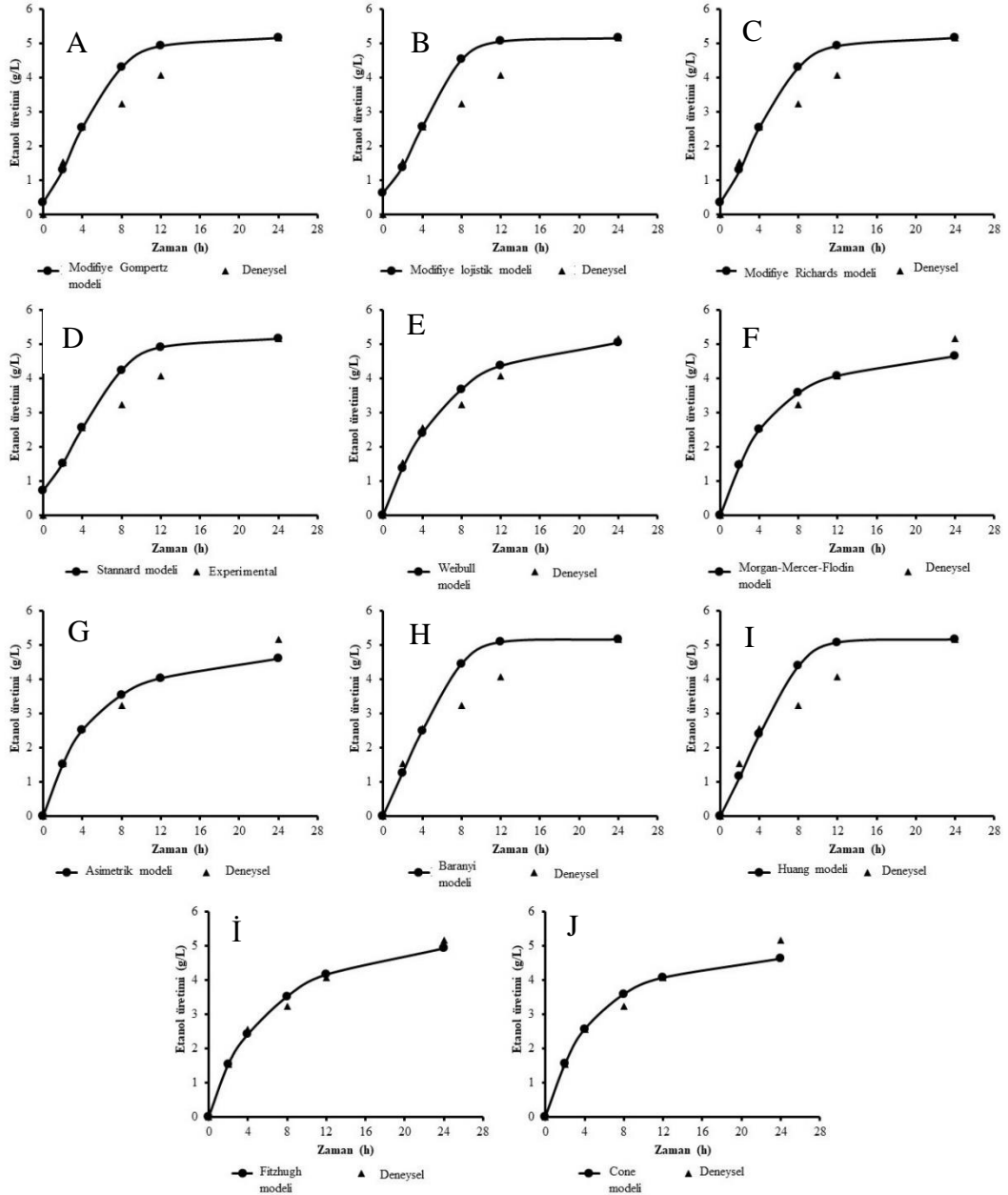
%50 RH + %50 G + YE + P ortamında biyofilm reaktördeki etanol oluşum eğrisinin karşılaştırılması, hem tahmin edilen değerlerin hem de gözlemlenen verilerin grafike edilmesi ve ham değerlerin verilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.9.A-J, Çizelge 4.69).

Çizelge 4.67. %50 RH + %50 G + YE + P ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun etanol üretimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler.

Modeller	Zaman (h)					
	0	2	4	8	12	24
Deneyisel	0,00	1,54	2,55	3,23	4,06	5,16
MGM	0,34	1,29	2,54	4,29	4,92	5,16
MLM	0,62	1,38	2,55	4,52	5,06	5,16
MRM	0,34	1,29	2,54	4,29	4,92	5,16
Stannard	0,72	1,52	2,55	4,23	4,91	5,16
Weibull	0,00	1,38	2,39	3,67	4,36	5,04
MMF	0,00	1,45	2,50	3,57	4,07	4,64
Asimetrik	0,00	1,51	2,51	3,54	4,03	4,60
Baranyi	0,00	1,26	2,48	4,44	5,08	5,16
Huang	0,00	1,15	2,38	4,38	5,07	5,16
Fitzhugh	0,00	1,54	2,41	3,51	4,15	4,92
Cone	0,00	1,54	2,56	3,59	4,07	4,62

Model tahminlerinden elde edilen sonuçlara göre, Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen P_{min} , fermentasyonun başlangıcındaki deneysel P_{min} 'e (0,00 g/L) eşit olarak tahmin edilmiştir (Şekil 4.9.E-J, Çizelge 4.69). Bununla beraber, MGM, MLM, MRM ve Stannard modelleri ile tahmin edilen P_{min} , gözlemlenen P_{min} 'den nispeten büyük olmuştur (Şekil 4.9.A-D, Çizelge 4.69). Benzer şekilde, deneysel fermentasyonun sonundaki P_{max} (5,16 g/L), MGM, MLM, MRM, Stannard, Baranyi ve Huang modelleri ile eşit olarak tahmin edilirken (Şekil 4.9.A-D, H ve I, Çizelge 4.69.) geriye kalan modellerin kullanımı ile tahmin edilen P_{max} , deneysel P_{max} 'dan nispeten küçük olmuştur (Şekil 4.9.E-G, İ ve J, Çizelge 4.69.). Diğer yandan, deneysel fermentasyonun 2. saatindeki etanol konsantrasyonu (1,54 g/L), Fitzhugh ve Cone modelleri ile eşit tahmin edilirken (Şekil 4.9.İ ve J, Çizelge 4.69) modellerin geri kalanı deneysel etanol konsantrasyonunu nispeten düşük tahmin etmiştir (Şekil 4.9.A-I, Çizelge 4.69). Deneysel fermentasyonun 4. saatindeki etanol konsantrasyonu (2,55 g/L), MLM ve Stannard modellerinin kullanımı ile eşit tahmin edilirken (Şekil 4.9.B ve D, Çizelge 4.69.) Cone modelin kullanımı ile nispeten yüksek

tahmin edilmiştir (Şekil 4.9.J, Çizelge 4.69.). Modellerin geri kalanı ile fermentasyonun 4. saatindeki etanol konsantrasyonunu nispeten düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.9.A, C ve E-I, Çizelge 4.69.). Etanol üretimini modellemek için kullanılan matematiksel modellerin tamamı, fermentasyonun 8. saatindeki etanol konsantrasyonunu (3,23 g/L) deneysel fermentasyondan oldukça yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.9.A-J, Çizelge 4.69.). Bunun yanı sıra, Asimetrik model hariç geriye kalan modellerin tamamı deneysel fermentasyonun 12. saatindeki etanol konsantrasyonunu (4,06 g/L) nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.9.A-J, Çizelge 4.69.).



Şekil 4.9. En iyi fermentasyon koşulları altında (%50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen etanol değerlerinin deneysel etanol değerleri ile grafike edilmesi.

Çizelge 4.65’de verilen model parametrelerinin kullanımı ile %50 RH + %50 G + YE + P ortamında biyofilm reaktörde etanol üretimi, deneysel verilere bağlı olarak yapısal olmayan matematiksel modeller ile tanımlanmıştır. Elde edilen model kıyaslama sonuçları Çizelge 4.70’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.70.’den elde edilen sonuçlara göre, en düşük RMSE, MAE ve MSD değerleri Fitzhugh modeli ile elde edilirken en yüksek RMSE, MAE ve MSD değerleri MLM ile belirlenmiştir. Bununla beraber, en yüksek R^2 değeri ve 1’e en yakın m değeri de Fitzhugh modeli ile belirlenmiştir. Benzer şekilde en düşük R^2 değeri ve 1’e en uzak m değeri sırasıyla MLM ve Asimetrik model ile elde edilmiştir. Bunun anlamı, MLM ve Asimetrik modellerinin etanol üretiminin deneysel verilerini tanımlamada başarısız olduğudur. Diğer yandan, modellerin başarılı olup olmadığının tespitinde AIC değeri de önemli bir ölçüt olarak kabul edilmiş olup en düşük AIC değerine sahip olan modelin deneysel verileri tanımlamada en iyi model olduğu söylenmektedir. En iyi koşullarda gerçekleştirilen deneysel fermentasyonun etanol üretiminin matematiksel modellemesinde en düşük AIC değerine sahip olan modelin Fitzhugh model olduğu tespit edilmiştir (AIC = -4,04, Çizelge 4.70.).

Çizelge 4.68. %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında etanol üretimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.

Modeller	Etanol üretimi (g/L)							
	RMSE	MAE	MSD	R^2	M	AIC	BF	AF
MGM	0,582	0,421	0,297	0,9346	1,058	11,01	0,953	1,116
MLM	0,715	0,512	0,362	0,9072	1,025	13,48	0,929	1,118
MRM	0,583	0,421	0,298	0,9344	1,058	17,52	0,953	1,116
Stannard	0,613	0,434	0,307	0,9325	0,977	11,62	0,929	1,083
Weibull	0,242	0,198	0,140	0,9824	1,032	0,48	1,000	1,069
MMF	0,256	0,168	0,119	0,9787	0,944	1,17	1,013	1,049
Asimetrik	0,263	0,162	0,115	0,9793	0,928	1,49	1,011	1,043
Baranyi	0,657	0,429	0,304	0,9275	1,134	18,95	0,949	1,137
Huang	0,649	0,453	0,321	0,9254	1,141	12,31	0,972	1,159
Fitzhugh	0,166	0,126	0,089	0,9902	0,982	-4,04	1,000	1,036
Cone	0,263	0,152	0,108	0,9775	0,933	1,49	1,000	1,038

İlaveten, Çizelge 4.70.’da BF ve AF değerleri gösterilmiştir. 1’den daha düşük bir BF değeri modelin genel olarak başarısız olduğu anlamına gelir. Buna göre, MGM, MLM, MRM, Stannard, Baranyi ve Huang modellerinin BF değerleri 1’den daha küçük olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.70). Bu sonuç, tahmin edilen değerlerin deneysel verilerden daha yüksek olduğunu gösterir. Diğer yandan MMF ve Asimetrik modellerin BF değerleri nispeten 1’den büyük olmuştur. Bu sonuç, MMF ve Asimetrik modelleri ile elde edilen tahminlerin nispeten daha düşük bir güven seviyesine neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Weibull, Fitzhugh ve Cone modelleri ile 1’e eşit BF değerleri elde edilmiştir. Bu sonuç ile modellerin herhangi bir yapısal sapma göstermediği ve dolayısıyla modellerin tam olduğu anlaşılmaktadır. İlaveten, Çizelge 70’da AF değerleri de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar, AF değerlerinin ortalama olarak tahminin gözlemlerden MGM için % 11,6, MLM için % 11,8, MRM için % 11,6, Stannard için % 8,3, Weibull için % 6,9, MMF için % 4,9, Asimetrik için % 4,3, Baranyi için % 13,7, Huang için

%15,9, Fitzhugh için %3,6 ve Cone için %3,8 oranında farklı olduğunu göstermektedir. Bu sonuca göre en düşük farklılık Fitzhugh modeli ile %3,6 düzeyinde elde edilirken en yüksek farklılık ise %15,9 ile Huang modelinde gözlemlenmiştir (Çizelge 4.70). **Sonuç olarak, Fitzhugh modelin kullanımının etanol üretimini açıkça temsil ettiğini düşük RMSE, MAE, MSD ve AIC değerleri, yüksek R^2 değeri, 1'e yakın m değeri, 1'e eşit olan BF değeri ve 1'e en yakın AF değeri göstermiştir. Böylece, Fitzhugh modeli, etanol üretiminin deneysel verilerini bu çalışmada kullanılan diğer matematiksel modellerden daha iyi tahmin edebilir. Ayrıca, Fitzhugh modelin kullanılmasıyla tahmin edilen değerler, etanol üretiminin deneysel verileri ile iyi bir uyum sağladığı sonucuna ulaşılmıştır.**

4.7.3. Şeker tüketiminin matematiksel modellemesi

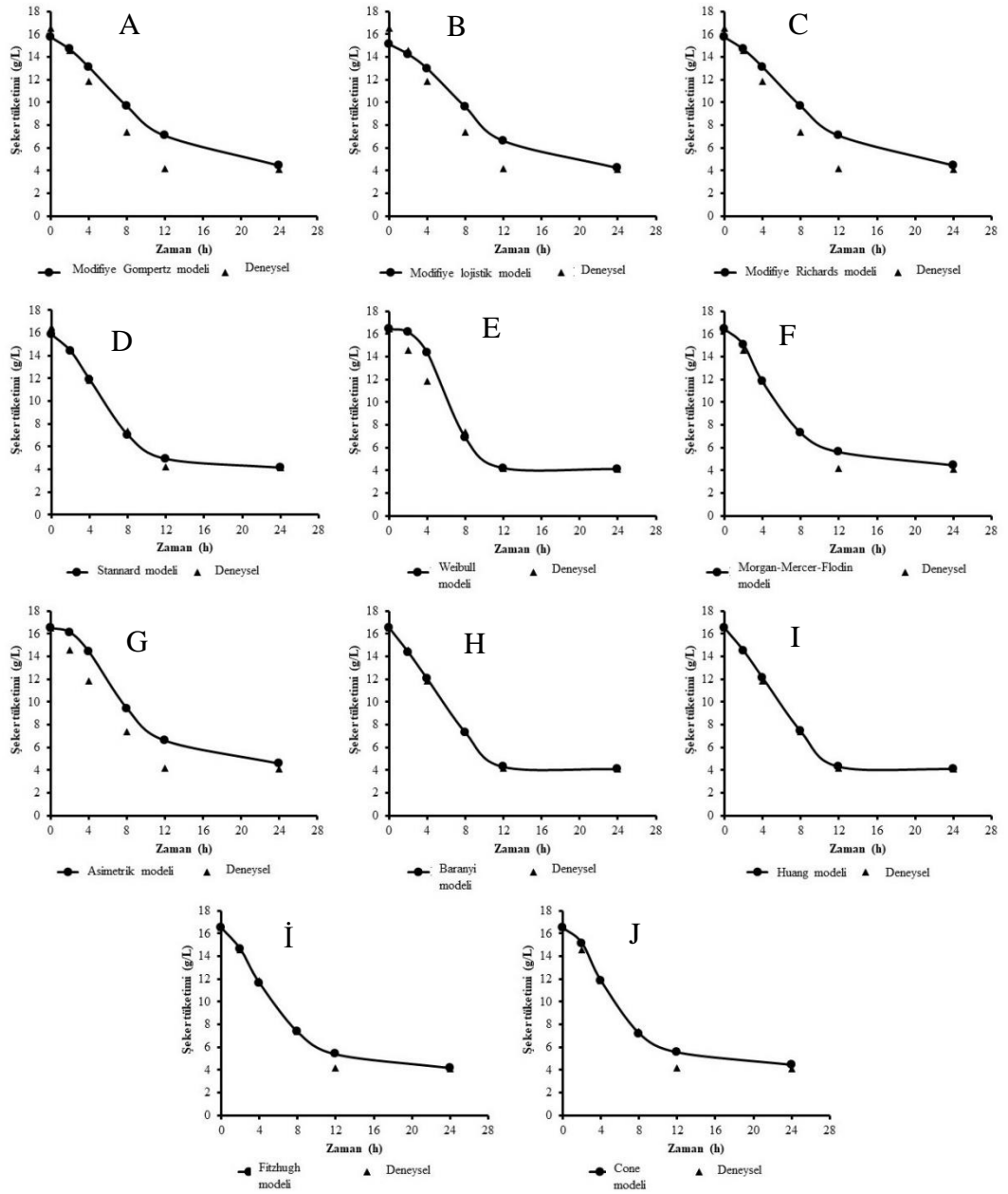
%50 RH + %50 G + YE + P ortamında biyofilm reaktördeki şeker tüketim eğrisinin karşılaştırılması, hem tahmin edilen değerlerin hem de gözlemlenen verilerin grafike edilmesi ve ham değerlerin verilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.10.A-J, Çizelge 4.71.).

