

# Biyoetanol Üretimini

Prof. Dr. Ahmet KARADAĞ

Bartın Üniversitesi

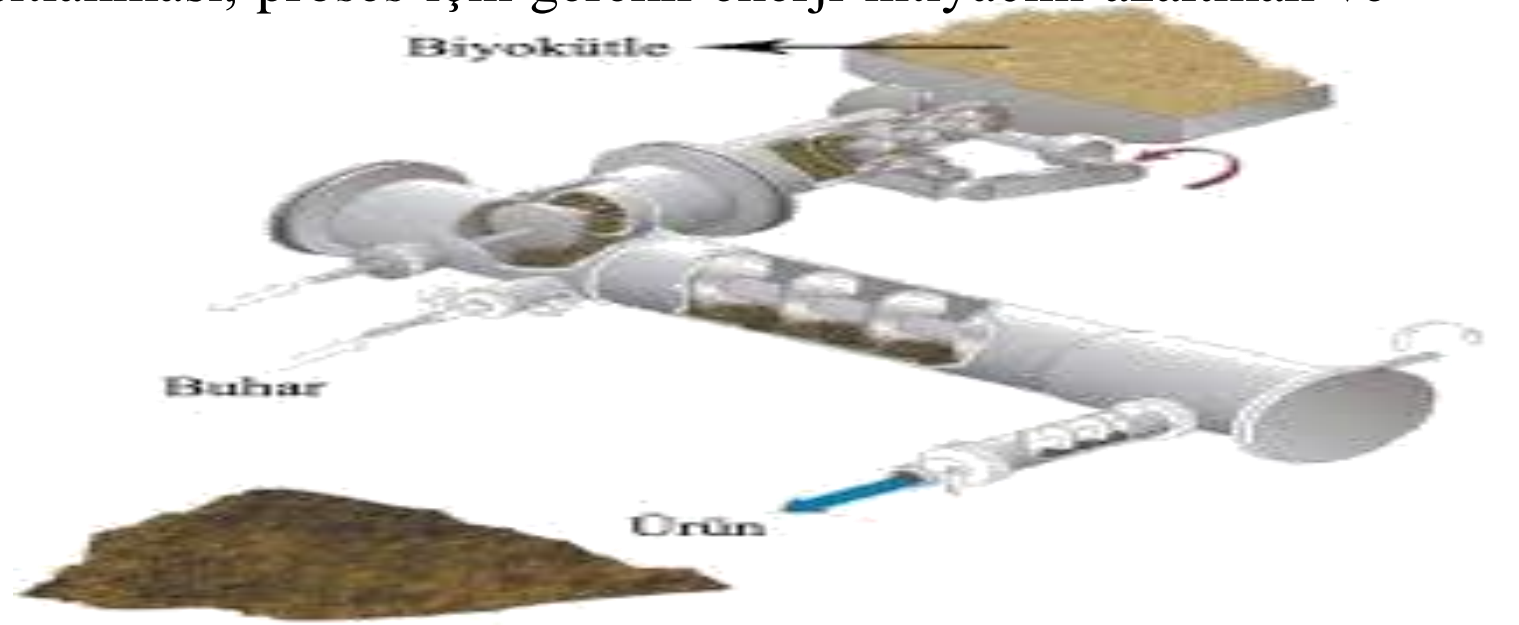
Fen Fakültesi

# İçindekiler

- Biyokütleğe Uygulanan Ön Muameleler
- Mekanik Parçalama Ön Muamelesi
- Piroliz Ön Muamelesi
- Mikrodalga Ön Muamelesi
- Buhar Patlama Ön Muamelesi
- Sıcak Su Ön Muamelesi
- Amonyak Fiber Patlaması (AFEX) Ön Muamelesi
- CO<sub>2</sub> Patlaması Ön Muamelesi
- Islak Oksidizasyon Ön Muamelesi
- Kimyasal Ön Muameleler
- Asit Ön Muamelesi
- Organosolv Ön Muamelesi
- Biyolojik Ön Muameleler
- Enzimatik Hidroliz
- Fermantasyon
- Hidroliz ile Fermantasyonun Ayrı Aşamalarda Gerçekleştirildiği Prosesler (SHF)
- Eşzamanlı Sakkarifikasyon ve Fermantasyon Prosesi (SSF)
- Saflaştırma ve Distilasyon

# Biyokütleye Uygulanan Ön Muameleler

- Biyoetanol üretiminde karşılaşılan en önemli zorluk biyokütlenin ön muamelesidir.
- Etkili bir ön muamelenin amaçları hidroliz aracılığı ile şekerlerin doğrudan ya da sonradan eldesi, elde edilen şekerlerin degradasyonunun ya da kaybının önlenmesi, inhibe edici ürünlerin oluşumunun kısıtlanması, proses için gerekli enerji ihtiyacını azaltmak ve maliyeti minimize etmektir.



# Biyokütleye Uygulanan Ön Muameleler

- Fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik olmak üzere biyokütleye uygulanan dört tip ön muamele tekniđi bulunmaktadır.
- Ön muamele prosesi etanol üretim maliyetinin önemli bir kısmını oluşturan aşamadır.
- En iyi seçenek olarak nitelendirilebilecek bir teknik olmamakla birlikte araştırma ve geliştirme çalışmaları ön muamele maliyeti ve performansını iyileştirmek amacıyla sürdürülmektedir.



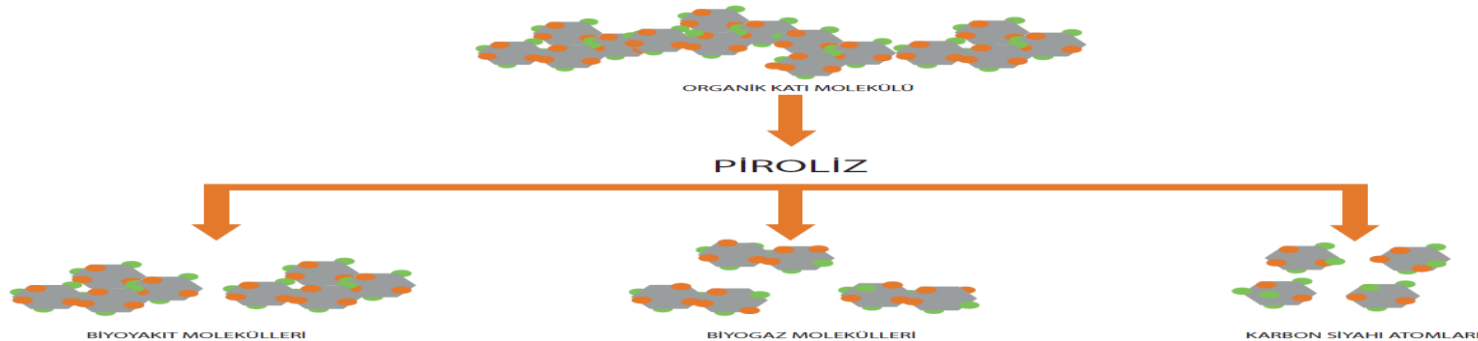
# Fiziksel Ön Muameleler

# Mekanik Parçalama Ön Muamelesi

- Öğütme, ezme ya da yongalama en çok kullanılan tekniklerdendir.
- Yapılan işlemler selülozun kristalinitesini azaltarak spesifik yüzey alanını artırır ve polimerizasyon derecesini azaltarak sonraki aşamalar için prosesin etkinliğini artırır.
- Harcanan enerji partiküllerin başlangıç ve son boyutları, nem içeriği ve hammaddenin yapısına bağlıdır.

# Piroliz Ön Muamelesi

- Piroliz az enerji girdisi olan endotermik bir proses olup biyokütlenin 300°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda muamele edilmesi ile selülozun char ve CO ile H<sub>2</sub> gibi gaz ürünlere bozunmasını içerir.
- Char su ya da seyreltik asit ile yıkandığında kalan su biyoetanol üretimi için mikrobiyal büyümeyi destekleyecek kadar karbon kaynağı içermektedir.
- Biyokütle ağırlığının yaklaşık olarak %55'i su ile yıkama aşamasında kayba uğramaktadır



# Mikrodalga Ön Muamelesi

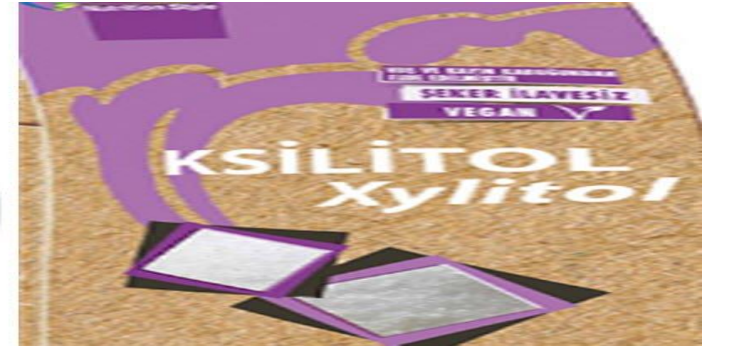
- Mikrodalga yöntemi kısa reaksiyon süresi, yüksek ısıtma etkinliği ve düşük enerji girdisi ile uygulaması kolay bir yöntemdir.
- Mikrodalga yöntemi sıvı ortamda mikrodalgaların oluşturduğu termal ve termal olmayan etkileri kullanır.
- Biyokütlenin içinde oluşan ısı polar bağların titreşimi ile sonuçlanır .
- Bu durum partiküller arasında bir patlamaya yol açar ve lignoselüloz yapının bozulmasına neden olur. Termal yöntemle lignoselülozik maddeden ortama asetik asit salınarak hidroliz için asidik bir ortam meydana gelir.



