

# Biyokütleden Biyoetanol Üretimi için Uygulanan Ön Hazırlık İşlemleri

Sevgi Fersiz<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Kocaeli Üniversitesi, Köseköy Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, 41135, Kocaeli.

## Özet

*Biyoetanol, tüm dünyada kullanılan yenilenebilir bir enerji kaynağıdır. Biyoetanol hem tek başına hem de benzinle çeşitli oranlarda karıştırılarak kullanılmaktadır. Yenilenebilir enerji kaynağı olarak lignoselülozik biyokütlenin kullanılması, etanol üretiminde büyük bir öneme sahiptir. Biyoetanol üretiminde gıda maddelerinin kullanılması gıda fiyatlarında yükselmeye ve bazı sosyolojik problemlere neden olacaktır. Bu nedenle gıda maddelerinden elde edilen birinci nesil biyoetanol üretiminin yerini alacak, benzin fiyatlarıyla rekabet edebilecek ikinci nesil biyoetanol üretiminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Lignoselülozik hammadde kompleks selüloz, hemiselüloz ve lignin yapılarını içerir. Bu kompleks yapıların basit şeker bileşiklerine parçalanması gerekmektedir. Ancak bu şekilde daha basit ve kullanılabilir şeker bileşikleri elde edilebilir. Fermente edilebilir şekerlerin hızlı ve etkili bir şekilde hidrolize edilebilmesi için ön hazırlık işlemlerine ihtiyaç vardır. Ön hazırlık işlemleri fiziksel, fiziko kimyasal, kimyasal ve biyolojik yöntemler olmak üzere gruplandırılmaktadır. Ön işlemde geçen biyokütle, daha kolay biyolojik olarak parçalanmakta ve enzimlerin hammaddeye erişebilirliği artmaktadır. Seçilen ön hazırlık işlemlerinin çevre dostu, ucuz, etkili ve basit olması büyük önem taşımaktadır.*

## Anahtar Sözcükler

Biyokütle, Biyoetanol, Ön Hazırlık İşlemleri

## Pretreatment Methods for Producing Bioethanol from Biomass

### Abstract

*Bioethanol is a renewable energy resource used in the whole world. Bioethanol can be used by itself or mixing with oil in different rates. Utilizing lignocellulose biomass as a renewable energy resource has a significant role on producing ethanol. Using food materials for producing bioethanol will cause increasing in food prices and some social problems. Because of this reason, we need to realize on producing second generation of bioethanol, which can replace the first-generation bioethanol produced from food materials and compete with oil prices. Lignocelluloses raw materials consist of complex cellulose, hemicelluloses and lignin structures. These complex structures must be divided into simple sugar elements. There is a need for pretreatment methods for hydrolyzing fermented sugar in a fast and effective way. Pretreatment processes can be grouped as physical, physicochemical, chemical and biological methods. The biomass after pretreatment can be easily divided as biologically and thus, access of enzymes to raw materials accelerates. It is a significantly important matter for the selected pretreatment methods to be cheap, simple, effective and environmentally safe.*

## Keywords

Biomass, Bioethanol, Pretreatment

## 1. Giriş

Artan enerji ihtiyacı, tüm dünya ülkelerini temiz, yenilenebilir ve sürdürülebilir bir enerji kaynağı arayışına sevk etmiştir. Enerji kaynağı olarak biyokütle kaynaklarının kullanılmasının birçok nedeni bulunmaktadır. Bunlar, biyokütlenin yenilenebilir ve oluşturduğu emisyonlara bakıldığında petrol ürünlerine göre çevre dostu bir hammadde olmasıdır. Biyokütle, bitki, hayvan ve mikroorganizma gibi kaynaklardan elde edilen en önemli karbon içerikli hammaddedir (Parisutham vd. 2014). Biyokütle, orman atıkları, tarımsal atıklar (mısır, pirinç vb.), enerji bitkileri (dalı darı vb), selülozik atıklardan (evsel katı atık, mutfak atığı vb.) elde edilmektedir. Biyokütle enerjisi kullanılarak elde edilebilen çeşitli yakıtlar biyoetanol, biyodizel, biyogaz ve biyohidrojen (Demirbaş 2007). Biyoyakıtlar, özellikle biyodizel ve biyoetanol yenilenebilir birincil enerji kaynağıdır. Biyoyakıt kullanımı ve üretimi global enerji krizinin çözümü için önemlidir (Pieragostini 2014). AB komisyonu 2008 yılında aldığı kararda 2020 yılına kadar üye ülkelerinde ulaşımda kullanılan yakıtın %10 oranında biyoyakıt ile desteklenmesi gerekliliği şartını getirmiştir (European Commission 2008). AB'de biyomotorin ve biyoetanol kullanımının zorunlu hale getirilmesi, AB'ye uyum süreci gereği ülkemizde de biyoyakıt talebinin artmasını sağlayacaktır. 7/8/2009 tarihli ve 27312 sayılı Resmî gazetede yayımlanan "Benzin Türlerine İlişkin Teknik Düzenleme Tebliğinde" değişiklik yapılarak 27 Eylül 2011 tarih ve 28067 sayılı yeni bir tebliğ yayımlanmıştır. Bu tebliğe göre yerli tarım ürünlerinden üretilen biyoetanol 1 Ocak 2013'den itibaren en az %2, 1 Ocak 2014'den itibaren ise %3 oranında ilave edilmek zorundadır (Resmî Gazete 2011).