Çizelge 4.69. %50 RH + %50 G + YE + P ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun şeker tüketimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler

Modeller	Zaman (h)					
	0	2	4	8	12	24
Deneysel	16,48	14,53	11,82	7,35	4,20	4,12
MGM	15,76	14,68	13,12	9,67	7,07	4,44
MLM	15,09	14,21	12,95	9,58	6,60	4,22
MRM	15,76	14,68	13,12	9,67	7,07	4,44
Stannard	15,84	14,38	11,88	7,01	4,91	4,13
Weibull	16,48	16,19	14,37	6,89	4,20	4,12
MMF	16,48	15,07	11,81	7,32	5,64	4,48
Asimetrik	16,48	16,11	14,40	9,42	6,59	4,57
Baranyi	16,48	14,36	12,02	7,32	4,31	4,12
Huang	16,48	14,49	12,12	7,42	4,32	4,12
Fitzhugh	16,48	14,63	11,66	7,36	5,39	4,19
Cone	16,48	15,15	11,83	7,20	5,54	4,43

Model tahminlerinden elde edilen sonuçlara göre, Weibull, Baranyi ve Huang modelleri ile tahmin edilen S_{min} , fermentasyonun sonundaki deneysel S_{min} 'e (4,12 g/L) eşit olarak tahmin edilmiştir (Şekil 4.10.E, H ve I, Çizelge 4.71). Modellerin geri kalanı ile tahmin edilen S_{min} , gözlemlenen S_{min} 'den nispeten büyük olmuştur (Şekil 4.10.A-D, F, G, İ ve J, Çizelge 4.71.). Benzer şekilde, deneysel fermentasyonun başlangıcındaki S_{max} (16,48 g/L), Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile eşit olarak tahmin edilirken (Şekil 4.10.E-J, Çizelge 4.71.) MGM, MLM, MRM ve Stannard modellerinin kullanımı ile tahmin edilen S_{max} , deneysel S_{max} 'dan nispeten küçük olmuştur (Şekil 4.10.A-D, Çizelge 4.71.). Diğer yandan, deneysel fermentasyonun 2. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonu (14,53 g/L), MLM, Stannard, Baranyi ve Huang

modelleri ile nispeten düşük tahmin edilirken (Şekil 4.10.B, D, H ve I, Çizelge 4.71.) modellerin geri kalanı deneysel kalıntı şeker konsantrasyonunu nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.10.A, C, E-G, İ ve J, Çizelge 4.71.). Deneysel fermentasyonun 4. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonu (11,82 g/L), yalnızca MMF ve Fitzhugh modellerinin kullanımı ile nispeten düşük tahmin edilirken (Şekil 4.10.F ve İ, Çizelge 4.71.) modellerin geri kalanı ile kalıntı şeker konsantrasyonu nispeten yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.10.A-E, G-I ve J, Çizelge 4.71.). MGM, MLM, MRM, Asimetrik, Huang ve Fitzhugh modelleri, fermentasyonun 8. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonunu (7,35 g/L) deneysel fermentasyondan yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.10.A-C, G, I ve J, Çizelge 4.71.). Bununla birlikte, Stannard, Weibull, MMF, Baranyi ve Cone modelleri ile deneysel fermentasyonun 8. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonu nispeten düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.10.D-F, H ve J, Çizelge 4.71.). İlâveten, Weibull model hariç geriye kalan modellerin tamamı deneysel fermentasyonun 12. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonunu (4,20 g/L) yüksek tahmin ederken (Şekil 4.10.A-D ve F-J, Çizelge 4.71) Weibull model, bu saatteki şeker konsantrasyonunu deneysel şeker konsantrasyonu ile aynı olarak tahmin etmiştir (Şekil 4.10.E, Çizelge 4.71).



Şekil 4.10. En iyi fermentasyon koşulları altında (%50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen kalıntı şeker konsantrasyonu değerlerinin deneysel kalıntı şeker konsantrasyonu değerleri ile grafike edilmesi.

Çizelge 4.65.'de verilen model parametrelerinin kullanımı ile %50 RH + %50 G + YE + P ortamında biyofilm reaktörde şeker tüketimi, deneysel verilere bağlı olarak bükülebilen matematiksel modeller ile tanımlanmıştır. Elde edilen model kıyaslama sonuçları Çizelge 4.72.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.70. %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında şeker tüketimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.

Modeller	Şeker tüketimi (g/L)							
	RMSE	MAE	MSD	R^2	m	AIC	BF	AF
MGM	1,631	1,280	0,905	0,9492	0,824	23,37	0,849	1,178
MLM	1,531	1,261	0,892	0,9407	0,803	22,61	0,874	1,153
MRM	1,630	1,279	0,904	0,9492	0,824	29,86	0,849	1,178
Stannard	0,419	0,318	0,225	0,9954	0,943	7,07	0,983	1,038
Weibull	1,258	0,780	0,552	0,9678	1,102	20,25	0,961	1,063
MMF	0,647	0,398	0,281	0,9903	0,948	12,27	0,934	1,073
Asimetrik	1,798	1,513	1,070	0,9601	0,944	24,54	0,832	1,202
Baranyi	0,116	0,083	0,059	0,9995	0,994	-1,89	0,996	1,010
Huang	0,136	0,088	0,062	0,9995	0,997	-6,42	0,990	1,011
Fitzhugh	0,494	0,254	0,180	0,9931	0,951	9,03	0,958	1,049
Cone	0,618	0,405	0,286	0,9901	0,958	11,73	0,940	1,071

Çizelge 4.72.'den elde edilen sonuçlara göre, en düşük RMSE, MAE ve MSD değerleri Baranyi ve Huang modelleri ile elde edilirken en yüksek RMSE, MAE ve MSD değerleri MGM ve MRM ile belirlenmiştir. Bununla beraber, en yüksek R^2 değeri ve 1'e en yakın m değeri de Baranyi ve Huang modelleri ile belirlenmiştir. Benzer şekilde en düşük R^2 değerleri ve 1'e en uzak m değerleri MGM, MLM ve MRM ile elde edilmiştir. Bunun anlamı, MGM, MLM ve MRM'nin şeker tüketiminin deneysel verilerini tanımlamada başarısız olduğudur. Diğer yandan, modellerin başarılı olup olmadığının tespitinde AIC değeri de önemli bir ölçüt olarak kabul edilmiş olup en düşük AIC değerine sahip olan modelin deneysel verileri tanımlamada en iyi model olduğu söylenmektedir. En iyi koşullarda gerçekleştirilen deneysel fermentasyonun etanol üretiminin matematiksel modellemesinde en düşük AIC değerine sahip olan modellerin Baranyi ve Huang modelleri olduğu tespit edilmiştir (Baranyi modeli için AIC = -1.89, Huang modeli için AIC = -6.42, Çizelge 4.72.). AIC değerinin en yüksek olduğu değerler ise şeker tüketiminin deneysel verilerinin MGM, MLM, MRM, Weibull, MMF, Asimetrik ve Cone modelleri ile modellenmesinden elde edilmiştir (Çizelge 4.72.). İlâveten, Çizelge 4.72.'de BF ve AF değerleri gösterilmiştir. 1'den daha düşük bir BF değeri modelin genel olarak başarısız olduğu anlamına gelir. Buna göre, çalışmada kullanılan bütün modellerin BF değerleri 1'den daha küçük olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.72.). Bu sonuç, öngörülen değerlerin gözlemlenen verilerden daha yüksek olduğunu gösterir. Ancak, Stannard, Baranyi ve Huang modellerinin BF değerleri 1'e oldukça yakın hesaplanmıştır. Bu sonuç ile (özellikle Baranyi ve Huang modellerinin sonuçları ile) modellerin herhangi bir yapısal sapma göstermediği ve dolayısıyla modellerin nispeten tam olduğu anlaşılmaktadır. İlâveten, Çizelge 4.72.'de AF değerleri de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar, AF değerlerinin ortalama olarak tahminin gözlemlerden MGM için %17,8, MLM için %15,3, MRM için %17,8, Stannard için %3,8, Weibull için %6,3, MMF için %7,3, Asimetrik için %20,2, Baranyi için %1, Huang için %1,1, Fitzhugh için %4,9 ve Cone için %7,1 oranında farklı olduğunu göstermektedir. Bu sonuca göre en düşük farklılık Baranyi modeli ile %1 düzeyinde elde edilirken en yüksek farklılık ise %20,2 ile Asimetrik modelde gözlemlenmiştir (Çizelge 4.72.). **Sonuç olarak, Baranyi ve Huang modellerinin kullanımının şeker tüketimini açıkça temsil ettiğini düşük RMSE, MAE, MSD ve AIC değerleri, yüksek R^2 değerleri, 1'e yakın m**

değerleri, 1'e oldukça yakın olan BF değerleri ve 1'e en yakın AF değerleri göstermiştir. Böylece, Baranyi ve Huang modelleri, şeker tüketiminin deneysel verilerini bu çalışmada kullanılan diğer matematiksel modellerden daha iyi tahmin edebilir. Ayrıca, Baranyi ve Huang modellerinin kullanılmasıyla tahmin edilen değerler, şeker tüketiminin deneysel verileri ile iyi bir uyum sağladığı ortaya çıkmıştır.

4.7.4. Deneysel ve tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması (%50 RH + %50 G + YE + P)

Diğer yandan, modellerden hesaplanan kinetik değerler kullanılarak deneysel kinetik değerler ile daha fazla kıyaslama gerçekleştirilmiştir. Deneysel ve tahmin edilen kinetik değerlere ait veriler Çizelge 4.73.'da gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çalışmada kullanılan bütün matematiksel modeller ile tahmin edilen X değerleri deneysel X değerinden düşük hesaplanmıştır. Bununla beraber, Baranyi ve Huang modelleri ile tahmin edilen P değerleri deneysel P değerine eşit olarak hesaplanırken diğer modeller ile tahmin edilen P değerleri deneysel P 'den daha düşük hesaplanmıştır. Ayrıca, Weibull, Baranyi ve Huang modelleri ile tahmin edilen S ve SUY değerleri deneysel S ve SUY değerlerine eşit olarak hesaplanmıştır. Buradan, tahmin edilen S_{max} değerlerinin deneysel S_{max} değerine eşit olduğu da anlaşılmaktadır. Geriye kalan modellerin kullanımı ile deneysel S ve SUY değerleri daha düşük hesaplanmıştır. Deneysel $Y_{X/S}$ değeri, MGM ve MRM hariç geriye kalan modeller ile düşük tahmin edilirken MGM ve MRM nispeten yüksek tahmin etmiştir. Baranyi ve Huang modelleri ile tahmin edilen $Y_{P/S}$ ve TY değerleri, deneysel $Y_{P/S}$ ve TY değerlerine eşit olmuştur. Bununla beraber, MGM, MLM ve MRM ile deneysel $Y_{P/S}$ ve TY değerleri daha yüksek tahmin edilirken modellerin geri kalanı ile bu değerler daha düşük tahmin edilmiştir. MGM, MLM, MRM, Weibull, Baranyi ve Huang modelleri ile tahmin edilen $Y_{P/X}$ değerleri, deneysel değerden daha yüksek tahmin edilmiş olup geriye kalan modeller ile daha düşük öngörülmüştür. Diğer yandan, MMF ve Cone modelleri ile tahmin edilen Q_X değeri deneysel değere eşit olmuştur. Asimetrik model ile tahmin edilen bu değer deneysel değerden daha yüksek tahmin edilmiştir. Bu üç modelin dışındaki modeller ile tahmin edilen Q_X değerleri, deneysel Q_X değerinden düşük tahmin edilmiştir. Cone modeli ile tahmin edilen Q_P değeri hariç diğer modeller ile tahmin edilen Q_P değerleri, deneysel değerden düşük öngörülmüştür. Stannard, Weibull, MMF, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen Q_S değerleri, deneysel değerden daha yüksek hesaplanmış olup modellerin geri kalanı ile deneysel Q_S değeri daha düşük tahmin edilmiştir. MMF ve Cone modelleri ile tahmin edilen μ_{max} değerleri deneysel değere eşit olmuştur. Asimetrik model ile tahmin edilen μ_{max} değeri ise deneysel değerden oldukça yüksek hesaplanmıştır. Bununla beraber, modellerin geri kalanı ile öngörülen μ_{max} değerleri, deneysel değerden oldukça düşük hesaplanmıştır.