# Fizikokimyasal Ön Muameleler

# Buhar Patlama Ön Muamelesi

- Buhar patlama biyokütlenin selülozun parçalanmasına yönelik daha erişilebilir hale gelmesini sağlayan bir yöntemdir.
- Yöntemde biyokütle yüksek basınçlı buhar (20–50 bar, 160-270 °C) kullanılarak birkaç dakika boyunca ısıtılır ardından basıncın atmosferik koşullara gelmesi ile reaksiyon durdurulur.
- Buharın lignoselülozik matrikste yayılması fiberlerin dağılmasına yol açmaktadır. Uygulanan yöntem sırasında hiçbir katalizör kullanılmamaktadır.
- Biyokütlenin parçalanması sonucu levülinik asit, ksilitol ve alkoller oluşmaktadır.



# Sıcak Su Ön Muamelesi

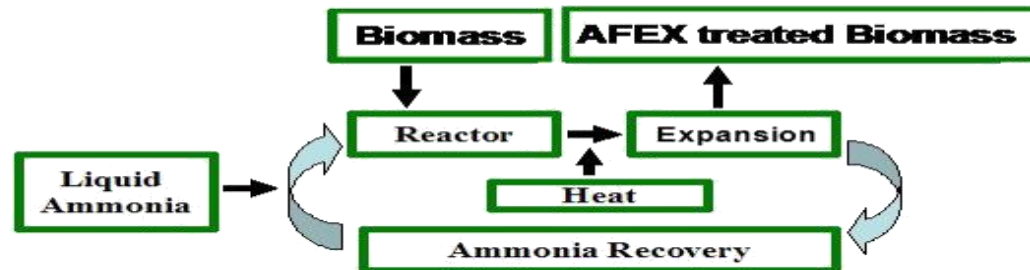
- Yöntem yüksek sıcaklık ve basınç altında suyun sıvı halde tutularak 15 dakika boyunca bir kimyasal ya da katalizör katkısı olmadan biyokütlenin ön muamelesinde kullanılmasını içermektedir.
- Buhar patlama yönteminin aksine hızlı basınç düşüşü ya da genişlemeye ihtiyaç yoktur.
- Yöntemde basınç evaporasyonu önlemek ve suyun stabilizasyonunu sağlamak için kullanılmaktadır.
- Hemiselülozik şekerlerin oligomer şeklinde salınımını sağlasa da furfural, karboksilik asit gibi mikrobiyal büyümeyi inhibe edici istenmeyen bileşenlerin küçük miktarlarda oluşmasına neden olur.



# Amonyak Fiber Patlaması (AFEX) Ön Muamelesi

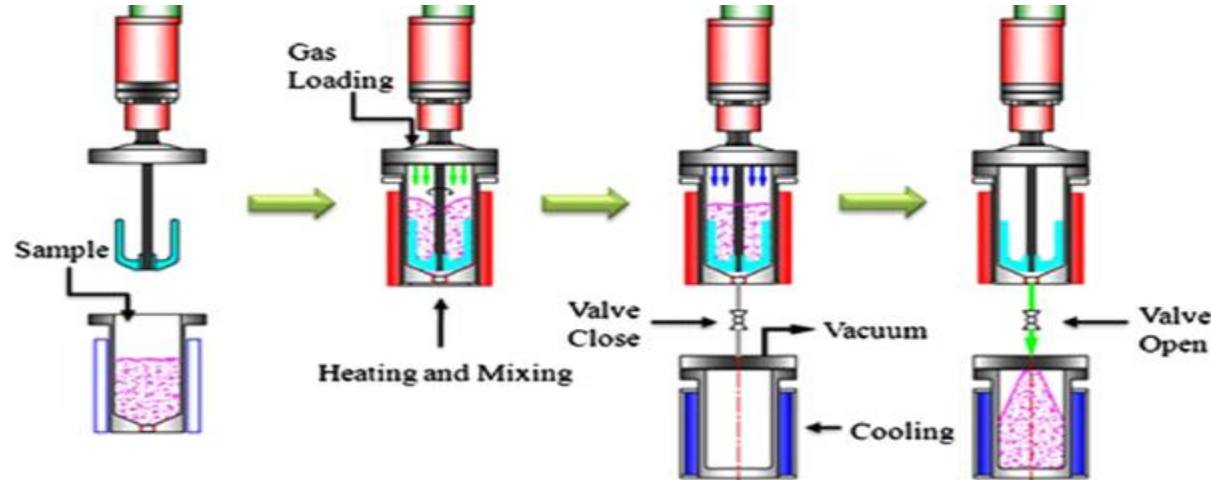
- Amonyak fiber patlaması (AFEX) ön muamelesi sıvı amonyak ve buhar patlamasının bir arada gerçekleştirildiği bir yöntemdir.
- %15-30 nem içeriğine sahip biyokütle 1–2 kg NH<sub>3</sub>/kg kuru biyokütle oranında sıvı amonyakla basınçlı bir tankta muamele edilir.
- Uygun sıcaklığın sağlanması için 12 atmosferin üzerinde basınca gerek duyulmaktadır.
- Kolay bir yöntem olması ve kısa reaksiyon süresine karşın yüksek lignin içeriğine sahip hammaddelerde etkili değildir.
- Amonyumun biyokütle fiberlerini parçalama, selülozun kısmen dekrizalizasyonu ve lignin-karbonhidrat bağlantılarını yıkmaya gibi etkileri bulunmaktadır.

## A. AFEX Pretreatment Process



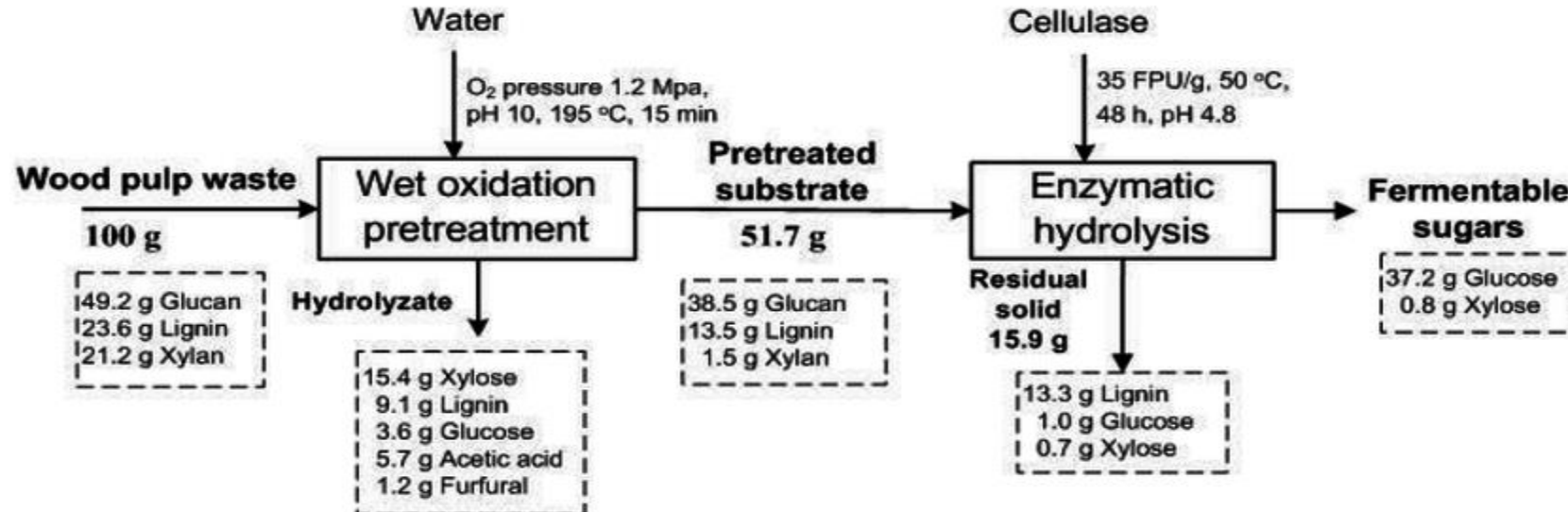
# CO<sub>2</sub> Patlaması Ön Muamelesi

- CO<sub>2</sub> patlaması AFEX yöntemine benzer bir tekniktir.
- AFEX yönteminden farkı ise daha düşük sıcaklıklara ihtiyaç duyarak proses maliyetinin düşük olması ve buhar patlamasındaki inhibitörlerin oluşumunun bu teknikte gerçekleşmemesidir.
- Dönüşüm verimleri de buhar patlamasına göre çok daha yüksektir.