## 1.1. Biyoetanol

Biyoetanol berrak, renksiz ve karakteristik bir kokuya sahip sıvıdır ve içten yanmalı motorlara herhangi bir modifikasyona ihtiyaç duyulmadan %10 miktarında harmanlanarak kullanılabilir. Biyoetanolin en yaygın iki kullanım şekli E-10 (% 10 Biyoetanol + %90 Benzin) ve E-85 (%85 Biyoetanol+ %15 Benzin) 'dir (EİE 2017a). Bu nedenle ülkemizde biyoetanol üretiminin artırılmasına yönelik çalışmaların yapılması önemlidir. Biyoyakıt üretiminde öncelikle ucuz ve bol miktarda hammadde kaynağı bulmak çok önemlidir (Huber vd. 2006). Biyoetanol, basit şekerlerden (şeker pancarı, şeker kamışı melası vb.), ve nişastalı yiyeceklerden (mısır, patates vb.) ve selülozdan fermentasyon yoluyla elde edilmektedir (Hansdah ve Murugan 2014). Dünyada, etanol üretiminin yaklaşık %50'si şeker pancarı ve şeker kamışı kullanılarak diğer kalan %50 si ise tahıllar (mısır, buğday) kullanılarak üretilmektedir (Eggleston vd. 2010). ABD'de etanol üretimi için en çok kullanılan bitki mısırdır, ancak etanol üreten diğer ülkelerde ise en çok şeker kamışı ve şeker pancarı kullanılmaktadır. Ülkemizde araçlarda yakıt olarak kullanılabilir nitelikte susuz biyoetanol üretimi yapan üç firma bulunmaktadır. Bunlar Tarımsal Kimya Teknolojileri (TARKİM) ve Tezkim Tarımsal Kimya (TEZKİM) buğday ve mısırdan, Konya Şeker-Çumra Fabrikası şeker pancarından biyoetanol üretimi yapmaktadır. Bu üç firma yılda ortalama 162 milyon litre biyoetanol üretmektedir. Bunun 76 milyon litresi yakıt biyoetanolidir. Üretilen yakıt biyoetanolinin % 92'si yurt içinde benzinle harmanlanarak kullanılmakta geriye kalan %8'i ihraç edilmektedir (TAPDK 2015). Büyük ölçekli biyoetanol üretiminde, şeker ve nişasta içerikli maddelerden etanol üretimi, bu maddelerin besin maddesi olması nedeniyle istenmemektedir (Thangavelu vd. 2014). Lignoselülozik biyokütle ise temel olarak kompleks bir yapı içinde birbirine bağlı selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşmaktadır (Mori vd. 2015). Selüloz karbon içeriği bakımından biyokütlede önemli bir yer tutmaktadır. Selüloz,  $\beta$ -1,4 glikozidik bağlar tarafından bağlanmış D-glikoz alt birimleri içermektedir (Dinçtürk 2007). Bu özel ve komplike yapı selülozların biyolojik ve kimyasal arıtmaya dirençli olmasına sebep olmaktadır (Kristiani vd. 2013). Selülozun aksine hemiselüloz, ksiloz ve arabinoz gibi 5 karbonlu şekerler ile galaktoz ve mannoz gibi 6 karbonlu şekerlerden oluşan heteropolimer bir yapıdır. Lignin ise üç farklı fenolik asitlerden oluşan (p-coumaryl alkol, koniferil alkol and sinapyl alkol) karmaşık bir yapıya sahiptir. Biyolojik olarak zor parçalanabilen üç boyutlu bir yapı ile bağlıdır. Lignin hem kimyasal hemde enzimatik olarak zor parçalanabilmektedir (Kristiani vd. 2013).

Lignoselülozik biyokütlenin büyük bir bölümü atılmakta veya yakılarak bertaraf edilmektedir. Fakat lignoselülozik biyokütle bir atık değildir ve değerli ürünlere dönüştürülebilir. Bunlar, biyodizel, biyoetanol, biyogaz, pirolitik gaz, hidrojen (EİE 2017b). Lignoselülozik biyokütlenin yapısındaki ligninden dolayı biyoetanol eldesinde yeterli verim alınamamaktadır. Verimin artırılması için biyokütle bazı ön hazırlık işlemlerinden geçirilmelidir. Lignoselülozik atıkların parçalanmasında kullanılan ön hazırlık işlemleri, lignoselülozun mikro ve makro yapısını, kimyasal bileşimini değiştirir. Bu proses, lignin ve hemiselüloz yapısını kırar. Lignini uzaklaştırır. Hemiselülozu degrade eder. Selülozların kristal yapısını değiştirir. Selüloz serbest kalır. Enzim ve substrat şeker hidrolizini hızlandırır (Michalska vd. 2012). Bunun yanında uygulanan ön hazırlık işlemlerinin indirgen şeker kaybına neden olmaması, fermentasyon işlemi sırasında mikroorganizmalara ve enzimlere zararlı yan ürünler oluşturmaması ve ucuz ve uygulanabilir bir yöntem olması gerekmektedir (Alvira vd. 2010). Bu çalışmada lignoselülozik atıkların ön hazırlık işlemleri araştırılmıştır.