Çizelge 4.71. %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında gerçekleştirilen etanol fermentasyonunun verilerinden hesaplanan deneysel kinetik parametreler ile ve matematiksel modeller kullanılarak tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması

Modeller	Kinetik parametreler											
	X (g/L)	P (g/L)	S (g/L)	Y _{X/S} (%)	Y _{P/S} (%)	Y _{P/X} (g/g)	Q _X (g/L/h)	Q _P (g/L/h)	Q _S (g/L/h)	μ _{max} (h ⁻¹)	SUY (%)	TY (%)
Deneysel	1,21	5,16	12,36	9,79	41,75	4,26	0,130	0,638	1,185	0,195	75,00	81,70
MGM	1,11	4,82	11,33	9,81	42,51	4,33	0,089	0,549	0,839	0,114	71,84	83,20
MLM	1,06	4,54	10,88	9,76	41,78	4,28	0,087	0,519	0,794	0,093	72,06	81,77
MRM	1,11	4,81	11,32	9,81	42,51	4,33	0,089	0,549	0,839	0,114	71,85	83,19
Stannard	1,12	4,43	11,71	9,58	37,86	3,95	0,088	0,457	1,228	0,115	73,92	74,09
Weibull	1,16	5,04	12,36	9,39	40,74	4,34	0,125	0,597	1,597	0,190	75,00	79,73
MMF	1,13	4,64	12,00	9,39	38,69	4,12	0,130	0,625	1,269	0,195	72,83	75,71
Asimetrik	1,15	4,60	11,91	9,69	38,59	3,98	0,185	0,628	1,133	0,247	72,26	75,53
Baranyi	1,11	5,16	12,36	8,99	41,75	4,64	0,084	0,621	1,174	0,141	75,00	81,70
Huang	1,11	5,16	12,36	8,97	41,75	4,65	0,080	0,595	1,179	0,137	75,00	81,70
Fitzhugh	1,16	4,92	12,29	9,46	40,01	4,23	0,124	0,603	1,192	0,189	74,58	78,30
Cone	1,13	4,62	12,05	9,39	38,37	4,08	0,130	0,640	1,301	0,195	73,10	75,08

4.8. Biyofilm reaktörde %75 pirinç kavuzu hidrolizatı (RH) + %25 Ksiloz + YE + P besiyeri ortamında gerçekleştirilen fermentasyonun matematiksel modellemesi

4.8.1. Hücre gelişiminin matematiksel modellemesi

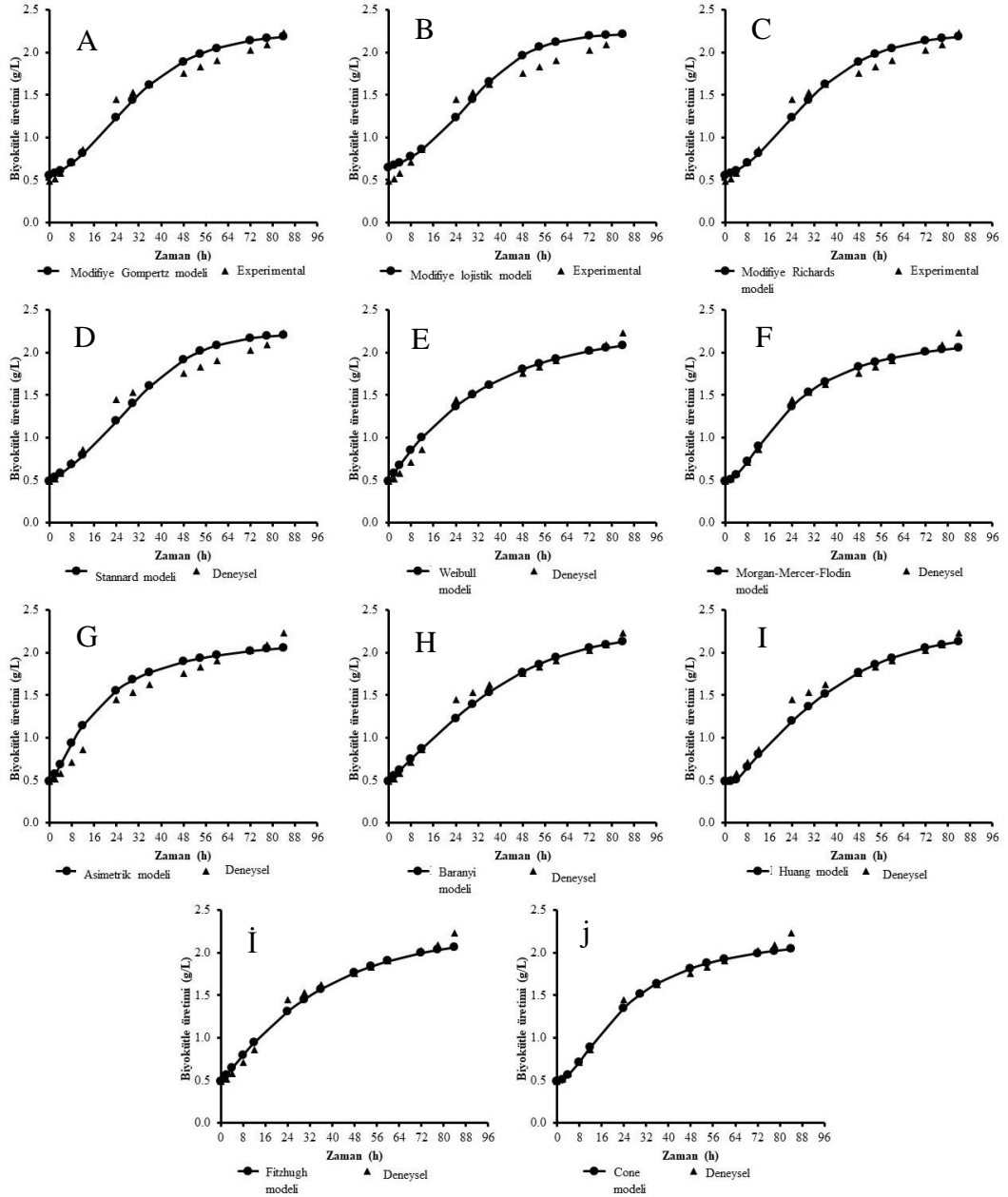
%75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktördeki biyokütle gelişim eğrisinin karşılaştırılması, hem tahmin edilen değerlerin hem de gözlemlenen verilerin grafike edilmesi ve ham değerlerin verilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.11.A-J, Çizelge 4.74.).

Çizelge 4.72. %75 RH + %25 K + YE + P gerçekleştirilen fermentasyonun biyokütle gelişimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler

Modeller	Zaman (h)													
	0	2	4	8	12	24	30	36	48	54	60	72	78	84
Deneysel	0,48	0,51	0,57	0,71	0,86	1,44	1,53	1,63	1,76	1,83	1,90	2,02	2,09	2,23
MGM	0,55	0,57	0,61	0,70	0,81	1,23	1,44	1,62	1,89	1,98	2,05	2,14	2,16	2,18
MLM	0,64	0,67	0,70	0,77	0,86	1,23	1,45	1,66	1,96	2,06	2,12	2,19	2,21	2,22
MRM	0,55	0,57	0,61	0,70	0,81	1,23	1,44	1,62	1,89	1,98	2,05	2,14	2,16	2,18
Stannard	0,49	0,53	0,58	0,68	0,79	1,19	1,40	1,60	1,91	2,01	2,09	2,17	2,19	2,21
Weibull	0,48	0,58	0,67	0,84	1,00	1,36	1,50	1,62	1,80	1,87	1,92	2,01	2,05	2,08
MMF	0,48	0,51	0,56	0,71	0,89	1,36	1,53	1,66	1,83	1,89	1,94	2,00	2,03	2,05
Asimetrik	0,48	0,57	0,68	0,93	1,14	1,55	1,68	1,77	1,89	1,93	1,97	2,02	2,04	2,06
Baranyi	0,48	0,55	0,61	0,74	0,87	1,23	1,39	1,53	1,77	1,86	1,94	2,05	2,09	2,13
Huang	0,48	0,48	0,50	0,65	0,80	1,19	1,36	1,51	1,76	1,86	1,94	2,05	2,09	2,12
Fitzhugh	0,48	0,56	0,64	0,80	0,94	1,31	1,45	1,57	1,76	1,84	1,90	2,00	2,03	2,07
Cone	0,48	0,51	0,56	0,71	0,89	1,34	1,51	1,64	1,81	1,87	1,92	1,99	2,02	2,04

Model tahminlerinden elde edilen sonuçlara göre, Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen X_{min} , fermentasyonun başlangıcındaki deneysel X_{min} 'e (0,48 g/L) eşit olarak tahmin edilmiştir (Şekil 4E-J, Çizelge 4.74.). Bununla beraber, gözlemlenen X_{min} değerleri, MGM, MLM, MRM ve Stannard modelleri yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.11.A-D, Çizelge 4.74.). Benzer şekilde, deneysel fermentasyonun sonundaki X_{max} (2,23 g/L), çalışmada kullanılan tüm matematiksel modeller ile nispeten düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.11.A-J, Çizelge 4.74.). Diğer yandan, deneysel fermentasyonun 2. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (0,51 g/L), sadece Huang model ile nispeten düşük tahmin edilirken (Şekil 4I, Çizelge 10) MMF ve Cone modelleri tahmin edilen biyokütle konsantrasyonu, deneysel biyokütle konsantrasyonuna eşit olmuştur (Şekil 4.11.F ve J, Çizelge 4.74.). Modellerin geri kalanı ile de deneysel fermentasyonun 2. saatindeki biyokütle konsantrasyonu nispeten yüksek öngörülmüştür (Şekil 4.11.A-E, G, H ve İ, Çizelge 4.74.). Deneysel fermentasyonun 4. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (0,57 g/L), MMF, Huang ve Cone modellerinin kullanımı ile düşük tahmin edilirken (Şekil 4.11.F, I ve J, Çizelge 4.74.) modellerin geri kalanı ile yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.11.A-E, G, H ve İ, Çizelge 4.74.). MMF ve Cone modelleri, deneysel fermentasyonun 8. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu (0,71 g/L) aynı olarak tahmin ederken (Şekil 4.11.F ve J, Çizelge 4.74.) MGM, MRM, Stannard ve Huang modelleri biyokütle konsantrasyonunu deneysel fermentasyondan

nispeten düşük tahmin etmiştir (Şekil 4.11.A, C, D ve I, Çizelge 4.74.) Geriye kalan modeller ile fermentasyonun 8. saatindeki biyokütle konsantrasyonu deneysel fermentasyondan yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.11.B, E, G, H ve İ, Çizelge 4.74.). Diğer yandan, sadece MLM ile tahmin edilen biyokütle konsantrasyonu, deneysel fermentasyonun 12. saatindeki biyokütle konsantrasyonuna (0,86 g/L) eşit olmuştur (Şekil 4.11.B, Çizelge 4.74.). MGM, MRM, Stannard ve Huang modelleri ile tahmin edilen biyokütle konsantrasyonu, deneysel fermentasyonunkinden nispeten düşük olmuştur (Şekil 4.11.A, C, D, ve I, Çizelge 4.74.). Modellerin geri kalanı da, biyokütle konsantrasyonunu yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.11.E-H, İ ve J, Çizelge 4.74.).



Şekil 4.11. Kullanılan matematiksel modeller ile %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında fit edilen *P. stipitis* (ATCC 58785) mayasının hücre gelişim eğrileri.

Asimetrik model hariç (Şekil 4.11.G, Çizelge 4.74.) deneysel fermentasyonun 24. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (1,44 g/L) modellerin geri kalanı ile düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.11.A-F ve H-J, Çizelge 4.74.). MMF model, gözlemlenen fermentasyonun 30. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu (1,53 g/L) aynı olarak tahmin ederken (Şekil 4.11.F, Çizelge 4.74.) Asimetrik model aynı saatteki konsantrasyonu yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.11.G, Çizelge 4.74.). Bununla beraber, modellerin geri kalanı da aynı saatteki deneysel verileri düşük tahmin etmiştir (Şekil 4.11.A-E ve H-J, Çizelge 4.74.). Fermentasyonun 36. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (1,63 g/L) MLM, MMF, Asimetrik ve Cone modelleri ile yüksek öngörülürken (Şekil 4.11.B, F, G ve J, Çizelge 4.74.) modellerin geri kalanı düşük tahmin etmiştir (Şekil 4.11.A, C-E ve H-İ, Çizelge 4.74.). Huang ve Fitzhugh modelleri, fermentasyonun 48. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu (1,76 g/L) deneysel fermentasyona eşit olarak tahmin etmiştir (Şekil 4.11.I ve İ, Çizelge 4.74.). Modellerin geri kalanı da fermentasyonun 48. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu deneysel fermentasyona göre yüksek öngörmüştür (Şekil 4.11.A-H ve J, Çizelge 4.74.). Ayrıca, çalışmada kullanılan bütün matematiksel modeller, fermentasyonun 54. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu (1,83 g/L) nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.11.A-J, Çizelge 4.74.). Fitzhugh modeli hariç geriye kalan modellerin tamamı fermentasyonun 60. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu (1,90 g/L) yüksek öngörmüş olup (Şekil 4.11.A-I ve J, Çizelge 4.74.) Fitzhugh modeli aynı saatteki biyokütle konsantrasyonunu eşit olarak tahmin etmiştir (Şekil 4.11.İ, Çizelge 4.74.). Diğer yandan, fermentasyonun 72. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (2,02 g/L), Asimetrik model ile aynı tahmin edilirken (Şekil 4.11.G, Çizelge 4.74.) Weibull, MMF, Fitzhugh ve Cone modelleri ile düşük tahmin edilmiş olup (Şekil 4E, F, İ ve J, Çizelge 4.74.) modellerin geri kalanı da biyokütle konsantrasyonunu nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.11.A-D, H ve I). Deneysel fermentasyonun 78. saatindeki biyokütle konsantrasyonu (2,09 g/L), MGM, MLM, MRM ve Stannard modeli ile yüksek tahmin edilirken (Şekil 4.11.A-D, Çizelge 4.74.) Baranyi ve Huang modelleri ile eşit tahmin edilmiştir (Şekil 4.11.H ve I, Çizelge 4.74) Modellerin geri kalanı da fermentasyonun 78. saatindeki biyokütle konsantrasyonunu deneysel fermentasyona göre nispeten düşük öngörmüştür (Şekil 4.11.E-G, İ ve J, Çizelge 4.74.).

Çizelge 4.66.'de verilen model parametrelerinin kullanımı ile %75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktörde maya gelişimi, deneysel verilere bağlı olarak sigmoidal gelişim fonksiyonları ile tanımlanmıştır. Elde edilen model kıyaslama sonuçları Çizelge 4.75.'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.75. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında biyokütle üretimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.