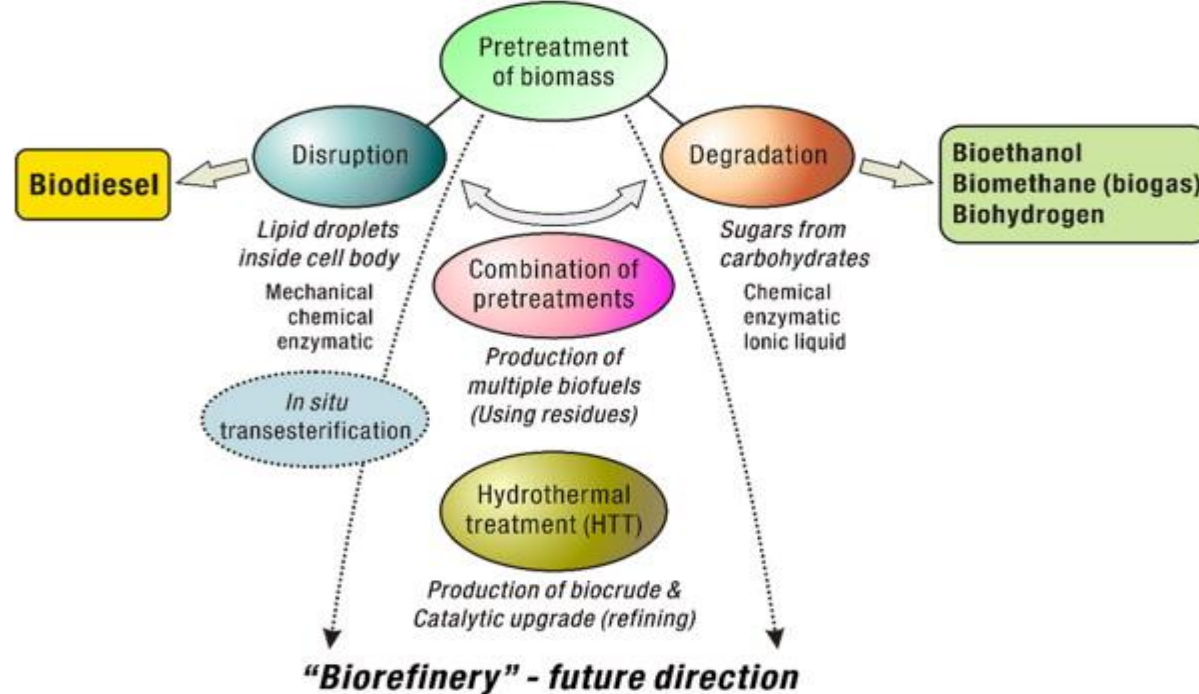
# Islak Oksidizasyon Ön Muamelesi

- Islak oksidizasyon yöntemi, kullanılacak hammaddenin 120 °C sıcaklığın üzerinde hava ya da oksijenin katalizör olarak kullanılarak su ile muamele edilmesine dayanmaktadır.
- Yöntemle hemiselüloz ve ligninin çözünürlüğü artmaktadır ancak bu teknikle serbest hemiselüloz molekülleri hidrolize olmazlar.
- Buhar patlama ve seyreltik asit ön muamelelerinde şeker monomerleri oluşurken, ıslak oksidasyonda açığa çıkan şekerler oligomer şeklindedir



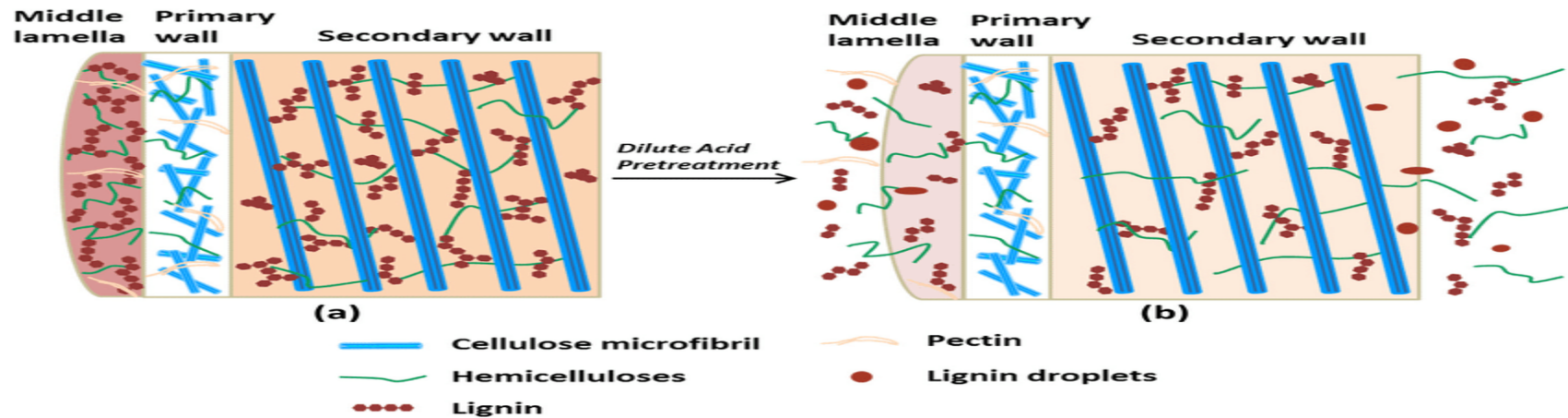
# Kimyasal Ön Muameleler

- Kimyasal ön muameleler seyreltik asit, baz, amonyak, organik çözücü ve diğer kimyasalların kullanıldığı teknikleri içermektedir.
- Kimyasal ön muamelelerin uygulandığı proseslerin uygulanması kolay olmakla birlikte bu proseslerde kısa zamanda iyi dönüşümler alınmaktadır.



# Asit Ön Muamelesi

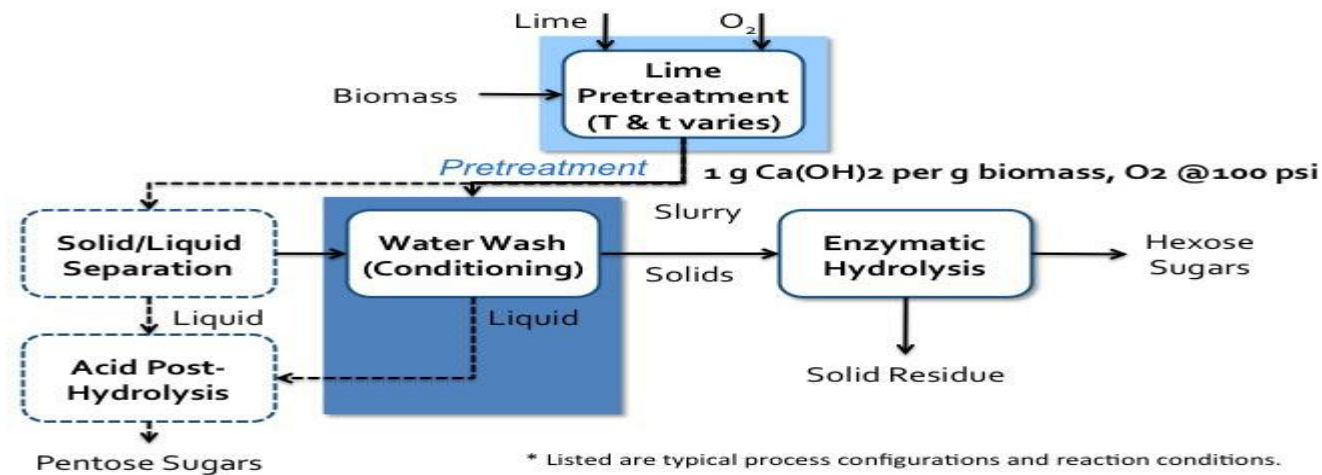
- Asidik ön muameleler asidin katalizör olarak kullanıldığı selülozun enzimler için daha ulaşılabilir hale getirildiği yöntemlerdir.
- Bu tarz prosesler konsantre asitlerin kullanıldığı ya da seyreltik asitlerin kullanıldığı yöntemler olarak iki gruba ayrılırlar.
- Konsantre asit kullanımını yüksek miktarda inhibe edici bileşenlerin oluşumuna yol açması ve kullanılan ekipmanda korozyona yol açmasından dolayı seyreltik asit kullanımına göre daha az tercih edilmektedir.
- Ön muamelelerde genellikle sülfürik asit, hidroklorik asit, nitrik asit ve fosforik asit kullanılmaktadır. Orta dereceli sıcaklıklarda seyreltik asit lignoselülozik yapıların çözünebilir şekerlere dönüştürülmesinde uygulanmaktadır





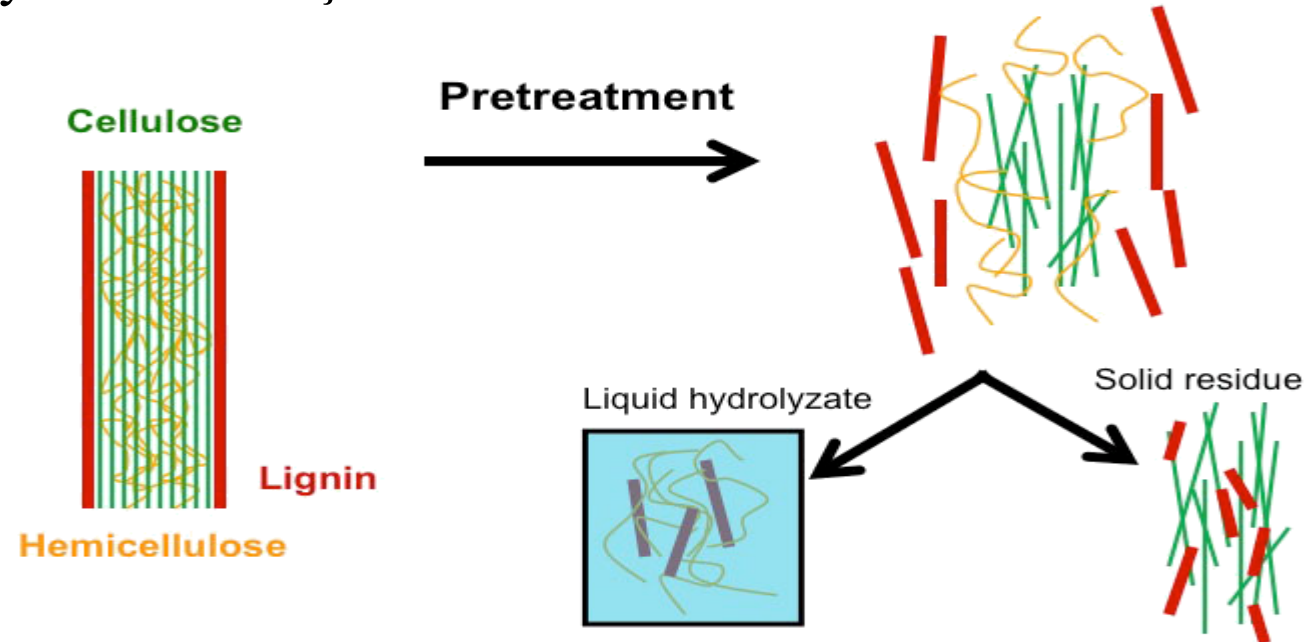
# Alkali Ön Muamelesi

- Alkali ile ön muameleler diğer tekniklere göre düşük sıcaklık ve basınçta gerçekleşirler.
- Asit ile ön muamelelerden farklı olarak bu yöntemde diğer bileşenler üzerine büyük etkileri olmadan lignin uzaklaştırılabilir ancak proste bazı alkalilerin geri kazanılmayan tuzlara dönüşmesi şeklinde kısıtlamalar görülebilmektedir.
- Bununla birlikte hemiselülozun ve selülozun çözünürlüğü asit ile yapılan ön muamelelere kıyasla daha azdır.