## 2. Ön Hazırlık İşlemleri

Ön hazırlık işlemleri, atıkların reaksiyona girebilecek yüzey alanının artırılmasını ve selülozun kristalize yapısının bozulmasını sağlar. Bu işlemlerin esas amacı, tarımsal atığın biyoetanol veya biyogaz gibi ürünlere dönüşüm verimini arttırmaktır. Bu işlemler; fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik yöntemleri içermektedir (Keller vd. 2003).

### 2.1. Fiziksel Ön Hazırlık İşlemleri

#### 2.1.1. Mekanik Öğütme

Biyokütlenin daha ufak parçalara ayrılarak yüzey alanının artırılması sağlanır. Böylece, sonraki metotların daha kolay ve etkin kullanılması sağlanmış olur. Kuru öğütme, ıslak öğütme, titreşimli bilyeli öğütücü ve sıkıştırma metotlarını içerir (Taherzadeh ve Karimi 2008). Bu proses ile lignin ve hemiselüloz giderilemez. Yapılan bir çalışmada pirinç samanının bilyeli ve ıslak disk ile öğütülmesinden sonra enzimatik hidrolizleri incelenmiştir. Glikoz ve ksilozun dönüşüm verimleri sırasıyla bilyeli öğütücü-enzimatik hidroliz sonrasında sırasıyla % 78.5, % 41.5, ıslak diskli öğütücü-enzimatik hidroliz sonrasında ise sırasıyla % 89.4 ve % 54.3 olduğunu belirtmişlerdir (Mood vd. 2013).

#### 2.1.2. Mikrodalga ön hazırlık işlemleri

Mikrodalgalar, 1 mm-1 m dalga boyu ve 300 MHz-300 GHz frekans aralığında bulunan, elektromanyetik spektrumun belirli bir kısmını kapsayan iyonize edici olmayan elektromanyetik dalgalarıdır. Geleneksel termal proseslerde enerji konveksiyon, iletim ve radyasyon yoluyla materyal üzerine aktarılır. Bunun aksine, mikrodalga enerjisinde elektromanyetik dalgalar ile moleküler etkileşim yoluyla doğrudan materyale enerji transfer edilir. Bu nedenle, ısıtma hızı yüksektir ve işlem süresi kısadır (Banik vd. 2003). Lignoselülozik maddenin yüzey alanını artırarak enzim aktivitesini artırır (Moretti vd. 2014). Keshwani ve Cheng (2010) dallı darı bitkisinden biyoetanol üretimi için ön hazırlık işlemi

olarak %2 NaOH konsantrasyonunda 10 dak mikrodalga uygulaması yapmışlardır. Sonrasında uygulanan enzimatik hidrolizi, selüloz ve sellobiyaz enzimlerini kullanılarak 72 saat sürede gerçekleştirmişlerdir. İndirgen şeker miktarı 0.446 g şeker/g biyokütle, %82 glikoz ve %63 ksiloz verimi elde etmişlerdir.

### 2.1.3 Ultrasonik ön hazırlık işlemleri

Ultras, insan kulağı tarafından algılanamayan yüksek frekanslarda yayılan ses dalgaları olarak nitelendirilmektedir (Mason ve Peters 2002). Ultrasonik ön hazırlık işlemi uygulandığında sıvı içinde kabarcık oluşumu gerçekleşmektedir. Oluşan kabarcıklar belirli bir büyüklüğe geldikten sonra sönmekte ve ısı oluşumu gerçekleşmektedir. Böylece katı cisimlerin ve bakterilerin parçalanması sağlanmaktadır. Aynı zamanda biyokütle yapısında oksitlenme, bileşim bozulması, molekül zincirleri parçalanmaktadır (Erkurt 2011). Revin vd. (2016)'da talaşa ultrasonik, ardından enzimatik ön hazırlık işlemi uygulamışlar ve glikoz veriminin ön hazırlık işleminden geçmeyen biyokütleyle kıyasla iki kat fazla (35.5 g glikoz/l) olduğunu bildirmişlerdir. Zhao vd. (2013)'de ise, 0.3 g/l olan mikroalg çözeltisine yaklaşık 0.6 kWh/l güçte ultras enerjisi uygulanmasıyla glikoza dönüşüm verimini %36.9 g glikoz/g biyokütle olarak bulmuşlardır.

### 2.1.4 Yüksek enerjili elektron radyasyonu ile ön hazırlık işlemleri

Atom veya molekülün iyonlaşma enerjisinden daha büyük bir enerjinin atom veya moleküle aktarılmasıdır. Bu amaçla yüksek enerji kaynağı olarak en çok kullanılan radyasyon kaynakları  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ , elektron demetleri, X ışınlarıdır. Radyasyon kaynağından çıkan foton ilk olarak ortamdaki çözücüyle etkileşir ve milyonlarca çözünmüş elektron açığa çıkarır. Açığa çıkan bu çözünmüş elektronlar maddeyle etkileşime girmesi sonucu maddenin, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerini değiştirir. Işınlamanın şiddetine bağlı olarak büyük moleküller parçalanarak daha küçük molekül ağırlığında molekül, iyon ya da radikallere dönüşümdür (TAEK 2011).