Modeller	Biyokütle üretimi (g/L)							
	RMSE	MAE	MSD	R^2	m	AIC	BF	AF
MGM	0,102	0,085	0,060	0,9763	1,026	-46,29	0,980	1,069
MLM	0,148	0,127	0,090	0,9618	1,002	-35,95	0,924	1,117
MRM	0,103	0,086	0,060	0,9763	1,026	-39,73	0,980	1,069
Stannard	0,122	0,094	0,067	0,9714	1,071	-41,32	1,000	1,064
Weibull	0,079	0,062	0,044	0,9891	0,917	-53,45	0,966	1,062
MMF	0,063	0,043	0,030	0,9900	0,974	-60,04	1,005	1,027
Asimetrik	0,137	0,114	0,081	0,9706	0,917	-38,11	0,922	1,101
Baranyi	0,082	0,056	0,040	0,9839	0,968	-46,04	1,009	1,045
Huang	0,096	0,068	0,048	0,9838	1,011	-48,05	1,053	1,061
Fitzhugh	0,076	0,058	0,041	0,9903	0,921	-54,82	0,993	1,052
Cone	0,065	0,042	0,030	0,9905	0,966	-59,09	1,012	1,026

Çizelge 75'den elde edilen sonuçlara göre, en düşük RMSE, MAE ve MSD değerleri MMF ve Cone modelleri ile elde edilirken en yüksek RMSE, MAE ve MSD değerleri MLM ve Asimetrik model ile belirlenmiştir. Bununla beraber, en yüksek R^2 değeri ve 1'e en yakın m değeri sırasıyla Cone ve MLM modelleri ile tespit edilmiştir. Benzer şekilde en düşük R^2 değeri ve 1'e en uzak m değeri sırasıyla MLM ve Weibull model ile elde edilmiştir. Diğer yandan, modellerin başarılı olup olmadığının tespitinde AIC değeri de önemli bir ölçüt olarak kabul edilmiş olup en düşük AIC değerine sahip olan modelin deneysel verileri tanımlamada en iyi model olduğu öne sürülmektedir. En iyi koşullarda gerçekleştirilen deneysel fermentasyonun biyokütle üretiminin matematiksel modellemesinde en düşük AIC değerine sahip olan modelin MMF ve Cone modelleri olduğu tespit edilmiştir (MMF için AIC = -60,04, Cone için AIC = -59,09, Çizelge 4.75.). İlave olarak, Çizelge 4.75.'de BF ve AF değerleri gösterilmiştir. 1'den daha düşük bir BF değeri modelin genel olarak başarısız olduğu anlamına gelir. Buna göre, MGM, MLM, MRM, Weibull, Asimetrik ve Fitzhugh modellerinin BF değerleri 1'den daha küçük olmuştur (Çizelge 4.75.). Bu sonuç, tahmin edilen değerlerin deneysel verilerden daha yüksek olduğunu gösterir. Diğer yandan MMF ve Fitzhugh modellerinin BF değerleri 1'e oldukça yakinken MGM, MLM, MRM, Weibull ve Asimetrik modelleri 1'den oldukça uzak BF değerlerine sahip olmuştur. Bu sonuç, 1'den oldukça uzak modeller ile elde edilen tahminlerin daha düşük bir güven seviyesine neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Stannard model ile 1'e eşit BF değeri elde edilmiştir. Bu sonuç ile modellerin herhangi bir yapısal sapma göstermediği ve dolayısıyla modellerin tam olduğu anlaşılmaktadır. İlave olarak, Çizelge 4.75.'de AF değerleri de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar, AF değerlerinin ortalama olarak tahminin gözlemlerden MGM için %6,9, MLM için %11,7, MRM için %6,9, Stannard için %6,4, Weibull için %6,2, MMF için %2,7, Asimetrik için %10,1, Baranyi için %4,5, Huang için %6,1, Fitzhugh için %5,2 ve Cone için %2,6 oranında farklı olduğunu göstermektedir. Bu sonuca göre en düşük farklılık Cone modeli ile %2,6 düzeyinde elde edilirken en yüksek farklılık ise %11,7 ile MLM'de gözlemlenmiştir (Çizelge 4.75.). **Sonuç olarak, MMF ve Cone modellerinin kullanımının biyokütle üretimini açıkça temsil ettiğini düşük RMSE, MAE, MSD ve AIC değerleri, yüksek R^2 değeri, 1'e yakın m değeri, 1'e eşit olan BF değeri ve 1'e en**

yakın AF değeri göstermiştir. Böylece, MMF ve Cone modelleri, biyokütle üretiminin deneysel verilerini bu çalışmada kullanılan diğer matematiksel modellerden daha iyi öngörebilir. Ayrıca, MMF ve Cone modellerin kullanılmasıyla tahmin edilen değerler, biyokütle üretiminin deneysel verileri ile iyi bir uyum gösterdiği anlaşılmıştır.

4.8.2. Etanol üretiminin matematiksel modellemesi

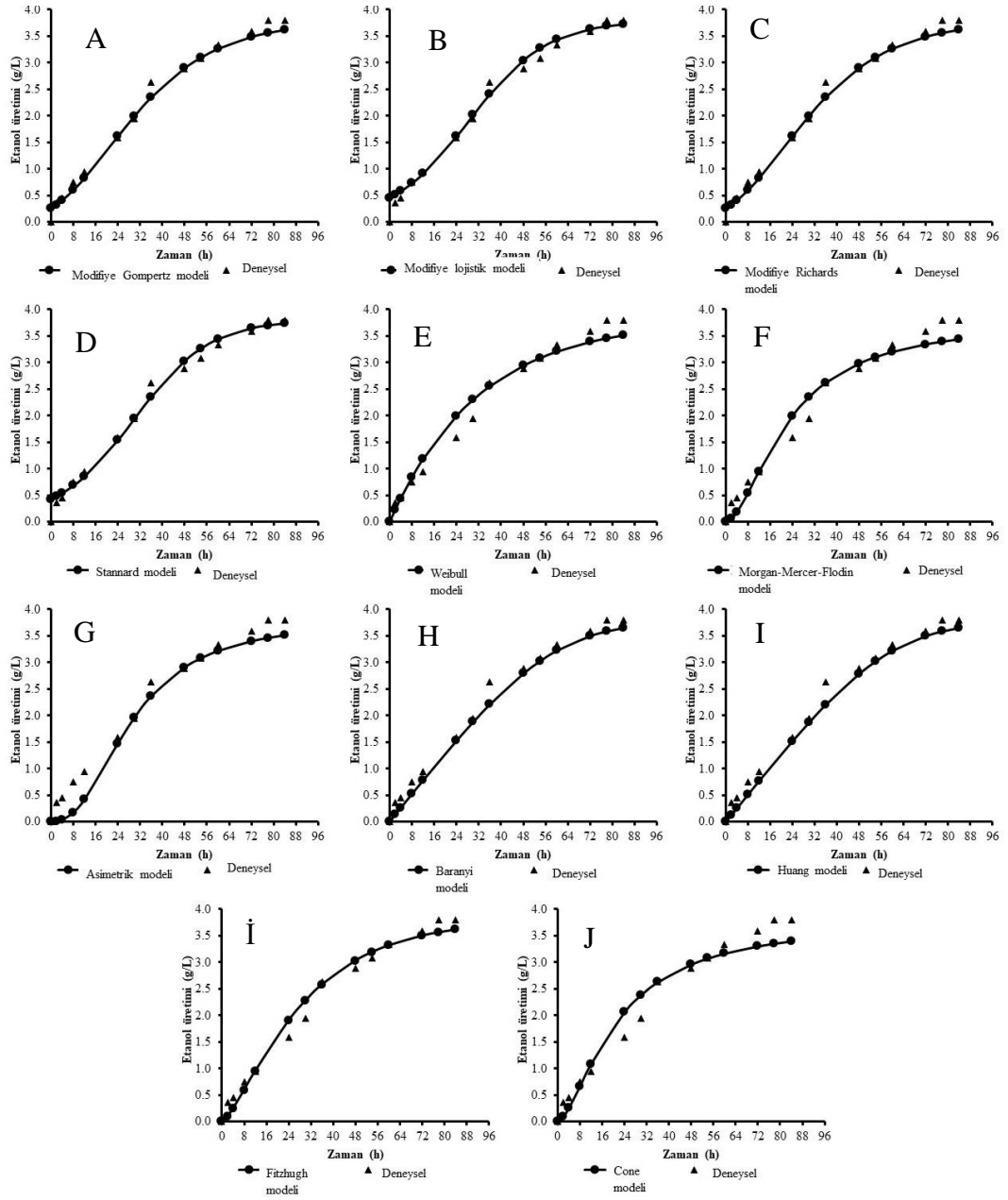
%75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktördeki etanol oluşum eğrisinin karşılaştırılması, hem tahmin edilen değerlerin hem de gözlemlenen verilerin grafike edilmesi ve ham değerlerin verilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.12.A-J, Çizelge 4.76.).

Model tahminlerinden elde edilen sonuçlara göre, Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen P_{min} , fermentasyonun başlangıcındaki deneysel P_{min} 'e (0,00 g/L) eşit olarak tahmin edilmiştir (Şekil 5E-J, Çizelge 4.76.). Bununla beraber, deneysel P_{min} değerleri, MGM, MLM, MRM ve Stannard modelleri ile yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.12.A-D, Çizelge 4.76.). Benzer şekilde, deneysel fermentasyonun sonundaki P_{max} (3,80 g/L), çalışmada kullanılan tüm matematiksel modeller ile nispeten düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.12.A-J, Çizelge 4.76.). Diğer yandan, MLM ve Stannard modeli hariç (Şekil 4.12.B ve D, Çizelge 4.76.), deneysel fermentasyonun 2. ve 4. saatlerindeki etanol konsantrasyonu (sırasıyla 0,36 ve 0,45 g/L) diğer modellerin uygulanması ile nispeten yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.12A, C ve E-J, Çizelge 4.76.). Weibull model hariç (Şekil 4.12.E, Çizelge 4.76.), deneysel fermentasyonun 8. saatindeki etanol konsantrasyonu (0,75 g/L), modellerin geri kalanı ile nispeten düşük öngörülmüştür (Şekil 4.12.A-D ve F-J, Çizelge 4.76.). MMF ve Fitzhugh modelleri, fermentasyonun 12. saatindeki etanol konsantrasyonunu (0,95 g/L) deneysel fermentasyon ile aynı olarak tahmin ederken (Şekil 4.12.F ve İ, Çizelge 4.76.) Weibull ve Cone modelleri aynı saatteki etanol konsantrasyonunu deneysel fermentasyondan nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.12.E ve J, Çizelge 4.76.). Geriye kalan modeller ile fermentasyonun 12. saatindeki etanol konsantrasyonu deneysel fermentasyondan nispeten düşük öngörülmüştür (Şekil 4.12.A-D ve G-I, Çizelge 4.76.).

Çizelge 4.73. %75 RH + %25 K + YE + P gerçekleştirilen fermentasyonun etanol üretimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler

Modeller	Zaman (h)													
	0	2	4	8	12	24	30	36	48	54	60	72	78	84
Deneysel	0,00	0,36	0,45	0,75	0,95	1,58	1,95	2,63	2,89	3,08	3,34	3,59	3,80	3,80
MGM	0,25	0,32	0,40	0,60	0,82	1,61	2,00	2,34	2,90	3,10	3,26	3,49	3,56	3,62
MLM	0,45	0,51	0,58	0,73	0,91	1,61	2,01	2,40	3,04	3,27	3,43	3,63	3,69	3,73
MRM	0,25	0,32	0,40	0,60	0,82	1,61	2,00	2,35	2,90	3,10	3,26	3,49	3,56	3,62
Stannard	0,43	0,48	0,54	0,69	0,86	1,54	1,95	2,35	3,03	3,26	3,44	3,64	3,70	3,73
Weibull	0,00	0,23	0,44	0,83	1,18	1,99	2,30	2,56	2,94	3,09	3,21	3,39	3,46	3,52
MMF	0,00	0,06	0,18	0,54	0,95	1,99	2,35	2,61	2,98	3,10	3,20	3,34	3,39	3,44
Asimetrik	0,00	0,01	0,04	0,17	0,42	1,47	1,96	2,36	2,90	3,08	3,21	3,39	3,46	3,51
Baranyi	0,00	0,13	0,26	0,52	0,78	1,53	1,88	2,21	2,79	3,03	3,22	3,50	3,59	3,66
Huang	0,00	0,12	0,25	0,51	0,77	1,51	1,87	2,20	2,78	3,02	3,22	3,50	3,59	3,65
Fitzhugh	0,00	0,09	0,24	0,59	0,95	1,90	2,27	2,58	3,03	3,19	3,32	3,50	3,56	3,61
Cone	0,00	0,09	0,25	0,66	1,08	2,06	2,38	2,63	2,96	3,07	3,17	3,30	3,35	3,40

Fermentasyonun 24. saatindeki etanol konsantrasyonu Stannard, Asimetrik, Baranyi ve Huang modelleri ile deneysel fermentasyondan (1,58 g/L) nispeten düşük tahmin edilirken (Şekil 4.12.D ve G-I, Çizelge 4.76.) modellerin geri kalanı ile aynı saatteki etanol konsantrasyonu nispeten yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 5A-C, E, F, İ ve J, Çizelge 12). Stannard model, gözlemlenen fermentasyonun 30. saatindeki etanol konsantrasyonunu (1,95 g/L) aynı olarak tahmin ederken (Şekil 4.12.D, Çizelge 4.76) Baranyi ve Huang modelleri aynı saatteki konsantrasyonu nispeten düşük tahmin etmiştir (Şekil 5H ve I, Çizelge 12). Bununla beraber, modellerin geri kalanı da aynı saatteki deneysel verileri nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.12.A-C, E-G, I ve J, Çizelge 4.76.). Cone modeli hariç fermentasyonun 36. saatindeki etanol konsantrasyonu (2,63 g/L) modellerin geri kalanı ile düşük öngörülürken (Şekil 4.12.A-İ, Çizelge 4.76.) Cone modeli aynı saatteki etanol konsantrasyonunu deneysel veri ile eşit tahmin etmiştir (Şekil 4.12.J, Çizelge 4.76.). MGM, Baranyi ve Huang modelleri, fermentasyonun 48. saatindeki etanol konsantrasyonunu deneysel fermentasyondan (2,89 g/L) düşük tahmin etmiştir (Şekil 4.12.A, H ve I, Çizelge 4.76.). Modellerin geri kalanı da fermentasyonun 48. saatindeki etanol konsantrasyonunu deneysel fermentasyona göre yüksek öngörmüştür (Şekil 4.12.B-G, İ ve J, Çizelge 4.76.). Çalışmada kullanılan Asimetrik model, fermentasyonun 54. saatindeki etanol konsantrasyonunu deneysel etanol konsantrasyonu (3,08 g/L) ile aynı tahmin etmiştir (Şekil 4.12.G, Çizelge 4.76.). Baranyi, Huang ve Cone modelleri ise aynı saatteki etanol konsantrasyonunu deneysel etanol konsantrasyonundan nispeten düşük tahmin ederken (Şekil 4.12.H, I ve J, Çizelge 4.76.) modellerin geri kalanı da yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.12.A-F ve İ, Çizelge 4.76.). MLM ve Stannard modelleri hariç geriye kalan modellerin tamamı deneysel fermentasyonun 60. ve 72. saatindeki etanol konsantrasyonunu (sırasıyla 3,34 ve 3,59 g/L) nispeten düşük öngörmüş olup (Şekil 4.12.A, C ve E-J, Çizelge 4.76.) MLM ve Stannard modelleri aynı saatlerdeki etanol konsantrasyonunu nispeten düşük olarak tahmin etmiştir (Şekil 4.12.B ve D, Çizelge 4.76.). Deneysel fermentasyonun 78. saatindeki etanol konsantrasyonu (3,80 g/L), çalışmada kullanılan tüm matematiksel modeller ile nispeten düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.12.A-J, Çizelge 4.76.).



Şekil 4.12. En iyi fermentasyon koşulları altında (%75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen etanol değerlerinin deneysel etanol değerleri ile grafike edilmesi.

Çizelge 4.66.'de verilen model parametrelerinin kullanımı ile %75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktörde etanol üretimi, deneysel verilere bağlı olarak yapısal olmayan matematiksel modeller ile tanımlanmıştır. Elde edilen model kıyaslama sonuçları Çizelge 4.77.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.74. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında etanol üretimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.