# Alkali Ön Muamelesi

- Alkali ön muamele biyokütledeki lignin ve hemiselüloz içeriğini azaltarak yüzey alanını arttırır ve su moleküllerinin hemiselüloz ile lignin arasındaki bağları kırmasına yardımcı olur.
- Sodyum hidroksit (NaOH), potasyum hidroksit (KOH), kalsiyum hidroksit (CaOH<sub>2</sub>) ve amonyum bu yöntemde en çok kullanılan katalizörlerdir

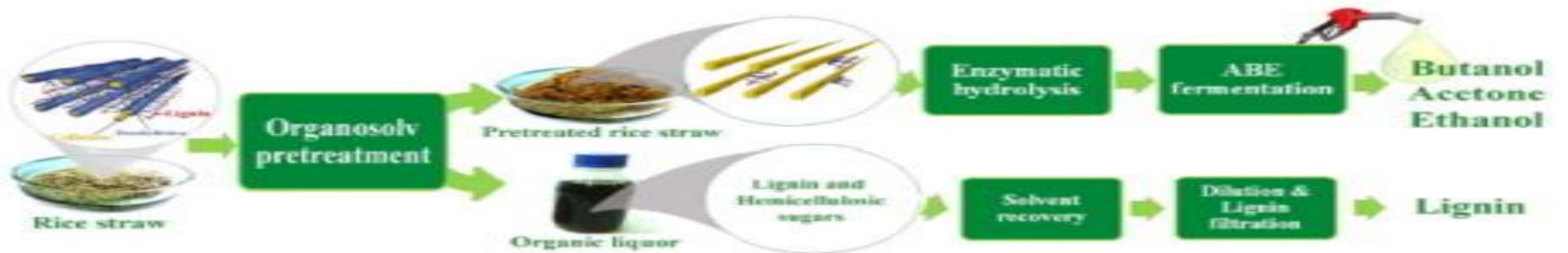


# Organosolv Ön Muamelesi

- Metanol, etanol, aseton, etilen glikol gibi organik solventlerin kullanıldığı proseslerdir.
- Yöntemde solventlerin yanı sıra katalizörler de prosese eklenebilmektedir.
- Hidroklorik asit, sülfürik asit, sodyum hidroksit ve amonyak proste kullanılan katalizörlerdendir.
- Uygulanan ön muamele ile lignin ve hemiselüloz bağları kırılabilmekte ayrıca yan ürün olarak saf ve yüksek kalitede lignin elde edilebilmektedir.

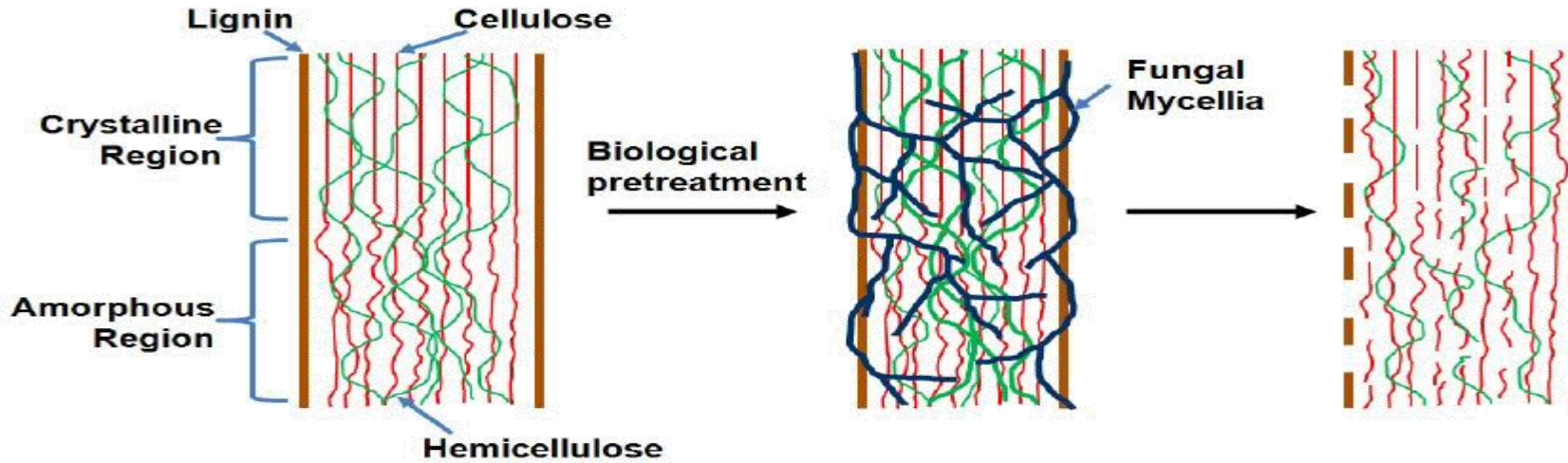
# Organosolv Ön Muamelesi

- Ligninin uzaklaştırılması yüzey alanını arttırarak enzimlerin selüloza ulaşabilmesini sağlamaktadır.
- Muamele sonrası selülozik fiberler, katı lignin ve hemiselüloz şekerlerinin sıvı çözeltisi elde edilmektedir.
- Yöntemin organik solventler kullanıldığı için yanma, uçma, yüksek basınçlı işlemlerde yüksek risk oluşturma gibi dezavantajları bulunmaktadır.
- Ayrıca önemli miktarda furfural ve çözünen fenoller meydana geldiği için ve operasyon maliyetini düşürmek için solventler geri kazanılmalıdır.



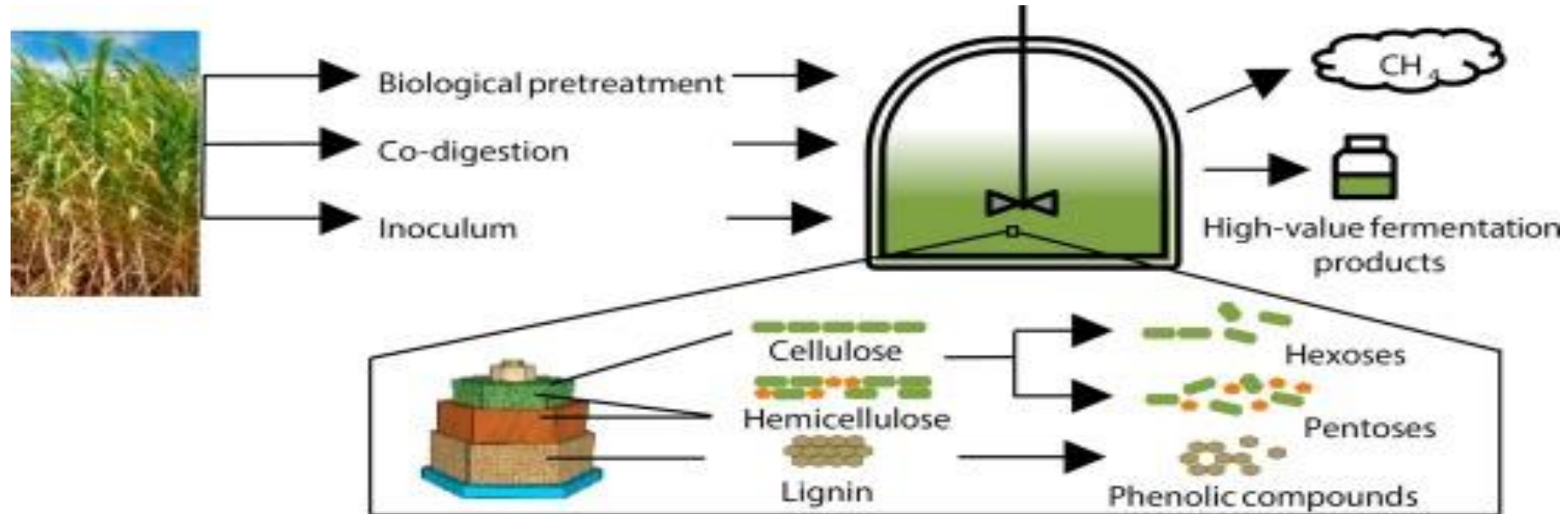
# Biyolojik Ön Muameleler

- Biyoetanol üretiminde uygulanan yöntemlere kıyasla mantarların kullanıldığı biyolojik ön muameleler;
- Kimyasalların kullanılmaması,
- Enerji girdisinin az olması,
- Basınçlı ve korozyona dirençli reaktörlere ihtiyaç duyulmaması
- Minimum inhibitör oluşumu ile çevre dostu olarak kabul edilmektedir.