## 2. Kimyasal Ön Hazırlık İşlemleri

### 2.2.1. Asit ile ön hazırlık işlemleri

Asidik ön hazırlık işlemleri, inorganik asitler (sülfürik, nitrik, hidroklorik ve fosforik asitler) ve organik asitler (formik, asetik ve propiyonik asit) kullanılarak yapılmaktadır (Chen vd. 2017). Asidik ön hazırlık işlemleri, seyreltik ve konsantre asit metodu olarak ikiye ayrılabilir. Konsantre asit metodu %30'un üzerinde asit konsantrasyonu kullanılmasıdır. Düşük sıcaklık ile birlikte kullanılmaktadır. Konsantre asitler toksik ve korozif olmaları nedeniyle kullanılacak ekipmanların korozyona dayanıklı olması gerekmektedir. Ayrıca asitler mutlaka geri kazanılmalıdır (Laurens vd. 2015). Seyreltik asit arıtımında ise asit konsantrasyonu %10'nun altındadır. Yüksek sıcaklıkla birlikte uygulanır. Asit geri kazanımına gerek yoktur. Sürekli üretim için uygun bir procestir (Saha vd. 2005).  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ve  $\text{HCl}$  gibi inorganik asitlerin kullanımı daha yaygındır (Sun ve Cheng 2002). Chiesa ve Gnansounou (2014) yaptıkları çalışmada meyve kabuklarından biyoetanol üretiminde ön hazırlık işlemi olarak  $161^\circ\text{C}$ , 9 dak., % 1.5  $\text{H}_2\text{SO}_4$  kullanmışlardır ve indirgen şeker verimi % 85 olarak belirtmişlerdir. Onsoy vd. (2007) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise yer elmasından biyoetanol üretimi için asit hidrolizi ön hazırlık işlemi olarak gerçekleştirilmiştir. En yüksek indirgen şeker miktarı  $80^\circ\text{C}$ 'de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  varlığında elde edilmiştir. Xu ve Hanna (2010) ise kurutulmuş mısır kullanarak yaptığı çalışmada optimum ön hazırlık işlem değerlerini % 3.2 (w/v) asit konsantrasyonu,  $112^\circ\text{C}$ 'de 84.5 dakika reaksiyon sıcaklığı olarak belirlemişlerdir. Elde edilen ksiloz verimi 267.3 mg/g kuru madde, arabinoz verimi 121.2 mg/g kuru madde ve glukoz verimi ise 46.3 mg/g kuru madde olarak bulmuşlardır.

### 2.2.2. Alkali ile ön hazırlık işlemleri

Lignoselülozik atıkların alkali kullanılarak gerçekleştirilen ön hazırlık işlemlerinde genellikle NaOH, KOH,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ve  $\text{NH}_4\text{OH}$  kullanılmaktadır. Ön hazırlık işlemleri sayesinde lignin yapısı bozulur, ham maddenin gözenekliliği artar. Böylece enzimlerin ulaşılabilir olduğu yüzey alanı genişletilmiş olur. Sonraki aşama olan enzim hidrolizi için hammadde daha uygun hale gelmektedir (Heggset vd. 2016). NaOH'm kullanıldığı alkali ön hazırlık işlemlerinde, düşük sıcaklık, uzun bekleme süresinde sakkarifikasyon veriminin arttığı rapor edilmiştir (Aita vd. 2011). Dolğun (2016)'da dallı darı bitkisinden biyoetanol üretimi için seyreltik asit ve kireç kullanarak ön hazırlık işlemi uygulamış ve fermente edilebilir şeker oluşumuna etkisini incelemiştir. Optimizasyon çalışması sonuçlarına göre en yüksek fermente edilebilir şeker miktarına seyreltik sülfürik asit ile  $120^\circ\text{C}$ 'de % 0.5 asit konsantrasyonu sonucu, kireç ile  $120^\circ\text{C}$ 'de 0.1 g kireç/g dallı darı ile ulaşmıştır. İndirgen şeker miktarları ise sırasıyla 50.58 ve 44.76 g/100 g dallı darı olarak bulmuştur.

### 2.2.3 Oksidant ile ön hazırlık işlemleri

$\text{O}_3$ ,  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ , VUV,  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ,  $\text{O}_3/\text{UV}$ ,  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ , Fenton, foto-Fenton, sonokimyasal oksidasyon (Ultrasound/ $\text{H}_2\text{O}_2$ , Ultrasound/ $\text{O}_3$  vb), fotokataliz prosesi gibi kombine ileri oksidasyon proseslerinin yüksek oksidasyon kapasitesine sahip radikal üretimi yapan prosesler olduğu belirtilmektedir. Organiklerin oksidatif olarak parçalanması için hidroksil radikallerinin (OH) üretilmesi prensibine dayanmaktadır (Shirkavand vd. 2016). Travaini vd. (2013) tarafından yapılan

çalışmada 0.21 g O<sub>3</sub>/g biyokütle ozon kullanımı sonrasında NS NS50013 (selülaz) ve NS NS50010 (β-glukosidaz) enzim kompleksleri kullanılmış ve kontrol numunesine oranla glikoz dönüşüm veriminin %6.6'dan % 41.8'e, ksiloz dönüşüm veriminin ise %2.1'den %52.4'e çıktığı görülmüştür.