Modeller	Etanol üretimi (g/L)							
	RMSE	MAE	MSD	R^2	m	AIC	BF	AF
MGM	0,144	0,113	0,080	0,9920	0,954	-36,80	1,058	1,066
MLM	0,167	0,127	0,090	0,9882	0,947	-32,58	0,956	1,076
MRM	0,143	0,113	0,080	0,9920	0,954	-30,36	1,058	1,066
Stannard	0,164	0,126	0,089	0,9863	0,960	-33,06	0,979	1,075
Weibull	0,212	0,164	0,116	0,9779	0,924	-25,97	1,000	1,113
MMF	0,255	0,204	0,144	0,9665	0,968	-20,75	1,233	1,315
Asimetrik	0,298	0,230	0,163	0,9826	1,041	-16,44	1,927	1,930
Baranyi	0,178	0,146	0,104	0,9943	1,000	-24,36	1,199	1,199
Huang	0,185	0,154	0,109	0,9942	1,001	-29,81	1,216	1,216
Fitzhugh	0,184	0,150	0,106	0,9818	1,004	-29,89	1,146	1,217
Cone	0,271	0,212	0,150	0,9611	0,936	-19,08	1,140	1,246

Çizelge 4.77.'ten elde edilen sonuçlara göre, en düşük RMSE, MAE ve MSD değerleri MGM ve MRM modelleri ile elde edilirken en yüksek RMSE, MAE ve MSD değerleri Asimetrik model ile belirlenmiştir. Bununla beraber, en yüksek R^2 değerleri MGM, MRM, Baranyi ve Huang modelleri ile tespit edilirken 1'e en yakın m değerleri de Baranyi, Huang ve Fitzhugh modelleri ile belirlenmiştir. Benzer şekilde en düşük R^2 değeri ve 1'e en uzak m değeri sırasıyla Cone ve Weibull modelleri ile elde edilmiştir. Bunun anlamı, Cone ve Weibull modellerinin etanol üretiminin deneysel verilerini tanımlamada başarısız olduğudur. Diğer yandan, modellerin başarılı olup olmadığının tespitinde AIC değeri de önemli bir ölçüt olarak kabul edilmiş olup en düşük AIC değerine sahip olan modelin deneysel verileri tanımlamada en iyi model olduğu söylenmektedir. En iyi koşullarda gerçekleştirilen deneysel fermentasyonun etanol üretiminin matematiksel modellemesinde en düşük AIC değerine sahip olan modelin MGM olduğu tespit edilmiştir (AIC = -36,80, Çizelge 4.77). İlâveten, Çizelge 4.77'te BF ve AF değerleri gösterilmiştir. 1'den daha düşük bir BF değeri modelin genel olarak başarısız olduğu anlamına gelir. Buna göre, MLM ve Stannard modelinin BF değerleri 1'den küçük olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.77). Bu sonuç, tahmin edilen değerlerin deneysel verilerden daha yüksek olduğunu gösterir. Diğer yandan MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modellerinin BF değerleri 1'den oldukça büyük olurken MGM ve MRM'nin BF değerleri 1'den nispeten büyük olmuştur (1,058). Bu sonuç, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile elde edilen tahminlerin nispeten daha düşük bir güven seviyesine neden olduğunu gösterirken bu durumun MGM ve MRM için geçerli olmadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca, Weibull modeli ile 1'e eşit BF değeri elde edilmiştir. Bu sonuç ile modellerin herhangi bir yapısal sapma göstermediği ve dolayısıyla modelin tam olduğu anlaşılmaktadır. İlâveten, Çizelge 4.77'te AF değerleri de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar, AF değerlerinin ortalama olarak tahminin gözlemlerden MGM için %6,6, MLM için %7,6, MRM için %6,6, Stannard için %8,3, Weibull için %11,3, MMF için %31,5, Asimetrik için %93, Baranyi için %19,9, Huang için %21,6, Fitzhugh için %21,7 ve Cone için %24,6 oranında farklı olduğunu göstermektedir. Bu sonuca göre en düşük farklılık MGM ve MRM ile %6,6 düzeyinde elde edilirken en yüksek farklılık ise %93 ile Asimetrik modelinde gözlemlenmiştir (Çizelge 4.77). **Sonuç olarak, önemli derecede farklılıklar olmasına**

rağmen MGM ve MRM kullanımının etanol üretimini açıkça temsil ettiğini düşük RMSE, MAE, MSD ve AIC değerleri, yüksek R^2 değeri, 1'e yakın m değeri, 1'e eşit olan BF değeri ve 1'e en yakın AF değeri göstermiştir. Böylece, MGM ve MRM, etanol üretiminin deneysel verilerini bu çalışmada kullanılan diğer matematiksel modellerden daha iyi tahmin edebilir. Ayrıca, MGM ve MRM'nin kullanılmasıyla tahmin edilen değerler, etanol üretiminin deneysel verileri ile iyi bir uyum sağladığı sonucu çıkarılabilir. İlaveten, deneysel etanol üretiminin zamana karşı grafiği, MGM ve MRM'nin kullanılmasıyla elde edilen tahmini değerlerin zaman karşı grafiği birlikte çizildiğinde MGM ve MRM'den elde edilen sonuçların deneysel verileri başarılı bir şekilde simüle ettiği ortaya çıkmaktadır (Şekil 4.12.A ve C).

4.8.3. Şeker tüketiminin matematiksel modellemesi

%75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktördeki şeker tüketim eğrisinin karşılaştırılması, hem tahmin edilen değerlerin hem de deneysel verilerin grafiğe edilmesi ve ham değerlerin çizelge şeklinde verilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.13.A-J, Çizelge 4.78.).

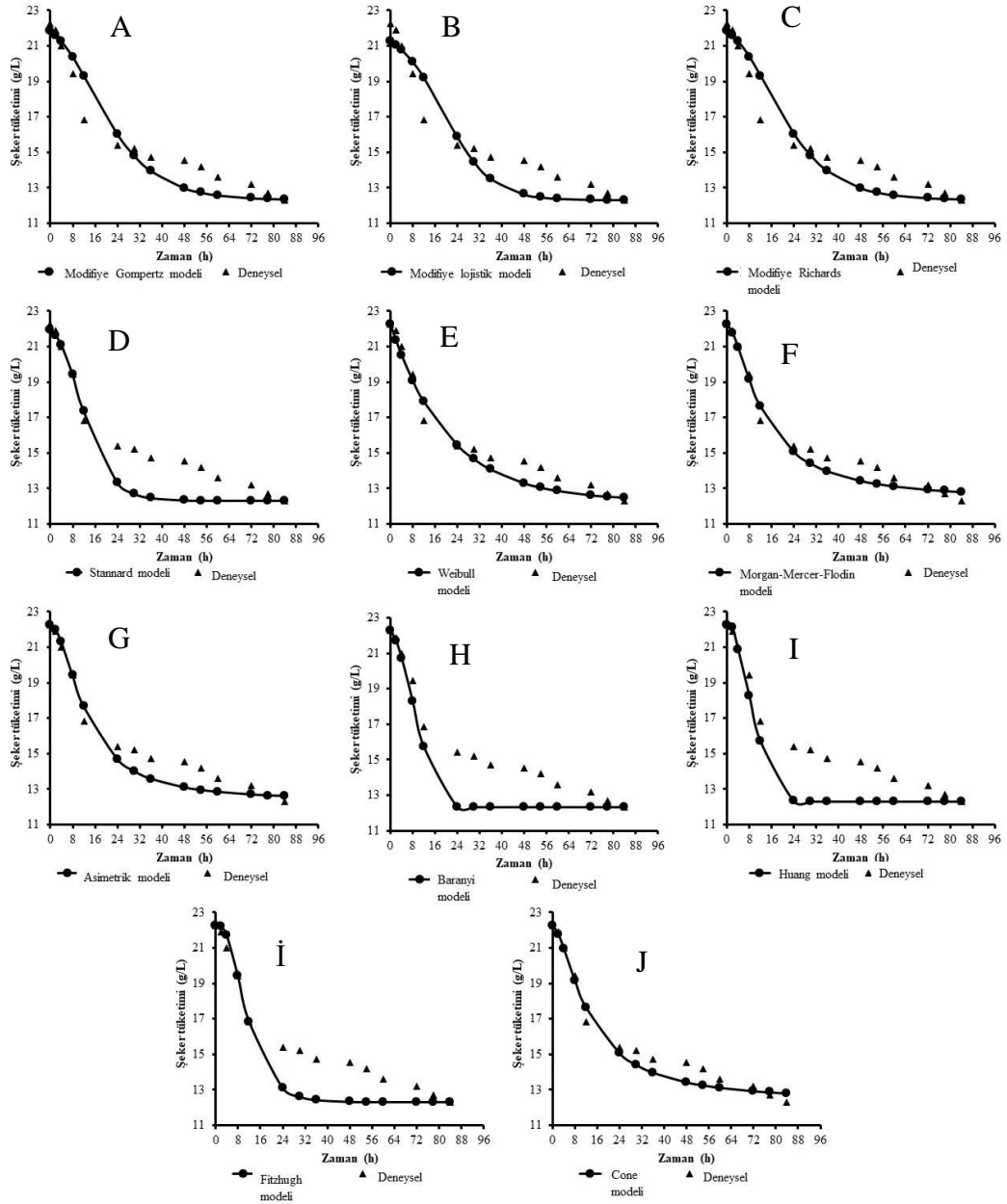
Model tahminlerinden elde edilen sonuçlara göre, Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen S_{max} , fermentasyonun başlangıcındaki deneysel s_{max} 'a (22,26 g/L) eşit olarak tahmin edilmiştir (Şekil 4.13.E-J, Çizelge 4.78.). Bununla beraber, deneysel S_{max} değerleri, MGM, MLM, MRM ve Stannard modelleri ile yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.13.A-D, Çizelge 4.78.). Benzer şekilde, deneysel fermentasyonun sonundaki S_{min} (12,31 g/L), çalışmada kullanılan Stannard, Baranyi, Huang ve Fitzhugh modelleri ile eşit olarak tahmin edilirken (Şekil 4.13.D ve H-İ, Çizelge 4.78.) MGM, MLM, MRM, Weibull, MMF, Asimetrik ve Cone modelleri ile deneysel kalıntı şeker konsantrasyonu nispeten yüksek tahmin edilmiştir (Şekil 4.13.A-C, E-G ve J, Çizelge 4.78.). Diğer yandan, Asimetrik, Huang ve Fitzhugh modelleri hariç (Şekil 4.13.G, I ve İ, Çizelge 4.78.), deneysel fermentasyonun 2. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonu (21,87 g/L) diğer modellerin uygulanması ile nispeten düşük öngörülmüştür (Şekil 4.13.A-F, H ve J, Çizelge 4.78.). Deneysel fermentasyonun 4. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonu (20,98 g/L), MGM, MRM, Stannard, Asimetrik ve Fitzhugh modelleri ile nispeten yüksek tahmin edilirken (Şekil 4.13.A, C, D, G ve İ, Çizelge 4.78.) MLM, Weibull, MMF, Baranyi Huang ve Cone modelleri ile nispeten düşük öngörülmüştür (Şekil 4.13.B, E, F, H, I ve J, Çizelge 4.78.). MGM, MLM ve MRM hariç (Şekil 4.13.A-C, Çizelge 4.78.), deneysel fermentasyonun 8. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonu (19,44 g/L), modellerin geri kalanı ile nispeten düşük tahmin edilirken (Şekil 4.13.D-J, Çizelge 4.78.) MGM, MLM ve MRM ile kalıntı şeker konsantrasyonu nispeten yüksek öngörülmüştür. Baranyi ve Huang modellerinin dışındaki modeller, fermentasyonun 12. saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonunu (16,84 g/L) nispeten yüksek tahmin etmiştir (Şekil 4.13.A-G, İ ve J, Çizelge 4.78.). Fermentasyonun 24. Saatindeki deneysel kalıntı şeker konsantrasyonu (15,42 g/L) MGM, MLM, MRM ve Weibull modeli ile nispeten yüksek tahmin edilmişken (Şekil 4.13.A-C ve E, Çizelge 4.78.) modellerin geri kalanı da deneysel kalıntı şeker konsantrasyonunu nispeten düşük tahmin etmiştir (Şekil 4.13.D ve F-J, Çizelge 4.78.). Fermentasyonun 30., 36., 48., 54., 60. ve 72. saatindeki deneysel kalıntı şeker konsantrasyonu (sırasıyla 15,20, 14,73, 14,54, 14,20, 13,61 ve 13,19 g/L) modellerin tamamı ile düşük tahmin edilmiştir (Şekil 4.13.A-J, Çizelge 4.78.). MMF ve Cone modelleri hariç, fermentasyonun 78.

saatindeki kalıntı şeker konsantrasyonu (12,71 g/L) nispeten düşük tahmin edilirken (Şekil 4.13.A-E ve G-İ, Çizelge 4.78.) MMF ve Cone modelleri nispeten yüksek öngörmüştür (Şekil 4.13.F ve J, Çizelge 4.78.).

Çizelge 4.66.'de verilen model parametrelerinin kullanımı ile %75 RH + %25 K + YE + P ortamında biyofilm reaktörde şeker tüketimi, deneysel verilere bağlı olarak bükülebilen matematiksel modeller ile tanımlanmıştır. Elde edilen model kıyaslama sonuçları Çizelge 4.79.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.75. %75 RH + %25 K + YE + P gerçekleştirilen fermentasyonun şeker tüketimine yönelik deneysel veriler ile birlikte matematiksel modellerden tahmin edilen veriler

Modeller	Zaman (h)														
	0	2	4	8	12	24	30	36	48	54	60	72	78	84	
Deneysel	22,26	21,87	20,98	19,44	16,84	15,42	15,20	14,73	14,54	14,20	13,61	13,19	12,71	12,31	
MGM	21,83	21,58	21,26	20,39	19,32	16,04	14,83	13,96	12,99	12,74	12,58	12,42	12,38	12,35	
MLM	21,28	21,06	20,79	20,10	19,21	15,88	14,47	13,52	12,64	12,48	12,40	12,33	12,32	12,32	
MRM	21,83	21,58	21,26	20,39	19,31	16,04	14,83	13,96	12,98	12,73	12,58	12,42	12,38	12,35	
Stannard	21,94	21,61	21,09	19,43	17,35	13,34	12,72	12,47	12,34	12,32	12,32	12,31	12,31	12,31	
Weibull	22,26	21,35	20,52	19,09	17,90	15,46	14,67	14,08	13,31	13,06	12,87	12,63	12,55	12,49	
MMF	22,26	21,78	20,95	19,15	17,64	15,07	14,42	13,98	13,44	13,26	13,13	12,94	12,87	12,81	
Asimetrik	22,26	21,98	21,29	19,42	17,66	14,69	14,01	13,58	13,09	12,95	12,84	12,69	12,64	12,60	
Baranyi	22,26	21,68	20,72	18,27	15,71	12,33	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	
Huang	22,26	22,10	20,88	18,28	15,72	12,33	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	12,31	
Fitzhugh	22,26	22,19	21,70	19,41	16,85	13,11	12,62	12,43	12,33	12,32	12,32	12,31	12,31	12,31	
Cone	22,26	21,78	20,95	19,15	17,64	15,07	14,42	13,98	13,44	13,26	13,13	12,94	12,87	12,81	



Şekil 4.13. En iyi fermentasyon koşulları altında (%75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında) her bir modele ait tahmin edilen kalıntı şeker konsantrasyonu değerlerinin deneysel kalıntı şeker konsantrasyonu değerleri ile grafike edilmesi.