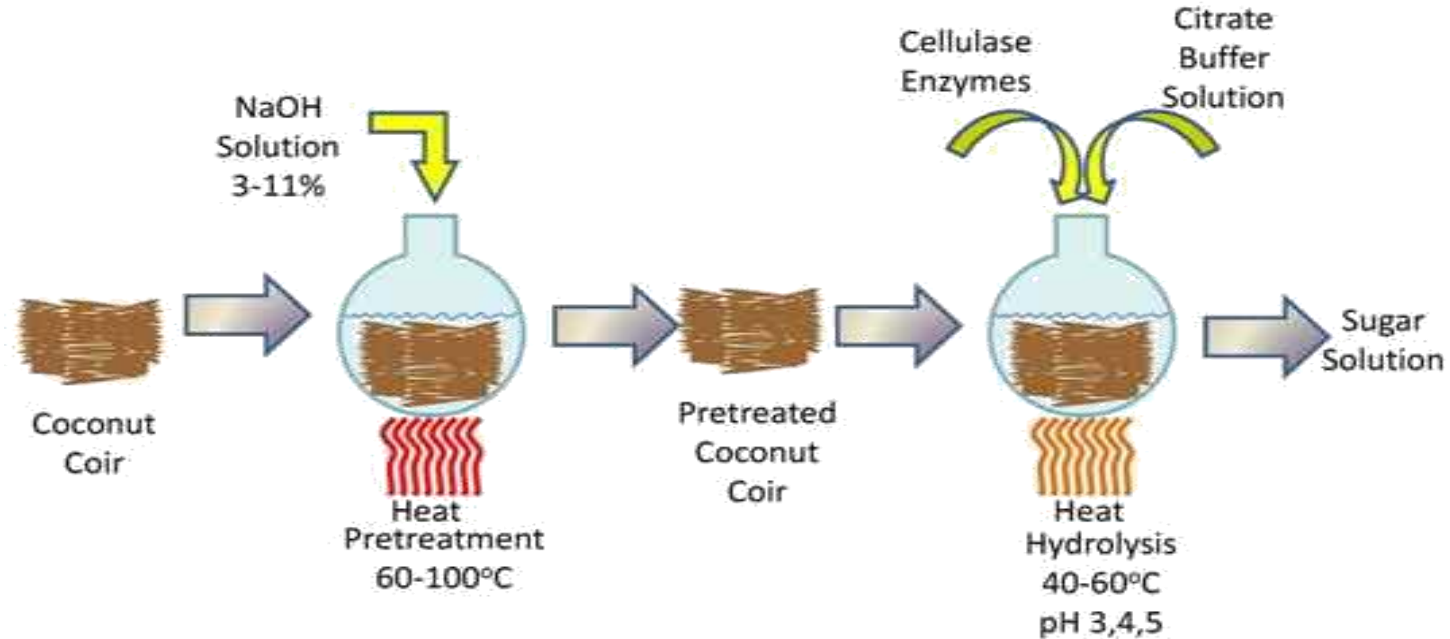
# Biyolojik Ön Muameleler

- Biyolojik ön muamelelerde kullanılan mantarlar genellikle kahverengi, beyaz ve yumuşak küf mantarlarıdır.
- Bu mantarlar lignin, hemiselüloz ve selülozun bir kısmını bozundurabilmektedirler.
- Avantajlarına karşın uzun proses süresi, geniş alan ve mikroorganizma büyümesi için sürekli kontrol ihtiyacı ticari üretimler için dezavantaj olarak ortaya çıkmaktadır.



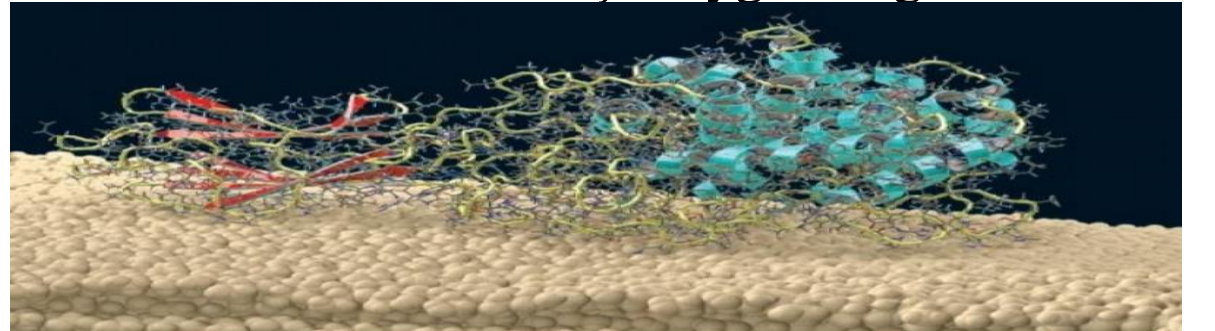
# Enzimatik Hidroliz

- Enzimatik hidroliz spesifik selüloz enzimleri tarafından selülozun hidrolize edilmesi aşamasıdır.
- Hidroliz işlemi sonrası elde edilen ürünler glikoz içeren indirgen şekerlerdir.
- Enzimatik hidrolizin proses maliyeti reaksiyon ılımlı koşullar altında (pH 4.8, 45-50°C sıcaklık) gerçekleştiğinden dolayı asit ya da alkali hidrolize göre daha düşüktür.



# Enzimatik Hidroliz

- Hidroliz işleminde kullanılan selüloz enzimleri bakteriler ve mantarlar tarafından üretilmektedir.
- Bu mikroorganizmalar aerobik, anaerobik, mezofilik ya da termofilik olabilirler.
- Selüloz enzimini üreten bakterilere *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* ve *Streptomyces* örnek verilebilir.
- Mantarlar arasından ise *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, *Humicola* ve *Schizophillum sp.* selüloz üreten mantarlar olarak belirlenmiştir.
- Bakteriler arasında yüksek spesifik aktiviteye sahip selüloz enzimini üreten anaerobik bakteriler olmasına karşın bu anaerobik bakteriler ticari üretimler için uygun değildir.

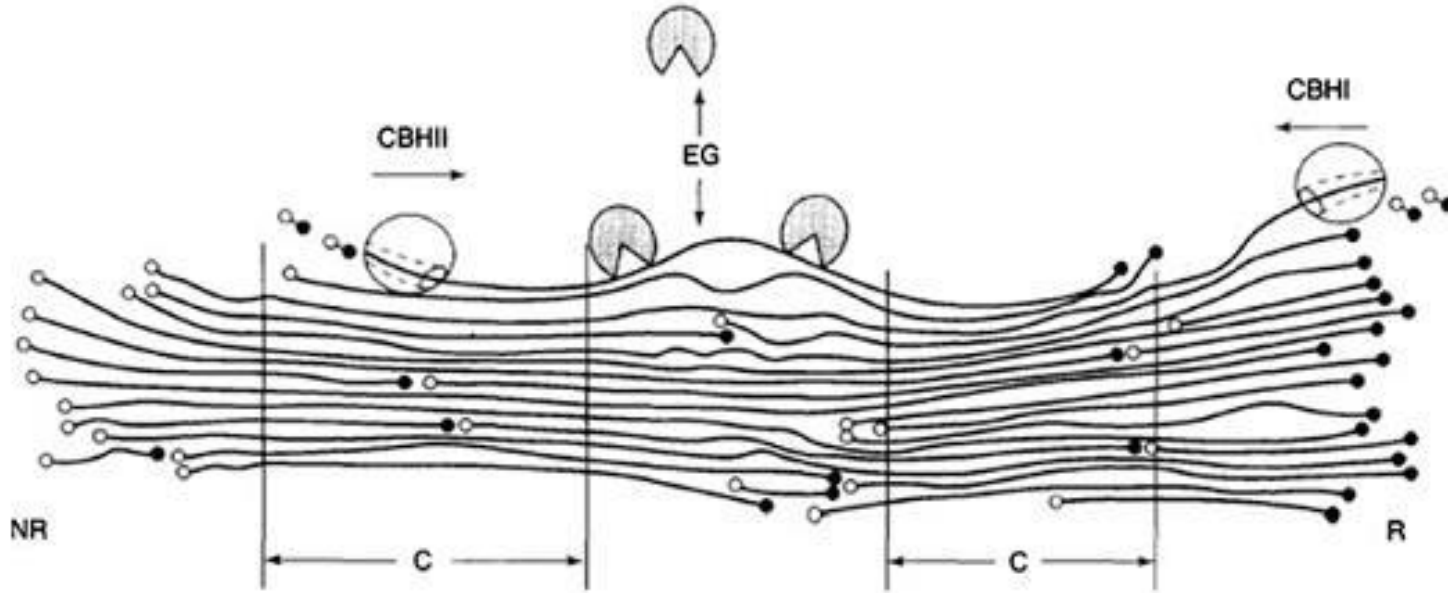




# Enzimatik Hidroliz

- Selülaz enzimleri endoglukanaz, ekzoglukanaz ve  $\beta$ -glukosidaz enzimlerinin karışımından meydana gelmektedir.
- Endoglukanaz enzimi selüloz fiberlerindeki düşük kristalinitenin olduğu bölgelere saldırırken, ekzoglukanaz endoglukanazın etkisi ile serbest kalan zincirlerden selüloz birimlerini uzaklaştırarak molekülün bozunmasını sağlar.
- $\beta$ -glukosidaz ise selüloz birimlerini hidrolize ederek glikozun oluşumunu sağlar