#### 2.2.4. Organik çözücü ile ön hazırlık işlemleri

Organik çözücülerin (metanol, etanol, aseton, etilen glikol, etilen glikol) inorganik asit katalizörlüğünde (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> veya HCl) kullanıldığı, lignin ve hemiselüloz yapısının bozunmasına yönelik bir işlemdir (Chum vd. 1988; Thring vd. 1990). Uygulanan ön işlemler ile lignin ve hemiselüloz bağları kırılarak saf ve yüksek kalitede lignin elde edilir (Mesa vd. 2011). Lignin makromolekülündeki α-aril eter ve arilgliserol-β-aril eter (β -O-4) bağları kırılır ve böylece hücre duvarı içerisindeki lignin içeriği azalır (Nakagame vd. 2011). Organik çözeltilerin pahalı oluşu ve reaksiyon süresinin uzun olması sistemin dezavantajlarıdır (Ostovareh vd. 2015). Santo vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada şeker pancarı küspesine, önce 160°C'de 30-60 dak sıcak su daha sonra %50 v/v etanol/su çözeltisi kullanılarak 190°C'de 50-100-150 dakika reaksiyon sürelerinde ön hazırlık işlemleri uygulanmıştır. Deney süresi sonunda %75 hemiselüloz giderimi ve %62 lignin giderimi sağlandığı bulunmuştur. Bu ön işlemlerin lignin gibi kompleks yapıları parçaladığı ve enzimatik hidrolizin etkinliğini önemli bir şekilde arttırdığını tespit etmişlerdir.

### 2.3. Fizikokimyasal Ön Hazırlık İşlemleri

#### 2.3.1. Buhar Patlatma

En yaygın kullanılan ön hazırlık işlemlerinden biridir. Biyokütle yüksek basınçlı buharla patlatılır. Basıncın aniden düşürülmesiyle lignoselülozik yapı parçalanır ve hemiselüloz yapısının hidrolizi kolaylaşır. Bu işlemde amaç, hemiselüloz ve selülozda var olan monomerik şekerleri serbest bırakmaktır (Hongzhang ve Liying 2007). Lignoselülozik biyokütlenin ön hazırlık işlemi olarak buhar patlatma yöntemi, kimyasal madde kullanılmadan enzimatik hidroliz etkinliğini artırması nedeniyle çevre dostu bir yöntemdir (Singh vd. 2015). Yapılan bir çalışmada mısır samanı 1.0, 1.6 ve 2.2 MPa farklı buhar basınçlarında, 30, 115 ve 200 s'lik işletme sürelerinde ön işleme tabi tutulmuştur. Deney süresi sonunda mısır samanının yapısının bozulduğu ve yüzey alanının arttığı belirtilmiştir. Biyokütle yapısındaki bu değişiklik, fermentasyon aşamasını kolaylaştıracağı belirtilmiştir (Zhao vd. 2018).

#### 2.3.2. Amonyak uygulaması (AFEX)

Hammaddenin yüksek basınç ve sıcaklıkta sulu amonyak çözeltisiyle muamele edilmesi işlemidir. Amonyak, bitki karbonhidratlarını muhafaza etmesi ve enzimatik parçalanmayı arttırması nedeniyle etkili reaktiflerden biridir (Yang ve Wyman 2008). Yöntemin ekonomikliğini sağlayabilmek için amonyak geri kazanılmalıdır. Basit bir yöntemdir ve işlem süresi kısadır. Bu prosesle selüloz ve lignin giderimi yapılabilir. Fermentasyonu inhibe edici madde üretimi yoktur (Taherzadeh ve Karimi 2008). Mısır samanından fermente edilebilir şeker elde etmek için AFEX yöntemi kullanılmış ve prosesin etkinliği araştırılmıştır. AFEX işlemi hem tek başına hem de hidrojen peroksit kullanılarak (H-AFEX) yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. AFEX ve H-AFEX proseslerinin kompleks yapıyı parçalayarak enzimatik hidroliz verimlerini geliştirdiği belirtilmiştir. AFEX ön işleminde %82.13 glukoz ve % 79.41 ksilan giderimi bulunduğu, H-AFEX işleminde ise maksimum glukoz ve ksilan giderimi sırasıyla % 87.78 ve % 90.64 olarak bulunduğu belirtilmiştir (Zhao vd. 2014).

#### 2.3.3. CO<sub>2</sub> uygulaması

Yüksek basınçta karbondioksitle muamele işlemidir. Yüksek basınç altında (kritik basınç 73 atm), karbondioksit süper kritik durumunda tutulur. Karbondioksit basıncı hızla kaldırıldığında biyokütle patlar ve biyokütlenin yüzey alanı artar. Böylece biyokütle içerisindeki selülozun ulaşılabilirliği kolaylaşır (Balat 2011). Sonraki hidroliz ve fermentasyon aşamalarını etkileyen inhibisyon bileşikleri üretilmez. Substratların yüzey alanlarını genişleterek enzim etkinliğini artırır (Serna vd. 2016). Harun vd. (2010) Chlorococum türü mikroalglerin ön işlemi için 60 °C sıcaklıkta 400 ml/dk karbondioksit kullanmışlardır. Daha sonrası uygulanan fermentasyon işlemi sonucu biyoetanol verimini 30 °C ve 10 g/l başlangıç hücre konsantrasyonunda %38,3 biyoetanol/biyokütle olarak elde etmişlerdir.