Çizelge 4.79.'ten elde edilen sonuçlara göre, en düşük RMSE, MAE ve MSD değerleri MMF ve Cone modelleri ile elde edilirken en yüksek RMSE, MAE ve MSD değerleri Baranyi ve Huang modelleri ile belirlenmiştir. Bununla beraber, en yüksek R^2 değeri MMF ve Cone modelleri ile tespit edilmiştir. 1'e en yakın m değeri de Weibull modeli ile saptanmıştır. Benzer şekilde en düşük R^2 değeri MLM ile belirlenirken 1'e en uzak m değerleri Stannard, Baranyi, Huang ve Fitzhugh modelleri ile belirlenmiştir. Bunun anlamı, MLM, Stannard, Baranyi, Huang ve Fitzhugh modellerinin şeker tüketiminin deneysel verilerini tanımlamada başarısız olduğudur.

Çizelge 4.76. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında şeker tüketimi için matematiksel modellerin model kıyaslama yöntemlerine göre karşılaştırılması.

Modeller	Şeker tüketimi (g/L)							
	RMSE	MAE	MSD	R^2	m	AIC	BF	AF
MGM	1,028	0,811	0,573	0,9348	1,092	18,28	1,040	1,131
MLM	1,160	0,964	0,681	0,9182	1,053	21,67	1,077	1,158
MRM	1,029	0,812	0,574	0,9347	1,092	24,80	1,040	1,131
Stannard	1,388	1,047	0,740	0,9452	1,128	26,68	1,176	1,193
Weibull	0,664	0,544	0,385	0,9747	1,022	6,04	1,060	1,088
MMF	0,578	0,465	0,329	0,9785	1,028	2,14	1,043	1,078
Asimetrik	0,785	0,616	0,436	0,9727	1,088	10,72	1,073	1,105
Baranyi	1,637	1,272	0,899	0,9373	1,112	37,79	1,237	1,237
Huang	1,635	1,261	0,892	0,9366	1,132	31,26	1,231	1,235
Fitzhugh	1,434	1,063	0,751	0,9476	1,180	27,59	1,177	1,196
Cone	0,578	0,465	0,329	0,9785	1,028	2,14	1,043	1,078

Diğer yandan, modellerin başarılı olup olmadığının tespitinde AIC değeri de önemli bir ölçüt olarak kabul edilmiş olup en düşük AIC değerine sahip olan modelin deneysel verileri tanımlamada en iyi model olduğu bildirilmiştir. En iyi koşullarda gerçekleştirilen deneysel fermentasyonun şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde en düşük AIC değerine sahip olan modellerin MMF ve Cone modelleri olduğu belirlenmiştir (MMF ve Cone modelleri için AIC = 2,14, Çizelge 4.79.). AIC değerinin en yüksek olduğu değerler ise şeker tüketiminin deneysel verilerinin MGM, MLM, MRM, Stannard, Baranyi, Huang ve Fitzhugh modelleri ile modellenmesinden elde edilmiştir (Çizelge 4.79.). Diğer yandan, Çizelge 4.79.'te BF ve AF değerleri verilmiştir. 1'den daha düşük bir BF değeri modelin genel olarak başarısız olduğu anlamına gelir. Ancak, elde edilen sonuçlara göre 1'den daha küçük bir BF değeri elde edilmemiştir (Çizelge 4.79.). Bu sonuç, öngörülen değerlerin gözlemlenen verilerden daha düşük olduğunu gösterir. Diğer yandan 1'e en yakın BF değerleri de MMF ve Cone modellerinin kullanımı ile elde edilmiştir. İlaveeten, Çizelge 4.79.'te AF değerleri de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, AF değerlerinin ortalama olarak tahminin gözlemlerden MGM için %13,1, MLM için %15,8, MRM için %13,1, Stannard için %19,3, Weibull için %8,8, MMF için %7,8, Asimetrik için %10,5, Baranyi için %23,7, Huang için %23,5, Fitzhugh için %19,6 ve Cone için %7,8 oranında farklı olduğunu göstermektedir. Bu sonuca göre en düşük farklılık MMF ve Cone modelleri ile %7,8 düzeyinde elde edilirken en yüksek farklılık ise %23,7 ile Baranyi modelde gözlemlenmiştir (Çizelge 4.79.). **Sonuç olarak, MMF ve Cone modellerini kullanmanın şeker tüketimini açıkça temsil ettiğini düşük RMSE, MAE, MSD ve AIC değerleri, yüksek R^2 değerleri, 1'e yakın m değerleri, 1'e eşit olan BF değerleri ve 1'e en yakın AF değerleri göstermiştir. Böylece, MMF ve Cone modelleri, şeker tüketiminin deneysel verilerini bu çalışmada kullanılan diğer matematiksel modellerden daha iyi tahmin edebildiği sonucuna ulaşılır. Ayrıca, MMF ve Cone modellerinin kullanılmasıyla tahmin edilen değerler, şeker tüketiminin deneysel verileri ile iyi bir uyum sağladığı ortaya çıkmıştır.**

4.8.4. Deneysel ve tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması (%75 RH + %25 K + YE + P)

Ayrıca, modellerden hesaplanan kinetik değerler kullanılarak deneysel kinetik değerler ile daha fazla karşılaştırma yapılmıştır. Deneysel ve tahmin edilen kinetik değerlere ait veriler Çizelge 4.80.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.77. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında gerçekleştirilen etanol fermentasyonunun verilerinden hesaplanan deneysel kinetik parametreler ile ve matematiksel modeller kullanılarak tahmin edilen kinetik parametrelerin karşılaştırılması

Modeller	Kinetik parametreler											
	X (g/L)	P (g/L)	S (g/L)	$Y_{X/S}$ (%)	$Y_{P/S}$ (%)	$Y_{P/X}$ (g/g)	Q_X (g/L/h)	Q_P (g/L/h)	Q_S (g/L/h)	μ_{max} (h ⁻¹)	SUY (%)	TY (%)
Deneysel	1,75	3,80	9,94	17,60	38,22	2,17	0,046	0,067	0,650	0,0515	44,68	74,79
MGM	1,64	3,37	9,48	17,26	35,55	2,06	0,035	0,065	0,273	0,0353	43,42	69,58
MLM	1,57	3,27	8,96	17,54	36,53	2,08	0,035	0,066	0,278	0,0299	42,12	71,48
MRM	1,64	3,37	9,48	17,26	35,56	2,06	0,035	0,065	0,273	0,0353	43,41	69,59
Stannard	1,72	3,31	9,62	17,87	34,36	1,92	0,034	0,067	0,521	0,0405	43,86	67,24
Weibull	1,60	3,52	9,77	16,35	36,03	2,20	0,045	0,098	0,434	0,0594	43,88	70,50
MMF	1,57	3,44	9,45	16,62	36,37	2,19	0,042	0,096	0,451	0,0585	42,46	71,18
Asimetrik	1,57	3,51	9,66	16,30	36,31	2,23	0,058	0,083	0,468	0,0699	43,40	71,06
Baranyi	1,64	3,66	9,94	16,52	36,76	2,22	0,032	0,065	0,625	0,0487	44,68	71,94
Huang	1,64	3,65	9,94	16,52	36,75	2,22	0,037	0,065	0,646	0,0573	44,68	71,91
Fitzhugh	1,58	3,61	9,94	15,92	36,33	2,28	0,040	0,088	0,606	0,0556	44,68	71,10
Cone	1,56	3,40	9,45	16,50	35,96	2,18	0,041	0,104	0,441	0,0574	42,46	70,38

Elde edilen sonuçlara göre, çalışmada kullanılan bütün matematiksel modeller ile tahmin edilen X ve P değerleri deneysel X ve P değerlerinden düşük hesaplanmıştır. Bununla beraber, Baranyi, Huang ve Fitzhugh modelleri ile tahmin edilen S ve SUY değerleri deneysel S ve SUY değerlerine eşit olarak hesaplanmıştır. Buradan, tahmin edilen S_{max} değerlerinin deneysel S_{max} değerine eşit olduğu da anlaşılmaktadır. Geriye kalan modellerin kullanımı ile deneysel S ve SUY değerleri daha düşük tahmin edilmiştir. Deneysel $Y_{X/S}$, $Y_{P/S}$ ve TY değerleri, çalışmada kullanılan bütün matematiksel modeller ile nispeten düşük tahmin edilmiştir. Ancak deneysel $Y_{P/X}$ değeri, MGM, MLM, MRM ve Stannard modeli ile göreceli olarak düşük öngörülürken modellerin geri kalanı ile bu kinetik parametre nispeten yüksek tahmin edilmiştir. Diğer yandan, Asimetrik model ile tahmin edilen Q_X değeri, deneysel değerden daha yüksek tahmin edilirken modellerin geri kalanı ile bu değer daha düşük hesaplanmıştır. Weibull, MMF, Asimetrik, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen Q_P değerleri, deneysel Q_P değerinden oldukça yüksek olmuştur. Bununla beraber, Stannard modeli ile tahmin edilen Q_P değeri, deneysel değere eşit olarak hesaplanmıştır. Modellerin geri kalanı ile deneysel Q_P değeri nispeten daha düşük tahmin edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm matematiksel modeller ile tahmin edilen Q_S değerleri, deneysel değerden düşük hesaplanmıştır. Bunların yanı sıra, Weibull, MMF, Asimetrik, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri ile tahmin edilen μ_{max} değerleri deneysel değerden daha yüksek hesaplanırken modellerin geri kalanı ile daha düşük hesaplanmıştır.

Sonuç olarak, %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında biyofilm reaktörde *P. stipitis* (ATCC 58785) mayası kullanılarak gerçekleştirilen etanol fermentasyonundaki

maya gelişimi, etanol üretimi ve şeker tüketimi başarılı bir şekilde matematiksel modeller ile modellenmiştir. En iyi modellerin seçiminde ise model kıyaslama parametreleri kullanılmış olup bunlar; *RMSE*, *MAE*, *MSD*, R^2 , *m*, *AIC*, *BF* ve *AF*'dir. Biyokütle gelişiminin ve etanol üretiminin deneysel verilerinin modellenmesinde en iyi model ***Fitzhugh model*** seçilmiştir. Şeker tüketiminin deneysel verilerinin modellenmesinde ise seçilen en iyi modeller ***Baranyi*** ve ***Huang modelleri*** olmuştur. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında biyofilm reaktörde *P. stipitis* (ATCC 58785) mayası kullanılarak gerçekleştirilen etanol fermentasyonundaki maya gelişimi, etanol üretimi ve şeker tüketimi de başarılı bir şekilde matematiksel modeller ile modellenmiştir. Hem hücre gelişiminin hem de şeker tüketiminin deneysel verilerinin modellenmesinde en iyi modeller ***MMF*** ve ***Cone modelleri*** seçilmiştir. Etanol üretiminin deneysel verilerinin modellenmesinde ise en başarılı modellerin ***MGM*** ve ***MRM*** olduğu tespit edilmiştir. Seçilen en iyi matematiksel modeller ile fermentasyonlara ait deneysel kinetik parametreler veya biyolojik anlamlı parametreler (biological meaning parameters) de başarılı bir şekilde tahmin edilmiştir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada *Pichia stipitis* ATCC 58784 ve ATCC 58785 mayaları kullanılarak pirinç kavuzu hidrolizatından etanol üretimleri gerçekleştirilmiştir. Kullanılması hedeflenen lignoselülozik bileşenin öncelikle hidroliz işlemleri yapılmıştır. Hidroliz sonrasında elde edilen hidrolizattan inhibitör bileşiklerin uzaklaştırılması için detoksifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 4 farklı PCS materyali reaktöre yerleştirilecek üzerlerinde biyofilm oluşturulmuş ve sonrasında fermentasyona bırakılmıştır.

Hidrolizatın biyofilm reaktörde kullanılabilmesi için öncelikle fermentör içerisine yerleştirilecek PCS destek materyallerinin seçimi yapılmıştır. Bu amaçla tüpler içerisinde destek materyalleri eklenerek biyofilm oluşturulmuş ve etanol üretimi, hücre gelişimi, substrat tüketimi ve verim gibi değerler dikkate alınarak en iyi PCS materyali destek materyali kullanılmak üzere seçilmiştir. Fermentasyon sonunda en iyi PCS materyali olarak 2 numaralı PCS (PCS2) materyali en iyi destek materyali seçilerek reaktör içerisinde kullanılmasına karar verilmiştir.

PCS2 materyali kullanılarak oluşturulan biyoreaktörde öncelikle karbon kaynaklarının farklı oranlarının etanol üretimi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla her iki mikroorganizma için de farklı oranlarda denemeler gerçekleştirilerek en iyi karbon kaynağı bileşiği belirlenmiştir. Bunun sonucunda ortamda kullanılan glukoz, ksiloz ve pirinç kavuzu hidrolizatının farklı miktarlarını içeren 2 adet besiyeri bileşimi seçilmiştir. Bunlar;

- 1.numaralı besiyeri : %50 pirinç kavuzu hidrolizatı + % 50 glukoz**
- 2.numaralı besiyeri : %75 pirinç kavuzu hidrolizatı + % 25 ksiloz**

Tüm kinetik parametreler ve sonuçlar incelendikten sonra pirinç kavuzu hidrolizatının fermentasyon ortamında kullanılmasında *P.stipitis* ATCC 58785 suşunun daha etkili olduğu görülmüştür. Bu nedenle biyofilm reaktörde gerçekleştirilen bundan sonraki fermentasyonlarda bu suş kullanılmaya devam edilmiştir.

Biyofilm reaktörde karbon kaynakları bileşimi belirlendikten sonra, besiyerinde azot kaynağı olarak kullanılan maya ekstraktı ve pepton yerine maya ekstraktı-et ekstraktı ve maya ekstraktı-amonyum nitrat bileşimleri kullanılmıştır. Yapılan fermentasyonlar sonucunda besiyerine en iyi azot kaynağı ikilisinin maya ekstraktı ve pepton olduğu belirlenmiştir.

Fermentasyon ortamında en uygun karbon kaynağı içeriği ve azot kaynağı çeşidinin belirlenmesinden sonra her iki besiyeri için de sürekli sistemde fermentasyonlara geçilmiştir. Sürekli sistemde fermentasyon ortamının oluşturulması için mikroorganizmaya ait spesifik gelişme hızları değerlerinden faydalanılarak uygun dilüsyon oranları belirlenmiştir. Gerçekleştirilen sürekli fermentasyonlar sonucunda elde edilen ürün ve biyokütle verimlilik değerlerinin kesikli fermentasyona göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Tüm bunların yanında zenginleştirme ve sterilizasyonun etkisinin belirlenmesi amacıyla 1 numaralı besiyerinde biyofilm reaktöre “zenginleştirilmiş steril olmayan” ve

“zenginleştirilmiş steril olmayan” besiyeri ilavesi yapılmıştır. Fermentasyonlar sırasında tüm kinetik parametre değerleri oldukça düşük çıkmıştır. Ayrıca biyofilm reaktörde, oluşan biyofilmde kopmalar başlamış, hücreler ölümlere uğramıştır. Bu nedenle 2 numaralı besiyeri için benzer işlemler gerçekleştirilmemiştir.