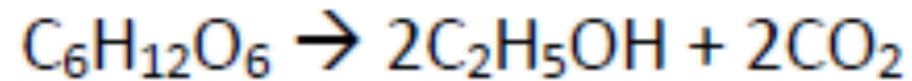
# Enzimatik Hidroliz



Şekil 2. 7 Kristalin selüloz yapının enzimler tarafından parçalanm

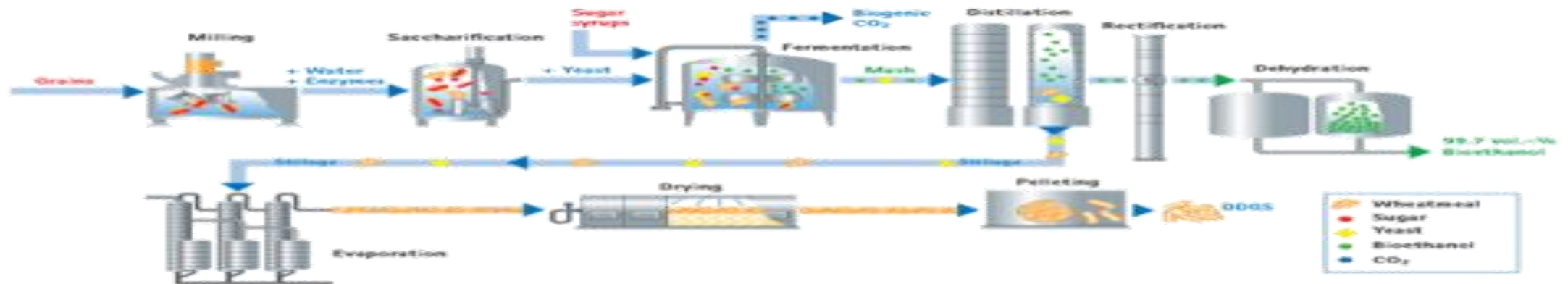
# Fermantasyon

- Fermantasyon işlemi bir mikroorganizma aracılığı ile fermante olabilen şekerlerin etanole dönüştürüldüğü kimya, biyokimya ve mikrobiyoloji disiplinlerine dayanan bir prosestir.
- Proses glikozun alkol ve karbondioksite dönüştürülmesinden oluşmaktadır.



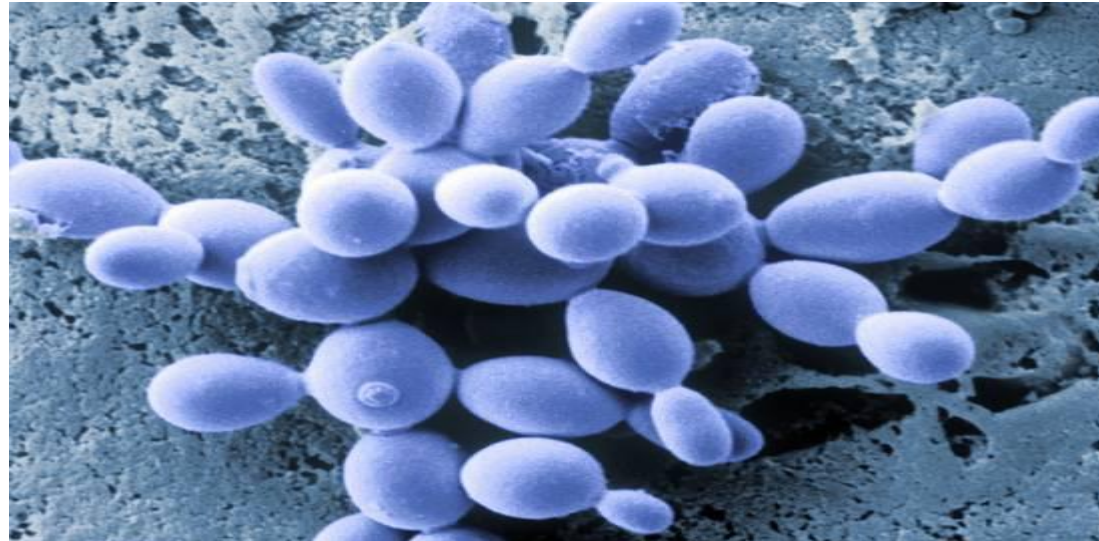
# Fermantasyon

- Gerçekleşen reaksiyonlara göre kg başına glikozdan teorik maksimum verimde 0.51 kg biyoetanol ve 0.49 kg CO<sub>2</sub> oluşmaktadır.
- Ancak pratikte mikroorganizmalar ortamda bulunan glikozu büyümeleri için de kullandıklarından dolayı gerçek verim %100'den azdır.
- Fermantasyon işleminde kullanılan mikroorganizmalar etanol üretiminde 6-karbonlu şekerlerden faydalanırlar.
- Bu yüzden yüksek miktarda glikoz içeren selülozik biyokütleler biyoetanol üretiminde en kolay dönüşüme sahip materyallerdir.



# Fermantasyon

- En etkili biyoetanol üreten mayalardan biri *Saccharomyces cerevisiae*'dir.
- Yüksek biyoetanol üretim verimine sahip olmakla birlikte lignoselülozik biyokütlenin asit hidrolizasyonu sonucu oluşabilecek inhibitör bileşenlere ve yüksek biyoetanol seviyesine karşı toleransı bulunmaktadır.
- Reaksiyon anaerobik olarak gerçekleştiğinden dolayı ortama nitrojen verilerek oksijen molekülleri uzaklaştırılmalıdır.



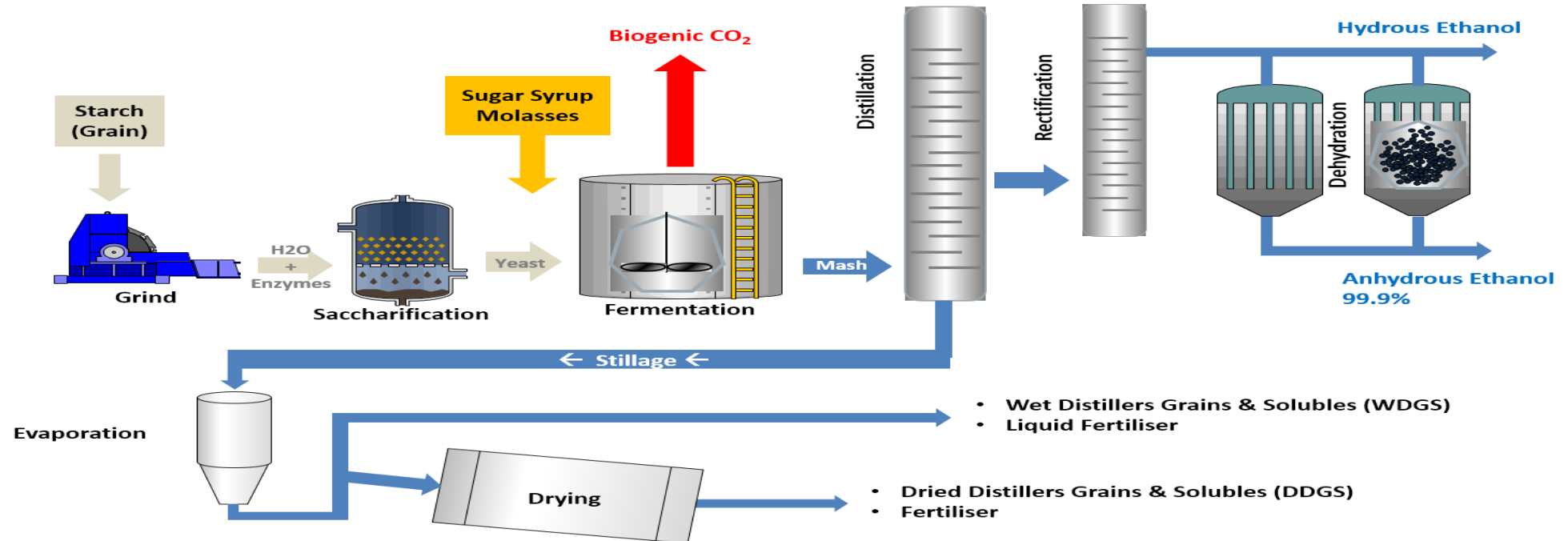
# Fermantasyon

- Maya ve mantarlar 3.5-5.0 pH aralığını tolere edebilmektedirler.
- *S.cerevisiae* yüksek ozmotik dirence sahip olmakla beraber 4.0 gibi düşük pH seviyelerini de tolere edebilmektedir.
- *Zymomonas mobilis* hızlı biyoetanol üretimi ve diğer geleneksel mayalara kıyasla yüksek verimliliği ile öne çıkmaktadır.
- Ancak *Z.mobilis* lignoselülozik hidrolizatlar içindeki asetik asit ve çeşitli fenolik bileşiklerin toksik etkilerini tolere edememektedir.