### 2.4. Biyolojik Ön Hazırlık İşlemleri

Bu metotta bazı enzim, mikroorganizma, kahverengi, beyaz ve yumuşak çürükçül funguslar lignini parçalamak için kullanılmaktadır. Düşük enerji tüketimi ve kirlilik oluşturmaması prosesin avantajlarıdır. Fakat arıtım süresi uzun ve işletim ücretleri pahalıdır. Ayrıca biyolojik ön hazırlık işlemleri geliştirilme aşamasındadır (Sindhu vd. 2016). Menegol vd. (2016)'da %4 katı madde oranında çim atıklarından biyoetanol üretimi için ön hazırlık işlemi olarak enzimatik hidroliz yöntemini uygulamışlardır. Etanol üretimini %22.61 olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada glukoamilaz enzimi kullanılmış ve %85 glukoz verimi elde edilmiştir (Demirci 2016). Diğer bir çalışmada buğday samanı Pichia stipitis küfü



kullanılarak biyolojik ön işlemde geçirilmiş ve alkol verimi 0.48 g/g kuru madde olarak bulunmuştur (Kuhar vd. 2008). Mısır nişastası amilaz enzimi kullanılarak hidroliz edilmiş ve %96 verimle etanol üretiminde kullanılabilir şeker elde edilmiştir. %9 (w/v) çözünebilir nişasta içeren fermantasyon ortamında 65 saat sonunda etanol derişimi 43.1 g/l ve üretim hızı 0.65 g/l saat olarak bulunmuştur (Jamai vd. 2007).

## Sonuçlar

Ülkemizin biyoetanol üretimi ve kullanımı açısından diğer Avrupa ülkelerine kıyasla geride olması bu konuda yapılacak olan çalışmaların önemini arttırmaktadır. Biyoetanol kullanımının birçok faydası bulunmaktadır. Bunlardan biri biyoetanol kullanımı ile ülkemizin enerji konusunda dışa bağımlılığı azalacaktır. Bir diğeri de yenilenebilir enerji kaynaklarına yatırımlar arttıkça iş gücü ve sanayi sektörlerinde olumlu gelişmeler yaşanacaktır. Ayrıca fosil yakıtların kullanılmasıyla çevreye verilen zararın da önüne geçilmiş olacaktır. Lignoselülozik atıklardan biyoetanol üretimi, şeker içeren hammaddelerden biyoetanol üretimine göre zordur. Lignoselülozik hammadde içerisindeki kompleks bileşikler daha kolay fermente edilebilir şeker bileşiklerine çevirebilmek için bazı ön hazırlık işlemleri kullanılmak zorundadır. Ön hazırlık işlemleri, lignoselülozik biyokütleden biyoetanol üretimi için önemli bir adımdır. Bu çalışmada farklı ön hazırlık işlemleri araştırılmıştır. Hangi ön işlem yönteminin seçileceği ön hazırlık işleminin ve sonraki proses adımlarının verimini etkilemektedir. Fiziksel ön hazırlık işlemleri uygulaması kolay yöntemlerdir. Fakat yüksek enerji ve yatırım maliyetleri gerektirmektedir. Fizikokimyasal yöntemlerden amonyak uygulaması ve CO<sub>2</sub> uygulamalarının verimleri düşüktür. Kimyasal ön hazırlık işlemleri uzun yıllardır en çok kullanılan yöntemlerdir. Fakat bazı olumsuz çevresel sonuçları vardır. Biyolojik ön hazırlık işlemleri ılımlı çevre koşullarında uygulanmaktadır. Ancak bu proseslerin birçoğu yavaştır ve endüstriyel ölçekte uygulanması zordur. Büyük ölçekli endüstriyel uygulamalarda basit, etkili, çevre dostu, düşük yatırım ve işletim ücretli ön hazırlık işlemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu anlamda lignoselülozik biyokütle kapsamlı bir şekilde çalışılmalı ve araştırılmalıdır. Mevcut yöntemler iyileştirilmelidir. Disiplinler arası çalışmalar yapılarak bu alandaki araştırmalar arttırılmalıdır.