Fermentasyon işlemleri sonucunda 1 ve 2 numaralı besiyerilerinden elde edilen sonuçlar ve hesaplanan kinetik parametreler kullanılarak (deneysel veriler) 11 farklı matematiksel model ile etanol üretimi, biyokütle gelişim ve substrat tüketimi modellenmiştir. Bu amaçla MGM, MLM, MRM, Stannard, Weibull, MMF, Asimetrik, Baranyi, Huang, Fitzhugh ve Cone modelleri kullanılmıştır. Sonuç olarak, %50 RH + %50 G + YE + P besiyeri ortamında biyofilm reaktörde *P. stipitis* (ATCC 58785) mayası kullanılarak gerçekleştirilen etanol fermentasyonundaki maya gelişimi, etanol üretimi ve şeker tüketimi başarılı bir şekilde matematiksel modeller ile modellenmiştir. En iyi modellerin seçiminde ise model kıyaslama parametreleri kullanılmış olup bunlar; *RMSE*, *MAE*, *MSD*, R^2 , *m*, *AIC*, *BF* ve *AF*'dir. Biyokütle gelişiminin ve etanol üretiminin deneysel verilerinin modellenmesinde en iyi model ***Fitzhugh model*** seçilmiştir. Şeker tüketiminin deneysel verilerinin modellenmesinde ise seçilen en iyi modeller ***Baranyi*** ve ***Huang modelleri*** olmuştur. %75 RH + %25 K + YE + P besiyeri ortamında biyofilm reaktörde *P. stipitis* (ATCC 58785) mayası kullanılarak gerçekleştirilen etanol fermentasyonundaki maya gelişimi, etanol üretimi ve şeker tüketimi de başarılı bir şekilde matematiksel modeller ile modellenmiştir. Hem hücre gelişiminin hem de şeker tüketiminin deneysel verilerinin modellenmesinde en iyi modeller ***MMF*** ve ***Cone modelleri*** seçilmiştir. Etanol üretiminin deneysel verilerinin modellenmesinde ise en başarılı modellerin ***MGM*** ve ***MRM*** olduğu tespit edilmiştir. Seçilen en iyi matematiksel modeller ile fermentasyonlara ait deneysel kinetik parametreler veya biyolojik anlamlı parametreler (biological meaning parameters) de başarılı bir şekilde tahmin edilmiştir.

Biyofilm reaktörde pirinç kavuzundan farklı fermentasyon sistemleri ile etanol üretimleri başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Etanol üretimlerinde özellikle de saf şekerlerin kullanımı fermentasyon işleminde oldukça maliyetli olmaktadır. Bu nedenle de son yıllarda lignoselülozik materyallerin bu üretimlerde değerlendirilmesi dikkat çekmektedir. Pirinç kavuzu hidrolizatının fermentasyon ortamında tek başına karbon kaynağı olarak kullanılması ile etanol üretimleri elde edilebilmektedir. Ancak etanol üretim değerleri ve verim gibi kinetik parametreler düşük kalmaktadır. Bu nedenle farklı saf karbon kaynakları ile birlikte karıştırılması oldukça yüksek verim değerlerine sahip olmuştur. Glukoz ile %50 oranlarda kullanımı saf şeker kullanım maliyetini yarı yarıya düşürecektir. Bunun yanında kslioz ile kullanım söz konusu olduğunda %75 pirinç kavuzu hidrolizati kullanımı yüksek verim değerleri vermektedir. Bu değerler literatürde elde edilen etanol üretim değerleri ile karşılaştırıldığında oldukça başarılıdır. Elde edilen sonuçlar pirinç kavuzu hidrolizatının fermentasyon ortamında potansiyel bir karbon kaynağı olabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Agbogbo, F.K. and Coward-Kelly, G. 2008. Cellulosic ethanol production using the naturally occurring xylose-fermenting yeast, *Pichia stipitis*. *Biotechnology Letters*, 30 (9): 1515-1524.
- Akaike, H.A. 1974. New look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automatic Control*, 19 (6): 716-723.
- Anonymous 1: analysis of public and private data sources. <http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454099103927-61e598f7-7643>. [Son erişim tarihi: 15.07.2017].
- Anonymous 2: Resources & Statistics. European renewable ethanol – key figures 2016. <http://epure.org/resources/statistics/?year=2016> [Son erişim tarihi: 15.07.2017].
- Anonymous 3: Agriculture and Rural Development. https://ec.europa.eu/info/departments/agriculture-and-rural-development_en [Son erişim tarihi: 22.07.2017].
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M. and Negro, M. J. 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101 (13): 4851-4861.
- Azhara, S.H.M., Abdulla, R., Jambo, S.A., Marbawi, H., Gansau, J.A., Faik, A.A.M. and Rodrigues, K.F. 2017. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 10: 52-61.
- Bajpai, D. and Tyagi, V.K. 2006. Biodiesel: source, production, composition, properties and its benefits. *Journal of Oleo Science*, 55 (10): 487-502.
- Bakri, Y., Akeed, Y. and Thonart, P. 2012. Comparison between continuous and batch processing to produce xylanase by *Penicillium canescens* 10-10c. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 29 (3): 441-447.
- Balan, V., Chiaramonti, D. and Kumar, S. 2013. Review of US and EU initiatives toward development, demonstration, and commercialization of lignocellulosic biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 7 (6): 732-759.
- Balat, M., Balat, H. and Öz, C. 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34 (5): 551-573.
- Balat, M. and Balat, H. 2009. Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel. *Applied Energy*, 86 (11): 2273-2282.
- Balat, M. 2011. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*, 52 (2): 858-875.

- Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N. and Kumar, P. 2014. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36: 91-106.
- Bensah, E. C. and Bensah, M. Chemical Pretreatment Methods for the Production of Cellulosic Ethanol: Technologies and Innovations. 2013. *International Journal of Chemical Engineering*, 2013: 1-21.
- Berglund, M. and Borjesson, P. 2006. Assessment of energy performance in the life-cycle of biogas production. *Biomass and Bioenergy*, 30 (3): 254-266.
- Bielaczyc, P., Woodburn, J., Klimkiewicz, D., Pajdowski, P. and Szczotka, A. 2013. An examination of the effect of ethanol–gasoline blends physicochemical properties on emissions from a light-duty spark ignition engine. *Fuel Processing Technology*, 107: 50-63.
- Boerjan, W., Ralph, J. and Baucher, M. 2003. Lignin biosynthesis. *Annual Review of Plants Biology*, 54: 519-546.
- Bondioli, P. 2004. The preparation of fatty acid esters by means of catalytic reactions. *Topics in Catalysis*, 27 (1-4): 77-82.
- Brennan, L. and Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14 (2): 557-577.
- Brethauer, S. and Wyman, C.E. 2010. Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, 101 (13): 4862-4874.
- Brown, J.H., Burger, J.R., Burnside, W.R. and Chang, M. 2014. Macroecology meets macroeconomics: Resource scarcity and global sustainability. *Ecological Engineering*, 65: 24-32.
- Buaban, B., Inoue, H., Yano, S., Tanapongpipat, S., Ruanglek, V., Champreda, V., Pichyangkura, R., Rengpipat, S. and Eurwilaichitr, L. 2010. Bioethanol production from ball milled bagasse using an on-site produced fungal enzyme cocktail and xylose-fermenting *Pichia stipitis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110 (1):18-25.
- Bullock, G.E. 2002. Ethanol from Sugarcane. Sugar Research Institute Australia, p 192.
- Cadenas, A. and Cabezuda S. 1998. Biofuels as sustainable technologies: perspectives for less developed countries. *Technological Forecasting and Social Change*, 58 (1-2): 83-103.
- Cardona, C.A. and Sanchez, O.J. 2006. Energy consumption analysis of integrated flowsheets for production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass. *Energy* 31 (13): 2447-2459

- Cardona, C.A. and Sanchez, O.J. 2007. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. *Bioresource Technology*, 98 (12): 2415-2457.
- Cayre, M.E., Vingolo, G., Garro, O. 2003. Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. *Food Microbiology*, 20 (5): 561-566.
- Chai, T. and Draxler, R.R. 2014. Root mean square error (RMSE) or mean absolute error (MAE)? Arguments against avoiding RMSE in the literature. *Geoscientific Model Development*, 7:1247-1250.
- Chandel, A.K., Chan, E., Rudravaram, R., Narasu, M.L., Rao, L.V. and Ravindra, P. 2007. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies: an appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 2 (1): 014-032.
- Nam, K.C., Jo, C. and LEE, M. 2010. Meat products and consumption culture in the East. *Meat Science*, 86 (1): 95-102.
- Cherubini, F. 2010. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management*, 51 (7): 1412-1421.
- Chynoweth, D.P., Owens, J.M. and Legrand, R. 2001. Renewable methane from anaerobic digestion of biomass. *Renewable Energy*, 22 (1-3): 1-8.
- Classen, P.A.M., Van Lier, J.B., Lopez, C.A.M., Van Niel, E.W.J., Sijtsma, L., Stams, A.J.M., De Vries, S.S. and Weusthuis, R.A. 1999. Utilization of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52 (6): 741-75.
- Clementz, A.L., Aimaretti, N.R., Manuale, D., Codevilla, A. and Yori, J.C. 2015. Optimization of ethanol fermentation from discarded carrots using immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Energy Environ Eng*, 6 (2):129-135.
- Dantigny, P., Nanguy, S.P.M., Judet-Correia, D. and Bensoussan, M. 2011. A new model for germination of fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 146 (2): 176-181.
- Della-Bianca, B.E., Basso, T.O., Stambuk, B.E., Basso, L.C. and Gombert, A.K. 2013. What do we know about the yeast strains from the Brazilian fuel ethanol industry? *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97 (3):979-991.
- Demirbas, A. 2005. Biodiesel production from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical methanol transesterification methods. *Progress Energy Combust Sci*, 31 (5-6): 466-487.
- Demirbas, A. 2007. Importance of biodiesel as transportation fuel. *Energy Policy*, 35 (9): 4661-4670.

- Demirbas, A. 2008. Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. *Energy Conversion and Management*, 49 (8): 2106-2116.
- Demirbas, A. 2009. Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion Management*, 50 (1): 14-34.
- Demirbas, A. 2011. Competitive liquid biofuels from biomass. *Applied Energy*, 88 (1): 17-28.
- Demirci, A., Al Pometto, I.I.I. and Ho, K. 1997. Ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactors. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 19 (4): 299-304.
- de Souza Lima, M.M. and Borsali, R.R. 2004. Rodlike cellulose microcrystals: Structure, Properties, and Applications *Macromol. Rapid Commun.*, 25 (7): 771-787.
- de Vries, R.P. and Visser, J. 2001. Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 65 (4): 497-522.
- Don, A., Osborne, B., Hastings, A., Skiba, U., Carter, M.S., Drewer, J., Flessa, H., Freibauer, A., Hyvonen, N., Jones, M.B., Lanigan, G.J., Mander, U., Monti, A., Djomo, S.N., Valentine, J., Walter, K., Zegada-Lizarazu, W. and Zenone, T. 2012. Land-use change to bioenergy production in Europe: implications for the greenhouse gas balance and soil carbon. *GCB Bioenergy*, 4 (4): 372-391.
- Dow, K. and Downing, T. 2006. The Atlas of Climate Change: Mapping the World's Greatest Challenge. Press, ss 21-90, Los Angeles: University of California.
- Dragone, G., Fernandes, B., Vicente, A.A. and Teixeira, J.A. 2010. Third generation biofuels from microalgae. Formatex Research Center, pp 1355-1366, Portugal.
- Eggeman, T. and Elander, R.T. 2005. Process and economic analysis of pretreatment technologies. *Bioresource Technology*, 96 (18): 2019-2025.
- Eksioglu, S.D., Acharya, A., Leightley, L.E. and Arora, S. 2009. Analyzing the design and management of biomass-to-biorefinery supply chain. *Computers & Industrial Engineering*, 57 (4): 1342-1352.
- Escobar, J.C., Lora, E.S., Venturini, O.J., Yanez, E.E., Castillo, E.F. and Almazan, O. 2009. Biofuels: environment, technology and food security. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13 (6-7): 1275-1287
- Esteghlalian, A., Hashimoto, A.G., Fenske, J.J. and Penner, M.H. 1997. Modelling and optimization of the dilute sulfuric acid pretreatment of corn Stover, poplar and switchgrass. *Bioresource Technology*, 59 (2-3): 129-136.
- Fan, L.T., Yong-hyun, L. and Beardmore, H.D. 1980. Major chemical and physical features of cellulosic materials as substrates for enzymatic hydrolysis. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 14: 101-117.

- Farkha, S., Jaf, P. Salih, W., Farkha, S., Jaf, P. And Salih, W. 2016. Gasoline Octane Number Improvement by Ethanol as an Oxygenated Compound. *American Journal of Oil and Chemical Technologies*, 4 (2): 63-69.
- Fderlando, S. and Hanna, M. A. 2004. Development of a Novel Biofuel Blend Using Ethanol-Biodiesel-Diesel Microemulsions: EB-Diesel. *Energy & Fuels*, 18 (6): 1695-1703.
- Germec, M., Turhan, I., Karhan, M. and Demirci A. 2015. Ethanol production via repeated-batch fermentation from carob pod extract by using *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactor. *Fuel*, 161: 304-311.
- Germec, M., Kartal, F.K., Bilgic, M., Ilgin, M., Ilhan, E., Guldali, H., Isci, A. and Turhan, I. 2016 a. Ethanol Production from Rice Hull Using *Pichia Stipitis* and Optimization of Acid Pretreatment and Detoxification Processes. *Biotechnol. Prog.*, 32(4): 872-82.
- Germec, M., Turhan, I., Demirci, A. and Karhan, M. 2016 b. Effect of media sterilization and enrichment on ethanol production from carob extract in a biofilm reactor. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 38 (21): 3268-3272
- Germec, M., Ozcan, A., Yilmazer, C., Tas, N., Onuk, Z., Demirel, F. and Turhan, I. 2017. Ethanol fermentation from microwave-assisted acid pretreated raw materials by *Scheffersomyces stipitis*. *AgroLife. Scientific Journal*, 6 (1): 2285-5718.
- Giddel, M.R and. Jivani, A.P. 2007. Waste to Wealth, Potential of Rice Husk in India a Literature Review. International Conference on Cleaner Technologies and Environmental Management PEC, ss 580-590, January 4-6, Pondicherry, India.
- Goldemberg, J. 2006. The ethanol program in Brazil. *Environmental Research Letters*, 1 (1): 1-5.
- Gressel, J. 2008. Transgenics are imperative for biofuel crops. *Plant Science*, 174 (3): 246-263.
- Groom, M.J., Gray, E. and Townsend, P.A. 2008. Biofuels and biodiversity: principles for creating better policies for biofuel production. *Conservation Biology*, 22 (3): 602-609
- Guebel, D.V., Cordenons, A., Cascone, O., Giulietti, A.M. and Nudel, C. 1992. Influence of the nitrogen source on growth and ethanol production by *Pichia stipitis* NRRL Y-7124. *Biotechnology Letters*, 14 (12): 1193-1198.
- Gujer, W. and Zehnder, A.J.B. 1983. Conversion Processes in Anaerobic Digestion. *Water science and technology*, 15 (8-9) 127-167.
- Hamelinck, C.N., Van Hooijdonk, G. and Faaij, A.P.C. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass Bioenergy*, 28 (4): 384-410.