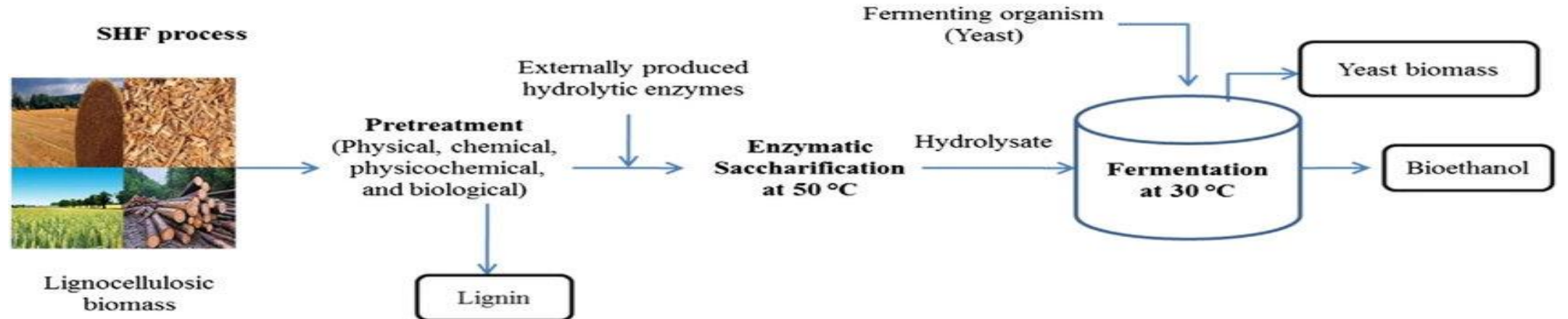
# Fermantasyon

- Mikroorganizmaların biyoetanol verimleri sıcaklık, pH aralığı, alkol toleransı, ozmotik toleransı, inhibitörlere karşı direnci, büyüme hızı ve genetik stabilitesine bağlıdır.
- Fermantasyon prosesleri genellikle eşzamanlı sakkarifikasyon ve fermantasyon ile hidroliz ve fermantasyonun ayrı aşamalarda gerçekleştirildiği prosesler olmak üzere iki temel proses üzerinden gerçekleştirilmekle birlikte yeni üretim prosesleri geliştirilmeye devam etmektedir.



# Hidroliz ile Fermantasyonun Ayrı Aşamalarda Gerçekleştirildiği Prosesler (SHF)

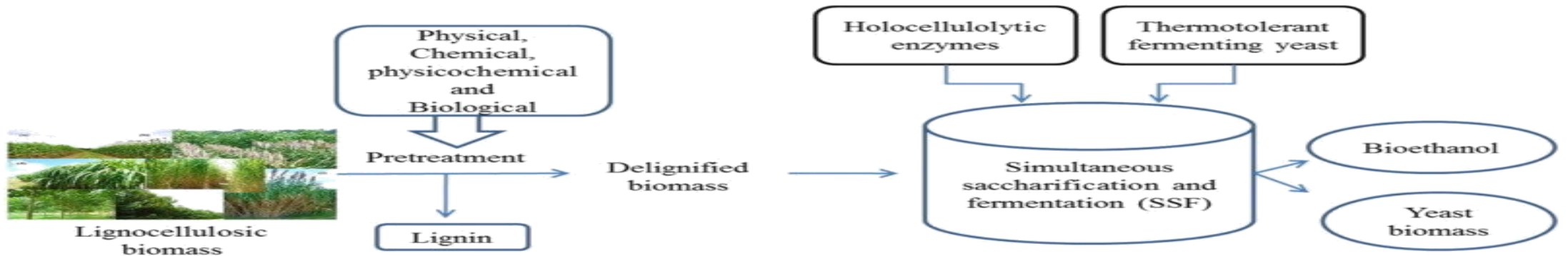
- Enzimatik hidrolizin fermantasyon prosesinden ayrı olarak gerçekleştirildiği proseslerdir.
- Bu proseslerde hidroliz reaktöründen gelen sıvı önce glikozun fermente edildiği reaktörde etanole dönüştürülür ardından etanol distile edilerek kalan dönüşmemiş ksiloz ikinci bir reaktörde etanole dönüştürülür.
- Prosesin avantajı reaksiyonların optimum koşullar altında gerçekleştirilmesidir. Ancak farklı reaktörlerin kullanımını maliyeti arttırmaktadır.
- Bununla birlikte hidroliz sonrası açığa çıkan glikoz ve selüloz birimleri enzimin aktivitesini inhibe ederek hidroliz hızını azaltmaktadır





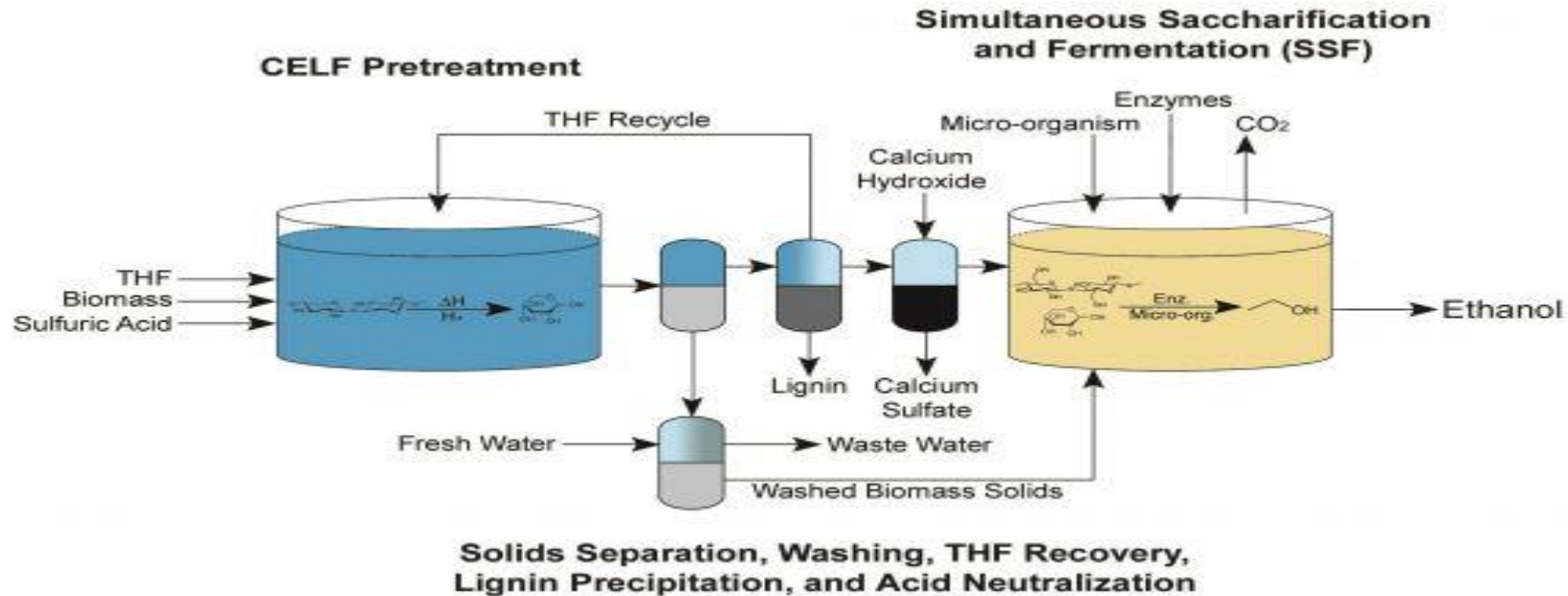
# Eşzamanlı Sakkarifikasyon ve Fermantasyon Prosesi (SSF)

- Ön muamele ve enzimatik hidroliz aşamalarının fermantasyon basamağı ile aynı reaktörde gerçekleştirildiği proseslerdir.
- Seyreltik asit ya da yüksek sıcaklıkta sıcak su ön muamelelerinin uygulandığı proseslerde oldukça verimli olduğu görülmüştür.
- SSF prosesi yüksek biyoetanol verimleri elde edilmektedir. Hidroliz sonrası oluşan glikoz ve selüloz birimleri maya tarafından aynı ortamda fermente edildiği için enzimin aktivitesinde gerçekleşebilecek inhibisyon daha azdır.
- Bu sebeple proses daha az miktarda enzime ihtiyaç duymaktadır. Ayrıca reaksiyonların tek reaktörde gerçekleşmesi prosesin maliyetini azaltmaktadır.



# Eşzamanlı Sakkarifikasyon ve Fermantasyon Prosesi (SSF)

- Sakkarifikasyon ve fermantasyon reaksiyonları arasındaki sıcaklık farklarının kullanılacak mikroorganizmanın büyümesinde çeşitli etkilere yol açması ise prosesin dezavantajı olarak görülmektedir.
- *Saccharomyces* kültürleri bu proseste 4.5 pH ve 37°C'de kullanılmaktadır



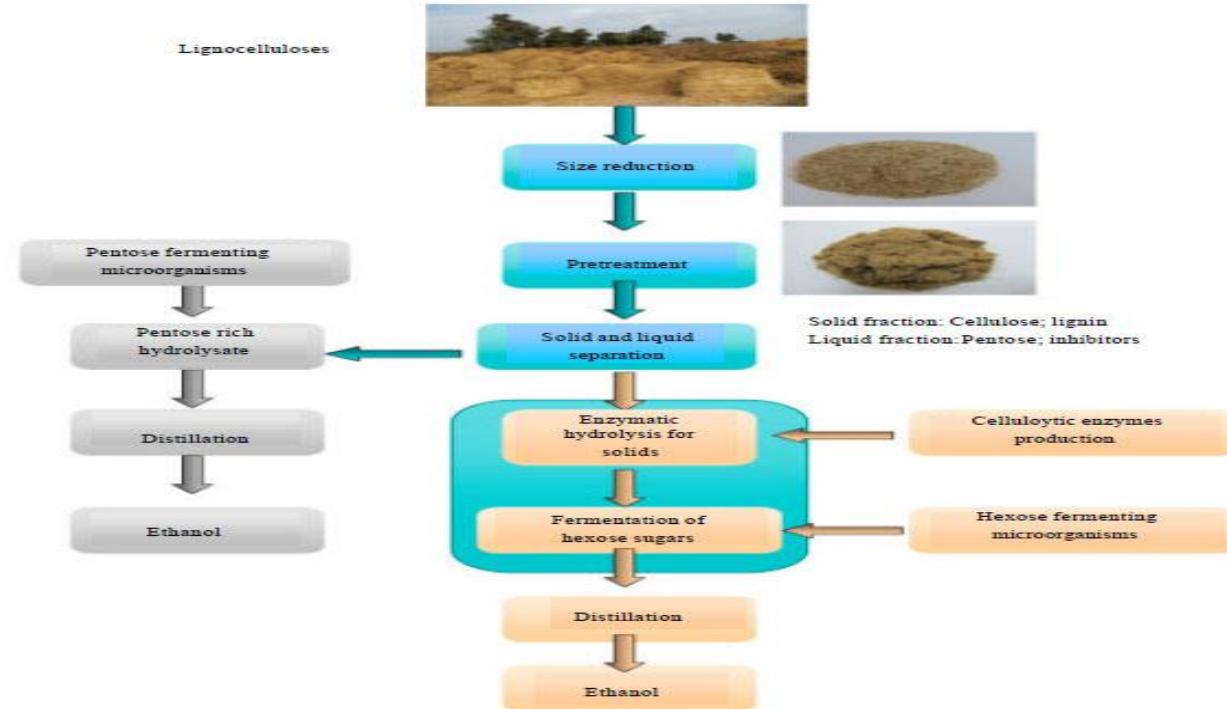
# Eşzamanlı Sakkarifikasyon ve Fermantasyon Prosesi (SSF)