## Kaynaklar

- Aita G.A., Salvi D.A., Walker M.S., (2011), *Enzyme hydrolysis and ethanol fermentation of dilute ammonia pretreated energy cane*, Bioresource Technology, 102(6), 4444-4448.
- Alvira P., Tomás-Pejó E., Ballesteros M., Negro M., (2010), *Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review*, Bioresource Technology, 101, 4851-4861.
- Banik S., Bandyopadhyay S., Ganguly S., (2003), *Bioeffects of microwave-a brief review*, Bioresource Technology, 87, 155-159.
- Balat M., (2011), *Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review*, Energy Conversion Management, 52(2), 858-875.
- Chen H., Liu J., Chang X., Chen D., Xue Y., Liu P., Lin H., Han S., (2017), *A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals*, Fuel Processing Technology, 160, 196-206.
- Chiesa S., Gnansounou E., (2014), *Use of empty fruit bunches from the oil palm for bioethanol production: A thorough comparison between dilute acid and dilute alkali pretreatment*, Bioresource Technology, 159, 355- 364.
- Chum H.L., Johnson D.K., Black S., Baker J., Grohmann K., Sarkanen K.V., Wallace K., Schroeder H.A., (1988), *Organosolv pretreatment for enzymatic hydrolysis of poplars, I: enzyme hydrolysis of cellulosic residues*, Biotechnology Bioengineering 31(7), 643-649.
- Demirbaş A., (2007), *Progress and recent trends in biofuels*, Progress in Energy and Combustion Science, 33, 1-18.
- Demirci, A.Ş., Güner K.G., Gülcü M., Palabıyık İ., (2016), *Atık Ekmeklerden Biyoetanol Üretimi*, Türkiye 12. Gıda Kongresi, Edirne. ss 145.
- Diñçtürk Ö.D., (2007), *Haşhaş sapı ve pamuk sapı hemiselülozlarının alkali H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile fraksiyonel ekstraksiyonu ve bileşim karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye.
- Dolğun S.B., (2016), *Dallı darı bitkisinden (Panicum Virgatum L.) biyoetanol üretiminde seyreltik asit ve kireç ön uygulamalarının optimizasyonu ve bazı genotiplerin biyoetanol verimliliklerinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Eggleston G., Tew T., Panella L., Klasson T., (2010), *Ethanol from sugar crops. In: Industrial Crops and Uses*, CABI, Chippenham, UK, 60-83ss.
- EİE, (2017a), Biyoetanol, <http://www.eie.gov.tr/yenilenebilir/biyoetanol.aspx>, [Erişim Tarihi: 20 Kasım 2017].
- EİE, (2017b), Biyokütle çevrim teknolojileri, [http://www.eie.gov.tr/yenilenebilir/biyokutle\\_cevrim\\_tekno.aspx](http://www.eie.gov.tr/yenilenebilir/biyokutle_cevrim_tekno.aspx), [Erişim Tarihi: 20 Kasım 2017].
- Erkurt E.A., (2011), *Doğu Akdeniz Bölgesinde yetiştirilen mısır ve buğday atıklarından biyoetanol üretim verimi üzerine ön işlem etkisinin araştırılması*, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin, Türkiye.
- European Commission (2008), Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council on the promotion of the use of energy from renewable sources, Procedure 2008/0016/COD, COM 19 final.
- Hansdah D., Murugan S., (2014), *Bioethanol fumigation in a DI diesel engine*, Fuel, 130, 324-333.
- Harun R., Danquah M. K., Forde G. M., (2010), *Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production*, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 85, 199-203.
- Heggset E.B., Syverud K., Øyaas K., (2016), *Novel pretreatment pathways for dissolution of lignocellulosic biomass based on ionic liquid and lowtemperature alkaline treatment*, Biomass Bioenergy, 93, 194-200.