- Ho, K., Pometto, A.L., Hinz, P.N., Dickson, J.S. and Demirci A. 1997. Ingredient selection for plastic composite supports for L-(+)-lactic acid biofilm fermentation by *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. *Appl Environ Microbiol*, 63 (3): 2516-23.
- Hoekman, S.K. 2009. Biofuels in the U.S. – challenges and opportunities. *Renew Energy*, 34 (1): 14-22.
- Howard, R.L., Abotsi, E., Jansen Van Rensburg, E.L. and HOWARD, S. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology*, 2 (12): 602-619.
- Huang, L. 2013. Optimization of a new mathematical model for bacterial growth. *Food Control*, 32 (1): 283-288.
- Iqbal, M. and Saeed, A. 2005. Novel method for cell immobilization and its application for production of organic acid. *Letters in Applied Microbiology*, 40 (3): 178–182.
- Janssen, R., Turhollow, A.F., Rutz, D. and Mergner, R. 2013. Production facilities for second-generation biofuels in the USA and the EU–current status and future perspectives. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 7 (6): 647-665.
- Jeffries, T.W. and Jin, Y.S. 2000. Ethanol and thermotolerance in the bioconversion of xylose by yeasts. *Advances in applied microbiology*, 47: 221-268.
- Jeoh, T., Ishizawa, C.I., Davis, M.F., Himmel, M.E., Adney, W.S. and Johnson, D.K. 2007. Cellulase digestibility of pretreated biomass is limited by cellulose accessibility. *Biotechnology and Bioengineering*, 98 (1): 112-122.
- Jonker, J. and Faaij, A. 2013. Techno-economic assessment of micro-algae as feedstock for renewable bio-energy production. *Applied Energy*, 102: 461-475.
- Jorgensen, H., Kristensen, J. B. and Felby, C. 2007. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Biofuels Bioproducts and Biorefining*, 1 (2): 119-134.
- Kadar, Z., Szengyel, Z. and Reczey, K. 2004. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products* 20 (1): 103-110.
- Ratanakhanokchai, K., Waeonukul, R., Pason, P., Tachaapaikoon, C., Lay Kyu, K., Sakka, K., Kosugi, A. and Mori, Y. 2003. Paenibacillus curdlanolyticus Strain B-6 Multienzyme Complex: A Novel System for Biomass Utilization. Miodrag Darko Matovic, Japan, 16 s.
- Kikas, T., Tutt, M., Raud, M., Alaru, M., Lauk, R. and Olt, J. 2016. Basis of energy crop selection for biofuel production: Cellulose vs. lignin. *International Journal of Green Energy*, 13 (1): 49-54.

- Klinke, H.B., Thomsen, A.B. and Ahring, B.K. 2004. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. *Appl Microbiol Biotechnol*, 66 (1): 10-26.
- Korus, R.A., Hoffman, D.S., Bam, N., Peterson, C.L. and Drown, D.C. 1993. Transesterification process to manufacture ethyl ester of rape oil. In: The Proceedings of the First Biomass Conference of the Americas: Energy, Environment, Agriculture, and Industry, vol. II. National Renewable Energy Laboratory, Golden Co., pp. 815-826.
- Kowalewicz, A. 2006. Eco-diesel engine fuelled with rapeseed oil methyl ester and ethanol. Part 2: comparison of emissions and efficiency for two base fuels: diesel fuel and ester. *Journal of Automobile Engineering*, 220 (9): 1275-1282.
- Kumar, S., Surendra, P.S., Indra, M.M. and Dilip, K.A. 2009. Recent Advances in Production of Bioethanol from Lignocellulosic Biomass. *Chem. Eng. Technol.* 32 (4): 517-526.
- Kumar, A., Mohanta, K., Kumar, D. and PARKASH, O. 2012. Properties and Industrial Applications of Rice husk: A review. *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 2: 2250-2459.
- Kunz, M. 2008. Bioethanol: Experiences from running plants, optimization and prospects. *Biocatalysis and Biotransformation*, 26 (1-2): 128-132.
- Laopaiboon, L., Nuanpeng, S., Srinophakun, P., Klanrit, P., Laopaiboon, P. 2009. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. *Bioresource Technology*, 100 (18): 4176-4182.
- Larsen, J., Haven, M.O. and Thirup, L. 2013. Inbicon makes lignocellulosic ethanol a commercial reality. *Biomass and bioenergy*, 46: 36-45.
- Lavoine, N., Desloges, I., Dufresne, A. and Bras, J. 2012. Microfibrillated cellulose – It's barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate polymers*, 90 (2): 735-764.
- Lee, J.W., Zhu, J., Scordia, D. and Jeffries, T.W. 2011. Evaluation of ethanol production from corncob using *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* CBS 6054 by volumetric scale-up. *Appl Biochem Biotechnol*, 165 (3-4): 814-822.
- Li, Y., Zhang, Z., Lei, Z., Yang, Y., Utsumi, M. and Suguira, N. 2009. Influence of metal addition on ethanol production with *Pichia stipitis* ATCC 58784. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 36 (4): 491-497.
- Li, Z., Wang, D. and Shi, Y.C. 2017. Effects of nitrogen source on ethanol production in very high gravity fermentation of corn starch. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 70: 229-235.

- Lin, Y. and Tanaka, S. 2006. Ethanol fermentation from biomass resources: Current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69 (9): 627-642.
- Logsdon, J.E. 2006. Ethanol. R. E. Kirk, D. F. Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, pp. 516-541, New York.
- Lynd, L.R., Grethlein, H.E., Wolkin, R.H. 1989. Fermentation of Cellulosic Substrates in Batch and Continuous Culture by *Clostridium thermocellum*. *Appl Environ Microbiol.*, 55 (12): 3131-9.
- Markaki, M., Belegri-Roboli, A., Michaelides, P., Mirasgedis, S. and Lalas, D.P. 2013. The impact of clean energy investments on the Greek economy: An input–output analysis (2010–2020). *Energy Policy* 57: 263-275.
- Mata, T. M., Martins, A.A. and Caetano, N. S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14 (1): 217-232.
- Mateo, S., Roberto, I.C., Sanchez, S. and Moya, A.J. 2013. Detoxification of hemicellulosic hydrolyzate from olive tree pruning residue. *Ind Crops Prod*, 49: 196-203.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31: 426-428.
- Mohagheghi, A., Ruth, M. and schell, D.J. 2006. Conditioning hemicellulose hydrolysates for fermentation: Effects of overliming pH on sugar and ethanol yields. *Process Biochemistry*, 41 (8): 1806-1811.
- Mongkolchaiarunya, S., Vaithanomsat, P. and Chuntranuluck, S. 2016. Effect of Nitrogen Source on Ethanol Production from Weeds by a Simultaneous Saccharification and Fermentation. *Process Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 22 (1): 210-213.
- Morgan, P.H., Mercer, L.P., and Foldin, N.W., 1975. General model for nutritional responses of higher organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72: 4327-4331.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B.E., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M.T. Ladish, M., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.*, 96 (6): 673-686.
- Muktham, R. Bhargava, S.K. Bankupalli, S. and Ball, A.S. 2016. A Review on 1st and 2nd Generation Bioethanol Production-Recent Progress. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems*, 6 (3): 72-92.
- 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: 578–597.

- Das Neves, L.C.M., Converti, A. and Penna, T.C.V. 2009. Biogas Production: New trends for *alternative energy sources in rural and urban zones*. *Chem. Eng. Technology*, 32 (8): 1147-1153.
- Nigam, P.S. and Singh, A. 2011. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37 (1): 52-68.
- Olsson, L. and Hahn-Hagerdal, B. 1996. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*, 18 (5): 312-331.
- Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. 2000. *Bioresource Technology* 74 (1): 25-33.
- Patil, V., Tran, K.Q. and Griselrod, H.R. 2008. Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*, 9 (7): 1188-1195.
- Patil, A.R., Yerrawar, R.N., Nigade, S.A., Chavan, O.B., Rathod, H.S. and Hiran, B.K. 2014. Literature Review on need of Composite Additives for S.I Engine. *International Journal For Research & Development in Technology*, 2(4): 349-3585.
- Peng, F., Peng, P., Xu, F. and Sun R.C. 2012. Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. *Biotechnology Advances*, 30 (4): 879-903.
- Perez, J., Munoz-Dorado, J., De La Rubia, T. and Martinez, J. 2002. Biodegradation and biological treatment of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology*, 5 (2): 53-63.
- Pitt, R.E., Cross T.L., Pell A.N., Schofield, P. and Doane P.H. 1999. Use of in vitro gas production models in ruminal kinetics. *Mathematical Biosciences*, 159 (2): 145-163.
- Psomopoulos, C.S., Nickolaos, C., Ioannidis, G.C. and Karaisas, P. 2014. The role of the new cohesion's proposal to minimize the climate impacts of biofuel production in energy and transport sectors. *Fresenius Environmental Bulletin*, 23 (11): 2687-2694.
- Rajagopalan, S., Datar, R.P. and Lewis, R.S. 2002. Formation of ethanol from carbon monoxide via a new microbial catalyst. *Biomass and Bioenergy*, 23 (6): 487-493.
- Ramesh, C. K. and Singh, A. 1993. Lignocellulose biotechnology: current and future prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*, 13 (2): 151-172.
- Ramos, L.P. 2003. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova*, 26 (6): 863-871.
- Refaat, A.A. 2010. Different techniques for the production of biodiesel from waste vegetable oil. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 7 (1): 183-213.

- Rentizelas, A.A. Tolis, A.J. and Tatsiopoulos, I. P. 2009. Logistics issues of biomass: The storage problem and the multi-biomass supply chain. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13 (4): 887-894.
- Ross, T. 1996. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology*, 81 (5): 501-508.
- Roukas, T. 1994. Kinetics of ethanol production from carob pods extract by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Appl Biochem Biotechnol*, 44 (1): 49-64.
- Saha, B.C., Iten, L.B., Cotta, M.A. and Wu, Y.V. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification, and fermentation of rice hulls to ethanol. *Biotechnol Progr*, 21 (3): 816-822.
- Sanchez, O.J. and Cardona, A. C. 2008. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstock. *Bioresource Technology*, 99 (13): 5270-5295.
- Sarangi, M., Bhattacharyya, S. and Behera, R.C. 2009. Effect of temperature on morphology and phase transformations of nano-crystalline silica obtained from rice husk. *Phase Transitions*, 82 (5): 377-386.
- Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S. and Aikat, K. 2012. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, 37 (1): 19-27.
- Sathisuksanoh, N., ZHU, Z. Rollin, J. and Zhang, Y.H. 2009. Comparative Study of Corn Stover Pretreated by Dilute Acid and Cellulose Solvent-Based Lignocellulose Fractionation: Enzymatic Hydrolysis, Supramolecular Structure, and Substrate Accessibility. *Biotechnology and Bioengineering*, 103 (4): 715-724.
- Schenk, P., Thomas-Hall, S., Stephens, E., Marx, U., Mussnug, J., Posten, C., Kruse, O. And Hankamer, B. 2008. Second generation biofuels: highefficiency microalgae for biodiesel production. *BioEnergy Research.*, 1 (1): 20-43.
- Sims, R.E.H., Mabee, W., Saddler, J.N. And Taylor, M. 2010. An overview of second generation biofuel technologies. *Bioresource Technology*, 101 (6): 1570-1580.
- Sokhansani, S., Kumar, A. and Turhollow, A.F. 2006. Development and implementation of integrated biomass supply analysis and logistics model (IBSAL). *Biomass Bioenergy*, 30 (10): 838-847.
- Sookkumnerd, C., Ito, N. and Kito, K. 2005. Financial viability of husk-fuel steam engine as energy saving technology in Thai rice mill. *Appl Energy*, 82 (1):64-80.
- Sreenatha, H.K. and Jeffries, T.W. 1999. Production of ethanol from wood hydrolyzate by yeasts. *Bioresource Technology*, 72 (3): 253-260.
- Stannard, C., Williams, A. and Gibbs, P. 1985. Temperature/growth relationships for psychrotrophic food-spoilage bacteria. *Food Microbiology*, 2 (2): 115-122.
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83 (1): 1-11.

- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *Int J Mol Sci* 9 (9): 1621-1651.
- Taylor, M.P., Eley, K.L., Martin, S., Tuffin, M.I., Burton, S. G. and Cowan, D. A. 2009. Thermophilic ethanogenesis: future prospects for second-generation bioethanol production. *Trends Biotechnol.* 27 (7): 398-405.
- Thangavelu, S.K., Ahmed, A.S. and Ani, F.N. 2014. *Applied Energy*, 128: 277-283.
- Tomas-Pejo, E., Oliva, J.M., Ballesteros, M. and Olsson, L. 2008. *Biotechnology and Bioengineering*, 100 (6): 1122-1131.
- Triana, C.F., Quintero, J.A., Agudelo, R.A., Cardona, C.A. and Higuera, J.C. 2011. Analysis of coffee cut-stems (CCS) as raw material for fuel ethanol production. *Energy*, 36 (7): 4182-4190.
- Turhan, I., Bialka, K.L., Demirci, A. and Karhan, M. 2010. Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresour. Technol.*, 101 (14): 5290-5296.
- Van Wyk, J.P.H. 2001. Biotechnology and the utilization of biowaste as a resource for bioproduct development. *TRENDS in Biotechnology*, 19 (5): 172-177
- Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J. and Boerjan, W. 2010. Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant Physiology*, 153 (3): 895-905.
- Wang, M., Han, J., Dunn, J.B., Cai, H. and Elgowainy, A. 2012. Well-to-wheels energy use and greenhouse gas emissions of ethanol from corn, sugarcane and cellulosic biomass for US use. *Environ. Res. Lett.* 7 (4): 1-13.
- Weibull, W. A. 1951. statistical distribution function of wide applicability. *Journal of Applied Mechanics*, 18: 293-297.
- Wyman, C. E. 1996. Handbook on bioethanol: production and utilization. Taylor & Francis, Washington DC, 417 s.
- Westman, J.O., Ylittero, P., Franzen, C.J. and Taherzadeh M.J. 2012. Effects of encapsulation of microorganisms on product formation during microbial fermentations. *Appl Microbiol Biotechnol*, 96 (6):1441-1454.
- Wetchakun, K., Samerjai, T., Tamaekong, N., Liewhiran, C., Siriwong, C., Kruefu, V., Wisitsoraat, A., Tuantranont, A. and Phanichphant, S. 2011. Semiconducting metal oxides as sensors for environmentally hazardous gases. *Sensors and Actuators*, 160 (1): 580-591.
- Woodson, M. and Jablonowski, C.J. 2008. An economic assessment of traditional and cellulosic ethanol technologies. *Energy Sources*, 3 (4): 372-383.
- Zaldivar, J., Nielsen, J. and Olsson, L. 2001. Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration. *Appl Microbiol Biotechnol*, 56 (1-2): 17-34

- Zhu, J., Yang, J., Zhu, Y., Zhang, L., Yong, Q., Xu, Y., Li, X. and Yu, S. 2014. Cause analysis of the effects of acid-catalyzed steam-exploded corn stover prehydrolyzate on ethanol fermentation by *Pichia stipitis* CBS 5776. *Bioprocess Biosyst Eng*, 37 (11): 2215–2222.

ÖZGEÇMİŞ

NOUR BEN BADER

b.bader.nour@hotmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2013-2017	Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya
Yüksek Lisans 2011-2012	Ecole Supérieure des Industries Alimentaire de Tunis Food industries
Lisans 2006-2011	Ecole Supérieure des Industries Alimentaire de Tunis Food industries