- Fermantasyon işleminde kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* normal koşullarda pentoz gibi karbonhidratları etanole çevirememektedir ve bu da biyokütle için kirlilik teşkil etmektedir ve biyoetanol üretim verimini düşürmektedir.
- Bunun üstesinden gelebilmek için ise rekombinant mayalar kullanılarak pentoz gibi kalıntıların da etanole çevrilmesi sağlanır.
- SSCF sisteminde rekombinant mayalar ve selüloz enzim kompleksi aynı kanala beslenir ve biyokütlenin etanole çevrilmesi sağlanır.
- Bu sistem genel olarak SSF ile aynıdır. SHCF prosesi ise, SSCF ile SHF prosesinin birleştirilmesi ile oluşmuştur.
- Bu sistemde fermantasyon ve hidroliz işlemleri ayrı kanalda gerçekleşmektedir.
- Bu sistem SHF sisteminden daha yüksek verimle biyoetanol üretimi gerçekleştirebilir.

Proses	Avantajları	Dezavantajları
SHF	Hidroliz ve fermantasyon işlemi optimum koşullarda gerçekleşir.	İnhibitör etkisi mevcuttur. Kontaminasyon riski fazladır.
SSF	Yüksek etanol verimi Düşük kontaminasyon riski ve inhibitör etkisi vardır. Maliyeti düşüktür.	Proses kontrolü zordur. Hidroliz enzimi ve fermantasyon enzimi için optimum koşulların sağlanması zordur.
SHCF	Yüksek etanol verimi elde edilebilir. Hidroliz ve fermantasyon işlemi optimum koşullarda gerçekleşir.	Yüksek enzim konsantrasyonuna gerek duyulur. İnhibitör etkisi mevcuttur. Kontaminasyon riski fazladır.
SSCF	Kısa proses zamanı, yüksek etanol verimi ve düşük kontaminasyon riski bulunmaktadır.	Yüksek enzim konsantrasyonuna gerek duyulur. Hidroliz enzimi ve fermantasyon enzimi için optimum koşulların sağlanması zordur.

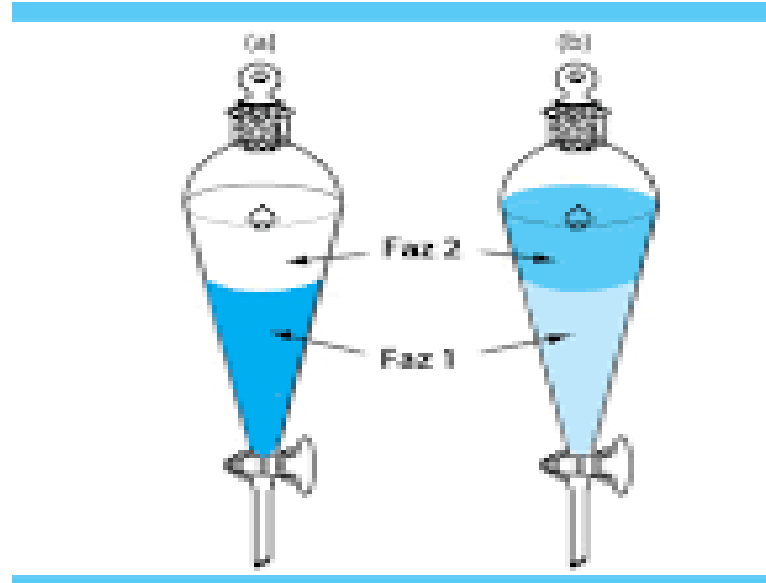
# Saflaştırma ve Distilasyon

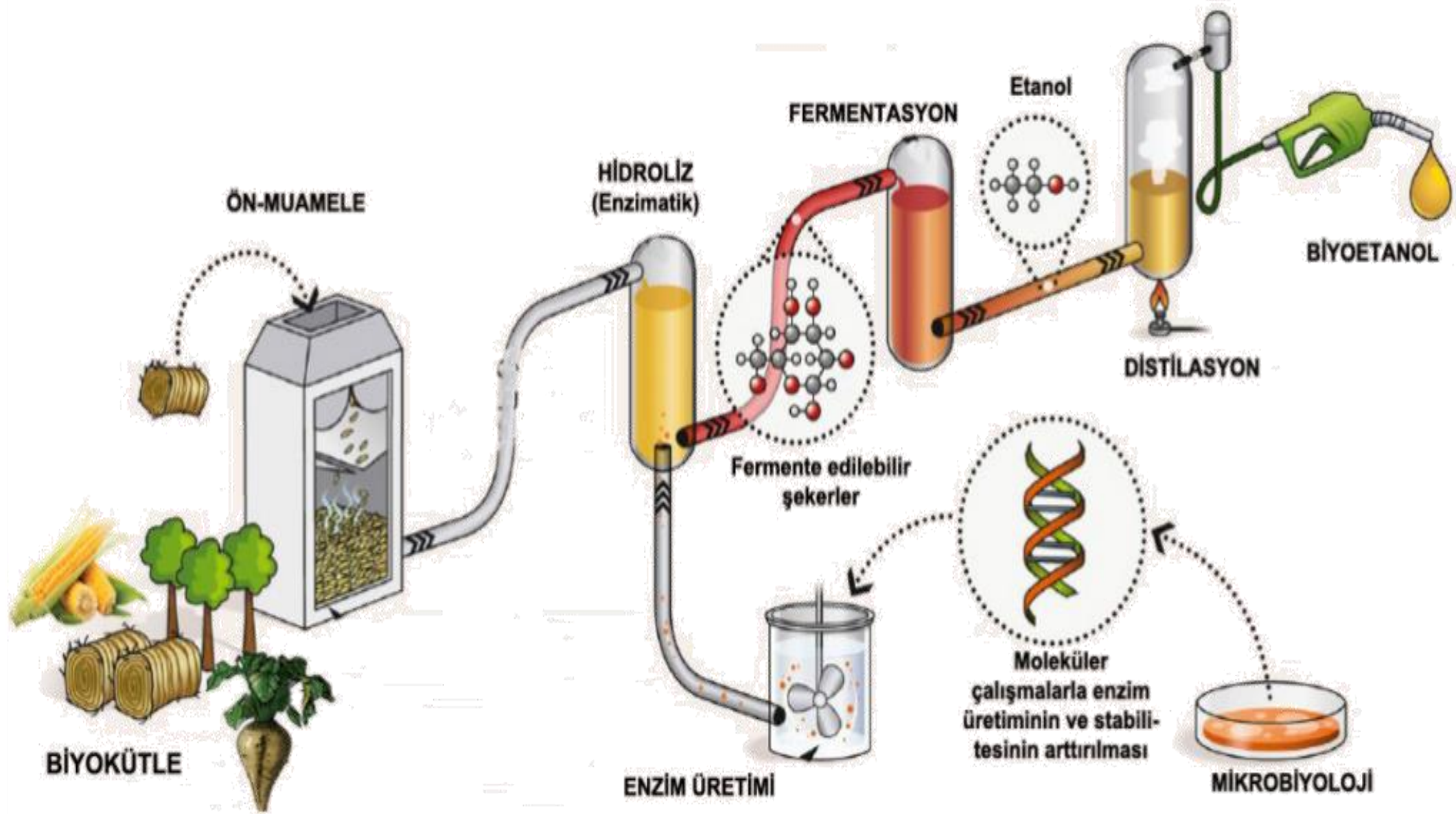
- Fermantasyon işlemi sonrası etanolün saflaştırılması ve karışımdan ayrılması için bir distilasyon prosesi gereklidir.
- Proses basit olarak su-etanol karışımının kaynatılması ile gerçekleştirilmektedir.
- Suyun kaynama noktası ( $100^{\circ}\text{C}$ ) etanolün kaynama noktasından ( $78^{\circ}\text{C}$ ) yüksek olduğu için etanolün sudan önce buharlaşması gerçekleşir.
- Ancak karışım azeotrop olduğu için distilasyon için yüksek miktarda enerji harcanmaktadır.



# Saflaştırma ve Distilasyon

- Azeotrop karışımları ayırmak için karışıma azeotrop yapıyı bozan bir madde ilave edilmelidir.
- Eklenen madde karışımdaki moleküler etkileşimlere etki ederek karışımın uçuculuğunu değiştirmektedir.
- Uygulanan proste benzen, pentan, sikloheksan, heksan, aseton ve dietil eter gibi çeşitli ayırma ajanları kullanılabilir.







**Teşekkürler!**