- Hongzhang C., Liying L., (2007), *Unpolluted fractionation of wheat straw by steam explosion and ethanol extraction*, *Bioresource Technology*, 98, 666–676.
- Huber G.W., Iborra S., Corma A., (2006), *Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering*, *Chemical Reviews*, 106, 4044–4098.
- Jamai L., Ettayebi K., El Yamani J., Ettayebi M., (2007), *Production of ethanol from starch by free and immobilized Candida Tropicalis in the presence of amylase*, *Bioresource Technology*, 98, 2765–2770.
- Keller, F.A., Hamilton, J.E. and Nguyen, Q.A., (2003), *Microbial pretreatment of biomass: potential for reducing severity of thermochemical biomass pretreatment*, *Applied Biochemistry Biotechnology*, 27–41: 105–108.
- Keshwani D.R., Cheng J.J., (2010), *Microwave based alkali pretreatment of switchgrass and coastal bermudagrass for bioethanol production*, *Biotechnology Progress*, 26(3), 644–652.
- Kristiani A., Abimanyu H., Setiawan A.H., F. A. Sudiarmanto F.A., (2013), *Effect of pretreatment process by using diluted acid to characteristic of oil palm's frond*, *Energy Procedia*, 32, 183 – 189.
- Kuhar S, Nair L.M., Kuhad R.C., (2008), *Pretreatment of lignocellulosic material with fungi capable of higher lignin degradation and lower carbohydrate degradation improves substrate acid hydrolysis and the eventual conversion to ethanol*, *Canadian Journal of Microbiology*, 54(4), 305–313.
- Laurens L.M.L., Nagle N., Davis R., Sweeney N., Wychen S.V., Lowell A., Pienkos P.T., (2015), *Acid catalyzed algal biomass pretreatment for integrated lipid and carbohydrate-based biofuels production*, *Green Chemistry*, 17, 1145–1158.
- Mason T.J., Peters D., (2002), *Practical sonochemistry: Power ultrasound and applications*, 2nd edition, Horwood Publishing, Chichester, U.K.
- Menegol D., Fontana R.C., Dillon A.J.P., Camassola M., (2016), *Second generation ethanol production from elephant grass at high total solids*, *Bioresource Technology*, 211, 280–290.
- Mesa L., González E., Cara C., González M., Castro E., Mussatto S.I., (2011), *The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse*, *Chemical Engineering Journal*, 168(3), 1157–1162.
- Michalska K., Miazek K., Krzystek L., Ledakowicz S., (2012), *Influence of pretreatment with Fenton's reagent on biogas production and methane yield from lignocellulosic biomass*, *Bioresource Technology*, 119, 72–78.
- Mood S.H., Golfeshan A.H., Tabatabaei M., Jouzani G.S., Najafi G.H., Gholami M., Ardjmand M., (2013), *Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 77–93.
- Moretti M.M.d.S., Bocchini-Martins D.A., Nunes C.d.C.C., Villena M.A., Perrone O.M., Silva R.d., Boscolo M., Gomes E., (2014), *Pretreatment of sugarcane bagasse with microwaves irradiation and its effects on the structure and on enzymatic hydrolysis*, *Applied Energy*, 122, 189–195.
- Mori T., Tsuboi Y., Ishida N., Nishikubo N., Demura T., Kikuchi J., (2015), *Multidimensional high-resolution magic angle spinning and solution-state NMR characterization of <sup>13</sup>C-labeled plant metabolites and lignocellulose*, *Scientific Reports*, 5, 1–12.
- Nakagame S., Chandra R.P., Sadler J.N., (2011), *The influence of lignin on the enzymatic hydrolysis of pretreated biomass substrate*, *Sustainable Production of Fuels, Chemicals, and Fibers from Forest Biomass*, ACS Symposium Series, 1067, 145–167.
- Onsoy T., Thanonkeo P., Thanonkeo S., Yamada M., (2007), *Ethanol production from Jerusalem artichoke by Zymomonas Mobilis in batch fermentation*, *KMITL Science Technology Journal*, 7–S1, 55–60.
- Ostovareh S., Karimi K., Zamani A., (2015), *Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment*, *Industrial Crops and Products*, 66, 170–177.
- Parisutham V., Kim T.H., Lee S.K., (2014), *Feasibilities of consolidated bioprocessing microbes: from pretreatment to biofuel production*, *Bioresource Technology*, 161, 431–440.
- Pieragostini C., Aguirre P., Mussati M.C., (2014), *Life cycle assessment of corn-based ethanol production in Argentina*, *Science of the Total Environment*, 472, 212–225.
- Resmî Gazete (2011), *Benzin türlerine ilişkin teknik düzenleme tebliğinde değişiklik yapılmasına dair tebliğ*. Tebliğ no 28067. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/09/20110927-5.htm>, [Erişim Tarihi: 10 Şubat 2016].
- Revin V., Atykyan N., Zakharkin D., (2016), *Enzymatic hydrolysis and fermentation of ultradispersed wood particles after ultrasonic pretreatment*, *Electronic Journal of Biotechnology*, 20, 14–19.
- Saha B.C., Iten L.B., Cotta M.A., Wu Y.V., (2005), *Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol*, *Process Biochemistry*, 40, 3693–3700.
- Santo M.E., Rezende C.A., Bernardinelli O.D., Jr N.P., Curvelo A.A.S., deAzevedo E.R., Guimarães F.E.G., Polikarpov I., (2018), *Structural and compositional changes in sugarcane bagasse subjected to hydrothermal and organosolv pretreatments and their impacts on enzymatic hydrolysis*, *Industrial Crops & Products*, 113, 64–74.
- Serna L.D., Alzate C.O., Alzate C.C., (2016), *Supercritical fluids as a green technology for the pretreatment of lignocellulosic biomass*, *Bioresource Technology*, 199, 113–120.
- Sindhu R., Binod P., Pandey A., (2016), *Biological pretreatment of lignocellulosic biomass - An overview*, *Bioresource Technology*, 199, 76–82.
- Singh J., Suhag M., Dhaka A., (2015), *Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: A review*, *Carbohydrate Polymers*, 117, 624–631.
- Shirkavand E., Baroutian S., Gapes D.J., Young B.R., (2016), *Combination of fungal and physicochemical processes for lignocellulosic biomass pretreatment, - A review*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 54, 217–234.
- Sun Y., Cheng J., (2002), *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*, *Bioresource Technology*, 83, 1–11.
- TAEK (2011), *Teknik rapor endüstriyel atık suların radyasyon prosesi teknolojiyle arıtılması* [http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/\\_Public/42/076/42076678.pdf](http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/42/076/42076678.pdf), [Erişim Tarihi: 22 Kasım 2017].
- Taherzadeh M.J., Karimi K., (2008), *Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review*, *Int. J. Mol. Sci.*, 9, 1621–1651.
- TAPDK, (2015), *Alkol piyasası, Resmi istatistikler*. <http://www.tapdk.gov.tr/tr/piyasa-duzenlemeleri/alkol-piyasasi/resmi-istatistikler.aspx>, [Erişim Tarihi: 10 Şubat 2016].

- Thangavelu A.K., Ahmed A.S., Ani F.N., (2014), *Bioethanol production from sago pith waste using microwave hydrothermal hydrolysis accelerated by carbon dioxide*, Applied Energy, 128, 277–283.
- Thring R.W., Chornet E., Overend R.P., (1990), *Recovery of a solvolytic lignin: effects of spent liquor/acid volume ratio, acid concentration and temperature*, Biomass, 23(4), 289- 305.
- Travaini R., Otero M. D. M., Coca M., Da-Silva R., Bolado S., (2013), *Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: Effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation*, Bioresource Technology, 133, 332-339.
- Xu Y., Hanna M.A, (2010), *Hydrolysis of hemicellulose in DDGS using dilute acid*, Industrial Crops and Products, 32(3), 512-517.
- Yang B., Wyman C.E., (2008), *Pretreatment: The key to unlocking low-cost cellulosic ethanol*, Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr, 2(1), 26–40.
- Zhao G., Chen X., Wang L., Zhou S., Feng H., Chen W. N., Lau R., (2013), *Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation*, Bioresource Technology, 128, 337-344.
- Zhao C., Ding W., Chen F., Cheng C., Shao Q., (2014), *Effects of compositional changes of AFEX-treated and H-AFEX-treated corn stover on enzymatic digestibility*, Bioresource Technology, 155, 34–40.
- Zhao S., Li G., Zheng N., Wang J., Yu Z., (2018), *Steam explosion enhances digestibility and fermentation of corn stover by facilitating ruminal microbial colonization*, Bioresource Technology, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.024>.